

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



**Incidencia, etiología y control in vitro de la muerte
regresiva en el palto (*Persea americana* Mill.)
en Luricocha, Huanta, 2017**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERA AGRÓNOMA**

**PRESENTADO POR:
Marleny Oshín Chaupín Mejía**

Ayacucho - Perú

2018

A mis padres Sr. Vicente y Sra. Jeorgina por su apoyo incondicional, consejos, motivación constante para seguir mis metas.

A mis hermanos Leonela y Edy por estar siempre presentes brindándome su apoyo, consejo, motivación y amor fraternal.

A mis amigos y compañeros, quienes compartieron sus conocimientos, alegrías y tristezas durante el transcurso como estudiante universitaria.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, alma mater de mi formación profesional.

A la Facultad de Ciencia Agrarias con especial deferencia a los profesores de la Escuela Profesional de Agronomía, quienes asistieron mi formación profesional.

A todos mis maestros, en especial al Ing. Carrasco Aquino Guillermo, docente de la Facultad de Ciencias Agrarias, por su asesoramiento, orientación y colaboración en el desarrollo y conducción del presente trabajo de investigación.

A todas aquellas personas y amistades que de una u otra manera contribuyeron en la ejecución de la presente tesis.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
Dedicatoria.....	i
Agradecimiento.....	ii
Índice general.....	iii
Índice de tablas.....	v
Índice de figuras.....	vi
Índice de anexos.....	viii
Resumen.....	1
Introducción.....	3
CAPITULO I MARCO TEÓRICO.....	5
1.1 Generalidades del palto (<i>Persea americana</i> Mill.).....	5
1.2 Generalidades de la muerte regresiva.....	13
1.3 Métodos de control de enfermedades.....	19
1.4 Agroecología del palto en las localidades de Quinrapa y Azángaro del distrito de Luricocha.....	27
CAPITULO II METODOLOGÍA.....	29
2.1 Ubicación del experimento.....	29
2.2 Materiales, equipos e insumos.....	29
2.3 Planteamiento del experimento.....	30
2.3.1 Tipo de investigación.....	30
2.3.2 Factores de estudio experimental.....	31
2.3.3 Descripción de los tratamientos.....	31
2.3.4 Diseño experimental.....	32
2.3.5 Duración del experimento.....	32
2.4 Instalación y conducción del experimento.....	32
2.4.1 Fase I: trabajo de campo.....	32
2.4.2 Fase II: trabajo experimental de laboratorio.....	35
2.5 Parámetros de evaluación.....	41
2.6 Análisis estadístico.....	42

CAPÍTULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
3.1 Incidencia y sintomatología de la muerte regresiva en el palto en Luricocha-Huanta.....	44
3.1.1 Incidencia de la muerte regresiva.....	44
3.1.2 Sintomatología de la muerte regresiva en el palto en Luricocha.....	45
3.2 Etiología y caracterización del agente causal de la muerte regresiva en el palto en Luricocha.....	50
3.2.1 Identificación de los agentes aislados de las muestras.....	50
3.2.2 Prueba de patogenicidad.....	51
3.2.3 Caracterización morfológica y biométrica de <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	52
3.3 Efectividad de los productos en el control químico y biológico in-vitro de <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	55
CONCLUSIONES.....	62
RECOMENDACIONES.....	63
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64
ANEXOS.....	70

ÍNDICE DE TABLAS

		Pág.
Tabla 1.1	Forma de aplicación de Phyton.....	22
Tabla 2.1	Tratamientos estudiados.....	32
Tabla 2.2	Número de parcelas y árboles para evaluar el porcentaje de incidencia de la muerte regresiva en árboles de palto en Quinrapa y Azángaro.....	33
Tabla 2.3	Dosis aplicadas para 75 ml de PDA para los 14 tratamientos.....	40
Tabla 3.1	Porcentaje de incidencia de muerte regresiva en el distrito de Luricocha.....	44
Tabla 3.2	Valores de porcentaje de inhibición micelial obtenidos para los 14 tratamientos.....	56
Tabla 3.3	Análisis de variancia para el porcentaje de inhibición micelial a los cinco días de evaluación de los 14 tratamientos.....	57
Tabla 3.4	Prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) del porcentaje de inhibición micelial de los 14 tratamientos.....	58

ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág.
Figura 2.1	Croquis de parcelas y muestreo para cada zona de evaluación...	33
Figura 2.2	Árboles de palto evaluados y marcados con cinta.....	34
Figura 2.3	Recolección de tallos, hojas, frutos y ramas de árboles de palto con síntomas de muerte regresiva.....	35
Figura 2.4	Resultado de las muestras luego de permanecer por siete días en cámara húmeda.....	36
Figura 2.5	Plantones de palto inoculados con patógenos obtenidos e identificados.....	38
Figura 2.6	Medición de las estructuras de <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	39
Figura 2.7	Líneas de medición para el crecimiento micelial diario en placa Petri.....	40
Figura 2.8	Líneas de medición para el crecimiento micelial diario del patógeno y controlador en placa Petri.....	41
Figura 3.1	Muerte regresiva en los árboles de palto en Luricocha.....	45
Figura 3.2	Necrosis de ramas en árboles de palto en Luricocha; a) Quinrapa, b) Azángaro.....	46
Figura 3.3	Amarillamiento de las ramas del árbol de palto con síntomas de muerte regresiva en Luricocha.....	46
Figura 3.4	Rebrote de los árboles de palto afectados con muerte regresiva en Luricocha. a) Quinrapa, b) Azángaro.....	47
Figura 3.5	Necrosis de tallos de árboles de palto en Luricocha. a) Tallo viejo, b) tallo joven.....	48
Figura 3.6	Corte longitudinal del tallo del árbol de palto con síntomas de muerte regresiva en Luricocha.....	48
Figura 3.7	Manchas necróticas junto al pedúnculo del fruto de palto en Luricocha. a) Quinrapa, b) Azángaro.....	49
Figura 3.8	Muerte regresiva de la rama, hojas y frutos del árbol de palto en Luricocha.....	49
Figura 3.9	Síntomas de muerte regresiva en los plantones inoculados con <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	51
Figura 3.10	a) Colonia de <i>L. theobromae</i> de 7 días, b) <i>L. theobromae</i> de 14	

	días.....	53
Figura 3.11	Hifas jóvenes y viejas de <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	53
Figura 3.12	Picnidio de <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	54
Figura 3.13	Conidias de <i>L. theobromae</i> . a) conidias maduras de <i>L. Theobromae</i> , b) conidias inmaduras de <i>L. Theobromae</i>	55
Figura 3.14	Número promedio de crecimiento de micelios y porcentaje de inhibición micelial.....	59

ÍNDICE DE ANEXOS

		Pág.
Anexo 1	Ubicación geográfica del distrito de Luricocha.....	71
Anexo 2	Ubicación geográfica del Laboratorio de Fitopatología.....	72
Anexo 3	Reconocimiento de las zonas de muestreo y de evaluación en google Earth.....	73
Anexo 4	Reconocimiento del campo de cultivo de palto en el distrito de Luricocha.....	74
Anexo 5	Recolección de muestras asistido por el asesor de tesis.....	75
Anexo 6	Selección de muestras obtenidas en el campo, bajo las condiciones del laboratorio de Fitopatología.....	76
Anexo 7	Procedimiento de aislamiento del patógeno.....	77
Anexo 8	Procedimiento para realizar la prueba de patogenicidad en los plantones de palto.....	78
Anexo 9	Resultado de la prueba de patogenicidad con <i>Lasiodiplodia theobromae</i> en plantones de palto.....	79
Anexo 10	Procedimiento para la elaboración del medio PDA envenenado...	80
Anexo 11	Productos químicos y biológicos utilizados en el experimento.....	81
Anexo 12	Crecimiento micelial en medios envenenados y en medios de enfrentamiento de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> en cinco días.....	82
Anexo 13	Inhibición micelial al 100% de <i>Trichoderma harzianum</i> y <i>Trichoderma viride</i> al séptimo día.....	85
Anexo 14	Registro de las mediciones diarias del ritmo de crecimiento de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> en cinco días.....	86

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en la Provincia de Huanta, Distrito de Luricocha, en las localidades de Quinrapa y Azángaro y en el laboratorio de Fitopatología de la Escuela Profesional de Agronomía de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, teniendo como objetivos, evaluar la incidencia e identificar el agente causal de la muerte regresiva en el palto y realizar su control in vitro. El muestreo y la descripción sintomatológica de la enfermedad en campo fueron dirigidos por el asesor, encontrando el porcentaje de incidencia de la enfermedad de 69% y 74% en las parcelas evaluadas. En el laboratorio se aisló y se identificó a *Alternaria alternata* (7.5%), *Colletotrichum* (2.5%) y *Lasiodiplodia theobromae* (90%), con la finalidad de comprobar si uno de los patógeno aislados era el causante de la enfermedad, se hizo la prueba de patogenicidad sobre plantones de palto, bajo las condiciones de laboratorio, para lo cual se han inoculado, con la suspensión del patógeno que han colonizado en el medio PDA y fueron evaluados hasta que uno de los plantones muestren síntomas de la enfermedad muerte regresiva. Al culminar la evaluación se volvió a aislar el patógeno causante de la enfermedad para comparar con el inoculado, por la caracterización de las estructuras del patógeno se determinó que el agente causal de la muerte regresiva en el palto es *Lasiodiplodia theobromae*. El hongo ha mostrado un buen desarrollo en medio PDA, mostrando un crecimiento micelial rápido, ya que colonizó la placa en sólo cinco días a una temperatura de $\pm 25^{\circ}\text{C}$. Con la finalidad de determinar qué fungicida era eficaz en el control de este patógeno, se realizó la prueba in vitro con 14 tratamientos, considerando tres productos químicos y tres productos biológicos, cada uno a tres dosis diferentes. El mejor tratamiento fue *Bacillus subtilis* con un porcentaje de inhibición micelial (PI) de 100%, seguido por sulfato de cobre con PI de 94.4, 96.4 y 97.9%, Benomil con PI de 77.4, 80 y 85.1% seguidos por *Trichoderma harzianum* con PI de 61.1%, *Trichoderma viride* con PI de 48.2 y Phyton con PI de 70.8, 47.6 y 40.8%.

