

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
CENTRO UNIVERSITARIO DE OCCIDENTE
DIVISIÓN DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
CARRERA DE AGRONOMÍA



**EFEECTO DE DISTINTAS ETAPAS FENOLÓGICAS DE LA INJERTACIÓN DE
PAPA (*Solanum tuberosum*) PARA DETERMINAR LA INFECCIÓN DE LA
BACTERIA *Candidatus Liberibacter solanacearum*.**

ELSA MARINA GARCÍA QUEX

Quetzaltenango, Noviembre 2016

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
CENTRO UNIVERSITARIO DE OCCIDENTE
DIVISIÓN DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
CARRERA DE AGRONOMÍA



**EFFECTO DE DISTINTAS ETAPAS FENOLÓGICAS DE LA INJERTACIÓN DE
PAPA (*Solanum tuberosum*) PARA DETERMINAR LA INFECCIÓN DE LA
BACTERIA *Candidatus Liberibacter solanacearum*.**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

Presentado a las autoridades de la División de Ciencias y Tecnología del Centro Universitario de
Occidente de la Universidad de San Carlos de Guatemala

Por.

ELSA MARINA GARCÍA QUEX

Como requisito previo a aportar el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

En el grado académico de

LICENCIADA EN CIENCIAS AGRICOLAS

Quetzaltenango, Noviembre 2016

UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA
CENTRO UNIVERSITARIO DE OCCIDENTE
DIVISIÓN DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
CARRERA DE AGRONOMÍA

AUTORIDADES

Rector Magnífico: Dr. Carlos G. Alvarado Cerezo
Secretario General: Dr. Carlos Enrique Camey R.

CONSEJO DIRECTIVO

Directora General del CUNOC; MsC. María del Rosario Paz Cabrera.
Secretario Administrativo: MsC. Silvia del Carmen Recinos.

REPRESENTANTES DE LOS CATEDRÁTICOS

Ing. Agr. MsC. Hector Alvarado Quiroa
Ing. Edelmar Monzón.

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA

Q.F. Aroldo Roberto Méndez Sánchez.

COORDINADOR DE LA CARRERA DE AGRONOMÍA

Ing. Agr. MsC. Imer Vinicio Vásquez Velázquez

UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA
CENTRO UNIVERSITARIO DE OCCIDENTE
DIVISIÓN DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
CARRERA DE AGRONOMÍA

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN TÉCNICO PROFESIONAL

PRESIDENTE

Q.F. Aroldo Roberto Méndez Sánchez.

EXAMINADORES

Ing. Agr. MsC. Hector Alvarado Quiroa

Ing. Agr. Floridalma Jacobs

Lic. Eduardo Vital

SECRETARIO

Ing. Agr. Carlos Gutiérrez Loarca

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIA Y TECNOLOGIA

Q.F. Aroldo Roberto Méndez Sánchez.

COORDINADOR DE LA CARRERA DE AGRONOMÍA

Ing. Agr. MsC. Imer Vinicio Vásquez Velázquez

Nota: "únicamente el autor es responsable de las doctrinas y opiniones sustentadas en el presente trabajo de graduación" (Artículo 31 reglamento para exámenes Técnicos Profesionales del Centro Universitario de Occidente y Artículo 13 de la ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala).

Quetzaltenango, Noviembre de 2016

NOTABLE CONSEJO DIRECTIVO

NOTABLE AUTORIDADES DE LA DIVISIÓN DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA

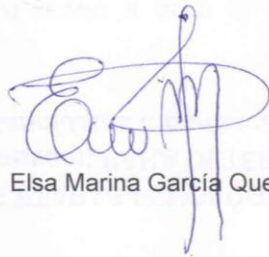
NOTABLE MESA DE ACTO DE GRADUACIÓN Y JURAMENTACIÓN

De conformidad con lo establecido en la ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala tengo el honor de someterme a vuestra consideración en el trabajo de Tesis titulado:

“EFECTO DE DISTINTAS ETAPAS FENOLÓGICAS DE LA INJERTACIÓN DE PAPA (*Solanum tuberosum*) PARA DETERMINAR LA INFECCIÓN DE LA BACTERIA *Candidatus Liberibacter solanacearum*”.

Presentándolo como requisito previo a optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciatura en Ciencias Agrícolas.

Atentamente:



Elsa Marina García Quex

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”



USAC
TRICENTENARIA
Universidad de San Carlos de Guatemala

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
CENTRO UNIVERSITARIO DE OCCIDENTE
DIVISIÓN DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
www.cytacunoc.org



Quetzaltenango, 2 de noviembre de 2016.

Lic. Q.F.
Roberto Méndez Sánchez
Director División Ciencia y Tecnología
Centro Universitario de Occidente.
Universidad de San Carlos de Guatemala

Apreciable Señor Director:

De acuerdo a su nombramiento en Oficio referencia No. 135/SDCyT/2016 de fecha 23 de septiembre del presente año, me permito informarle que he concluido el proceso de revisión del trabajo de tesis de la estudiante Elsa Marina García Quex, carnet 200130501 de la Carrera de Agronomía en Sistemas de Producción Agrícola, cuyo título es:

“Efecto de distintas etapas fenológicas de la injertación de papa (*Solanum tuberosum*) para determinar la infección de la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum*”

Por el aporte tan importante que este trabajo hace a la producción del cultivo de la papa a nivel regional, recomiendo su impresión, ya que el mismo cumple con los requisitos académicos exigidos por la Universidad.

Atentamente,

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”

Ing. Agr. MSc. Héctor Alvarado Quiroa
Colegiado 1338
REVISOR



Quetzaltenango, Noviembre de 2,016.

A:
Q.F. Roberto Méndez.
Director de División de Ciencia y Tecnología
Centro Universitario de Occidente CUNOC
Edificio.

Respetable Licenciado:

Me dirijo a usted para hacer de su conocimiento que he proporcionado a la estudiante **ELSA MARINA GARCÍA QUEX**, con carné No. 2001501 la asesoría requerida para su trabajo de graduación, cuyo título:

“Efecto de distintas etapas fenológicas de la injertación de papa (*Solanum tuberosum*) para determinar la infección de la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum*”.

Concluida ésta, tanto en campo como de gabinete, he de informar finalmente a usted, que considero merecedor de su aprobación, para su publicación, puesto que constituye un valioso aporte.

Sin otro particular.

Inga. Agr. Glenda Edelmira Pérez García



ASESOR

Colegiado Activo: 2,084



*Centro Universitario de Occidente
División de Ciencia y Tecnología*

El infrascrito **DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIA Y TECNOLOGIA** _____
Del Centro Universitario de Occidente ha tenido a la vista la **CERTIFICACIÓN DEL ACTA DE GRADUACIÓN** No. 024-AGR-2016 de fecha _____ dos _____ de _____ noviembre _____ del año dos mil dieciséis del (la) estudiante: ELSA MARINA GARCÍA QUEX _____ con Carné No. 200130501 _____ emitida por el Coordinador de la Carrera de AGRONOMIA _____, por lo que se **AUTORIZA LA IMPRESIÓN DEL TRABAJO DE GRADUACIÓN** titulado: **“EFECTO DE DISTINTAS ETAPAS FISIOLÓGICAS DE INJERTACIÓN DE PAPA (*Solanum tuberosum*), PARA DETERMINAR LA INFECCIÓN DE LA BACTERIA CANDIDATUS LIBERIBACTER SOLANACEARUM.”**

Quetzaltenango, 02 de noviembre de 2016.

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”



Lic. Q.F. Aroldo Roberto Méndez Sánchez
Director de División de Ciencia y Tecnología

ACTO QUE DEDICO

- A DIOS: Porque me ha dado fuerzas para poder continuar cuando a punto de caer he estado, por guiarme en todas las decisiones que he tomado en la vida, por proveerme de fe, sabiduría, fortaleza y por permitirme alcanzar el éxito.
- A MIS PADRES Francisco García Pérez y Nicolasa Quex Jiatz, quienes siempre estuvieron brindándome su amor y apoyo incondicional ¡Mi triunfo es de Ustedes! Infinitamente gracias.
- A MIS HERMANO Vicky, Flory, Carmen, Iliana y Jesús, gracias por sus palabras de aliento en momentos difíciles y por el amor fraternal que nos une.
- A MIS ABUELOS Bartolo Quex (+) y Gerónima Jiatz (+), quienes desde el cielo me cuidan y me guían.
- A MIS SOBRINOS Naomy, Deliver, Quendember, K'aslem, Gabriel y Ashley, por su cariño y apoyo.
- A MIS CUÑADOS Alfredo Chún y Oscar Cruz, por el apoyo moral para seguir adelante.
- A MI NOVIO Ronald Cortes, por su amor, cariño y apoyo, muchas gracias
- A MIS AMIGOS Quienes me brindaron su valiosa amistad y apoyo.

AGRADECIMIENTO

A MIS PADRES Que con su amor, paciencia y dedicación, han sido mi apoyo incondicional.

AI CENTRO UNIVERSITARIO DE OCCIDENTE DE LA CARRERA DE AGRONOMÍA

A MIS ASESORES Ing. Agr. Juan Bolaños, por sus sabios consejos, cariño, amistad y por el fortalecimiento durante el periodo de estudio e investigación, mil gracias.

Inga. Agra. Glenda Pérez, quien me ha brindado su cariño, confianza, amistad, apoyo, por su paciencia y aportar sus conocimientos en el acompañamiento de la investigación y en la revisión de este trabajo de graduación.

A MI REVISOR Ing. Héctor Alvarado, por su apoyo y sugerencias técnicas a la presente investigación.

Al Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas – ICTA- Por ser la institución que me brindó la oportunidad en llevar a cabo el presente trabajo.

A MIS PADRINOS Inga. Maria Victoria García, por brindarme el apoyo incondicional por sus palabras de aliento para seguir luchando en mi vida profesional, Dios me la bendiga siempre.

Lic. Eduardo Vital, por su amistad y apoyo que me ha brindado en el transcurso de clases y finalizando la carrera.

**EFECTO DE DISTINTAS ETAPAS FENOLÓGICAS DE LA INJERTACIÓN DE
PAPA (*Solanum tuberosum*) PARA DETERMINAR LA INFECCIÓN DE LA
BACTERIA *Candidatus Liberibacter solanacearum*.**

INDICE GENERAL

Contenido	Página
RESUMEN.....	1
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1. JUSTIFICACIÓN.....	5
1.2. OBJETIVOS	6
1.2.1. General	6
1.2.2. Específicos	6
1.3. HIPÓTESIS	7
2. MARCO TEÓRICO.....	8
2.1 Descripción del cultivo de papa	8
2.1.1. Etapas fenológicas de la papa (Roman, 2002).....	9
2.2 Bacteria <i>Candidatus Liberibacter</i>	9
2.2.1 Taxonomía de la bacteria:	9
2.3 Distribución geográfica	10
2.4 Vectores de la bacteria <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i>	10
2.5 <i>Bactericera Cockerelli Sulc</i>	11
2.6 Zebra Chip.....	13
2.7 Diagnóstico de la bacterias <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i>	13
2.7.1. Injerto.....	13
2.8 Técnica de diagnóstico de enfermedades en plantas cultivadas.....	14
2.9 Métodos de diagnóstico para <i>Candidatus Liberibacter</i>	14
2.10. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR):	14
2.10.1. PCR en tiempo real (QPCR)	15
2.11. Fritura de papa.....	15
2.12. Tinción de Gram.....	15
3. MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1. Descripción del área de estudio.....	17
3.2. Metodología.....	17
3.2.1. Descripción de la investigación	17

3.2.2. Diseño experimental	17
3.2.3. Descripción de los tratamientos	18
3.2.4. Modelo matemático	19
3.2.5. Unidad experimental	21
3.2.6. Variables de respuesta	21
3.2.7. Manejo de experimento	23
3.2.8. Clasificación de tubérculos	26
3.2.9. Manejo agronómico del cultivo	27
3.2.10. Análisis de la investigación	28
3.2.11. Recursos	28
4. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	31
4.1. Colecta de ninfas de <i>Bactericera cocherelli</i> como fuente de inóculo para la obtención <i>CaLso</i> en el cultivar Loman	31
4.2. Injertación de las plantas de los tratamientos variedad Loman	32
4.3. Peso de tubérculos cosechados.....	34
4.4. Número de tubérculos cosechados	36
4.3 Porcentaje de Papa frita tipo chip, para determinar el grado de sanidad	37
4.3.1. Grado de severidad (grado 0) en fritura de papa tipo chip	37
4.3.2. Grado de severidad moderado (grado 1)	38
4.3.3. Grado de severidad severo (grado 2)	39
5. CONCLUSIONES	42
6. RECOMENDACIONES	43
7. BIBLIOGRAFÍA	44
8. ANEXOS	47

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Ciclo biológico de la paratrioza <i>Bactericera cockerelli</i> Sulc.	11
Cuadro 2. Presupuesto de la investigación.....	30
Cuadro 3. Análisis de varianza para peso de tubérculo de papa injertada con bacteria <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i>	35
Cuadro 4. Análisis de Varianza para número de tubérculo en plantas injertadas con bacteria <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i>	36
Cuadro 5. Análisis de Varianza para grado de severidad (grado 0).....	38
Cuadro 6. Análisis de Varianza para grado de severidad moderado (grado 1).....	39
Cuadro 7. Análisis de Varianza para grado severo (grado 2)	40
Cuadro 8. Prueba de medias para el Peso de Tubérculos por el comparador LSD-Fisher al nivel del 0.05% a la interacción del factor de peso de tubérculos por tratamiento, para la variable tasa de multiplicación.....	47
Cuadro 9. Prueba de medias para el Numero de Tubérculos por el comparador LSD-Fisher al nivel del 0.05% a la interacción del factor de número de tubérculos por tratamiento, para la variable tasa de multiplicación.....	47
Cuadro 10. Prueba de Medias del Porcentaje de Tubérculos de Papas Infectados con Bacteria <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i> , por el comparador LSD-Fisher al nivel del 0.05% a la interacción del factor de número de tubérculos por tratamiento, para la variable tasa de multiplicación.....	48
Cuadro 11. Prueba de Medias del Porcentaje de Tubérculos de Papas Infectados con Bacteria <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i> , por el comparador LSD-Fisher al nivel del 0.05% a la interacción del factor de número de tubérculos por tratamiento, para la variable tasa de multiplicación.....	48
Cuadro 12. Prueba de Medias del Porcentaje de Tubérculos de Papas Infectados con Bacteria <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i> , por el comparador LSD-Fisher al nivel del 0.05% a la interacción del factor de número de tubérculos por tratamiento, para la variable tasa de multiplicación.....	49

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo biológico de la paratroya <i>Bactericera cockerelli</i>	11
Figura 2. Proceso de infección de la bacteria <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i> después de la inoculación por el vector Psilido de la papa.....	12
Figura 3. Croquis del área del experimento	20
Figura 4. Invernadero tipo capilla del programa de hortalizas, dentro de este, se encuentra una cubierta donde se colocaron las plantas injertadas.....	21
Figura 5. <i>Grado de severidad con escala 0 – 2</i>	22
Figura 6. <i>a y b) Colecta de ninfas en Chile pimiento y manera de transporte de las hojas con ninfas al laboratorio. (Finca Vista Volcanes S.A., 16-07-2015)</i>	23
Figura 7. <i>Inoculación de ninfas Bactericera cockerelli y macetas cubiertas dentro de caja con malla antiáfidos (Laboratorio de Biotecnología e invernadero ICTA, 17-07-2015). Fuente:</i> Fase de campo y gabinete ICTA-CIALO.....	24
Figura 8. <i>Se observa el tipo de injerto realizado y la forma en que fue colocada las plantas después del injerto.</i>	25
Figura 9. <i>Clasificación en grado de severidad</i>	26
Figura 10. Montajes de pruebas Gram, al lado izquierdo se observa un montaje de planta sana y al lado derecho se observa montaje en planta enferma.....	31
Figura 11. <i>Bacteria Liberibacter vista en un microscopio electrónico</i>	32
Figura 12. Montaje de prueba de Gram, vista en microscopio del laboratorio de Biología Molecular. – ICTA – 201	33
Figura 13. Bacteria <i>Liberibacter A)</i> en forma de bacilos y <i>B)</i> en forma de cocos. (Bove, 2010)....	33
Figura 14. Comparación de medias para el Peso Tubérculo de Papa.....	35
Figura 15. Comparación de medias para el número de tubérculos de papa	37
Figura 16. Comparación de medias para el porcentaje sano en fritura de tubérculo (grado 0).....	38
Figura 17. Comparación de medias para el porcentaje moderado grado 1 en fritura tipo chip.....	39
Figura 18. Comparación de medias para el porcentaje de severidad grado 2 fritura tipo chip.	40
Figura 19. Producción de Papa en Guatemala.....	50
Figura 20. Ubicación Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícola – ICTA –	50
Figura 21. Distribución Geográfica de <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i>	51
Figura 22. Inoculación de ninfas en plántulas de papa. A) Hoja con ninfas recolectadas, B) planta para inocular, C) planta inoculada, D) hoja enferma.	51
Figura 23. Ninfas de <i>Bactericera cockerelli</i> , en hojas de Chile pimiento (<i>Capsicum annum</i>).....	52
Figura 24. Plantas inoculadas.....	52
Figura 25. Injerto de empalme	53
Figura 26. Injerto tipo empalme y cubierto con parafilm en plantas de papa.	53
Figura 27. Injertación de plántulas de papa. A) 15 días, B) 20 días, C) 25 días, D) 30 días y E) 35 días.	54
Figura 28. Plantas testigo.	55
Figura 29. Sintomatología en las plantas de papa injertadas. a) Enrollamiento y amarillamiento, b) tallo de color morado, c y c-1) tubérculos aéreos).	55
Figura 30. Muestras enviadas al laboratorio para la realización de PCR.....	56

Figura 31. Hoja de resultados del laboratorio de Biología Molecular – UVG –.....	57
Figura 32. Gel de PCR para detección de la bacteria CaLso.	58
Figura 33. Fritura de tubérculo de papa de los 5 tratamientos más el testigo de la investigación. ..	59
Figura 34 Hojas enfermas con bacteria CaLso.....	60
Figura 35 Hoja sana (testigo)	60

RESUMEN

La presente investigación se realizó en las instalaciones del programa de Hortalizas y en el laboratorio de Biología Molecular, del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas, ICTA-CIALO, ubicado en el kilómetro 3.5 carretera a Olintepeque, departamento de Quetzaltenango.