INTRODUCCIÓN

El palto (*Persea americana* Mill.) actualmente es considerado como uno de los frutales que tiene mucha importancia por su gran demanda y por ser un producto de exportación. La Provincia de Huanta es considerada como uno de los centros de mayor producción de este cultivo a nivel nacional. De acuerdo a una declaración proporcionada por el TADEPA (2007) sobre la producción de palto informa que hasta un 50 % de la producción es afectada por problemas fitosanitarios, que disminuyen la producción y la calidad del fruto, siendo las enfermedades las que causan mayores problemas.

Las prospecciones realizadas por diferentes instituciones informan que uno de las principales enfermedades del palto es la muerte regresiva.

Por lo tanto, en el presente trabajo de investigación se pretende evidenciar al agente causal de la muerte regresiva en el palto en la zona de Luricocha - Huanta, con la finalidad de recomendar las medidas de control más adecuados para bajar la incidencia y severidad de este patógeno. Asimismo se generará conocimiento sobre estudios etiológicos y de caracterización del patógeno que causa esta enfermedad; con la finalidad de determinar las principales características de la sintomatología inicial presentada por las plantas, que ayuden a detectar a tiempo la enfermedad.

Por tales motivos se decidió realizar la presente investigación con los siguientes objetivos:

Objetivo general

Identificar y caracterizar el agente causal de la muerte regresiva del palto y su control in-vitro

Objetivos específicos

1. Determinar el porcentaje de incidencia de la muerte regresiva del palto en las localidades de Luricocha, Huanta.
2. Reconocer y caracterizar el agente causal de la muerte regresiva del palto en las localidades de Luricocha, Huanta.
3. Evaluar la eficacia del control químico y biológico del patógeno de la muerte regresiva in vitro

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. GENERALIDADES DEL PALTO (*Persea americana* Mill)

1.1.1. Origen y distribución

El palto es nativo de América, se originó en las partes altas del centro y éste de México y Centro América y se extendió hasta Colombia, Venezuela, Ecuador y Perú. La palta pertenece al género *Persea* de las Lauraceas, y se dividen en tres variedades botánicas o razas: raza mexicana, raza guatemalteca y raza Antillana. Las paltas originadas en las zonas altas del centro y este de México generan la raza mexicana, las paltas originadas en las zonas altas de Guatemala generan la raza guatemalteca, y la raza Antillana proviene de las primeras plantas encontradas en las Antillas. Estas tres razas de palta, desde la antigüedad se fueron mezclando naturalmente entre ellas por medio de su propio sistema de reproducción. El resultado de estas fusiones; producidas por medio de “polinización cruzada”, dieron origen a incontables variedades híbridas naturales indefinidas. Todas estas nuevas variedades funcionaron bien hasta que en el año 1935 se patentó en Estados Unidos una nueva variedad llamada “Hass”, de progenitores desconocidos (pero con más porcentaje de guatemalteca), originado en Habra, un lugar de California, donde el Sr. Rudolph G. Hass la detectó entre los árboles de su huerto. Existen a nivel mundial unos 500 cultivares, siendo la variedad “Hass” la más cultivada en el mundo (AGROAREQUIPA, 2011).

1.1.2. Taxonomía

La ubicación sistemática del palto, según Duran (2011) es la siguiente:

Reino : Plantae
Subreino : Tracheobionta
División : Spermatophyta

Subdivisión : Angiosperma
Clase : Dicotiledónea
Orden : Ranales
Familia : Lauráceae
Género : Persea
Especie : *Persea americana* (Mill.)

1.1.3. Descripción Botánica

- **Planta**

El palto es una planta siempre verde, perenne y con características leñosas, aunque de madera quebradiza (Franciosi, 2003; Rimache, 2007).

- **Sistema radicular**

Posee una raíz principal corta y débil como la mayoría de las especies arbóreas que tienen su origen en ambientes ricos en agua en el periodo vegetativo (Rimache, 2007).

En general el 80% de su sistema radicular se sitúa a menos de un metro de profundidad, además, la absorción de agua o nutrientes se realiza principalmente por el ápice de las raíces a través de los tejidos primarios. Esto hace que el sistema radical del palto sea muy susceptible a los excesos de humedad que provocan asfixias e infecciones por hongos patógenos (Koller, 2002).

- **Hojas**

Las hojas del palto tienen características diferentes según la raza a la que pertenezcan; en algunos cultivares, antes de la floración hay una defoliación casi total (Franciosi, 2003).

- **Flores**

Escobedo (1995) menciona que las flores son sexualmente perfectas nacen sobre inflorescencias muy ramificadas que reciben el nombre de panículas.

La flor del palto, totalmente abierta, mide alrededor de un centímetro de ancho y de 6-7 milímetros de largo desde la base del ovario hasta el estigma; es pubescente, completa, perfecta y trímica. Cada flor tiene 9 estambres funcionales portando cada uno cuatro sacos de polen y una válvula liberadora de polen en cada saco; la válvula se encuentra articulada a la punta distal de la antera. Cada antera puede contener de 500 a 700 granos de polen según el cultivar (Franciosi, 2003).

- **Fruto**

El fruto del palto es una baya cuyo peso puede variar de 60 g a más de 1000g. La forma puede variar de esférica, piriforme, ovalada a elíptica (Koller, 2002). El fruto suele ser asimétrico. Externamente la epidermis está cubierta de una ligera capa de cera y es más o menos rica en lenticelas amarillentas dependiendo del cultivar. La pulpa es rica en aceite (hasta 25-28%) (Rimache, 2007).

- **Órganos fructíferos**

Ramas mixtos, chifonas y ramilletes de mayo. El de mayor importancia es el ramo mixto. (ABCAGRO, 2002)

1.1.4. Variedades

Las variedades de paltas de mayor importancia para los mercados que se cultivan en el Perú son “Hass, “Fuerte” y “Nabal”. La variedad “Ettinger” de reciente introducción en nuestro país, es otra de las variedades de mayor demanda en los países europeos (AGRODATA, 2007).

- **Hass**

Es una variedad obtenida a través de una rigurosa selección de la raza guatemalteca. Esta variedad es sensible al frío en especial en el momento de la floración. Es, además muy sensible a la humedad ambiente. El fruto es de forma oval-piriforme, de epidermis gruesa (le da resistencia al transporte) y rugosa, es de color verde, oscureciéndose a la madurez y tomando un tono violáceo. El peso varía entre 200 y 300 gramos, su pulpa es de excelente calidad y con un contenido de aceite de 20%, la semilla es pequeña y adherida al mesocarpio (Anaya, 2000; Cultivo de palto, 2002).

- Fuerte

Variedad obtenida de la hibridación entre la raza mexicana con la guatemalteca. La variedad Fuerte sin duda es la más difundida en todo el mundo por la excelente calidad del fruto. El contenido oleico es de 22%. La baya tiene forma periforme, peso medio de 300 gramos, la epidermis es flexible y elástico, de color verde sin brillo. Esta variedad tiene tendencias a la formación de frutos no polinizados y sin semillas que son más alargadas y pequeñas que reciben el nombre de pepinillos. (Anaya, 2002; Cultivo de palto 2002).

- Criollo

Los arboles de gran tamaño se utiliza generalmente como patrón de injerto por su gran adaptabilidad ecológica. El fruto es pequeño y de cáscara delgada de color verde o negra, contenido de aceite es de 27%. (Cultivo de palto, 2002).

- Ettinger

Es un híbrido entre una línea guatemalteca y una línea mexicana. Es un árbol de gran vigor vegetativo. De floración y fructificación precoz, presentando a su vez un periodo de recolección bastante estrecho, como su proceso de maduración del fruto (proceso climático) es rápido, no puede permanecer mucho tiempo en el árbol. La epidermis es lisa, delgada y de un verde brillante, (Anaya, 2000; Cultivo de palta, 2002).

- Bacón

Híbrido Mexicano, se caracteriza por ser un árbol de gran crecimiento vegetativo, vigoroso y alto. El fruto es mediano y pesa entre 250 y 350 gramos, es de forma típicamente oval. La epidermis es fina y lisa, de color verde amarillento, la semilla es chica y adherida al mesocarpio. La pulpa es de buena calidad y buena aptitud culinaria, aunque presenta un cierto grado de fibrosidad en la pulpa, (Anaya, 2000; Cultivo de palta, 2002).

- Nabal

De raza guatemalteca; el fruto es de forma esférica, su peso varía entre 300 y 600 gramos, la cáscara es lisa y de color verde; la pulpa es de excelente sabor y la semilla es redondeada y algo pequeña, (Anaya, 2000).

1.1.5. Fenología

El ciclo fenológico del palto Hass muestra dos épocas de brotación, una en primavera y otra en otoño, siendo la primera de mayor intensidad. El desarrollo de la raíz también ocurre en dos periodos, el primero en primavera-verano, seguido por un crecimiento que comienza en marzo y termina a mediados de mayo. En Quillota (V Región) la floración del palto Hass se produce entre octubre y noviembre, seguida de la cuaja. Luego existe una primera caída de frutos que ocurre desde mediados de noviembre a fines de diciembre. La segunda caída de frutos o regulación natural de carga ocurre entre marzo y abril (www.minag.gob.pe).

1.1.6. Requerimientos Agroecológicos

- El Suelo

El palto requiere valores de pH entre 5,5 y 7,0 y un contenido de materia orgánica en el suelo superior a 2%. El palto es muy sensible a la toxicidad por sales (Ibacache, 2007).

Los suelos de pH básico afectan la disponibilidad de boro, zinc y hierro, entre otros elementos. La inadecuada disponibilidad de boro y zinc afectan la cuaja y el tamaño de fruta (Whiley, 2001); la de hierro afecta la fotosíntesis y por consiguiente la producción. Si la deficiencia es severa se afectan las reservas de carbohidratos (Ruiz et al., 2007). El hierro tiene una relación directa con la síntesis de la molécula de clorofila (Mengel y Kirkby, 1987).

- El clima

Es uno de los factores más importantes para el cultivo del palto, debido a que no tenemos grandes superficies de clima subtropical, que es el más natural para la especie. Por lo tanto, este factor deberá tenerse en cuenta para decidir la especie y cultivar a establecer, así como también el diseño del huerto o posibles inversiones para disminuir riesgos (Gamalier et al., 2010).

- Agua

Es importante conocer el volumen de agua con el que se cuenta para reponer el agua evapotranspirada por la planta en momentos de máxima demanda. Otra

consideración importante se relaciona con la calidad del agua y su conductividad eléctrica, que para el palto no debe ser mayor a 0,75 mmhos/cm. Otro parámetro importante es la salinidad, ya que en contenidos salinos altos provocan quemaduras en las puntas de las hojas viejas por acumulación de sales reduciendo el potencial productivo (Gamalier et al., 2010).

- Temperatura

El palto para que dé inicio a su actividad fisiológica de brotación requiere de una temperatura mínima de 10 °C, mientras que las temperaturas adecuadas para el crecimiento y desarrollo de brotes fluctúan entre 15 – 28 °C, en el caso de la floración se requiere temperaturas entre 20 – 25 °C y finalmente para un buen desarrollo de frutos se requiere de temperaturas entre 20 – 28 °C para la variedad Hass temperaturas por debajo del -1.1 °C son críticas (Scribd, 2004).

- Iluminación

Si hay poca luminosidad se presenta bajos rendimientos, aunque hay fruta de mayor tamaño, la reducción de la producción puede ser hasta de un 35%. Las plantaciones deben estar situadas donde hay mayor iluminación. La planta de palto cuando crece con escasas de luz alarga los entrenudos, produce pocas ramas secundarias y tiende a crecer en vertical. (Rodríguez, 1982)

La luminosidad es un factor climático de importancia para el buen comportamiento del palto en un lugar determinado (Franciosi, 2003).

- Humedad relativa

El efecto de la humedad relativa es múltiple. Se ha observado una posible relación con la dehiscencia de las anteras y la germinación de granos de polen. En días nublados con alta humedad la apertura de las flores al estado femenino se retrasa casi 3 horas. Cuando la humedad relativa desciende por debajo de 50% los líquidos estigmáticos se desecan por lo que la germinación de los granos de polen se ve seriamente afectada; este problema se presenta en climas semidesérticos. Además, una elevada humedad ambiental tiene condiciones adecuadas para el desarrollo de enfermedades fungosas (Franciosi, 2003).

- **Viento**

Este debe ser moderado, ya que de lo contrario es un factor que favorece la caída de flores y frutos y el desarrollo de hongos al causar heridas. También limita un adecuado crecimiento, al dañar los nuevos brotes y causar fuertes heridas en el follaje. En caso de presentarse vientos excesivos ocasionales, es importante colocar barreras rompe vientos en la plantación y alrededores desde su establecimiento, con el fin de mitigar su efecto directo (Garbanzo, 2010).

- **Precipitaciones**

Las lluvias se manifiestan durante el periodo de floración afectando la sanidad, favoreciendo el desarrollo de hongos que dificultan el cuajado de frutos: disminuye la actividad de las abejas y causa daños mecánicos. Si las lluvias son abundantes y producen anegamiento, puede producir la asfixia radical o favorecer el daño del hongo *Phytophthora cinnamomi*. Por ello, es importante que el diseño de la plantación considere el drenaje de las aguas de lluvia (SOLIDINTERNATIONAL, 2010).

1.1.7. Plagas y enfermedades del palto

a) Plagas

Avilan y Ciurana (1981) clasifican las plagas de la siguiente manera:

Plagas primarias

- Barrenador de las ramas del aguacate. *Copturomimus perseae* Huso. (Coleoptera, Curculionidae).
- Pasador del fruto del aguacate: *Stenoma catenifer* Walsingham. (Lepidoptera, Stenomide).
- Picudo del aguacate: *Heliopus lauri bohemian*. (Coleoptera, Curculionidae).
- Monalonion, Coclillo o Chupanga: *Monalonion velezangelis* Carvalho y costa (Hemiptera, Miridae).

Plagas Secundarias

- Trips, bichos candela, trips de los invernaderos (*Heliothrips haemorrhoidales*, *Selenothrips rubrocinctus*).

- Insectos chupadores: Áfidos, (*Myzuz persicae*, *Aphis spiracola*) moscas blancas o palomilla, escamas protegidas, cochinillas, (*Selenaspodium sp. Coccus spp.*) Escamas articuladas (*Acutaspis scutiformis*, *Selenaspidius articulata*, etc.).
- Pega - pega o insecto candelita (*Piatynota sp.*)
- Insectos del suelo, insectos rizófagos, En estos se encuentran incluidos los cucarrones marceños, cuyas formas larvales se alimentan de raíces y cuyos adultos dañan flores y frutos. Entre las especies más conocidas por su importancia se encuentran, *Phyllophaga obsoleta*, y Anómala ondulada.

b) Enfermedades

Tamayo (2007) menciona en general, que el palto es afectado por pocas enfermedades. Entre ellas están los siguientes:

- **Pudrición de la raíz (también conocida como tristeza del aguacatero):** La pudrición de raíces es la enfermedad más importante del aguacate, es causada principalmente por el hongo *Phytophthora cinamomni*, aunque (*P. citrícola*, *P. cactorum*, *P. parasítica*, *P. palmivora*, *P. heveae*). El hongo causante ataca la base del tallo y lo coloniza totalmente, evita la absorción de agua y su transporte al follaje, produce marchitez, secamiento y muerte repentina del árbol.
- **Mancha negra o cercospora:** Es ocasionada por el hongo *Cercospora purpurea* Cooke, la alta precipitación y la mala nutrición de las plantaciones agrava su severidad. Esta enfermedad ataca a las hojas y produce lesiones pequeñas color marrón oscuro, provocando la caída de todo el fruto del árbol. En poscosecha, ocasiona la llamada mancha negra en el fruto.
- **Polvillo o Mildiu Oidium sp:** Esta enfermedad se manifiesta con la aparición de polvillo blanco sobre las inflorescencias, frutos y hojas, causando su caída. Además, las hojas afectadas se deforman y posteriormente aparecen en ellas manchas irregular color negro. Este hongo requiere de poca humedad relativa para desarrollarse.
- **Antracnosis:** Enfermedad causada por *Colletotrichum gloeosporioides*. Penetra en las lesiones ocasionadas por otros hongos, se desarrolla antes de la cosecha y

se manifiesta en poscosecha, atacando a los frutos cuando casi están para cosechar. Inicialmente se manifiesta con manchas redondas color marrón, paralelamente, el hongo produce una pudrición en la pulpa de fruto, que ocasiona un sabor desagradable y avanza hasta colonizar el hueso.

- **Cancro del aguacate** (*Phytophora bohemeriae* Sawad): Se encuentra en la base del tronco hasta la altura de un metro, su importancia radica en la velocidad de desarrollo y capacidad de daño alrededor del tronco. Reduce el vigor del árbol con producción de frutos pequeños y de mala calidad.
- **Fusariosis:** Ataca directamente la raíz del árbol en cualquier estado de desarrollo, provocando pudrición y secamiento en las hojas. Es importante destruir los troncos viejos y quemarlos para eliminar la enfermedad.
- **Roña:** El hongo *Sphaceloma perseae* afecta a la hoja, principalmente las nuevas, y daña a los frutos, deteriorando su calidad estética. En el fruto son lesiones irregulares color marrón de apariencia corchosa, estas lesiones no son superficiales y no afectan la pulpa. En ataques severos, los brotes y las hojas se necrosan, se enroscan hacia arriba y pueden llegar a morir.
- Los árboles afectados por el viroide Mancha Amarilla Hundida o Sunblotch presentan achaparramiento, raquitismo, resquebrajamiento de la corteza en ramas y troncos; como proliferación de ramas secundarias (en abundancia) e improproductivas. Además, la mancha amarilla hundida en el tejido cortical de la fruta afecta su simetría de crecimiento

1.2. GENERALIDADES DE LA MUERTE REGRESIVA

1.2.1. Descripción de la enfermedad

Uno de los síntomas más importantes producidos por *Lasiodiplodia theobromae* en plantas de palto, que se observa con frecuencia, es la necrosis del follaje, de ramillas y ramas, las mismas que provocan la muerte total del tejido con avance basipetal, produciendo un síntoma típico de muerte regresiva. Este síntoma se observa tanto en plantas jóvenes, las cuales presentan ramas necrosadas, como en las plantas adultas.