El trabajo de investigación tuvo como finalidad diagnosticar, la bacteria *CaLso*, que afecta severamente el crecimiento de la planta causando pérdidas serias en el mercado y el consumo doméstico, así también en la industrialización.

Consistió en la realización de injertos en plantas de papa (*Solanum tuberosum*) que se encontraban en las etapas fenológicas de brotación, emergencia y crecimiento vegetativo, dichos injertos se realizaron con una diferencia entre tratamiento de 5 días entre cada uno, injertando sobre plantas sanas materiales infectados, los que previamente fueron inoculados con el agente causal de la infección de la bacteria *CaLso*, teniendo como objetivo determinar si se manifestaba en dichas plantas, ya que este agente patógeno tiene presencia especialmente en las etapas de crecimiento de biomasa o crecimiento vegetativo.

El diseño experimental utilizado fue Completamente al Azar, y para las variables tomadas en cuenta fueron peso, número de tubérculos y grado de severidad, donde se estudiaron 5 tratamientos más el testigo con 15 repeticiones por tratamiento.

Los tubérculos de cada tratamiento fueron sometidos a una prueba de fritura para obtener un porcentaje y así determinar el grado de severidad, realizando subgrupos para obtener un porcentaje de daño con una escala de 0-2.

La detección del patógeno se realizó mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional, resultando ser negativo para la bacteria *CaLso*, en todas las muestras.

Los resultados obtenidos permiten concluir que el injerto es una de las técnicas apropiadas para realizar un diagnóstico de *CaLso* en todos los estadios fenológicos evaluados dejando como planta indicadora, el injerto a los 30 días después de la siembra por que presenta todos los síntomas descritos para la patología de *CaLso*.

SUMMARY

This research was conducted at the premises of vegetables and program in the laboratory of Molecular Biology, Institute of Agricultural Science and Technology, ICTA-CIALO, located at kilometer 3.5 Olinstepeque road, Quetzaltenango department.

The research aimed to diagnose, the Calso bacteria, which severely affect plant growth causing serious losses in the market and domestic consumption, so in industrialization.

It consisted of performing grafting of plants potato (*Solanum tuberosum*) that were in the phenological stages of sprouting, emergence and vegetative growth, such grafts were performed with a difference between treatment 5 days between each grafting on healthy plants materials infected, which were previously inoculated with the causal agent of infection Calso bacteria, aiming to determine whether manifested in these plants, since this pathogen is present especially in the stages of growth of biomass or vegetative growth.

The experimental design was completely random, and the variables were taken into account weight, number of tubers and severity, with 5 more treatments were studied the witness with 15 repetitions per treatment.

Tubers of each treatment were subjected to a test to obtain a percentage frying and determine the degree of severity, performing subgroups for a percentage of damage with a scale of 0-2.

Pathogen detection was performed using the chain reaction of conventional PCR (polymerase), being negative for bacteria Calso in all samples.

The results obtained indicate that the graft is one appropriate for diagnosis of Calso in all phenological stages evaluated leaving as indicator plant, the graft at 30 days after planting by presenting all the symptoms described for technical Calso pathology.

1. INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum*), es una de las hortalizas que tiene gran importancia dentro de la agricultura guatemalteca tanto desde la producción para comercialización como para consumo familiar, la primera se destina principalmente al abastecimiento del mercado nacional y parte del Centroamérica.

En nuestro país, la mayor cantidad de plantaciones de papa está concentrada en el altiplano occidental; en el año 2013 la producción fue aportada de la siguiente manera: Huehuetenango 32%, San Marcos 21%, Guatemala 5%, Sololá 4%, Quetzaltenango 23% y los demás departamentos de la república suman el 15% restante (ver anexo 18).

Desde hace algún tiempo, el sector productor de papa ha venido enfrentando múltiples problemas que inciden directamente en el rendimiento del tubérculo, debido a diferentes enfermedades y plagas; que reducen considerablemente la cosecha, entre los que se encuentran, los virus, fitoplasmas, hongos y bacterias, que puede ocasionar la pérdida total de la producción.

Debido a lo anterior se planteó este estudio con la finalidad de diagnosticar de una manera práctica, la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* (*CaLso*), que afecta severamente el crecimiento de la planta, causando amarillamiento de las hojas, tubérculos aéreos y pérdida principalmente en la calidad del tubérculo, debido a que exhiben líneas oscuras a lo interno específicamente en el anillo vascular, que se tornan más visibles al momento de la fritura y por lo tanto son inaceptables comercialmente, causando pérdidas serias en el mercado y el consumo doméstico, así también en la industrialización.

Entre otras cosas, también los tubérculos infectados generalmente no brotan, y si lo hacen, producen brotes ahilados obteniendo plantas débiles y al final no son aptos para la producción de semilla.

Esta bacteria de acuerdo con Ortega, Santambrosio, y Garibaldi (2014), la han clasificado como un parásito obligado del floema, Gram-negativa, no cultivable *in vitro* y por ello su dificultad para aislarla. Es una bacteria muy poco conocida, ya que solamente se encuentra íntimamente asociada al insecto identificado como psílido de la papa *Paratriozacockerelli* Sulc (Munyanza, 2014).

Debido a que la bacteria no se ha podido aislar *in vitro* y lograr el diagnóstico de dicho patógeno, en la presente investigación, se procedió a la aplicación del método del injertación en el cultivo de la papa variedad Loman, en diferentes etapas fenológicas para el

diagnóstico de *CaLso*., bajo condiciones controladas y determinar en cuál de estas etapas de injertación se puede considerar como una planta indicadora de dicha enfermedad.

El presente estudio se realizó en los invernaderos del programa de hortalizas y laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas –ICTA-CIALO. Labor Ovalle, Quetzaltenango(ver anexo 19), para establecer una técnica de diagnóstico para *CaLso* y determinar en qué estadio fenológico se puede obtener plantas indicadoras que serán utilizadas posteriormente en investigaciones que se realicen en el programa de hortalizas del ICTA.

Este estudio se dividió en tres fases, la primera de ellas fue buscar la fuente de inóculo, para la cual se realizó una colecta de hojas con ninfas de diferentes estadios *Bacteriaceacockerelli* (paratrioza) en plantas de chile pimiento (*Capsicumannuum*), posteriormente se inocularon de 10 a 15 ninfas por planta de papa sembradas en maceta, cubriéndolas con cajas con malla antiáfido, para que la paratrioza cumpliera ahí su ciclo de vida.

La segunda fase consistió en realizar injertos de las plantas de papa previamente inoculadas sobre plantas sanas en diferentes estadios fenológicos y determinar el grado de infección y sintomatología provocado por la bacteria.

La tercera fase se desarrolló en dos momentos, el primero para corroborar la presencia de bacilos Gram Negativos (-) a través de la tinción Gram en las hojas y tallos en las plantas indicadoras de los diferentes estadios fenológicos y compararla con las plantas testigos; y el segundo utilizando la técnica de reacción en cadena de polimerasa (PCR) convencional para las muestras de plantas de papa (*Solanumtuberosum*) para la detección de la presencia de *CaLso*; diagnóstico que se realizó en el laboratorio de Fitopatología de la Universidad del Valle de Guatemala (UVG).

Los resultados obtenidos permitieron concluir que el injerto es una de las técnicas apropiadas como plantas indicadoras, para realizar un diagnóstico de *CaLso* en todos los estadios fenológicos evaluados dejando como planta indicadora, el injerto a los 30 días después de la siembra porque presenta todos los síntomas descritos para la patología de *CaLso*.

1.1. JUSTIFICACIÓN

El sector productivo de papa ha venido enfrentando múltiples problemas que inciden directamente en el rendimiento del tubérculo, debido a diferentes enfermedades y plagas; que reducen en un 50% de la cosecha, entre los que se encuentran, los virus, fitoplasmas, hongos y bacterias (Tiznado, 2007-2009)

Últimamente en nuestro país se ha observado una enfermedad que está provocando mucho daño en los cultivos de papa (*Solanum tuberosum*), tomate (*Solanum lycopersicum*) y chile pimiento (*Capsicum annum*). El agente causal de esta enfermedad ha sido muy poco conocido en nuestro país, pero se ha observado que está estrechamente relacionado con la aparición del insecto *Bactericera cockerelli*, que está reportado por ser uno de los principales vectores de fitoplasmas y bacterias vasculares. En el caso particular de la papa (*Solanum tuberosum*) esta enfermedad ha causado a los agricultores grandes pérdidas económicas y en el consumo doméstico.

Debido a lo anterior se planteó este estudio con la finalidad de proponer un método para diagnosticar la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* (*CaLso*) a través del injerto de la plantas indicadoras, que afecta severamente el crecimiento de la planta, cuyos síntomas son enrollamiento de las hojas hacia el haz, amarillamiento de hojas, tallos de coloración púrpura, tubérculos aéreos y hasta la muerte completa de la planta.

El objetivo principal de la presente investigación es hacer uso de la técnica de injerto en el cultivo de la papa variedad Loman, en diferentes etapas fenológicas para el diagnóstico de *CaLso*, bajo condiciones controladas y determinar en cuál de estas etapas se puede considerar como una planta indicadora.

Este método se aplica en nuestro país, pero lamentablemente es muy caro al querer realizar una prueba de PCR en laboratorios de biotecnologías.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. General

Validar un método de diagnóstico para la identificación de la bacteria *CaLso* en diferentes etapas fenológicas utilizando la técnica de injerto en el cultivo de la papa (*Solanumtuberosum*).

1.2.2. Específicos

- Establecer si la técnica de injerto en plantas de papa es propicio para el diagnóstico de la presencia de *CaLso*.
- Determinar en qué etapa fenológica del cultivo de la papa se manifiesta la sintomatología de *CaLso*, para utilizarla como una planta indicadora.
- Aplicar la técnica de PCR convencional para determinar la presencia de la bacteria *CaLso*.

1.3. HIPÓTESIS

Ho₁ El injerto en las plantas de papa no favorece a la expresión de los síntomas visible de la presencia de la bacteria *CaLso*.

Ha₁ El injerto en las plantas de papa favorece a la expresión de los síntomas visibles de la presencia de la bacteria *CaLso*.

Ho₂. Ninguna de las etapas fenológicas en el cultivo de la papa se constituye como una planta indicadora para la bacteria *CaLso*.

Ha₂. En cualquiera de las etapas fenológicas del cultivo de la papa, existirá una planta indicadora de la bacteria *CaLso*.

Ho₃. La técnica de PCR en laboratorio no identificará la presencia de la bacteria *CaLso*.

Ha₃. La técnica de PCR en laboratorio sí identificará la presencia de la bacteria *CaLso*.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Descripción del cultivo de papa

En Guatemala, la papa es un cultivo propio de regiones frías o templadas a altitudes de 1,500 a 3,600 msnm. Las regiones productoras se establecen en los departamentos de Huehuetenango, San Marcos, Quetzaltenango, Sololá, El Quiché, Chimaltenango, Guatemala, Jalapa, Alta y Baja Verapaz, (Mejicanos, 2008).

La papa representa para una gran mayoría de agricultores parte de su dieta básica, especialmente en el altiplano occidental. La papa es uno de los alimentos más nutritivos para el ser humano, tiene proteínas de buena calidad e índice de valor biológico alto (igual a 73.0 que corresponde a cerca del 77% del valor biológico de la proteína del huevo)(García, 2012). La relación de proteínas y calorías disponibles indica que puede ser una de las mejores alternativas alimentarias para los pueblos de los países en desarrollo y subdesarrollo. Es uno de los cultivos que presentan mayor producción y proteína por hectárea por día(Rivera, 2008).

El cultivo de la papa, requiere para su crecimiento, una variación de temperatura ambiental de la siguiente manera: después de la siembra, la temperatura debe alcanzar hasta 20⁰C para que la planta desarrolle bien. Luego, se necesita una temperatura más alta para un buen crecimiento del follaje, aunque no debe pasar de los 27⁰C. Las temperaturas medias óptima deben ser de 15-18⁰C y las temperaturas medias por debajo de 5⁰C no son convenientes. (Rivera, 2008).

El tubérculo no requiere luz para brotar. Sin embargo, cuando la planta ha emergido, necesita bastante luz para su desarrollo. Un sol fuerte durante mucho tiempo reduce la producción(García, 2012).

La planta de la papa necesita agua continua durante la etapa de crecimiento. Durante la primera etapa de su desarrollo, laprecipitación o cantidad óptima de agua requerida es de 600 mm., distribuida en todo su ciclo vegetativo; las mayores demandas se dan en las etapas de germinación y crecimiento de los tubérculos, por lo cual, es necesario efectuar riesgos suplementarios en los períodos críticos o cuando no se presenta lluvia (Roman, 2002).

Una lluvia fuerte después de un período de sequía, provoca cambios en el crecimiento y desarrollo del tubérculo, disminuyendo su calidad (puede provocar lesiones o rajaduras a nivel de la piel del tubérculo o malformaciones)(French, 1980).

2.1.1. Etapas fenológicas de la papa(Roman, 2002).

- a) **Emergencia:** Los brotes emergen a los 10-12 días en tubérculos, y de 8 a 10 días en semilla sexual, cuando son plantados en el campo y tienen las condiciones adecuadas de temperatura y humedad en el suelo, para su desarrollo.
- b) **Desarrollo de tallos:** En esta etapa, hay crecimiento de follaje y raíces en forma simultánea; dura entre 20 a 30 días.
- c) **Tuberización y floración:** La floración es señal de que la papa comienza a emitir estolones o que inicia la tuberización. En variedades precoces, esto ocurre a los 30 días después de la siembra; en variedades intermedias entre los 35 a 45 días, y en las tardías entre 50 a 60 días.
- d) **Desarrollo de los tubérculos:** Los tubérculos alcanzan la madurez fisiológica a los 75 días, en variedades precoces, 90 días para intermedias y 120 días para variedades tardías. En esta etapa los tubérculos pueden cosecharse y almacenarse. (Roman, 2002)

2.2 Bacteria *CandidatusLiberibacter*

2.2.1Taxonomía de la bacteria:

- Dominio: Bacteria
- Phylum: Proteobacteria
- Grupo: Alphaproteobacteria
- Orden: Rhizobiales
- Familia: *Phyllobacteriaceae*
- Género: *CandidatusLiberibacter*
- Especie: *CandidatusLiberibactersolanacearum*
- Nombre común: Zebra chip.