Este síntoma se hace evidente en algunos sectores de la copa, abarcando gran cantidad de hojas y ramas con necrosis. Al realizar cortes transversales de las ramas que contienen ramillas afectadas con muerte regresiva, se observa que la necrosis compromete la corteza y leño originando la típica necrosis en forma de “V”, citada como característica de ataques del hongo en el cultivo de vid. (Rodríguez, 2010).

1.2.2. Patógenos causales de la enfermedad

Rodríguez (2010) y Alama et al. (2006) mencionan que la muerte regresiva en el palto es causada por *Lasiodiplodia theobromae*.

1.2.3. *Lasiodiplodia theobromae*

Según Alves (2008), *L. theobromae* es un patógeno de plantas con muy amplia gama de hospedantes. Causa pudrición y muerte regresiva en la mayoría de las especies que infecta. En su post cosecha es una enfermedad común de los cítricos, conocida como pudrición del pedúnculo.

L. theobromae es un parásito facultativo que generalmente infecta a sus plantas huéspedes penetrando a través de heridas y de tejidos en descomposición. El hongo es de aparición frecuente en las regiones tropicales y subtropicales, donde ha sido identificado como la causa de enfermedades en aproximadamente 280 especies de plantas vasculares, entre las cuales destacan aguacate, algodón, cacao, café, caña de azúcar, caucho, mango, maní, pino, tabaco, entre otros (Ecuador Forestal, 2014).

- Taxonomía

Según Griffon y Maublanc (1909) (*Botryodiplodia theobromae* Pat.), señalan que el causal de la muerte regresiva se clasifica de la siguiente manera:

Reino	: Fungi
División	: Ascomicota
Clase	: Ascomycetes
Orden	: Botryosphaerales
Familia	: Botryosphaeriaceae
Género	: <i>Lasiodiplodia</i>
Especie	: <i>Lasiodiplodia theobromae</i>

- **Ecología**

Fundesyram (S.f.) expresa que la temperatura adecuada para el desarrollo del hongo es de 23°C, al igual que la humedad relativa y precipitaciones medias. La enfermedad es agresiva cuando la plantación es sometida a estrés prolongado por exceso de humedad, las plantas son débiles por falta de abonado, falta de protección de las heridas después de la poda, residuos de tejidos vegetales infectados en el campo, inducciones florales con dosis muy altas y continuas.

Ccahuin (2006) menciona que, en zonas con altas temperaturas, campos con baja humedad del suelo y descuidos en labores culturales se observa una mayor incidencia de la muerte regresiva en árboles de palto causada por *Lasiodiplodia theobromae*.

Alana et al. (2006) indican que condiciones similares a las de Piura son favorables para el desarrollo del patógeno, causando la muerte regresiva en cultivos de palto.

- **Morfología**

Rodríguez (2010) menciona que las hifas son septadas, ramificadas y de color marrón oscuro al madurar y forman estructuras de fructificación llamadas picnidios, estos son piriformes con paredes de color marrón oscuro y presentan una cavidad u ostiolo ubicado en la parte apical, por donde son expulsadas las conidias, las mismas que se forman sobre células conidiogénicas en conidióforos cortos, ubicados en las paredes internas de los picnidios. Las conidias son de color claro, hialinas y aceptadas cuando son inmaduras, en cambio cuando maduran son de color marrón oscuras, uniseptadas y con estrías longitudinales en la superficie. Los picnidios del hongo se forman en los tejidos infectados de la corteza del mango, en presencia de alta humedad relativa e incidencia de luz solar, pudiendo formarse cientos de ellos. En los tejidos de la corteza del palto infectados por el hongo, se forman asimismo cientos de picnidios en presencia de alta humedad relativa e incidencia de la luz solar, en este caso las conidias sales expulsadas del picnidio unidas unas a continuación de otras, formando un hilo.

Cutti (1985) indica que la colonia es de color blanco inicialmente, y a la madurez, negro, de bordes regulares a irregulares, de micelio algodonoso aéreo y rastrero, tiñe al medio de color oscuro claro a negro a la madurez. Los conidios son cristalinos cuando son jóvenes y con una pared gruesa y a la madurez presenta una septa central y pigmentación marrón de forma ovoide a elipsoidal.

Cedeño et al. (1995) mencionan que el hongo forma picnidios a las dos y tres semanas de crecimiento micelial y que son de color oscuro, de paredes constituidas por células pseudoparenquimáticas, ostiolados y en su interior muestran paráfisis. Los conidios inicialmente son unicelulares, hialinos y de pared gruesa, posteriormente se transforman en bicelulares, pigmentados de marrón oscuro, presentando estrías longitudinales en la superficie; el pigmento se observa acumulado en la pared celular, el septo y las estrías

Biggs y Briton (1988) afirman que los picnidios se observan a la cuarta semana de desarrollo micelial.

- Descripción del patógeno

Capriles et al. (1979) señalan que *L. theobromae* es la especie de la clase Ascomycete, pleomórfico y plurívoro que tiene una amplia distribución geográfica pero con mayor prevalencia en áreas tropicales y subtropicales al inicio las colonias son blancas con hifas hialinas, luego forman un micelio granular, ramificado y septado, de color gris oscuro, con un agregado de hifas y estromas, donde se visualizan los picnidios agrupados, con ostiolos que dan salida a la esporas hialinas, ovales y unicelulares cuando son jóvenes y recién separadas del picnidio, oscuras y septadas cuando son viejas y libres. Y sostiene que el hongo *L. theobromae*, en muchas ocasiones, es considerado un patógeno secundario, oportunista, siendo realmente un patógeno agresivo cuando la presencia de heridas y el ambiente le favorecen. El hongo afecta a las plantas de varias formas.

- Síntomas y daños

Rodríguez (2010) indica que los síntomas en frutos se manifiestan como manchas de color pardo oscuro, de consistencia húmeda y esponjosa que se expande rápidamente

y se recubre en un período de ocho días con un micelio de color negro, que presenta masas de las picnidiosporas del hongo. En frutos de cosecha y en mazorcas sobre maduras su incidencia es muy alta, constituyendo una fuente permanente de inóculo. La infección interna sucede en los primeros estados de desarrollo de los frutos, aunque no se manifieste exteriormente. Los frutos enfermos sobre maduros son livianos, de corteza muy quebradiza, vacíos o con almendras en proceso de germinación.

Capriles et al. (1979) relatan que en ramas y raíces la manifestación del hongo es más severa, se ubica a cualquier altura del tronco y ramas o en las raíces, presentándose como manchas oscuras, secas, agrietadas, deprimidas y endurecidas en la corteza, mientras que internamente las necrosas de color castaño rojizo son de dimensiones más grandes que en el exterior y con una apariencia fibrosa. Y en ramas jóvenes las lesiones pueden ocasionar hipertrofias y rajaduras que en ocasiones exudan un líquido amarillento. Esta necrosis se expande rápidamente en varios sentidos. La enfermedad se hace evidente por la marchitez y amarillamiento que presentan las hojas afectadas, las cuales mueren rápidamente. Antes de morir se suceden brotaciones frecuentes de hojas pequeñas y más oscuras que lo normal.

Cedeño et al. (1995) afirman que el patógeno, produce lesiones que ocasionan defoliación y muerte regresiva en las ramas. Las lesiones se originan en los entrenudos y en los sitios de emergencia de hojas y ramas secundarias. Al inicio de la enfermedad es la presencia de manchas marrón claro que luego se ensancha mostrando en el centro blanco grisáceo. Cuando la enfermedad alcanza los tejidos internos, las hojas se vuelven amarillas y posteriormente se caen.

Alama et al. (2006) indican que el síntoma más conspicuo fue la presencia de chancros acompañados de exudados blanquecinos y grumosos de tamaños variables ubicados indistintamente en el tronco ramas y árboles jóvenes y adultos afectados. El mismo autor señala que *L. theobromae* ataca en cualquier estadio de la planta y todos los órganos de ésta (raíz, tallo, hojas, fruto, ramas). En frutos almacenados ocasiona pudrición.

Ccahuin (2006) menciona que los síntomas más importantes y constantes de la enfermedad son, clorosis y necrosis en ramas, tallos, hojas y frutos en los árboles de palto y que es muy frecuente, sobre todo en árboles de palto adultos de las variedades Fuerte, Hass y mejicanos.

- **Rango de hospedantes**

Fundesyram (s.f.) indica que los hospederos del hongo *L. theobromae*, afecta a más de 500 especies de plantas, muchas de ellas frecuentes en cacaotales (*Theobroma cacao*), aguacate (*Persea americana*), mango (*Mangifera indica*), coco (*Cocos nucifera*), yuca (*Manihot esculenta*), caña de azúcar (*Sacharum officinarum*), cítricas (*Citrus spp*), café (*Coffea arabica*), ñame (*Dioscorea alata*), batata (*Ipomea batata*), maíz (*Zea mays*), ciruela (*Prunus domestica*), agave (*Agave sisalana*), pinos (*Pinus caribaeae*) los que pueden actuar como huéspedes intermediarios.