El término *Candidatus Liberibacter* es una bacteria Gran Negativa (-), bacteria que no se puede cultivar in vitro, pertenece al grupo alphaproteobacterias. El principal vector de estas

bacterias son los psílidos, además la detección de los *Liberibacterse* basa en la aplicación con cebadores específicos por el método de PCR de su gen(Tapia, 2009). El género de los psílidos fue descrito originalmente como *Liberobacter* (Guerra, 2012).

2.3 Distribución geográfica

La bacteria *CandidatusLiberibactersolanacearumse* ha determinado en varios países que cultivan la papa y otras solanáceas, como México, Estados Unidos, **Guatemala**, Honduras, Nicaragua(ver anexo 20) (Baldón, 2012).

Esta bacteria se ha asociado con algunas enfermedades en cultivos como: tomate (*SolamunLycopersicum*), papa (*Solamuntuberosum*) y otras solanáceas, en algunos países de América y más recientemente en Nueva Zelanda. Principalmente se ha encontrado asociado a la enfermedad de la papa llamada “Zebra chip” (ZC), la cual causa pérdidas económicas significativas y reduce la calidad de la producción en dicho cultivo(Munyanza, 2014).

Estudios recientes han mostrado que una nueva especie de una bacteria no cultivable denominada *CandidatusLiberibactersolanacearum* (*CaLso*)¹, es responsable de la enfermedad “Punta morada de la papa – manchado del tubérculo” Zebra chip y es transmitida por *Bactericeracockerelli*(Guerra, 2012).

2.4 Vectores de la bacteria *CandidatusLiberibactersolanacearum*

Insecto descubierto en 1,909 en el estado de Colorado (USA) por el investigador Cokerell, y Sulc lo denominó científicamente como *Triozacokerelli*, aunque más tarde se le cambió el nombre de *Bactericera* (*Paratrioza*) *cockerelli* (Guerra, 2012).

La *ParatriozaBactericeracokerelli*: es un insecto que pertenece al Orden Hemiptera; Suborden Sternorrhyncha; Super familia Psylloidea y la Familia, Psyllidae, por lo que se le conoce también con el nombre de psílido.

Se ha relacionado a *Bactericeracokerelli* con dos enfermedades contagiosas: “permanente del tomate” y “punta morada de la papa-manchado del tubérculo” y actualmente con la enfermedad de la papa denominada “Zebra chip” actualmentese le ha relacionado a la bacteria recién descrita *CaLso* como agente causal (Munyanza, 2014).

¹CandidatusLiberibactersolanacearum – CaLso -

2.5 *BactericeraCockerelliSulc*

Al insecto Paratrioza; Sulc(Muñiz, 2015), fue quien lo nombró por primera vez como *Bactericera. cockerelli* como *Triozacockerelli*, aunque después esta especie se confirmó como *ParatriozaCockerelli* ubicada en la familia Psyllidae del orden Homóptera. Actualmente, *B. cockerellise* ha reclasificado en la familia Triozidae, súper familia Psylloidea y es conocida comúnmente como pulgón saltador, psílido de la papa, psilido del tomate, salerillo o simplemente paratrioza (Tiznado, 2007-2009).El ciclo biológico de la plaga es de 27 días(ver figura 1 y anexo 21 y 22)

Cuadro 1. Ciclo biológico de la paratrioza *Bactericera cockerelli* Sulc.

Estado / estado	Días
Huevos a Ninfa 1	5.50
Ninfa 1 a ninfa 2	4.10
Ninfa 2 a ninfa 3	3.60
Ninfa 3 a ninfa 4	4.10
Ninfa 4 a ninfa 5	3.60
Ninfa 5 a adulto	6.10
Total	27
23 °C promedio. La temperatura ideal para su desarrollo	

Fuente: INIFAP-C.E. Valle del Fuerte , SAGARPA, México

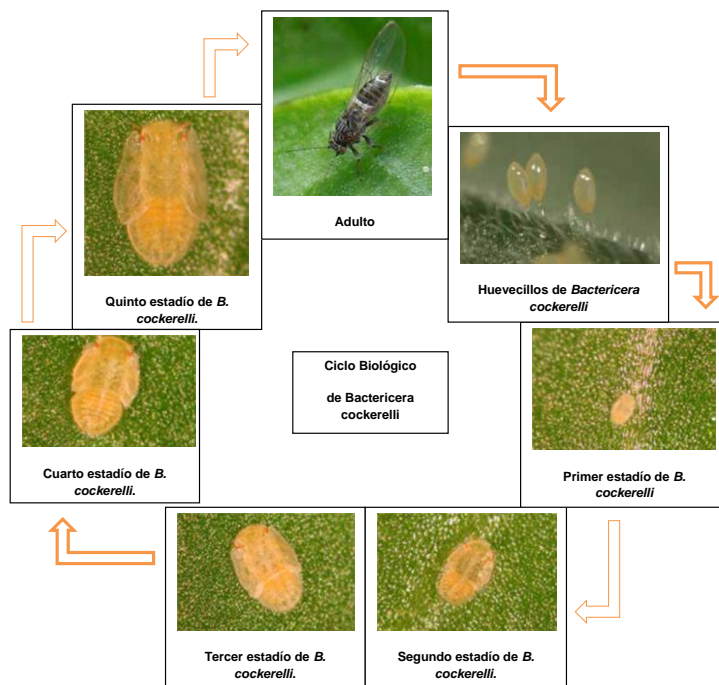


Figura 1. Ciclo biológico de la paratrioza *Bactericera cockerelli*

Fuente: Muñiz (2015)

Es una plaga con un ciclo biológico de 27 días que se alimenta de la savia de las plantas hospederas, principalmente papa, aunque se puede presentar en otras solanáceas, ocasionando dos tipos de daños, (ver figura 2). (González A. V., 2014):

- a) **Daño directo:** es proporcionado por la infección de la toxina, la cual es transmitida únicamente por las ninfas, dicha toxina ocasiona que las plantas se vean amarillentas y raquílicas, afectando el rendimiento y la calidad de los tubérculos.
- b) **Daño indirecto:** es considerado más importante que el daño directo, ya que es ocasionado por la bacteria “*CaLso*”, la cual es transmitida tanto por las ninfas como por los adultos y es la responsable de las enfermedades conocidas comúnmente como la punta morada y zebra chip de la papa.(Tiznado, 2007-2009) como se muestra a continuación.

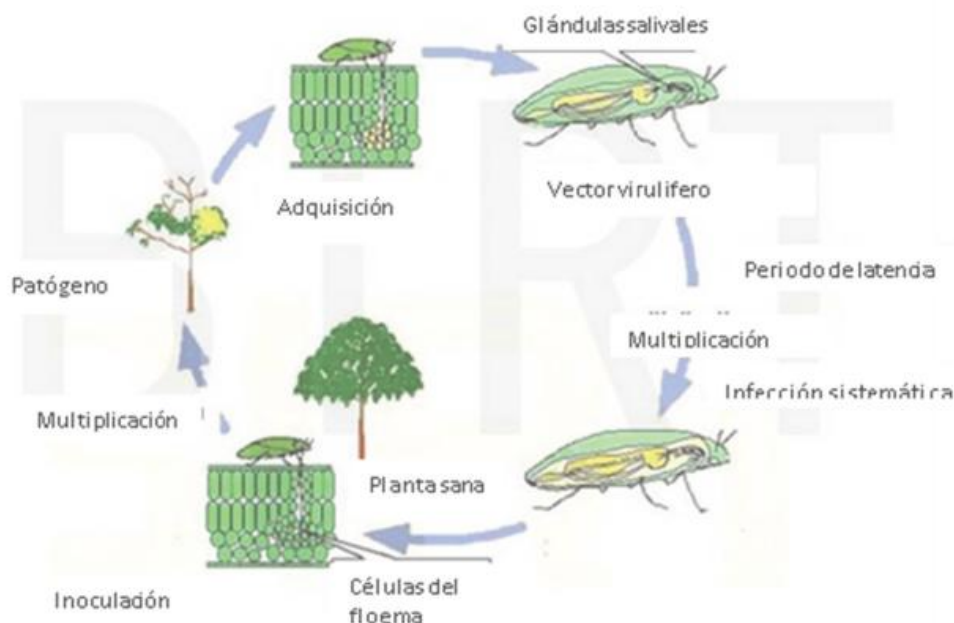


Figura 2. Proceso de infección de la bacteria *Candidatus Liberibacter solanasearum* después de la inoculación por el vector *Psilido de la papa*

Fuente: Sandoval (2010)

2.6 Zebra Chip

Zebra Chip (ZC), es una enfermedad de la papa documentado por primera vez en los campos de Saltillo en México en 1994 y América Central y está causando pérdidas de millones de dólares a esta industria especialmente en **Guatemala**, México y el sureste de Estados Unidos(González J. , 2012).

Esta enfermedad causa amarillamiento de las hojas y reducción del número de tubérculos producidos, pero su principal característica son las rayas claras y oscuras que se observan en las papas recién cortadas, las cuales son rayas parecidas a las de la piel de la cebra (*Equus burchelli*), las cuales se forman debido a una alteración en la concentración de azúcares, y que se hacen más evidentes cuando los tubérculos se fríen(Trejo, 2014).

Los tubérculos infectados por Zebra chip generalmente no brota y si lo hacen, producen brotes ahilado o las plantas débiles. Por último, hay indicios de que los síntomas de Zebra chip se pueden desarrollar en los tubérculos durante el almacenamiento. Zebra chip se ha asociado con una especie no descrita de *Liberibacter*, llamado tentativamente “*CaLso*”, también conocido como “*CandidatusLiberibacterpsyllauros*” (Tiznado, 2007-2009).

Estudios recientes han mostrado que una nueva especie de una bacteria no cultivable denominada *CaLso*, es responsable de la enfermedad “Punta morada de la papa manchado del tubérculo” (Zebra chip) y es transmitida por *B. cockerelli* (Tiznado, 2007-2009).

2.7 Diagnóstico de la bacterias *CandidatusLiberibactersolanacearum*

2.7.1. Injerto

El injerto es el proceso por el cual dos porciones de tejido vegetal viviente son unidas entre sí, con la finalidad que luego ambos se desarrollen como si se tratara de una sola planta. El injerto es considerado como una práctica de propagación asexual que permite el desarrollo de una variedad vegetal interrelacionada con otra y que cuyo producto de dicha interrelación brinde un producto óptimo y deseado(Tentaya, 2010).

El fin primordial del injerto para estos casos se ha desarrollado para la transmisión agentes patógenos como bacterias y virus; es suficiente con que se establezca la unión entre el tejido infectado y el tejido sano de la planta en prueba para que se manifiesten las sintomatologías respectivas, actividad que se introdujo en los Estados Unidos hace casi más de 20 años(Tentaya, 2010).

Las finalidades del injerto pueden ser muy diversas:

- Cambiar los cultivares de plantas ya establecidas.
- Acelera la madurez reproductora de selecciones de plántulas obtenidas en programas de hibridación.
- Obtener formas especiales de crecimiento de las plantas.
- Estudiar enfermedades virales, algunas bacterianas
- Obtener beneficios de ciertos patrones(González M. , 1980).

2.8 Técnica de diagnóstico de enfermedades en plantas cultivadas.

Los patógenos vasculares que infectan a los cultivos de forma sistémica, en ocasiones no son detectados por la manifestación de síntomas en las plantas, por lo que se requiere utilizar otros procedimientos para realizar su diagnóstico. Actualmente se dispone de procedimientos moleculares para el diagnóstico de virus, viroides, bacterias y fitoplasmas que ocasionan severas enfermedades. Sin embargo, existe un importante grupo de enfermedades poco caracterizadas cuyo diagnóstico está limitado al uso de plantas indicadoras(Batista L, 2014).

El diagnóstico de enfermedades de manera precisa, confiable y rápida en la obtención de los resultados, exactitud, sensibilidad, costo, disponibilidad de reactivos específicos, instalaciones y personal especializado es la base para la aplicación exitosa de programas de producción de material de propagación certificado es indispensable utilizar métodos de diagnóstico de avanzada generación(Mejicanos, 2008).

2.9 Métodos de diagnóstico para *CandidatusLiberibacter*

La baja concentración y distribución irregular de la bacteria en plantas infectadas con *CandidatusLiberibacter* dificultan la detección de forma consistente. Diversos métodos de detección se han desarrollado, incluyendo el indexado biológico, microscopía electrónica, PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) convencional y PCR cuantitativa (qPCR). No obstante, para la aplicación de estrategias de manejo es necesario desarrollar metodologías de diagnóstico más sensibles que permitan la detección de la bacteria en tejidos asintomáticos (Baldón, 2012).

2.10. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR):

Por medio de la variante convencional del PCR se han diagnosticado los patógenos de *CandidatusLiberibacter* y recientemente un nuevo fitoplasma con sintomatología

semejante a la de Huanglongbing (HLB) conocida como enverdecimiento de los cítricos (Innis, 1999).

Conocida como PCR por sus siglas en inglés (polymerasechainreaction), es una técnica de biología molecular desarrollada en 1986 por Katy Mullis² (Gonzalo, 2007). La Reacción de cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica empleada para la detección de patógenos. Se basa en el principio de la complementariedad de las bases de los ácidos nucleicos y la capacidad de síntesis del ADN por parte de la enzima polimerasa. Para la síntesis *in vitro* del ácido nucleico de interés, éste se amplifica con el empleo de oligonucleótidos cebadores que se unen a ambos lados de la cadena de nucleótidos (Innis, 1999).

A nivel internacional el diagnóstico de patógenos no cultivables *in vitro*, fitoplasmas y bacterias no cultivables, se realiza fundamentalmente mediante técnicas moleculares, como la PCR debido a su alta sensibilidad y amplias posibilidades de aplicación. (Ortega, 2014); y que ofrece una muy alta probabilidad de identificación de virus o bacterias causantes de una enfermedad (Maxam, 2014).

2.10.1. PCR en tiempo real (QPCR)

Reacción de PCR cuya principal característica es que permite cuantificar la cantidad de ADN o ARN presente en la muestra original, o para identificar con una muy alta probabilidad, muestras de ADN específicas a partir de su temperatura de fusión (también denominado valor T_m , del inglés melting temperatura) (Ortega, 2014).

2.11. Fritura de papa

Este método consiste en realizar la fritura de la papa, realizando rebanadas del tubérculo y sumergirlas en aceite caliente a lo cual la bacteria induce la transformación de almidones a azúcar en el tubérculo, la cual se carameliza al contacto con las altas temperaturas al freír, dándole un aspecto de quemado irregular a las tajadas, condición que se ha denominado papa manchada (Zebra chip).

2.12. Tinción de Gram

Es un método de tinción en el laboratorio de microbiología; el fundamento de la técnica se hace con base en las diferencias entre las paredes celulares de las bacterias Gram positivas que posee una gruesa capa de peptidoglucano y cuando se manifiesta de forma positiva su

² Pertenece a la Cetus corporation en California, en la década de 1980. Vartlett & Stirling (2003) A Short History of the Polymerase Chain Reaction. In: Methods Mol Biol. 226:3-6.

tinción esen color azul fuerte, y las bacterias Gram negativas cuya capa de peptidoglucano es delgada, y se encuentra unida a una segunda membrana plasmática exterior (de composición distinta a la interna) por medio de lipoproteínas. Tiene una capa delgada de peptidoglucano unida a una membrana exterior por lipoproteínas, la membrana exterior está hecha de proteína, fosfolípido y lipopolisacárido (que se encuentra en la cara externa de la membrana externa de este tipo de bacteria)(French, 1980).

La diferencia que se observa en la resistencia a la decoloración, es debido a que la membrana externa de la Gram negativas es soluble en solventes orgánicos, como por ejemplo la mezcla de alcohol/acetona, la capa de peptidoglucano que posee es demasiado delgada como para poder retener el complejo de cristal violeta/yodo que se formó previamente, y por lo tanto este complejo se escapa, perdiéndose la coloración azul-violácea por lo que la coloración es en rosado a los Gram negativos(Gram, 2016).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Descripción del área de estudio

El Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas, ICTA - CIALO, se encuentra ubicado en el municipio de San Juan Olintepeque, del departamento de Quetzaltenango, a 2 Km. de la cabecera municipal de Olintepeque. Las coordenadas son 14°52'16" Latitud Norte y 91°30'52" Longitud Oeste y a una altitud de 2,454msnm. Tiene una extensión territorial de 21.02 Ha., divididas en 7.81 hectáreas para instalaciones y 13.21 hectáreas para el desarrollo de investigación y producción agrícola y pecuaria(Yax, 2015).

3.2. Metodología

3.2.1. Descripción de la investigación

El estudio consistió en la realización de injertos en plantas de papa (*Solanumtuberosum*) que se encontraban en tres etapas fenológicas diferentes: brotación, emergencia y crecimiento vegetativo, dichos injertos se realizaron con una diferencia entre tratamiento de 5 días entre cada uno. Los injertos se realizaron sobre plantas sanas, los que previamente fueron inoculados con el agente causal de la infección de la bacteria *CandidatusLiberibactersolanacearum*, para determinar si dicha enfermedad se manifestaba en las plantas injertadas en las diferentes etapas fenológicas, ya que este agente patógeno tiene presencia especialmente en las etapas de crecimiento de biomasa o crecimiento vegetativo.

3.2.2. Diseño experimental

Para la investigación se utilizó un diseño cuantitativo experimental Completamente al azar, ya que este cultivo se trabajó bajo condiciones controladas en un invernadero tipo capilla con cubierta de nylon pigmentado calibre 0.7 micras, de 5 metros de largo y 6.10 metros de ancho.

En el invernadero donde se llevó a cabo la investigación fueron ubicadas un total de 90 macetas plásticas con un volumen de 8 litros que alojó a cada una de las plantas que correspondió a cada unidad experimental.

Se estudió tres factores a) número de tubérculo, b) peso de tubérculo y c) porcentaje de infección de la bacteria en fritura tipo chip de tubérculo, más el testigo obtenido para cada tratamiento. Estos tres factores determinan el efecto de la presencia de la bacteria en el cultivo de papa.

3.2.3. Descripción de los tratamientos

Se utilizaron seis tratamientos, cinco de ellos consistieron en realizar los injertos en diferentes etapas fenológicas del cultivo de la papa, y un tratamiento como testigo relativo. Las plantas de donde provenían los injertos previamente fueron inoculadas con la bacteria *CaLso*. Cada tratamiento incluyendo al testigo contó con quince repeticiones dentro de la misma área de investigación (ver anexo 27 y 28).

3.2.3.1. Tratamiento 1.

El injerto se realizó en las plantas de papa se encontraban en la etapa fenológica de emergencia, la que coincidió con los primeros 15 días después de la siembra del tubérculo sano.

3.2.3.2. Tratamiento 2

El injerto se realizó en las plantas de papa que se encontraban en la etapa fenológica de desarrollo de tallo, en donde hay crecimiento de follaje y raíces en forma simultánea, a los 20 días después de la siembra del tubérculo sano.

3.2.3.3. Tratamiento 3

El injerto se realizó en las plantas de papa que se encontraban en la etapa fenológica de desarrollo de tallo, a los 25 días después de la siembra de los tubérculo sano.

3.2.3.4. Tratamiento 4

El injerto se realizó en las plantas de papa que se encontraban en la etapa fenológica de tuberización y floración, a los 30 días después de la siembra del tubérculo sano.

3.2.3.5. Tratamiento 5

El injerto se realizó en las plantas de papa que se encontraban en la etapa fenológica de tuberización y floración, fue realizado a los 35 días después de la siembra de los tubérculos sanos.

3.2.3.6. Tratamiento 6 (Testigo relativo)

Este tratamiento sirvió para evaluar los sucesos del cultivo de papa sin ser sujeto de injertación (al igual que los demás tratamientos propuestos los tubérculos-semilla fueron sembrados el mismo día, recibiendo el mismo manejo agronómico).

3.2.4. Modelo matemático

Utilizando un modelo estadístico experimental completamente al azar, para cada factor a evaluar como se muestra a continuación.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde

i = tratamientos.

μ = media general.

j = repeticiones.

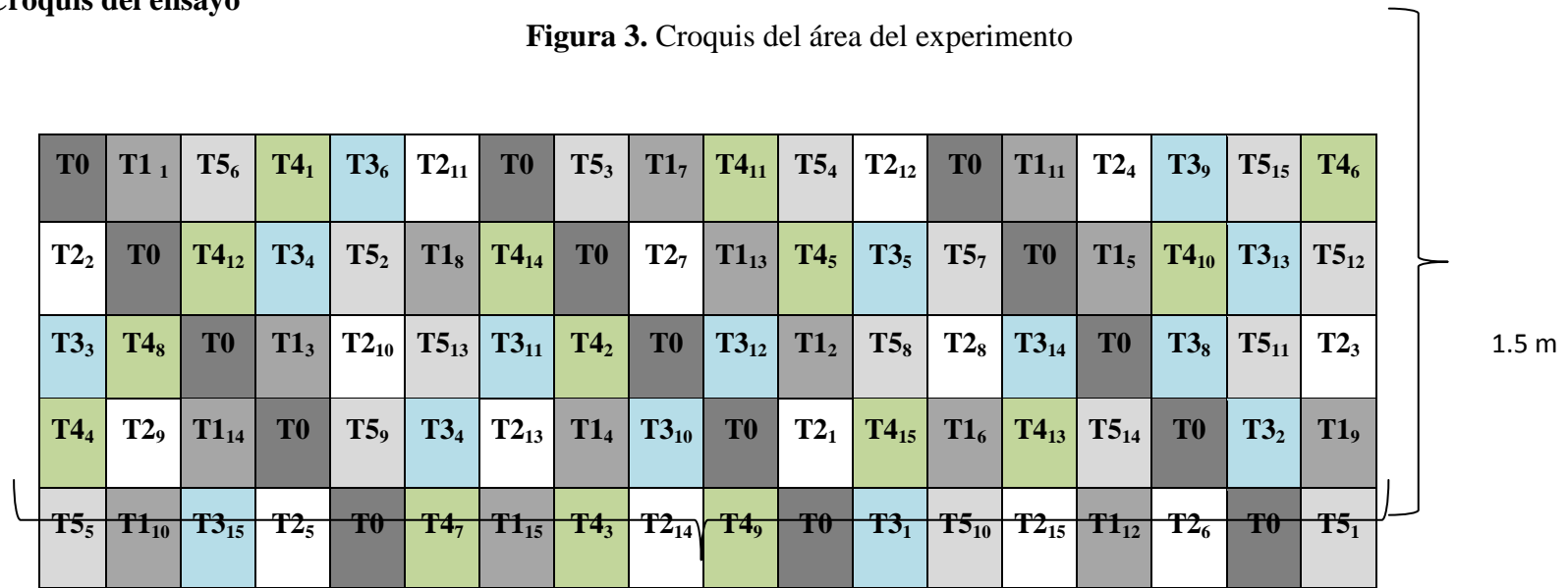
T_i = efecto del tratamiento i .

Y_{ij} = Variable de la respuesta en la j -ésima repetición del i -ésimo tratamiento.

E_{ij} = Error experimental

Croquis del ensayo

Figura 3. Croquis del área del experimento



Tratamientos	Edad para inyección	
T1	15 Días	T1 ₁
T2	20 Días	
T3	25 Días	
T4	30 Días	
T5	35 Días	
T0	Testigo	

4.5 m

Tratamiento

Repetición

Fuente: Elsa Marina García Quex

3.2.5. Unidad experimental

En el invernadero donde se llevó a cabo la investigación fueron ubicadas un total de 90 macetas plásticas con un volumen de 8 litros que alojó a cada una de las plantas que correspondió a cada unidad experimental.

- Área total = 4.5 m x 1.5 m
- Parcela neta = parcela bruta = 1 maceta



Figura 4. Invernadero tipo capilla del programa de hortalizas, dentro de este, se encuentra una cubierta donde se colocaron las plantas injertadas.

Fuente: Fase de campo y gabinete ICTA –CIALO

3.2.6. Variables de respuesta

Para dar respuestas a los objetivos e hipótesis planteados en la presente investigación se tomó la siguiente información de las unidades experimentales.

a) Variables observadas Sintomatología

Se observaron los síntomas que presenta la bacteria (amarillamiento y enrollamiento de las hojas, tamos morados, tubérculos aéreos) que los autores reportan (Sandoval, 2010) más el diagnóstico de Gram negativa.

b) Variables del laboratorio

Las muestras positivas indicaron la presencia de la bacteria con el signo positivo (+), para las muestras negativas que nos indica la ausencia del patógeno se presentan con el signo negativo (-).

c) Peso total de los tubérculos:

Para determinar la relación entre el tubérculo y grado de infección de la bacteria se tomó como variable el peso poscosecha total de los tubérculos que se alcanzaron en los diferentes tratamientos evaluados expresados en gramos.

d) Número de tubérculos:

Esta variable fue considerada para determinar la relación entre el número de tubérculos y grado de infección de la bacteria. Se determinó el número de tubérculos de cada tratamiento más el testigo evaluado, ésta se realizó después de la cosecha.

e) Porcentaje de grado de severidad de la Papa en fritura chip:

Esta variable indicó si el agente causal de esta enfermedad estaba provocando anomalías en la planta que tienen la designación de síntomas como: amarillamiento foliar y enrollamiento de las hojas, porciones bajas del tallo con coloración morada, producción de tubérculos aéreos o sea tubérculos producidos fuera del suelo (Sandoval, 2010).

f) Presencia del agente patógeno

Se realizó la fritura chip en los tubérculos de cada tratamiento más el testigo, del total evaluado se realizaron subgrupos en porcentaje de acuerdo al daño.

0 = Sano (fritura totalmente blanca) en porcentaje (%).

1= Moderado (marcando un anillo leve o en forma de puntos en la parte media de la fritura) en porcentaje (%).

2= Severo (marcando un anillo ancho desde la parte media hacia el centro de la fritura) en porcentaje (%).



Figura 5. Grado de severidad con escala 0 – 2

Fuente: Fase de campo y gabineteLab. Biología Molecular ICTA-CIALO

3.2.7. Manejo de experimento

3.2.7.1. Fuente de inóculo

En los meses de enero a junio del año 2015 las condiciones climáticas en Quetzaltenango favorecieron el crecimiento poblacional de la paratrioza; sin embargo, se identificó una fuente de inóculo en la finca Vista Volcanes S.A ubicado en el municipio de Chimaltenango (ver figura 6),logrando colectar las ninfas de paratrioza (*Bactericeracockerelli*) en el cultivo de chile pimiento (*Capsicumannuum*), las que posteriormente fueron trasladadas al laboratorio de biología molecular del ICTA-CIALO.

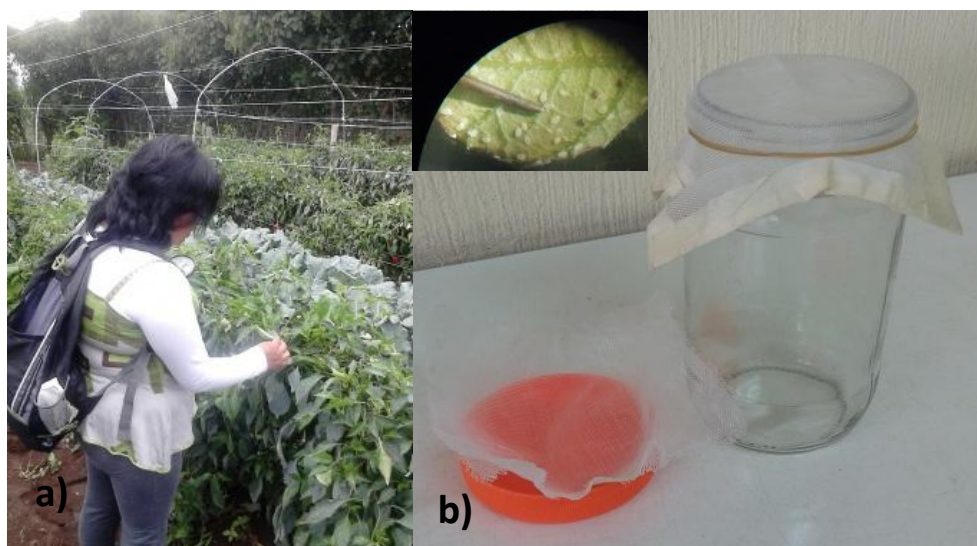


Figura 6. a y b) Colecta de ninfas en chile pimiento y manera de transporte de las hojas con ninfas al laboratorio. (Finca Vista Volcanes S.A., 16-07-2015)

Fuente: Fase de campo y gabinete ICTA-CIALO

3.2.7.2. Siembra de plantas para inocular

En invernadero fueron sembradas 20 macetas con papa de la variedad Loman con características de plantas sanas, y aquí fue donde se procedió a inocular el agente patógeno.

3.2.7.3. Inoculación de ninfa de *Bactericeracockerelli*

El total de las veinte plantas fueron inoculada con las ninfas colectadas para obtener plántulas enfermas con la bacteria en un periodo de 20 días; para lo cual se colocaron en promedio 15 ninfas por planta, distribuyéndolas en la parte alta, media y baja de la planta. Para garantizar su permanencia en constante contacto con las planta inoculadas y para que el insecto terminara su ciclo biológico, las plantas fueron cubiertas con cajas con malla antiáfidos, como se muestra a continuación.

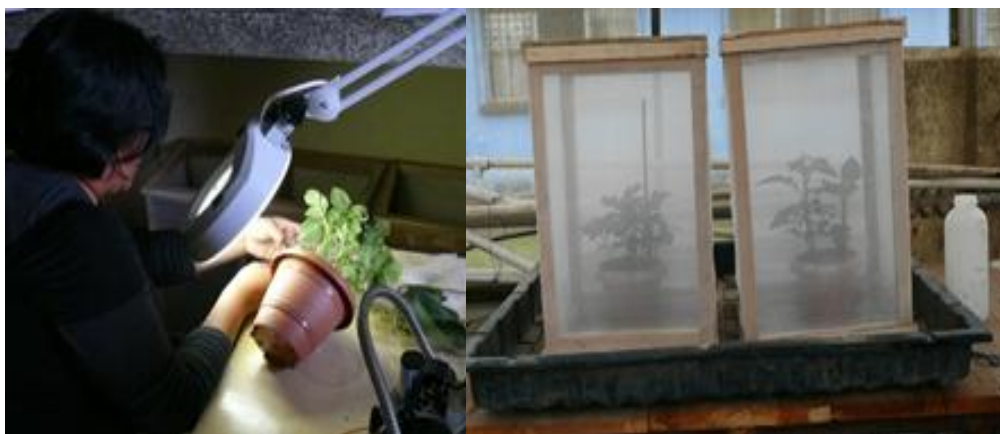


Figura 7. Inoculación de ninfas *Bactericera cockerelli* y macetas cubiertas dentro de caja con malla antiáfidos (Laboratorio de Biotecnología e invernadero ICTA, 17-07-2015). **Fuente:** Fase de campo y gabinete ICTA-CIALO

3.2.7.4. Siembra de macetas para la injertación

Los tubérculos de los diferentes tratamientos fueron sembrados progresivamente en macetas debido a que se contaba con poco material para injertar y se tuvo que esperar para que brotaran yemas nuevamente en las 75 plantas inoculadas para injertarlas, de igual manera sus testigos.

3.2.7.5. Primera Tinción de Gram

Previo a la injertación de las plantas sanas, se realizó la prueba Gram, en hojas y tallos de la planta inoculadas para comprobar que estuvieran infectadas con la bacteria, incluyendo las plantas testigo.

Utilizando los siguientes reactivos (violeta, lugol, alcohol 95%, agua destilada y fucsina) se realizó la tinción de Gram colocando muestras de hojas y tallos de cada tratamiento en cajas petrí, y se llevaron al laboratorio de Biología Molecular del ICTA, habiendo hecho pruebas previas y de validación en el Laboratorio de Fitopatología de la Carrera de Agronomía del Centro Universitario de Occidente.