Sandoval et al. (2013) expresan que la pudrición en frutos de mango cuando es afectado por *L. theobromae* es de color café claro a oscuro, se origina alrededor del pedúnculo y se extiende a lo largo de él con márgenes onduladas.

- **Control**

Capriles et al. (1979) indican que deberán aplicarse todos los correctivos agronómicos necesarios para minimizar los factores predisponentes a la enfermedad como drenajes y sombrero deficiente, carencias nutricionales, utilización como sombrero de plantas hospederas y presencia de malezas. La aplicación de podas sanitarias y la erradicación de árboles muertos, removiendo y quemando el material enfermo de las plantaciones y protegiendo las heridas ocasionadas, son labores necesarias.

Para el control de la enfermedad se utilizaron diferentes métodos el químico de forma racional y uno de los más eficaces, tanto en condiciones de campo como en post-cosecha, de allí la importancia y motivación para el estudio del control de las mismas (Khanzada et al., 2004).

Según Gamarra (2009) el control integrado comprende medidas culturales, físicas, químicas y un monitoreo continuo de la enfermedad por lo tanto se debe:

- ✓ Diseñar un paquete integral en el control de la enfermedad, paralelo al control químico.
- ✓ Monitoreo continuo y revisando la aparición de partes secas del árbol identificando el origen.
- ✓ Eliminar panículas que no tienen fruto luego del cuaje definitivo.
- ✓ Eliminar todo tejido muerto luego aplicar en zonas de corte o a todo el árbol un fungicida sistémico.
- ✓ Desinfestar herramientas de poda con solución de hipoclorito de sodio al 2% en agua.
- ✓ Eliminar árboles de raíz donde la enfermedad ha sido avanzada e incinerarlos.
- ✓ Alternar los fungicidas sistémicos para evitar que el hongo tome resistencia.

1.3. MÉTODOS DE CONTROL DE ENFERMEDADES

1.3.1. Control químico

La palabra fungicida se deriva de los términos latinos “*fungus*”: hongo y “*caedo*”: matar. En este sentido etimológico, fungicida es todo agente con habilidad para destruir organismos fungosos. Sin embargo, el término fungicida se refiere a los productos químicos usados en la prevención y en algunos casos en la erradicación o curación de enfermedades producidas por hongos fitopatógenos (Ochoa, 2004).

En este sentido estricto, es conveniente distinguir entre acción fungicida y acción fungistática. Se habla de la primera cuando la sustancia química produce la destrucción del organismo fungoso, es decir, ocasiona una acción irreversible. En cambio, cuando la actividad es reversible, produciendo un efecto inhibitorio temporal en la germinación de las esporas, se hace referencia a una acción fungistática (Ochoa, 2004).

En la actualidad se cuenta con un amplio espectro de compuestos fungicidas; estos pueden adaptarse a las formulaciones que satisfagan necesidades precisas (Ochoa, 2004).

a) Clasificación según sus usos

Contacto. - La mayoría de los fungicidas se usan como protectantes debido a que forman una barrera protectora en la planta. Los fungicidas de contacto actúan en sitios múltiples, ya que interfieren con los procesos metabólicos centrales de los hongos. Además, la mayoría de estos fungicidas afectan la producción de energía o ATP, inhibiendo la respiración o desacoplando la fosforilación oxidativa (Patiño et al., 2001).

Sin embargo, Tamayo (2007) afirma que el mejor producto de esta clase, para controlar Ascomycetes es Sulfato de cobre.

- **Sulfato de cobre.**- El sulfato de Cobre, en sus distintas formulaciones, corresponde a un microelemento que se utiliza para ser incorporados en mezclas físicas para corregir deficiencias de los suelos. Además, puede ser utilizado como bactericida y fungicida de contacto, que trabaja en forma preventiva en una amplia gama de enfermedades que afectan los cultivos.

✓ *Otros nombres:* sulfato de cobre (II), sulfato cúprico, piedra azul, piedra lipe, calcantita.

✓ *Fórmula:* CuSO_4

✓ *Uso:* 15 g/L

Sistémicos.- Actúan interrumpiendo el desarrollo del agente causante de la enfermedad, después de iniciada la infección. Comprende un grupo reducido de fungicidas, se usa con fines de protección sistémica, en la cual la sustancia química se introduce o absorbe en el sistema circulatorio de la planta actuando como una especie de vacuna. Esta última forma de control de enfermedades vegetales, recibe el nombre de quimioterapia (Patiño et al., 2001).

Según Huamán (2015) y Córdoba y Rodríguez (2013), los productos de esta clase con ingrediente activo Sulfato de cobre pentahidratado y Benomil son mejor inhibidor para los Ascomycetes.

- **Phyton 27.-** Phyton inhibe la germinación del estado vegetativo de los hongos y destruye la pared celular. (SerfiSA, 2018).

FICHA TÉCNICA

Tipo de producto	: Fungicida- Bactericida
Ingrediente activo	: Sulfato de cobre pentahidratado sistémico
Composición	: Sulfato de cobre pentahidratado Sistémico (*)....247.0 g/L Ingredientes Inertes.....csp 1 L (*) Equivalente a 5.5 % de cobre metálico

Tipo de formulación: Suspensión concentrada SC

Generalidades: Phyton-27 es un Fungicida-Bactericida Sistémico, base de una fabricación especial y única de sulfato de cobre pentahidratado Sistémico, que actúa sobre la pared celular de hongos y bacterias que están dentro de la planta.

Las características de Phyton-27 son:

- ✓ Controla hongos y bacterias causantes de las enfermedades en diferentes órganos de las plantas (hojas, tallos, panícula, granos y raíz)
- ✓ Phyton-27 es sistémico (penetra a la planta en pocas horas)
- ✓ Tiene doble acción: preventiva y curativa
- ✓ Contiene bajo contenido de cobre metálico (5.5 %)
- ✓ No es fitotóxico en ningún estadio del cultivo.
- ✓ No causa resistencia a hongos ni bacterias

Forma de aplicación: Phyton-27 se usa en aplicación en pulverización foliar y en casos extremos como refuerzo en plantas muy afectadas al cuello de planta. Par los mejores resultados regular el agua de aplicación a pH 4 a 4.5.

Tabla 1.1. Forma de aplicación de Phyton 27

Cultivo	Enfermedad	Agente causal	mL/L	Dosis L/cil	L/ha ⁴	PC ² (días)
Mango	Muerte regresiva	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	1 - 3	0.6 (1° aplic) 0.4 (2° aplic) 0.2 (3° aplic)	2.0 - 2.5 1.5 - 2.0 1.0 - 1.5	7
Palto	Pudrición radicular	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	2	0.4	1.5 - 2.5	7
Vid	Muerte regresiva	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	2.5-3.0	0.5 – 0.6	1.5 - 2.5	21

Periodo de reingreso : 24 horas

Compatibilidad: Phyton es compatible con la mayoría de agroquímicos de uso convencional, tener cuidado de no mezclar con productos alcalinos.

Toxicología (Phyton 27) : Toxicidad oral aguda PC LD50 >5,000 mg/kg
Toxicidad dermal aguda PC LD50 >2,000 mg/kg

Información Reglamentaria: Reg. SENASA N°: 314-96-AG-SENASA

- **Benlate.** - (Farmex, 2018).

FICHA TÉCNICA

Ingrediente activo : Benomil.

Formulación : Polvo Mojable (WP).

Concentración : Benomil 50%.

Composición Química : Benomil 500 g/kg
Ingredientes inertes 500 g/kg

Grupo Químico : Benzimidazoles.

Propiedades:

- ✓ Benlate es un fungicida de contacto o preventivo en la superficie de los órganos de las plantas tratadas, pero una porción del depósito penetra al interior de los tejidos y se mueve localmente con el sistema de transporte de agua, contando el ciclo de desarrollo del hongo y deteniendo la infección.

- ✓ Benlate puede permanecer activo por varias semanas en las superficies aplicadas debido a que el primer producto de degradación es el carbendazin que también tiene acción fungicida.
- ✓ Benlate por su amplio espectro, se recomienda para el control de más de 200 especies de hongos fitopatógenos en frutales, hortalizas, cereales y plantas ornamentales.

Modo de acción: Benlate es un inhibidor de la división celular y tiene un alto riesgo de resistencia.

Registro: N° 764-98-AG -SENASA

Marca: Farmex S.A.

Presentaciones: 200 gr, 500 gr y 5 Kg.

Toxicología: Ligeramente Peligroso.

Usos Registrados: Cítricos, Manzano, Tomate, Cebolla, Espárrago y Papa.

Dosis: 200 – 300 g/200L; 0.4 – 0.6 Kg/ha

b) Mecanismos de acción

La acción fungicida es usualmente expresada en uno de los efectos físicamente visibles: la inhibición de la germinación de esporas o la inhibición de crecimiento micelial. Muchos fungicidas previenen la germinación de esporas o matan a la espora inmediatamente iniciando el proceso de germinación. Algunos de estos inhibidores químicos o fungicidas también retardan o detienen el crecimiento del hongo cuando se aplican después de que se ha desarrollado el estado de infección (Tabares, 2002).