3.2.7.6. Procedimiento de injertación

En los cinco tratamientos se realizó la injertación, en forma escalonada, las primeras plantas fueron injertada después de 15 días de siembra, la segunda a los 20 días, la tercera a los 25 días, la cuarta a los 30 días y por último la quinta a los 35 días después de cada siembra. Las plántulas testigos no fueron injertadas, pero sí se les dio el mismo manejo agronómico como a los diferentes tratamientos.

Se cortaron los esquejes de las plantas enfermas con bacteria, para realizar las injertaciones en las plántulas sanas, la injertación fue de tipo empalme porque es comúnmente utilizado en solanáceas, logrando hasta un 95% de pegue(ver anexo 24 y 25).

Después de injertadas las plantas en los cinco tratamientos, las macetas fueron colocadas en el invernadero, con una cubierta de nylon transparente más cedazo negro, para evitar el estrés de la planta controlando la humedad (75%) y luz, quitando el cedazo progresivamente hasta después de los 15 días de realizado el injerto.



Figura 8. Se observa el tipo de injerto realizado y la forma en que fue colocada las plantas después del injerto.

Fuente: Fase de campo y gabinete ICTA-CIALO

3.2.7.7. Detección de síntomas de *Candidatus Liberibacter solanacearum*

En los cinco tratamiento más el testigo, durante el ciclo de la papa, fueron observados detenidamente si presentaban los síntomas de la presencia de la bacteria(Sandoval, 2010).

3.2.7.8. Segunda Tinción de Gram

Después de efectuar los injertos, a los 26 días se realizó la prueba de Gram utilizando hojas, tallos y tubérculos, previo a mandarlas al laboratorio.

3.2.7.9. Envío de muestras al laboratorio

Para la realización de la técnica del PCR fue necesario enviar muestras al laboratorio de Biología Molecular, las partes seleccionadas de la planta fueron: el tallo morado, hojas amarillamientas, tubérculos aéreos. Las muestras fueron tomadas después de tres meses de haber realizado el injerto.

3.2.8. Clasificación de tubérculos

Se realizó la clasificación de los tubérculos de acuerdo a la fritura de las papas, donde se presentó mayor porcentaje de infección en los tratamientos injertados.

Se realizó la clasificación utilizando un porcentaje de grado de severidad donde: 0= Sano, 1= Moderado y 2= Severo

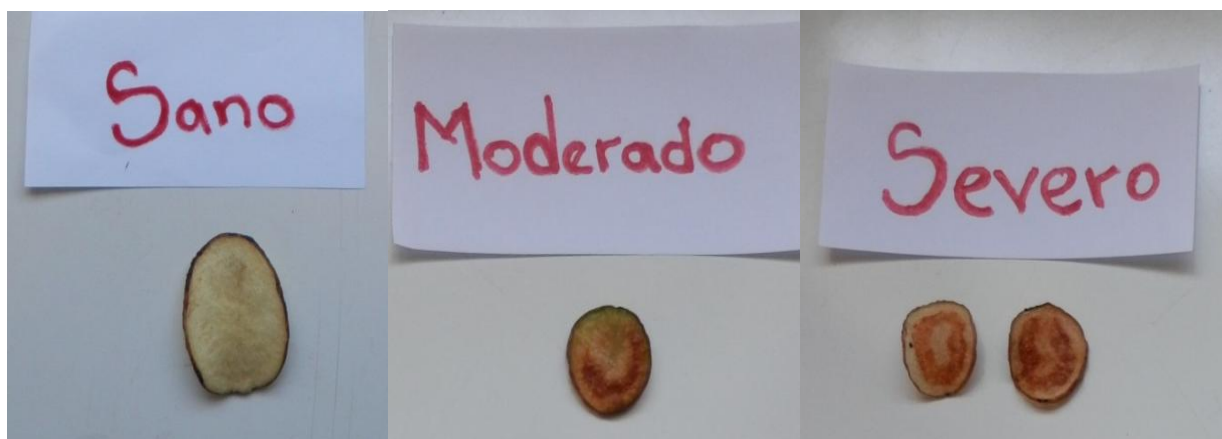


Figura 9. Clasificación en grado de severidad
Fuente: Fase de campo y gabinete ICTA-CIALO

3.2.9. Manejo agronómico del cultivo

a) Preparación del sustrato

Se utilizó ½ carreta de arena, 2 cubetas de turba (peatmoss), 2 libras de abono químico de la formulación triple quince (15-15-15) en polvo y 1 carreta de tierra negra, materiales que fueron mezclados para obtener un sustrato para la siembra de los tubérculos.

b) Llenado de macetas

Teniendo la mezcla de tierra preparada, se procedió al llenado de 90 macetas en total. La cubeta tiene una capacidad de 8 litros, y fue llenado con sustrato hasta llegar a los 6 litros.

c) Siembra de tubérculo

Se sembró por cubeta un tubérculo sano de la variedad Loman. La siembra de los tubérculos fueron realizados en forma escalonada, la primera siembra fue el testigo y del primer tratamiento (15 días), realizado el 17 de julio del 2015, el segundo tratamiento (20 días) el 11 de agosto, el tercer tratamiento (30 días) el 14 de agosto, el cuarto tratamiento (30 días) el 18 de agosto y el quinto tratamiento (35 días) el 21 de agosto de 2015.

d) Fertilización y riego

La fertilización se realizó una semana después de la siembra, y consistió en la aplicación de triple quince (15-15-15). Desde el día de la siembra y durante las siguientes semanas, el riego se realizó tres veces por semana.

e) Realización del injerto

Los injertos fueron realizados en diferentes etapas fenológicas, con una diferencia de cinco días en cada tratamiento (la primera a los 15 días, la segunda a los 20 días, la tercera 25 días, la cuarta a los 30 días y la quinta a los 35 días después de cada siembra), el injerto que se realizó fue tipo empalme.

f) Adaptación progresiva en invernadero

Dentro del invernadero tipo capilla fueron colocadas las plantas en obscuridad, colocado una cubierta de nylon y cedazo de color negro para que no sufrieran de estrés y se tuviera la humedad controlada, éstas permanecieron quince días dentro de esta cubierta, quitándola progresivamente hasta que los injertos estuvieran completamente pegados.

g) Control de plagas y enfermedades

No se le dio manejo de plagas ni de enfermedades debido a que las plantas estuvieron en condiciones controladas.

h) Cosecha de tubérculos

Esta actividad se llevó a cabo a los 120 días terminando el ciclo de vida de la papa. La cosecha no fue uniforme para todos los tratamientos más el testigo, esto debido a que los tratamientos tuvieron diferentes ciclos de maduración fisiológica a pesar de ser la misma variedad.

Después de cosechar los tubérculos se procedió a la clasificación de los tubérculos por tratamientos más el testigo, posteriormente se procedió a pesar los tubérculos de cada tratamiento y repetición, utilizando una balanza analítica. Luego se contaron los tubérculos de cada tratamiento.

3.2.10. Análisis de la investigación

a) Análisis de la información del laboratorio

La información obtenida del Laboratorio de la Universidad el Valle se hizo comparando la presencia y ausencia en los geles de agarosa con el control positivo de la bacteria *CaLso* (ver anexo 31 y 32).

b) Estadístico

Con los datos obtenidos de peso y número de tubérculo más el porcentaje de fritura, se utilizó el software estadístico infostat versión estudiantil 2014.

Previo al análisis estadístico para la variable fritura de papa tipo chip, se transformaron los datos por medio de la raíz cuadrada (Litt, 1989) debido a que la toma de datos fue en porcentaje con sub muestras.

Se realizó el análisis de varianza (ANDEVA) para las variables de respuesta desarrolladas por cada tratamiento más el testigo, y utilizando la prueba múltiple de medias por el comparador LSD – Fisher al nivel de 0.05%.

3.2.11. Recursos

a) Humanos

- Asesora Inga. Agrónoma Glenda Pérez, ICTA
- Asesor Ing. Agrónomo Juan Bolaños, CUNOC
- Inga Agrónoma Floridalma Jacobs, CUNOC, consultas específicas.
- Ing. Agr. Roberto Morales Lima, ICTA, consultas específicas.
- Ing. Agr. Osman Cifuentes, ICTA, consultas específicas.

- Dr. Josué Cubero, consultas específicas.
- Tesista Elsa Marina García Quex

b) Físicos

Instalaciones del ICTA	Sustrato o Tierra
Invernadero	Maceteros
Lab. Biología molecular con el equipo necesario	Regadera
Hojas de bisturí	Materiales de oficina
Fertilizante triple Quince	Computadora
Peatmoss (turba)	Impresora
Parafilm	Cámara fotográfica
Clips (para injerto)	Papelería
Arena de río	Documentos bibliográficos

c) Económicos

La investigación tuvo un costo aproximado de Q23,520.00, (ver descripción en el presupuesto), el cual fue cubierto por el ICTA, donde se incluyen insumos. Los jornales que en este caso correspondería al aporte de la tesista en la investigación.

Cuadro 2. Presupuesto de la investigación

No.	Actividad / Descripción	Unidad	Cantidad	Precio Unitario	Total
1	Materiales para injertar				
	Parafilm	rollo	1	Q250.00	Q250.00
	Bisturís	caja	1	Q220.00	Q220.00
	Maceteros	recipiente	75	Q10.00	Q750.00
	Pitumos	saco	1	Q325.00	Q325.00
2	Revisión Bibliográfica				
	Internet	máquina (computadora)	1	Q30.00	Q30.00
	Fotocopiadora	máquina	1	Q25.00	Q25.00
	impresiones de color	hojas	20	Q2.00	Q40.00
	impresiones blanco y negro	hojas	100	Q3.00	Q300.00
3	Tabulación de Datos				
	Computadora (hrs. Aprox.)	máquina	50	Q8.00	Q400.00
4	Uso de laboratorios (o elaboración de técnica)				
	Reacción en cadena de la Polimerasa- PCR-	kit para la elaboración de la técnica PCR	20	Q250.00	Q5,000.00
5	Jornales tesista (tiempo invertido para recolectar la información)	Días	270	Q50.00	Q13,500.00
6	Movilización	transporte Urbano (bus)	270	Q5.00	Q1,350.00
7	Redacción de Informe final				
	Computadora (hrs. Aprox.)	Máquina	50	Q8.00	Q400.00
	impresiones blanco y negro	Hojas	100	Q3.00	Q300.00
	impresiones de color	Hojas	20	Q2.00	Q40.00
				Total	Q23,520.00

Fuente: elaboración propia

4. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1. Colecta de ninfas de *Bactericeracoherelli* como fuente de inóculo para la obtención *CaLso* en el cultivar Loman

Previo a la inoculación de las plantas con ninfas de *Bactericeracoherelli* se realizó la prueba de Gram en las plantas de Loman sembradas en invernadero, con el propósito de descartar la presencia de *CaLso* los resultados obtenidos de la tinción fueron negativos, es decir, todas las plantas se encontraban sanas (no se registró la presencia de bacteria).

Cuando las plantas tenían 10 días después de la siembra, se realizó la inoculación del agente patógeno, y a los 15 días después de inoculadas las plantas con ninfas se realizaron nuevamente la prueba de Gram, donde se observó la presencia de bacteria Gram negativa en todas las plantas inoculadas.

En la figura 10 se observa la comparación de la tinción de Gram que se realizó en las mismas plantas anteriormente sometidas a la prueba de Gram y después de inoculadas con ninfa de paratrioza. De acuerdo a Liefting et al., (2009) donde explica que una de las formas de determinar la presencia de la bacteria *CaLso* es que responde a la tinción Gram negativo, lo que concuerda con los resultados observados en esta investigación

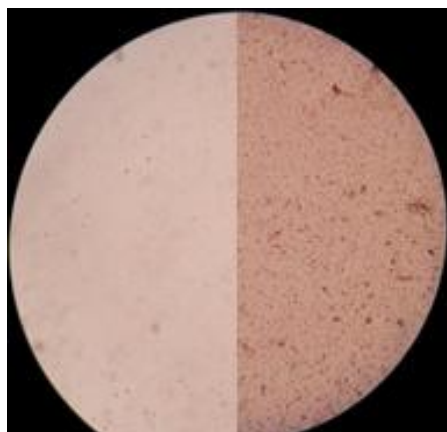


Figura 10. Montajes de pruebas Gram, al lado izquierdo se observa un montaje de planta sana y al lado derecho se observa montaje en planta enferma..

Fuente: Laboratorio de Biotecnología Molecular ICTA

4.2. Injertación de las plantas de los tratamientos variedad Loman

Después de injertar los cinco tratamientos con una variación de 8 a 20 días, se observaron los síntomas fenológicos reportados por González J (2012) principalmente enrollamiento de las hojas apicales, formación de tubérculos aéreos, amarillamiento en las hojas, tallos morados, muerte de plantas en un estadio juvenil.

De acuerdo al anterior y a los síntomas fisiológicos observados se pudo determinar la presencia de la bacteria en los diferentes tratamientos, a excepción del testigo pues no mostró ser positivo en la prueba de tinción Gram ni de las sintomatologías fisiológicas (ver figura 11 y 12).

En el tratamiento 1, pudo observarse que a los 8 días después de realizado el injerto, se murió la parte aérea de la planta en un 80%. En este estadio fenológico de la planta, según Hermán (2014), las plantas son infectadas durante el periodo vegetativo juvenil, la planta deja de crecer y muere prematuramente.

Sesenta días después de la siembra de todos los tratamientos, se realizaron pruebas de Gram nuevamente en el laboratorio de biología molecular del ICTA y se enviaron dos muestras por cada tratamiento al laboratorio de biología molecular de la Universidad del Valle de Guatemala (ver anexo 28), para realizar la prueba de PCR convencional, y saber si se encontraban infectadas con la bacteria *CaLso*, los resultados según reporte respectivo mostraron la ausencia de la bacteria en las 10 muestras (ver anexo 29), pero no así para la prueba de Gram realizada ya que en la totalidad de las muestras analizadas se registraron la presencia de la bacteria Gram negativas, lo cual se puede observar en la figura 11 y 12, donde se identifica la forma de los bacilos de la bacteria *CaLso*, cuyo organismo se restringe al floema de algunos géneros de las Rutáceas y son Gram negativa.

Lo anterior concuerda con los resultados obtenidos con los autores Tapia, G. y Olivares, P. (2009) donde muestra que existe presencia de bacteria dentro del floema de las plantas injertadas.

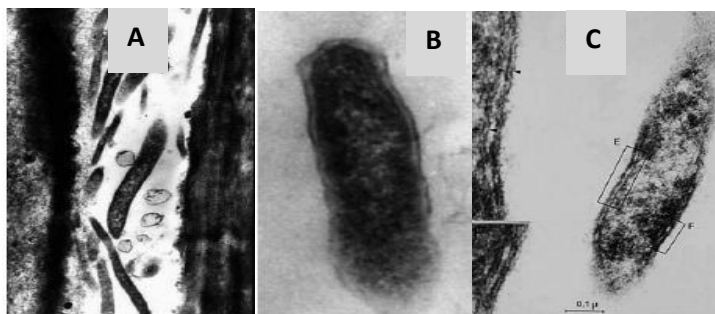


Figura 11. Bacteria *Liberibacter* vista en un microscopio electrónico
Fuente: Plan regional de contingencia OIRSA

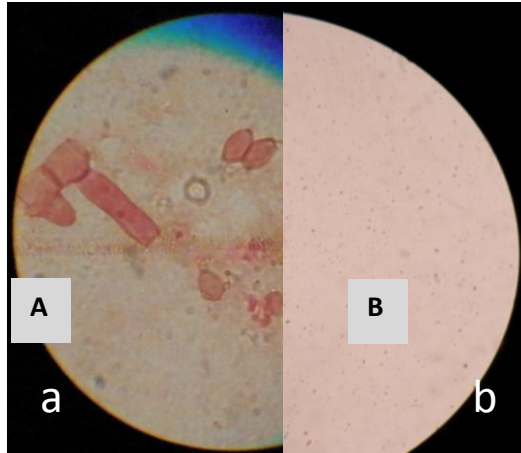


Figura 12. Montaje de prueba de Gram, vista en microscopio del laboratorio de Biología Molecular. – ICTA – 201

Fuentes: elaboración propia ICTA-CIALO

En la figura (12), se aprecian los montajes de prueba de Gram negativa, que fue realizado en el laboratorio de biología molecular – ICTA – se observó que (A) y (B) pertenece a las plantas enfermas con la bacteria *CaLso*, cuya forma es de bacilos, que son muy parecidos a los presentados en la figura 12, y en la figura b-12 se muestra un montaje que pertenece a una planta sana que fue tomada del testigo. Si se comparan ambas figuras se observa que existe similitud en cuando a la forma de la bacteria *CaLso*, por lo que consideramos que si existe la presencia de esta bacteria en los diferentes tratamientos, pero no así en el testigo.