1.3.2. Control biológico

El control biológico de enfermedades ha sido definido por varios investigadores como la reducción de la densidad de inóculo de las actividades del patógeno en estado activo o en dormancia por uno o más organismos, que ocurre en forma natural o a través del manejo del medio ambiente, del hospedante o del antagonista (Duarte et al., 1996).

A las interacciones hospedante patógeno y los factores ambientales se añade la influencia de los agentes de control biológico. En este esquema, hay dos vías a través

de las cuales pueden actuar los agentes de control biológico. Externamente al hospedero el agente de control puede ser antagonista, por lo tanto, reducir la actividad, eficiencia, y/o densidad de inóculo del patógeno a través de antibiosis, competencia, o depredación / hiperparasitismo. Esto conduce a la reducción en el potencial de inóculo de un patógeno, el cual es definido como “la energía disponible para colonización de un hospedero o de un sustrato en la superficie del sustrato que se va a colonizar” (Duarte et al., 1996).

El agente biocontrol puede operar de forma primaria en el tejido del hospedante, iniciando por lo tanto una respuesta de resistencia en el hospedante (protección cruzada) tornándose antagonista, o conllevando a la pérdida de virulencia. Todas estas interacciones están influenciadas por el ambiente, y este factor puede tener un impacto en cuanto a determinar si el control biológico opera o no en un sistema (Duarte et al., 1996).

- **Organismos biocontroladores**

La mayoría de los agentes antagonistas utilizados en control biológico son saprófitos debido a su facilidad de adaptación al medio y a su alta capacidad de competencia por nutrientes frente a otros organismos. Dentro de este grupo de agentes de control biológico se encuentran varios tipos de organismo como protozoos, nematodos, rotífero, virus, bacterias y hongos. Dentro de los hongos se destacan el género *Trichoderma sp.* El cual posee varias características que lo ubican como un buen agente antagonista de otros hongos fitopatógenos (Elias et al., 1984).

Asimismo, Castellanos et al. (2008), afirma que *Bacillus subtilis*, es una bacteria con un alto potencial en el control del género *Lasioidiplodia*.

Serenade. - Es un fungicida efectivo, con varios modos de acción para el control de enfermedades, sin el riesgo de generar resistencia. (Bayer, 2018).

FICHA TÉCNICA

Formulación : Suspensión Concentrada.

Ingredientes Activo : *Bacillus subtilis*, cepa (QST 713) 1×10^9 ufc/g 1.34%

Modo de Acción : Fungicida biológico con acción antimicrobial común.

Mecanismo de Acción: Actúa creando una zona de inhibición en la hoja, previniendo la instalación del patógeno, destruyendo su tubo germinativo y micelio.

Toxicidad : Ligeramente Tóxico

Grupo Químico : Microbial (no tiene uno específico)

Dosis : 2 - 4 L/ha

Principales características: Es un fungicida efectivo, con varios modos de acción para el control de enfermedades, sin el riesgo de generar resistencia. La actividad de Serenade se basa en sus modos de acción y su bioquímica única y patentada – lipopéptidos anti hongos, subproductos antibacterianos y esporas de la cepa QST713 *B. subtilis*. El fungicida Serenade es la primera química microbiana que se ha incluido en la categoría 44 de la Lista FRAC (Fungicide resistance Action Committee).

Indicaciones de Uso: Se aplica en pulverizaciones previa mezcla con agua, utilizando equipos de aspersion terrestre. Para su preparación verter la dosis recomendada en la mitad del total de agua a utilizar, agitar bien y completar el resto de agua. Se recomienda aplicar Serenade ASO de manera preventiva antes de que se presenten síntomas evidentes de la enfermedad o cuando las condiciones del medio ambiente sean favorables para la presencia del patógeno.

Antídoto: No tiene un antídoto específico

Indicaciones para el médico: Tratamiento sintomático y de sostén. Mantenga libres las vías respiratorias y si es necesario por medio de respiración controlada.

Fitotoxicidad: No se ha reportado fitotoxicidad cuando se ha usado siguiendo las recomendaciones de dosis y época de aplicación.

Compatibilidad: Es compatible con todos los plaguicidas, fertilizantes foliares y bioestimulantes. Sin embargo, se recomienda realizar una prueba previa de compatibilidad.

Envases : Frasco x 250 ml; Frasco x 1 lt

Número de Registro : PBUA N° 090-SENASA

Mortuza (1999) afirma que *Trichoderma harzianum* inhibe a las colonias de *Lasiodiplodia theobromae*. Yadav y Majumdar (2003) mencionan que para el mismo patógeno, *Trichoderma viride* es también un buen control biológico.

***Trichoderma harzianum*.** - es un hongo que también es usado como fungicida. Se utiliza en aplicaciones foliares, tratamiento de semillas y suelo para el control de diversas enfermedades producidas por hongos.

Reino : Micetae (Fungi)
 División : Eumycota
 Subdivisión : Deuteromycotina
 Clase : Hyphomycetes
 Orden : Hyphales (Moniliales)
 Familia : Moniliaceae
 Género : Trichoderma
 Especie : *Trichoderma harzianum*

***Trichoderma viride*.** - Es un hongo usado como fungicida biológico, de igual forma es estimulador de crecimiento en plantas y utilizado como agente de bioremediación ya que degrada algunos grupos de pesticidas de alta persistencia en el ambiente. En el micoparasitismo son varias las enzimas producidas por el microorganismo, las cuales son capaces de hidrolizar las paredes celulares de numerosos hongos. Estas enzimas incluyen endoquitinasas, proteasas, exoglucan- β -1,3 glucosidasas, endoglucan- β -1,6 glucosidasas. Estas enzimas son inducidas por los diferentes polímeros componentes de la pared de distintas estructuras de los hongos

Reino	: Micetae (Fungi)
División	: Eumycota
Subdivisión	: Deuteromycotina
Clase	: Hyphomycetes
Orden	: Hyphales (Moniliales)
Familia	: Moniliaceae
Género	: Trichoderma
Especie	: <i>Trichoderma harzianum</i>

1.4. AGROECOLOGÍA DEL PALTO EN LAS LOCALIDADES DE QUINRAPA Y AZÁNGARO DEL DISTRITO DE LURICOCHA

Según Palomino (2013), las condiciones agroecológicas en las que se encuentran los cultivos de palto en el valle de Luricocha son las siguientes:

- **Precipitación.-** Luricocha tiene una precipitación pluvial promedio anual de 446.8 mm, que es relativamente baja para el requerimiento de agua del cultivo de palto, puesto que el área de cultivos actuales en el valle de Luricocha es 3.8 veces más de lo que podría regarse por gravedad y 1.6 veces más de lo que podría regarse por goteo. La época de lluvias es durante los meses de diciembre y abril, entonces la humedad varía entre 44% y 66%, lo cual influye en el mantenimiento de las plantaciones de palto.
- **Clima.-** Luricocha presenta buenas condiciones de clima (temperatura y humedad), para la obtención de fruta de calidad, con una temperatura media anual de máxima y mínima de 25.4 °C y 8.3 °C y la humedad relativa varía entre 44% y 66%. El clima en Luricocha y en Huanta es del tipo templado. La producción se ve amenazada en los meses de junio y julio ya que en estos meses la temperatura desciende y produce frutos de formas y tamaños irregulares o la caída de estos del palto. A su vez, el valle enfrenta vientos cálidos y secos que también causan la pérdida de la producción.

- **Suelo.-** Los suelos de este lugar de producción de palto, geomorfológicamente son de origen coluvio residual, relativamente profundos, de buen drenaje, superficial y en algunos lugares con ligero proceso de erosión laminar con presencia de predregosidad. El potencial nutricional de los suelos son de reacción neutro a ligeramente alcalino (pH de 6.9 a 7.6), reacción que afecta ligeramente la absorción de los nutrientes; sin problemas de sales debido al bajo valor de la conductividad eléctrica; con presencia de carbonatos con mayor incidencia en los horizontes superficiales que oscilan de 2.3 a 15.5 meq, con efecto principal de retención de fósforo. Medios a altos en materia orgánica, de medios a bajos en fósforo disponible y los niveles de potasio disponible son normalmente altos. Las plantaciones de los paltos están instaladas casi generalmente en suelos de textura fina (arcillosa), de baja macroporosidad. Las características de suelo, aparentes para el desarrollo de las plantas del palto en Luricocha, llegan a tener problemas cuando se presenta la falta de disponibilidad de agua de riego en los momentos críticos de producción del cultivo, produciendo estrés hídrico con la consecuente manifestación de síntomas de enfermedades abióticas y bióticas durante su crecimiento y desarrollo. El distrito de Luricocha es la zona productora de paltos de la provincia de Huanta, donde las enfermedades y plagas de insectos causan reducción del rendimiento y la cosecha de fruto de baja calidad que repercute significativamente en la economía de los productores de la zona.

- **Riego.-** El agua de riego que es usada en los huertos frutícolas en el distrito de Luricocha tiene sus nacientes en los ríos de Luricocha, Opanccay y Huanchacc; La principal fuente de agua disponible para su utilización en la agricultura tienen origen en las precipitaciones pluviales, cuya ocurrencia con mayor frecuencia es durante los meses de diciembre a abril, en estos meses no hay déficit de humedad para las plantas de palto, lo cual es distinto en los meses donde la precipitación es escasa. En aquellas plantaciones que cuentan con sistema de riego, la imprecisión en el manejo tecnificado se debe generalmente a causas como: equipos mal sectorizados, equipos descalibrados y mantenimiento deficiente de los equipos de riego. En los campos en que aún se utilizan riegos por gravedad el problema de la relación suelo: aire es más preocupante.

CAPITULO II METODOLOGÍA

2.1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO

El trabajo de investigación se realizó en condiciones de campo y laboratorio. La primera fase consistió en visitar las localidades de Quinrapa y Azángaro del distrito de Luricocha, de la provincia de Huanta, zonas productoras de palto. La siguiente fase de trabajo se realizó en el laboratorio de Fitopatología de la Escuela Profesional de Agronomía de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. (planos en el Anexo 1 y 2).

2.1.1. Ubicación geográfica de Luricocha

a) Ubicación política

Distrito : Luricocha

Provincia : Huanta

Región : Ayacucho

b) Ubicación geográfica (zona 18L)

Latitud : 12°53'53" Sur

Longitud : 74°16'16" Oeste

Altitud : 2611msnm

2.2. MATERIALES, EQUIPOS E INSUMOS

2.2.1. Materiales

- Tijera de podar
- Cuchilla
- Papel toalla
- Bolsas plásticas
- Caja de tecnopor
- Cintas de rafia

- Marcador indeleble
- Sacabocados
- Porta objetos
- Cubre objetos
- Cuaderno de campo
- Placa Petri
- Mecheros
- Vaso precipitado
- Matraz erlenmeyer
- Tapers hermético
- Bisturí
- Pinzas
- Pipetas
- Agujas
- Regla

2.2.2. Equipos

- Microscopio eléctrico
- Microscopio Óptico
- Incubadora
- Autoclave
- Termoventilador
- Cámara de aislamiento
- GPS

2.2.3. Insumos

- Alcohol
- Hipoclorito de sodio al 0.5% y 1.0%
- Lactofenol
- Agua estéril
- Fungicidas
- Biocontroladores
- Agar
- Dextrosa
- Papa
- Ampicilina

2.3. PLANTEAMIENTO DEL EXPERIMENTO

2.3.1. Tipo de investigación

Fase campo. - La investigación es de tipo descriptiva, ya que implica observar y describir el comportamiento de un sujeto en estudio sin influir sobre él de ninguna manera.

Fase laboratorio. - es de tipo aplicada y nivel experimental puesto que se maneja cierta variable experimental en condiciones controladas con el fin de describir de qué modo o por qué causa se produce una situación.

2.3.2. Factores de estudio experimental

Los factores para evaluar:

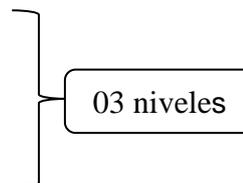
- Productos para el control de la muerte regresiva (P)
- Dosis de los productos para el control de la muerte regresiva (D)

Factor: Productos para el control de la muerte regresiva

- p1 : Fungicida sistémico (Phyton)
- p2 : Fungicida sistémico (Benomil)
- p3 : Fungicida de contacto (Sulfato de cobre)
- P4 : Controlador biológico (*Trichoderma viride*)
- p5 : Controlador biológico (*Trichoderma harzianum*)
- p6 : Controlador biológico serenade (*Bacillus subtilis*)

Factor: dosis de los productos por volumen de AGAR para p1, p2, p3 y p6

- d1 = VR (cantidad de dosis recomendado)
- d2 = VR + 25%
- d3 = VR - 25%



2.3.3. Descripción de los tratamientos

Se contó en total con 14 tratamientos, en base a tres productos químicos y tres productos biológicos, a los cuales se le añadió tres niveles de dosis, excepto a los productos p4 y p5, todo esto con el objetivo de determinar el producto y dosis que presenta un mayor efecto en el control in vitro del patógeno. En la tabla 2.1 se describe cada tratamiento.

Tabla 2.1. Tratamientos estudiados

TRATAMIENTO	PRODUCTOS DE CONTROL (P)	DOSIS (D)
T1	Sulfato de cobre pentahidratado (Phyton 27)	(VR)
T2	Sulfato de cobre pentahidratado (Phyton 27)	(VR-25%)
T3	Sulfato de cobre pentahidratado (Phyton 27)	(VR+25%)
T4	Benomil (Benlate)	(VR)
T5	Benomil (Benlate)	(VR-25%)
T6	Benomil (Benlate)	(VR+25%)
T7	Sulfato de cobre	(VR)
T8	Sulfato de cobre	(VR-25%)
T9	Sulfato de cobre	(VR+25%)
T10	<i>Trichoderma viride</i>	(VR)
T11	<i>Trichoderma harzianum</i>	(VR)
T12	<i>Bacillus subtilis</i> (Serenade)	(VR)
T13	<i>Bacillus subtilis</i> (Serenade)	(VR-25%)
T14	<i>Bacillus subtilis</i> (Serenade)	(VR+25%)

2.3.4. Diseño experimental

Se utilizó el Diseño Completo Randomizado (DCR), con 14 tratamientos y 3 repeticiones, obteniéndose un total de 42 unidades experimentales.

2.3.5. Duración del experimento

El experimento planteado tiene una duración de 5 meses (150 días).

2.4. INSTALACIÓN Y CONDUCCIÓN DEL EXPERIMENTO

2.4.1. FASE I: Trabajo de campo

- Evaluación de la Incidencia de la muerte regresiva

Esta evaluación se ha realizado en dos zonas productoras de palto del Distrito de Luricocha, en las localidades de Quinrapa y Azángaro (Fundo San Francisco) (Anexo 3). Para la recolección de muestras y conteo de árboles, cada zona se subdividió en cinco unidades de muestreo (P1, P2, P3, P4 y P5) de acuerdo a la presencia de síntomas de muerte regresiva en los árboles de palto (Figura 2.1),

realizando así un muestreo general debido a la presencia de distintas variedades y edades de los paltos. Entre las variedades cuantiosas en estas zonas, están, la variedad fuerte, súper fuerte, nacional, linda, familiar, carioca, gigantón, mexicana, santillana, hass y otras en cantidades mínimas, por lo tanto, el número de árboles para cada parcela ha dependido de las extensiones de cultivo de palto en cada zona y se describe en la tabla 2.2.

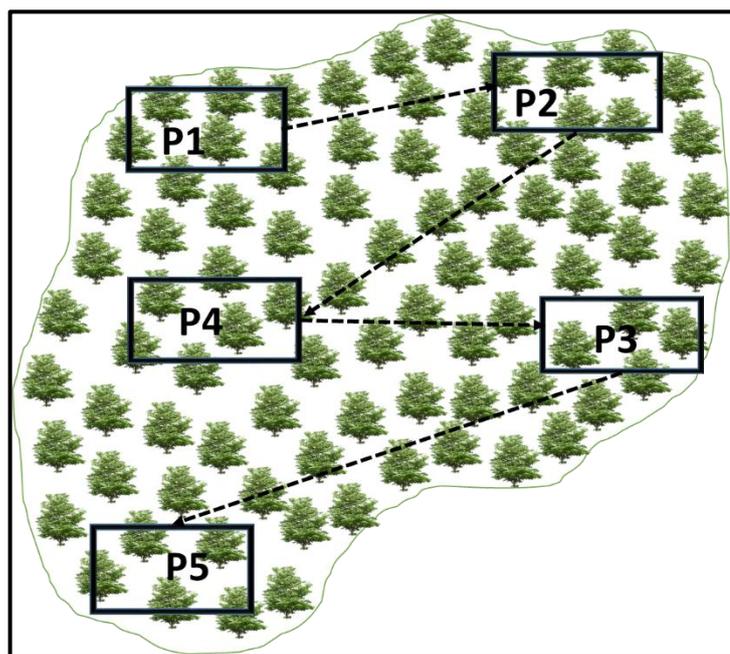


Figura 2.1. Croquis de parcelas y muestreo para cada zona de evaluación

Tabla 2.2. Número de parcelas y árboles para evaluar el porcentaje de incidencia de la muerte regresiva en árboles de palto en Quinrapa y Azángaro

ZONA	LOCALIDAD	Nº DE PARCELAS	Nº DE ÁRBOLES POR PARCELA	Nº TOTAL DE ÁRBOLES
1	Quinrapa	5	20	100
2	Azángaro (Fundo San Francisco)	5	40	200

Para determinar el porcentaje de incidencia en las parcelas, se contó la cantidad de árboles sanos y árboles enfermos que presentaban síntomas o signos de la muerte

regresiva. Finalmente, a medida que los árboles fueron evaluados, se marcó con una cinta en la parte del tronco para evitar volverlos a evaluar (Figura 2.2).



Figura 2.2. Árboles de palto evaluados y marcados con cinta

- **Descripción de sintomatología en campo**

La descripción sintomatológica se analizó in situ, para ello se ha observado minuciosamente los árboles de palto que mostraban síntomas y signos de muerte regresiva en los diferentes órganos como tallos, ramas, hojas y frutos; los cuales fueron plasmados en un cuaderno de campo y asimismo se tomó fotografías, como se aprecia en el Anexo 4 y 5.