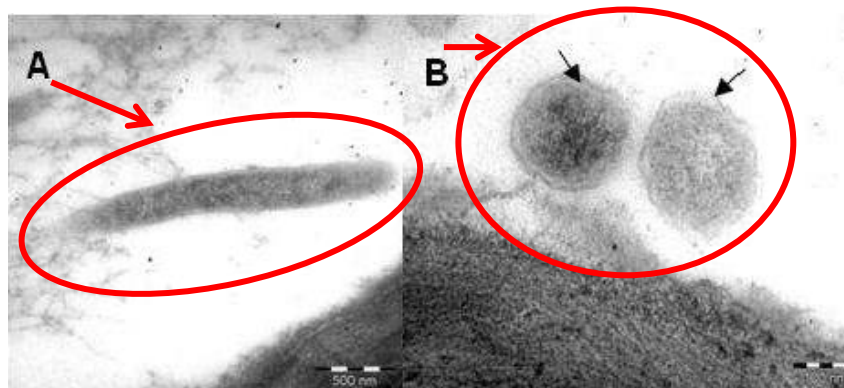


Figura 13. Bacteria *Liberibacter* A) en forma de bacilos y B) en forma de cocos. (Bove, 2010)

Fuente: Bove (2010)

Al hacer las consultas a un experto³ sobre los resultado de PCR, indicó que la ausencia del patógeno en este método de diagnóstico utilizado se debió a la baja concentración del ADN de la bacteria en la planta, y que este procedimiento no es tan sensible como PCR tiempo real y para que las muestras nos den positivas en el PCR se debe aplicar para estas mismas muestras el PCR tiempo real.

De acuerdo a la literatura consultada Palmieri (2012) en un estudio efectuado en Guatemala realizando diferentes colectas de tallos, hojas y tubérculos en áreas de siembras de papa el porcentaje de muestras con síntomas de la enfermedad Zebra chip que fueron analizadas en el laboratorio por PCR convencional fue muy bajo, el cual solo dio el $\pm 4\%$, de muestras positivas a pesar que la planta presentaba los síntomas en campo. Ellos atribuyen a que la técnica de PCR convencional probablemente no tiene suficiente sensibilidad para detectar la presencia de *CaLso*. Esto es congruente a lo que ha sido reportado por Blandon L. (2012), realizando un estudio en los cultivos tomate, chile pimiento, berenjena y papa, donde solo mostro 1.96% de infección en el cultivo de papa que tiene un bajo porcentaje, comparado a los otros cultivos.

Lo anterior confirma que en el cultivo de papa se obtiene un bajo porcentaje de presencia de bacteria *CaLsoy* que la técnica de PCR convencional no es la más adecuada para hacer utilizada específicamente en papa.

El análisis de los resultados obtenidos se desglosó por peso, número de tubérculos, y por el grado de severidad de fritura tipo chip, por lo que fue importante analizar cada uno de ellos.

4.3. Peso de tubérculos cosechados

La cosecha de tubérculos de los diferentes tratamientos evaluados del cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) como herramienta del diagnóstico de la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum*, fue realizada en uno de los invernaderos del Programa de Hortalizas, CIALO – ICTA obteniendo los siguientes resultados:

³ Se contactó al Doctor Josué Cubero, investigador experto en el tema, quien reside en España.

Cuadro 3. Análisis de varianza para peso de tubérculo de papa injertada con bacteria *CandidatusLiberibactersolanacearum*.

Fuente de Variación	Suma de Cuadrado	Gl	Cuadros Medios	F Calculada	p – valor
Modelo	32.59	5	6.52	4.88	0.0006*
Tratamientos	32.59	5	6.52	4.88	0.0006*
Error	112.31	84	1.34		
Total	144.90	89			

*= Significancia al 0.05 % de probabilidades CV= 29.56%

Fuente: Fase de Campo y Gabinete – ICTA – Labor Ovalle 2015

El cuadro 3 nos muestra que sí hay diferencia significativa entre tratamientos es decir que el peso de tubérculo fue diferente para cada tratamiento evaluado y se encontró un coeficiente de variación de 29.56 % que es aceptable para esta investigación, según Larreal (2007), pues se encuentra entre el rango normal para peso de tubérculos en papa, puesto que fueron injertadas las plantas y la bacteria infecto en diferentes grados.

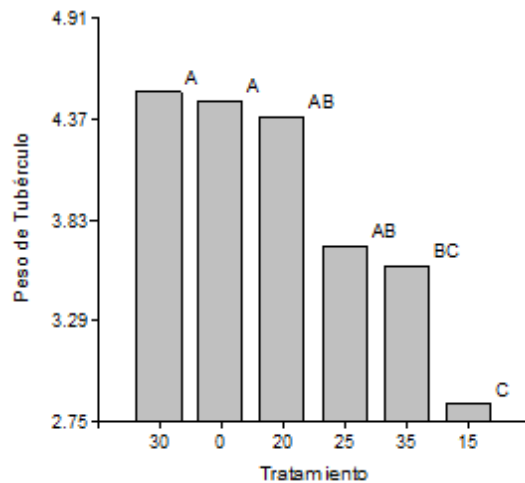


Figura 14. Comparación de medias para el Peso Tubérculo de Papa

En la figura 14 se aprecia que el tratamiento cuatro (30 días) es estadísticamente igual al testigo, pues ambos tuvieron el mayor peso de los tubérculos; el tratamiento uno (15 días) es el que menor peso de tubérculos registró, debido a que el injerto se realizó en una etapa temprana del desarrollo vegetativo muriendo un 80% de planta, los tratamientos dos, tres y cinco (20, 25 y 35 días) son estadísticamente iguales.

El estadio fenológico de la planta más la injertación con bacteria influyó en la producción de tubérculos, debido a que la planta tiene 8 fases para la formación de tubérculos, y en el tratamiento uno a los 15 días de haber injertado fue el que tuvo menor peso debido a que en esta etapa fenológica la planta se encontraba en el inicio y aun no formaban tubérculos las plantas, por lo que se tienen un menor peso de tubérculos cosechados.

4.4. Número de tubérculos cosechados

El cuadro 4, muestra el análisis de varianza para la variable de respuesta, número de tubérculos/planta.

Cuadro 4. Análisis de Varianza para número de tubérculo en plantas injertadas con bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum*.

Fuente de Variación	Suma de Cuadrado	Gl	Cuadros Medios	F Calculada	p – valor
Modelo	443.83	5	88.77	20.36	* 0.0001
Tratamientos	443.83	5	88.77	20.36	* 0.0001
Error	366.27	84	4.36		
Total	810.10	84			

*= Significancia al 0.05 % de probabilidades CV= 47.10

Fuente: Fase de Campo y Gabinete – ICTA – Labor Ovalle-2015

El análisis de varianza en el cuadro 4, efectuado al número de tubérculos/planta, muestra que existe diferencia significativa, lo que nos indica que existe diferencia de números de tubérculos obtenidos por tratamiento.

Se encontró un coeficiente de variación de 47.10 %, que es aceptable para esta investigación, en donde muestra la heterogeneidad y variabilidad que existe entre los tratamientos.

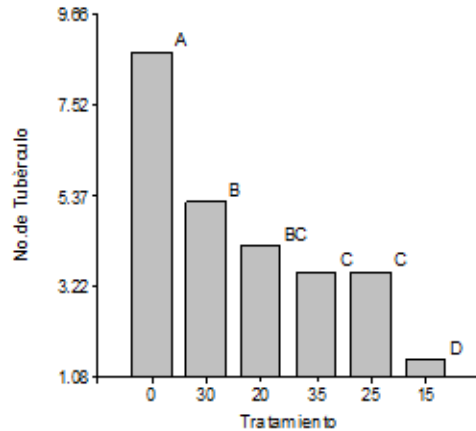


Figura 15. Comparación de medias para el número de tubérculos de papa

En la figura 15, se observa que el testigo (0) fue superior a los demás tratamientos, seguido del tratamiento cuatro (30 días), los tratamientos dos, tres y cinco (20, 25 y 35 días) se encuentran en un mismo grupo y el tratamiento que obtuvo menor número de tubérculos fue el tratamiento uno (15 días).

Según Gutiérrez (2012) dice que, cuando la planta está infectada con la bacteria *CaLso*, ésta causa pérdidas y reduce la calidad del tubérculo hasta un 75%. Por lo que se ve reflejado en los resultados de nuestros diferentes tratamientos y el grado de infección a la vez se refleja en los tres grupos formados de plantas.

4.3 Porcentaje de Papa frita tipo chip, para determinar el grado de sanidad

Durante la investigación se utilizaron sub muestras en porcentaje de daño en fritura tipo chip, de esta manera a través de análisis de varianza, se pudo determinar si existían o no algunas diferencias y variaciones significativas entre los tratamientos.

Se realizó la fritura de la papa tipo chip a los tratamientos más el testigo para poder realizar el análisis respectivo, estos datos para poderlos analizar fueron transformados con la raíz cuadrada (Litt, 1989)

4.3.1. Grado de severidad (grado 0) en fritura de papa tipo chip

En cuadro 5, muestra el análisis de varianza realizado para la variable de respuesta porcentaje sano en la fritura.

Cuadro5. Análisis de Varianza para grado de severidad (grado 0)

Fuente de Variación	Suma de Cuadrado	Gl	Cuadros Medios	F Calculada	p - valor Tabulada
Modelo	854.10	5	170.82	919.21	* 0.0001
Tratamientos	854.10	5	170.82	919.21	* 0.0001
Error	15.61	84	0.19		
Total	869.71	89			

*= Significancia al 0.05 % de probabilidades CV= 20.30

Fuente: Fase de Campo y Gabinete – ICTA – Labor Ovalle-2015

En el cuadro 5 se observa el análisis de varianza para el tubérculo frito tipo chip sano (grado 0), y muestra que existe diferencia significativa entre los tratamientos con un grado de significancia al 0.05% de probabilidad y un coeficiente de variación 20.30% se considera aceptable para esta investigación debido a que los datos fueron transformados.

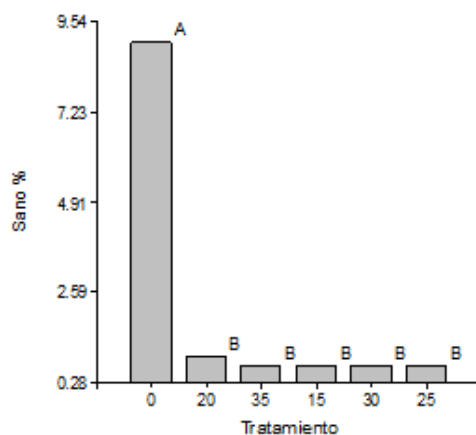


Figura 16. Comparación de medias para el porcentaje sano en fritura de tubérculo (grado 0)

La figura 16 ilustra estadísticamente la media de los diferentes tratamientos, donde existe homogeneidad en los tratamientos 15, 20, 25, 30 y 35 días de injertación, es decir que son estadísticas iguales porque forman un solo grupo en cuanto al tubérculo frito, a excepción del testigo que fue superior a los tratamientos, presentando un alto porcentaje de tubérculos fritos tipo chip sanos, es decir, que la bacteria puede ser transferida a través del injerto para el cultivo de papa (Loman) y se puede determinar en los tubérculos fritos tipo chip.

4.3.2. Grado de severidad moderado (grado 1)

El cuadro 6, representa el análisis de varianza para la variable de porcentaje de severidad moderado para fritura de papa tipo chip.

Cuadro 6. Análisis de Varianza para grado de severidad moderado (grado 1)

Fuente de Variación	Suma de Cuadrado	Gl	Cuadros Medios	F Calculada	p - valor
Modelo	184.24	5	36.85	4.76	0.0007*
Tratamientos	184.24	5	36.85	4.76	0.0007*
Error	649.94	84	7.74		
Total	834.16	89			

*= Significancia al 0.05 % de probabilidades CV= 72.40 %

Fuente: Fase de Campo y Gabinete – ICTA – Labor Ovalle 2015

El cuadro 6, nos muestra los resultados del análisis de varianza para la variable de respuesta de severidad moderada (grado 1), existe diferencias significativa entre los tratamientos. Se encontró un coeficiente de variación de 72.40%, se considera alto pero se acepta debido a que los datos fueron transformados y obtenidas de una sub muestra.

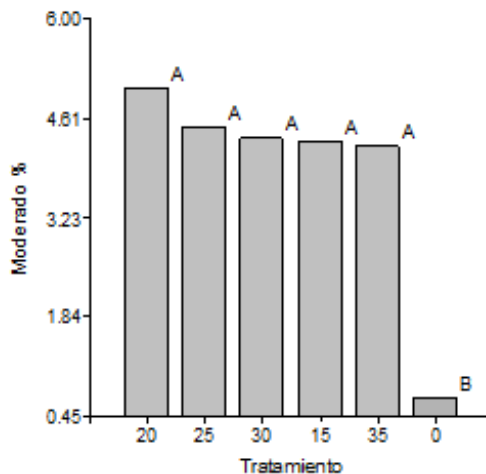


Figura 17. Comparación de medias para el porcentaje moderado grado 1 en fritura tipo chip

En la figura 17, es posible observar la homogeneidad en la comparación de medias que existió entre los cinco tratamientos a excepción del testigo que es estadísticamente diferente a los demás (0.5%), no se encontró en el testigo un grado de severidad moderado en las papas fritas tipo chip (ver figura 9).

4.3.3. Grado de severidad severo (grado 2)

En el cuadro 7, muestra el análisis de varianza realizada para la variable de respuesta de nivel de severidad grado 2.

Cuadro 7. Análisis de Varianza para grado severo (grado 2)

C	Suma de Cuadrado	Gl	Cuadros Medios	F Calculada	p - valor
Modelo	554.95	5	110.99	13.63	0.0001*
Tratamientos	554.95	5	110.99	13.63	0.0001*
Error	684.19	84	8.15		
Total	1239.13	89			
Total	1239.13	89			

*= Significancia al 0.05 % de probabilidad CV= 76.52 %

Fuente: Fase de Campo y Gabinete – ICTA – Labor Ovalle 2015

En el cuadro 7, se observa el análisis de varianza que existe para el grado 2, es decir el de severidad, donde existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos. Y se encontró un coeficiente de variación de 76.52 %. Se considera alto para esta variable en estudio.

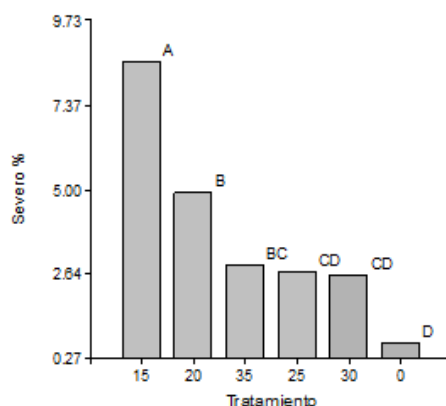


Figura 18. Comparación de medias para el porcentaje de severidad grado 2 fritura tipo chip.

En la figura 18, se puede observar que en el tratamiento uno (15 días), existió mayor grado de severidad en tubérculos fritos tipo Chip, ya que este tratamiento estaba en una de las primeras etapa fenológicas donde aún no se formaban los tubérculos cuando se le realizó el injerto, por lo tanto mostró más susceptibilidad y un mayor grado de severidad (8.56%), seguido del tratamiento dos (20 días), que también mostró(4.92%) de severidad al realizarle la fritura, dejando en un tercer grupo los tratamientos cinco, tres y cuatro (35, 25 y 30 días) por lo que existe una homogeneidad entre ellos en cuanto al porcentaje de severidad. El testigo (0) no mostró ningún porcentaje de infección a la hora de freír la papa, siendo menor (0.70%) a todos los tratamientos.

Como era de esperarse, la transmisión de la bacteria fue severa y notable después de realizado el injerto, debido a que se obtuvieron diferentes grados de severidad en relación a los estadios fenológicos de la planta, siendo el tratamiento cuatro (30 días) el que presentó mayor número de síntomas y tuvo un nivel de infección severo, superior a los tratamientos en los tubérculos fritos tipo chip. Considerando estos resultados, la planta que fue injertada a los 30 días podría utilizarse como una planta indicadora determinado por los siguientes síntomas: tallo morado, amarillamiento y enrollamiento de hojas, tubérculos aéreos y manchado de los tubérculos (ver anexo 30 y 31).

De acuerdo con los datos presentados anteriormente existe una relación entre el peso y número de tubérculos, pues ambos fueron afectados después de realizado el injerto y de acuerdo a la etapa fenológica de la planta, se redujo tanto el peso como el número de tubérculos en las etapas tempranas (15, 20, 25 y 35 días), ocurriendo lo contrario a los 30 días, esto se explica de la siguiente manera: la planta de papa inicia su tuberización a los 30 días después de la siembra, entonces las plantas que fueron injertadas (15, 20 y 25 días) aun no habiendo iniciado el proceso de tuberización y la bacteria infectó la planta y se redujo la producción de tubérculo por lo tanto se obtuvo un bajo peso y menor número de tubérculos ocurriendo lo contrario en los 30 días se obtuvo un mayor peso y mayor número de tubérculos.

En el tratamiento de 35 días murió el 75% de plantas a los 10 días después del injertado, lo que causó que la infección se acumulara en los tubérculos, y por ello se encuentra como uno de los tratamientos con mayor infección.

5. CONCLUSIONES

- La sintomatología de la enfermedad Zebra Chip causada por la presencia de la bacteria *CaLso* se evidenció en cada una de etapas fenológicas de la planta indicadora de papa en los cinco tratamientos evaluados, aunque con diferente intensidad, por lo tanto se rechazan la primera y segunda. hipótesis nula.
- Para el cultivo de papa, en la etapa fenológica de 30 días después de la siembra se establece como una planta indicadora de *CaLso*, debido a que presenta el mayor número de síntomas de la bacteria.
- La práctica del injerto en el cultivo de papa es una técnica innovadora y eficiente para inocular y diagnosticar la bacteria *CaLso* y evidenciar la sintomatología de la enfermedad Zebra Chip especialmente en la fritura de tubérculos.
- La técnica de laboratorio por PCR utilizada para determinar la presencia de la bacteria *CaLso*, dio como resultado la ausencia de patógeno, esto se debió a la baja concentración de ADN en las muestras analizadas, por lo tanto se acepta la 3era hipótesis nula.
- Se evidenció que mientras se realizan injertos en etapas tempranas de la planta repercute en la disminución del peso y número de tubérculos producidos como sucedió en el tratamiento 1 (15 días), teniendo una reducción del 64% en peso y el 17% en el número de tubérculos producidos, comparado con el testigo.

6. RECOMENDACIONES

- Para futuras investigaciones afines a este tema, se recomienda utilizar la técnica de injertación para un diagnóstico bajo condiciones controladas, de la bacteria *CaLso*.
- Para trabajos posteriores en el cultivo de papa se recomienda realizar el injerto en la etapa fenológica a los 30 días después de la siembra bajo condiciones de invernadero.
- Se recomienda para investigaciones similares aplicar en biología molecular otras técnicas más sensibles, como el método de PCR tiempo real, que permitiría evidenciar la presencia de la bacteria *CaLso* usando las fuentes de inoculación desde la planta indicadora.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. **Baldón, L. (2012).** Presencia de la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum*, en cuatro cultivos de solanacea tomate, chile, papa y berenjena. . Honduras, Zamorano. .
2. **Batista L, P. J. (2014).** Técnica de Diagnóstico de Enfermedades que afecta a los cítricos. La Habana, Cuba.
3. **Blandon L. (2012).** "Presencia de la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* en cuatro cultivos de solanaceae: Tomate, chile pimiento, papa y berenjena". Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano .
4. **Bove, M. B. (2010).** "Identificación de Diagnóstico de la Bacteria *Candidatus Liberibacter asiaticus* Asociada a la enfermedad HUANGLONGBING de los cítricos en Cuba". CUBA: Instituto de Investigación en fruticultura Tropical.
5. **Espinoza, H. (2014).** "El Psilido de la papa, *Bactericea cockerelli* un problema que podemos manejar". Honduras: Fundación Hondureña de Investigación Agrícola - FHIA -.
6. **French, E. (1980).** "Métodos de investigación fitopatológica". Costa Rica: Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas- IICA- .
7. **García, E. (2012).** "Plan de manejo de cultivo de papa, variedad Tollocan". Guatemala: CRS y CARE.
8. **González, A. V. (2014).** "efecto de antioxidantes y señalizadores en plantas de papa (*Solanum tuberosum* L.) infectados en *Candidatus Liberibacter solanacearum* bajo condiciones de invernadero". Red de Revistas Científicas de América Latina, B, 1-14.
9. **González, J. (2012).** "La mancha rallada, una nueva amenaza para la papa". Colombia: Argenpapa, Redepapa.
10. **González, M. (1980).** "El injerto en hortalizas". México: FIAPA.
11. **Gonzalo, G. (2007).** "PCR: Reaccion en cadena de la polimerasa". Uruguay: Biología Molecular. Institut Pasteur Montevideo.
12. **Gram, T. (11 de mayo de 2016).** "Tinción de Gram". Recuperado el 22 de enero 2016 de mayo de 2016, de Wikimedia Fundación .
13. **Guerra, G. (2012).** "Detección de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en papa y tomate de los estados de Nuevo León y San Luís Postosí ". México: Universidad Autónoma de Nuevo León Facultad de Agronomía.
14. **Gutiérrez, A. S. (2012).** "Detección de *Candidatus Liberibacter solanacearum* y fitoplasma". Toluca, Ixtlahuaca, México .

15. **Hernán, R. E. (2014).** "Manejo integrado de plagas en Honduras". Honduras: Fundación Hondureña de Investigación Agrícola - FHIA, USAID.
16. **Innis, M. G. (1999).**"Reacción en Cadena de la Polimerasa". Estados Unidos: Academic Press.
17. **Larreal. (2007).**"Variabilidad de algunas de las propiedades físicas de un suelo para la definición de la serie Los Cojitos". Venezuela.
18. **Liefting et al. (2009).**"Candidatus Liberibacter solanacearum. México: SAGARPA, Departamento de Análisis de Riego de Plagas.
19. **Litt, H. H. (1989).**"Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura". México: TRILLAS.
20. **Maxam, G. (2014).** "Secuenciación del ADN". Estados Unidos: Fundación Wikimedia, Inc.
21. **Mejicanos, H. (2008).**"Evolución de la producción de la variedad Loman de papa (Solanum tuberosum L.) . Chimaltenango, Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.
22. **Munyanza, J. (2014).**"Candidatus Liberibacter solanacearum". Estados Unidos: Copyright - CABI- .
23. **Muñiz, R. M. (2015).**"El psilido de la papa y tomate Bactericea (Paratrioza) cockerelli (Sulc)(Hemiptera: Triozidae): ciclo biológico; la relación con las enfermedades de las plantas y la estrategia de manejo integrado de la plaga en la región del OIRSA". San Salvador, El Salvador: OIRSA.
24. **Ortega, M. S. (2014).**"PCR (Polymerase, chainreaction) Reacción en Cadena de la Polimerasa". Argentina: Universidad Tecnológica Nacional Facultad Regional Rosario UTN.
25. **Palmieri, M. (2012).**Caracterización de Patógenos, Vectores y Hospederos de la papa Rayada en Guatemala. Guatemala: Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología - FONACYT-, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología -CONCYT-.
26. **Rivera, J. (2008).**"Efecto de antioxidantes y señalizadores en plantas de papa (Solanum tuberosum L.) Loman m-60, asesoría técnica y servicios comunitario en el caserío Ebenezer, Puralhá". Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.
27. **Roman, M. H. (2002).** "Guía Técnica Cultivo de Papa". El Salvador : Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal -CENTA- .
28. **Roozen, J. (2011).** "Injerto de Verduras". Estatal de Washington: FSO 52 ES.
29. **Sandoval, B. M. (2010).**"Determinación del agente causal de la enfermedad conocida como Moradillo en los cultivos de tomate y papa en Guatemala por medio de técnicas moleculares. . Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.

30. **Tapia, G. O. (2009).** Plan regional de contingencia para la prevención y contención del HUANGLONGBING o GREENING de los cítricos de los países miembros de OIRSA. Florida, EEUU: Network Regional de apoyo Fitosanitario de la cadena de cítricos.
31. **Tentaya, W. (2010).**"Introducción El Injerto". Perú: BIODAMAZ, Proyecto Diversidad Biológica de la Amazonia Peruana, Perú-Finlandia.
32. **Tiznado, A. (2007-2009).**"Paratíoxa (*Bactericera*) *cockerelli* Sulc. Vector de la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* - Zebra chip en papa". México: FCQB-UAS.
33. **Trejo, C. (2014).** "Fases Fenológicas del cultivo (*Solanum tuberosum*)". Ecuador: Universidad Estatal de Carchi.
34. **Uribe, Y. (2012).** "Manejo adecuado de injerto". México: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
35. **Yax, M. (2015).**"Evaluación de frecuencias de riego y productos hidrosolubles, para la producción de semilla pre básica de papa (*Solanum tuberosum*), bajo condiciones controladas, en el ICTA-Olintepeque, Quetzaltenango". Quetzaltenango, Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. USAC-CUNOC.

8. ANEXOS

Cuadro 8. Prueba de medias para el Peso de Tubérculos por el comparador LSD-Fisher al nivel del 0.05% a la interacción del factor de peso de tubérculos por tratamiento, para la variable tasa de multiplicación.

Tratamientos	Medias	No. de Macetas	E.E.			
30	4.51	15	0.30	A		
0	4.47	15	0.30	A		
20	4,38	15	0.30	A	B	
25	3.69	15	0.30	A	B	
35	3.58	15	0.30		B	C
15	2.85	15	0.30			C

Fuente: Fase de Campo y Gabinete - ICTA – Labor Ovalle

LSD – Fisher 0.05% DMS= 0.83962

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Cuadro 9. Prueba de medias para el Numero de Tubérculos por el comparador LSD-Fisher al nivel del 0.05% a la interacción del factor de número de tubérculos por tratamiento, para la variable tasa de multiplicación.

Tratamiento	Medias	No. de Macetas	E.E.	Significancia		
0	8.73	15		A		
30	5.20	15			B	
20	4.13	15			B	C
35	3.53	15				C
25	3.53	15				C
15	1.47	15				D

Fuente: Fase de Campo y Gabinete - ICTA – Labor Ovalle

LSD – Fisher 0.05% DMS= 1.51627

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Cuadro 10. Prueba de Medias del Porcentaje de Tubérculos de Papas Infechados con Bacteria *CandidatusLiberibactersolanacearum*, por el comparador LSD-Fisher al nivel del 0.05% a la interacción del factor de número de tubérculos por tratamiento, para la variable tasa de multiplicación.

Sano

Tratamiento	Medias	No. de Macetas	E.E.		
0	9.01	15	0.11	A	
20	0.93	15	0.11		B
35	0.70	15	0.11		B
15	0.70	15	0.11		B
30	0.70	15	0.11		B
25	0.70	15	0.11		B

Fuente: Fase de Campo y Gabinete - ICTA – Labor Ovalle

LSD – Fisher 0.05% DMS= 0.31303

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Cuadro 11. Prueba de Medias del Porcentaje de Tubérculos de Papas Infechados con Bacteria *CandidatusLiberibactersolanacearum*, por el comparador LSD-Fisher al nivel del 0.05% a la interacción del factor de número de tubérculos por tratamiento, para la variable tasa de multiplicación.

Moderado

Tratamiento	Medias	No. de Macetas	E.E.		
20	5.03	15	0.72	A	
25	4.49	15	0.72	A	
30	4.33	15	0.72	A	
15	4.28	15	0.72	A	
35	4.22	15	0.72	A	
0	0.70	15	0.72		B

Fuente: Fase de Campo y Gabinete - ICTA – Labor Ovalle

LSD – Fisher 0.05% DMS= 2.01980

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Cuadro 12. Prueba de Medias del Porcentaje de Tubérculos de Papas Infeccionadas con Bacteria *CandidatusLiberibactersolanacearum*, por el comparador LSD-Fisher al nivel del 0.05% a la interacción del factor de número de tubérculos por tratamiento, para la variable tasa de multiplicación.

Severo

Tratamiento	Medias	No. de Macetas	Significancia			
15	8.56	15	A			
20	4.92	15		B		
35	2.89	15		B	C	
25	2.69	15			C	D
30	2.61	15			C	D
0	0.70	15				D

Fuente: Fase de Campo y Gabinete - ICTA – Labor Ovalle

LSD – Fisher 0.05% DMS= 2.07236

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)



Figura 19. Producción de Papa en Guatemala
Fuente: deGuate.com por: Rolando García

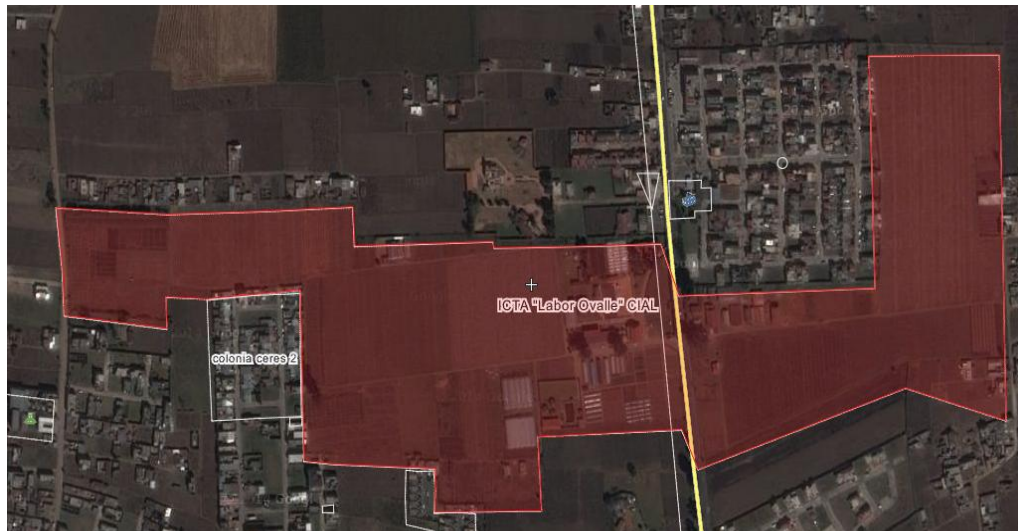


Figura 20. Ubicación Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícola – ICTA –
Fuente: fase de campo y gabinete, ICTA Labor Ovalle

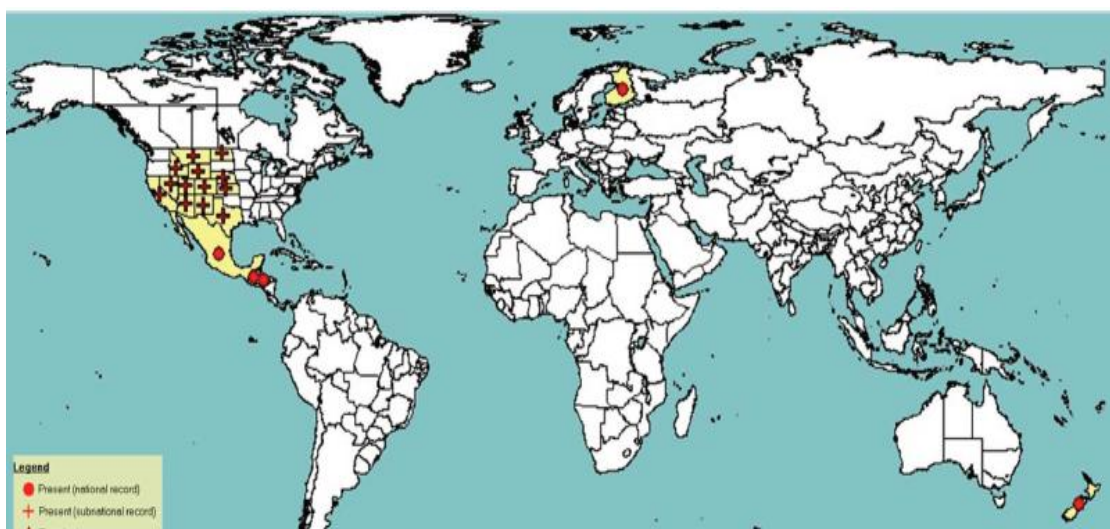


Figura 21. Distribución Geográfica de *Candidatus Liberibacter solanacearum*
Fuente: Créditos EPPO, 2012 Edición F. Márquez.

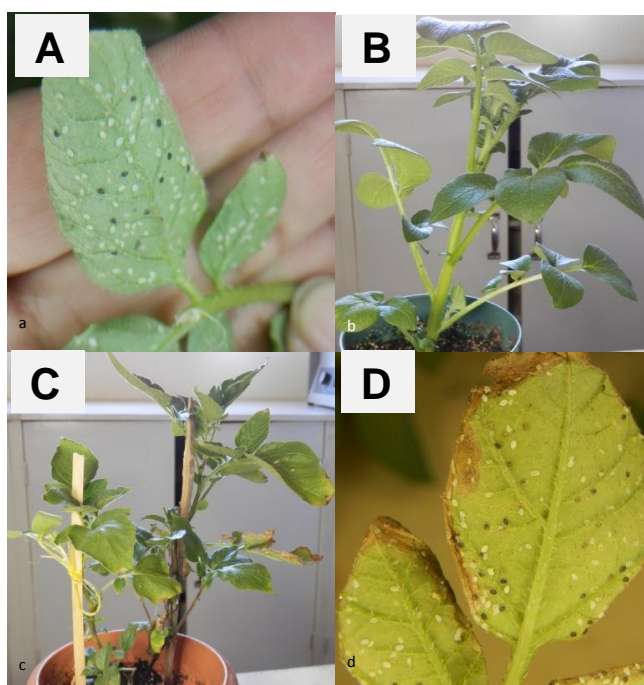


Figura 22. Inoculación de ninfas en plántulas de papa. A) Hoja con ninfas recolectadas, B) planta para
 inocular, C) planta inoculada, D) hoja enferma.
Fuente: fase de campo y gabinete, ICTA Labor Ovalle

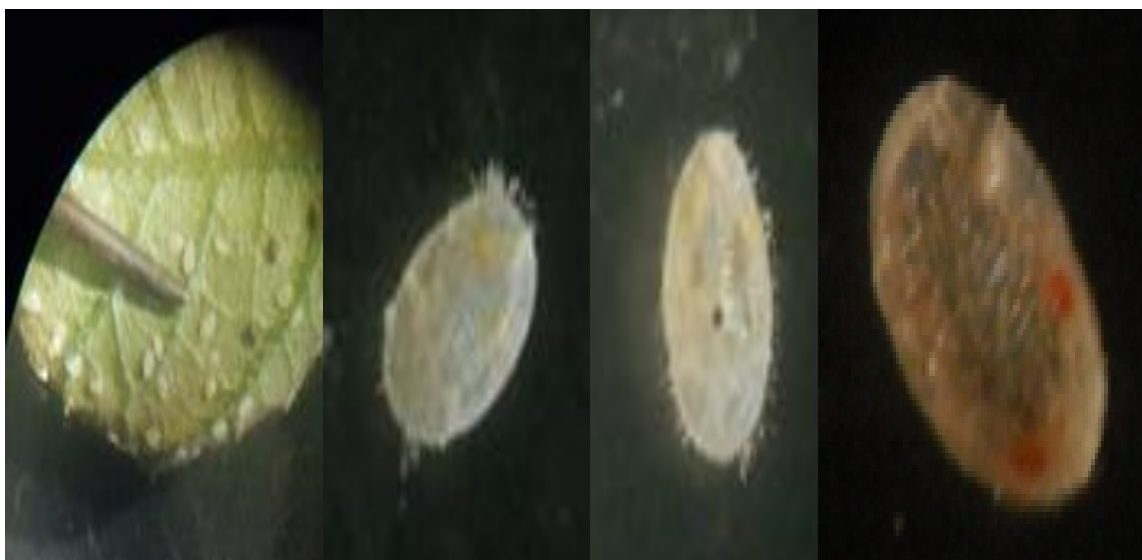


Figura 23. Ninfas de *Bactericeracockerelli*, en hojas de chile pimiento (*Capsicum annum*).
Fuente: fotografías tomada en el laboratorio de Biología Molecular – ICTA – CIALO- .



Figura 24. Plantas inoculadas.
Fuente: fase de campo y gabinete, ICTA Labor Ovalle

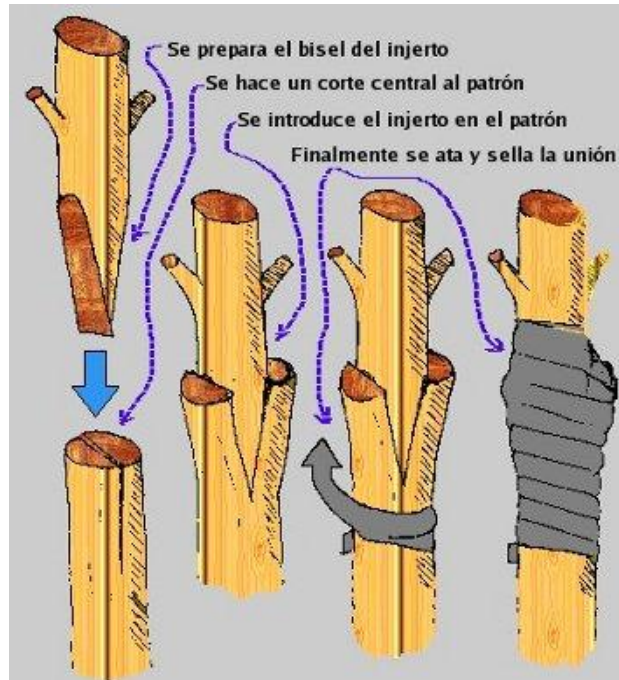


Figura 25. Injerto de empalme
Fuente: EduRed.cu/injerto



Figura 26. Injerto tipo empalme y cubierto con parafilm en plantas de papa.
Fuente: fase de campo y gabinete, ICTA Labor Ovalle

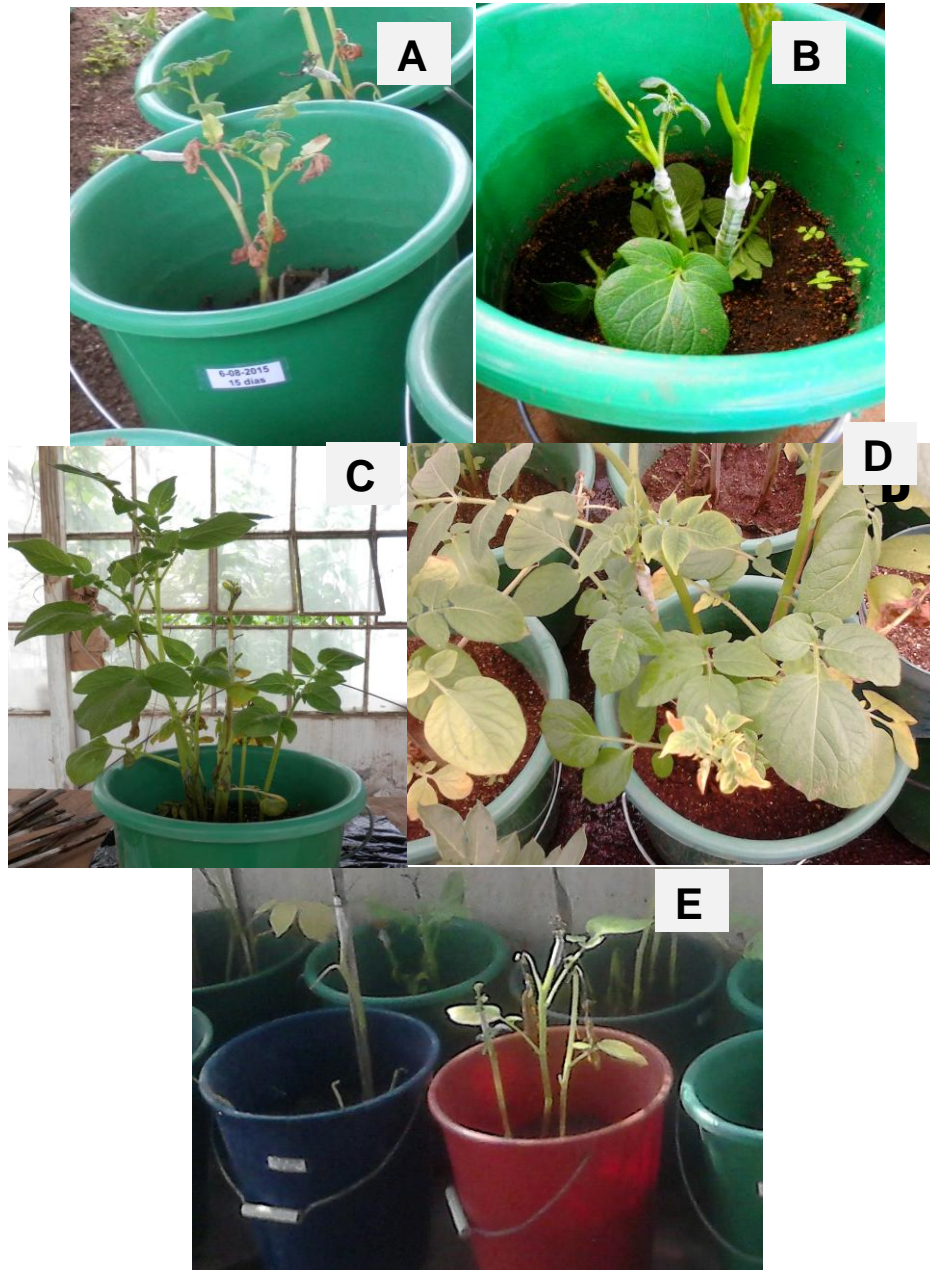


Figura 27.Injertación de plántulas de papa. A) 15 días, B) 20 días, C) 25 días, D) 30 días y E) 35 días.

Fuente: fase de campo y gabinete, ICTA Labor Ovalle



Figura 28. Plantas testigo.
Fuente: fase de campo y gabinete, ICTA Labor Ovalle



Figura 29. Sintomatología en las plantas de papa injertadas. a) Enrollamiento y amarillamiento, b) tallo de color morado, c y c-1) tubérculos aéreos).

Fuente: fase de campo y gabinete, ICTA Labor Ovalle



Figura 30. Muestras enviadas al laboratorio para la realización de PCR.

Fuente: fase de campo y gabinete, ICTA Labor Ovalle



Guatemala, 13 de Noviembre del 2015
REF.LPV2015-1740-45; 1761-62

Licda. Glenda Pérez
Getgab@yahoo.com
ICTA
Quetzaltenango

Estimada Licda. Pérez:

A continuación le ofrecemos la descripción de los análisis realizados a ocho (8) muestras de papa recibidas en el Laboratorio de Protección Vegetal.

Id. Lab.	Cultivo	Id. Cliente	Departamento	Municipio	Papa Rayada (Zebrachip)
LPV2015-1740	Papa	Glenda Pérez	Quetzaltenango	Olintepeque	Negativo
LPV2015-1741	Papa	Glenda Pérez	Quetzaltenango	Olintepeque	Negativo
LPV2015-1742	Papa	Glenda Pérez	Quetzaltenango	Olintepeque	Negativo
LPV2015-1743	Papa	Glenda Pérez	Quetzaltenango	Olintepeque	Negativo
LPV2015-1744	Papa	Glenda Pérez	Quetzaltenango	Olintepeque	Negativo
LPV2015-1745	Papa	Glenda Pérez	Quetzaltenango	Olintepeque	Negativo
LPV2015-1761	Papa	Glenda Pérez	Quetzaltenango	Quetzaltenango	Negativo
LPV2015-1762	Papa	Glenda Pérez	Quetzaltenango	Quetzaltenango	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,


Lic. Jonathan Mondes
Técnico de Laboratorio

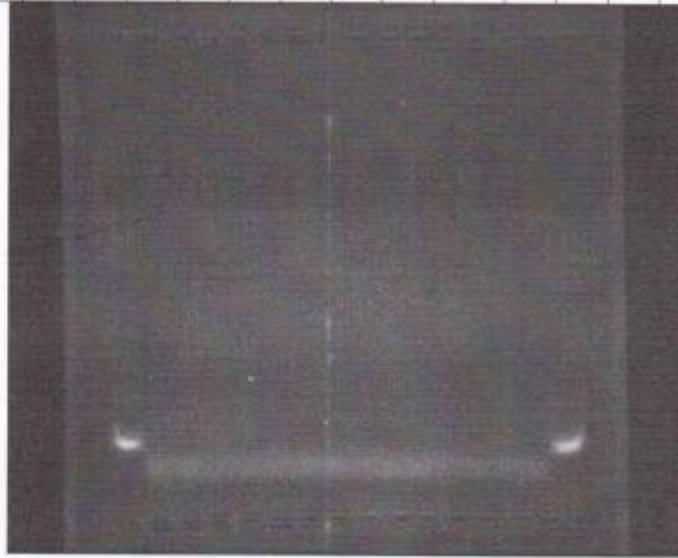



Licda. Margarita Palmieri
Directora de Protección Vegetal

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

Figura 31. Hoja de resultados del laboratorio de Biología Molecular – UVG –
Fuente: fase de campo y gabinete.

Pooles Zebrachip IPM															
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
u	1740	1741	1742	1743	1744	1745	1746	1747	1748	1749	1750	1751	1752	1753	B



Pooles Zebrachip IPM / Mx 39408															
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
F	E	1754	1755	1761	1762	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	C+

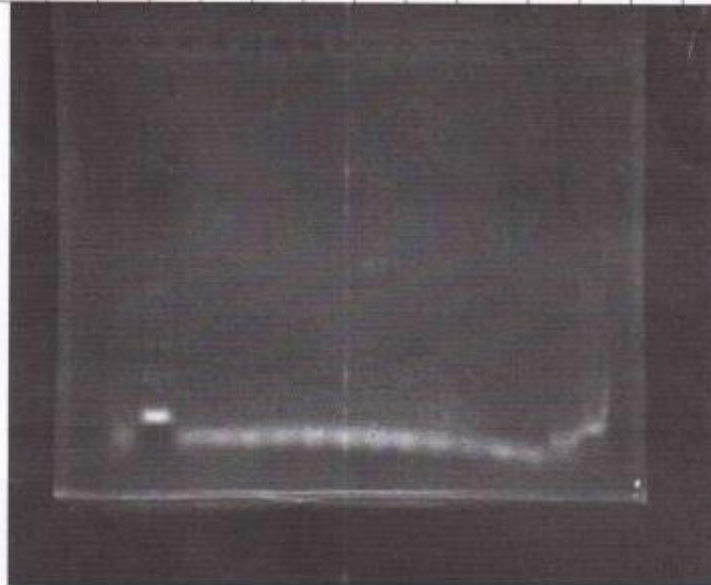


Figura 32. Gel de PCR para detección de la bacteria CaLso.
Fuente: fase de campo y gabinete.UVG.



Figura 33. Fritura de tubérculo de papa de los 5 tratamientos más el testigo de la investigación.

Fuente: fase de campo y gabinete, ICTA Labor Ovalle



Figura 34 Hojas enfermas con bacteriaCaLso.

Fuente: fase de campo y gabinete, ICTA Labor Ovalle



Figura 35 Hoja sana (testigo)

Fuente: fase de campo y gabinete, ICTA Labor Ovalle