- **Recolección de muestras**

Se recolectaron muestras de tallos, ramas y frutos de los árboles de palto que mostraban síntomas de la enfermedad “muerte regresiva”, dichas muestras se extrajeron con una cuchilla desinfectada en una solución acuosa de hipoclorito de sodio al 1,5%, posteriormente se colocaron en bolsas plásticas debidamente codificadas y se almacenaron en una caja de tecnopor para luego ser trasladado al laboratorio para su análisis respectivo, como se aprecia en la figura 2.3 y la selección de muestras en el Anexo 6.



Figura 2.3. Recolección de tallos, hojas, frutos y ramas de árboles de palto con síntomas de muerte regresiva

2.4.2. FASE II: Trabajo experimental de laboratorio

Esta fase se realizó en el laboratorio de Fitopatología de la Escuela de Agronomía de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Utilizando las técnicas descritas por Agrios (2005) y French (1980).

- Preparación de cámara húmeda

Las muestras recolectadas en campo fueron desinfectadas en hipoclorito de sodio al 1.0%, posteriormente se preparó la cámara con un recipiente de plástico hermético desinfectado, en cuya base se colocó papel toalla húmeda y para evitar el contacto con las muestras se colocaron sobre placas Petri, todo ello con el propósito de crear condiciones favorables de humedad para el desarrollo rápido de los patógenos que puedan estar involucrados de causar la enfermedad, durante siete días aproximadamente, tal y como se aprecia en la figura 2.4.

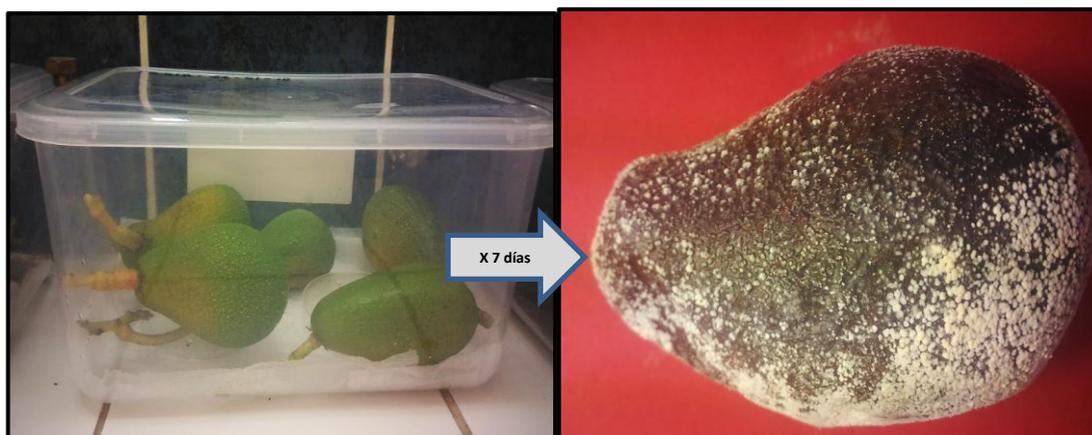


Figura 2.4. Resultado de las muestras luego de permanecer por siete días en cámara húmeda

Transcurridos los siete días de haber instalado las muestras en las cámaras húmedas, se hizo la evaluación de presencia de micelios aéreos en las superficies de las muestras para luego ser aislado a un medio de cultivo o placa con PDA.

- Preparación de medios del cultivo

El medio de cultivo que se utilizó es Papa Dextrosa-agar (PDA), cuya composición es la siguiente: 250g de papa, 18g de agar, 18g de dextrosa o azúcar y ampicilina por litro de PDA, el cual resultó favorable para el crecimiento y desarrollo del patógeno estudiado. Las soluciones de medios de cultivo se prepararon en matraces, luego esterilizados en autoclave a 121°C que equivale a 15 libras de presión durante 20 minutos. Los medios de cultivo esterilizados se dejaron enfriar durante un cierto tiempo y posteriormente se vertieron en placas Petri, previamente esterilizados. Se dejó que el medio de cultivo se solidifique para ser utilizado. El plaqueado del medio de cultivo en placas Petri, se llevó a cabo en condiciones asépticas, en una cámara especial limpia y libre de corrientes de aire y polvo para impedir la introducción de microorganismos contaminantes.

- Aislamiento

De las muestras en cámara húmeda, pasado los siete días, se observó la presencia de micelios y microsporas de los patógenos en hojas, tallos y frutos, los cuales se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 0.5% y posteriormente fueron aislados con

ayuda de pinzas y agujas en las placas Petri con medio de cultivo PDA, en una cámara de aislamiento previamente desinfectado las placas se almacenaron en una incubadora durante siete días a 25 °C. El procedimiento desde la preparación de cámara húmeda hasta el aislamiento se puede apreciar en el anexo 7.

- **Aislamiento y Purificación de microorganismos**

Una vez desarrollado las colonias en placa Petri, se observó la presencia de tres patógenos en una misma placa, Por lo cual se volvió a aislar y purificar, separando a un patógeno de otro, repitiéndose nuevamente el proceso de aislar a otra placa con medio PDA estéril.

- **Pruebas de Patogenicidad.**

Esta prueba se realizó aplicando los postulados de Koch, las colonias obtenidas e identificadas al microscopio fueron inoculadas en plántones de palto de aproximadamente 2 meses de edad y bajo las condiciones del laboratorio. Para ello, previamente cada plánton fue desinfectado con hipoclorito de sodio al 1% y cada patógeno fue inoculado en cada plánton, esto con la finalidad de identificar al patógeno causante de los síntomas observados en el campo de la muerte regresiva. Las fotografías de esta prueba se aprecian en el Anexo 8.

Para lograr esta prueba se siguió con el proceso de la siguiente manera:

Inoculación. - Para este procedimiento se preparó una suspensión conidial, con una cuarta parte de la colonia del patógeno licuado en 50 ml de agua estéril, el cual fue aplicado al cuello del tallo con una herida en forma de anillo previamente realizado con un bisturí. La otra cuarta parte del micelio de la colonia del patógeno se aplicó en la superficie de las hojas y tallos previamente rasgadas con una aguja. Posteriormente cada plánton fue cubierto con una bolsa de polietileno. Se utilizó un termoventilador a 27 °C para dar un ambiente favorable al desarrollo rápido de los síntomas causados por los patógenos inoculados (Figura 2.5).



Figura 2.5. Plantones de palto inoculados con patógenos obtenidos e identificados

Evaluación sintomatológica de plantones y reislamiento del patógeno. - Los plantones de palto que fueron inoculados con los patógenos, se inspeccionaron semanalmente durante dos meses, tiempo en que uno de los patógenos logró la infección en el plantón, presentando síntomas de la enfermedad muerte regresiva, similares a los observados en el campo. Para afirmar que el patógeno causante de la muerte regresiva en el plantón es el mismo que fue inoculado, se realizó el reislamiento o resembrado de las muestras en una placa con medio de cultivo PDA hasta obtener una colonia desarrollada y posteriormente ser identificada y comparada.

- Identificación y caracterización de estructuras

La caracterización del patógeno identificado como agente causal de la muerte regresiva se realizó macroscópicamente y microscópicamente. El color, forma y textura de la colonia, así mismo las esporas y cuerpos fructíferos (o estructuras portadoras de esporas) y la manera en que se disponen éstos, fueron las características más importantes y suficientes para sugerir la clase, orden, familia y género al cual pertenece el determinado patógeno. De la misma manera se realizaron

mediciones de la longitud y ancho de las estructuras del patógeno como se muestra en la figura 2.6

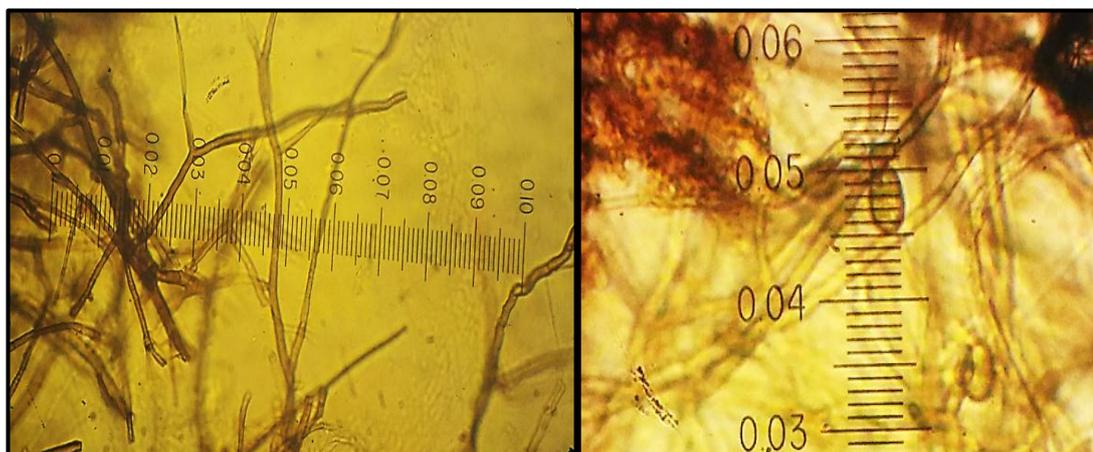


Figura 2.6. Medición de las estructuras de *Lasiodiplodia theobromae*

- Prueba de efectividad de los productos en el control in Vitro

El ensayo se efectuó mediante dos pruebas: la prueba de envenenamiento para realizar la evaluación con los productos químicos y la prueba de enfrentamiento para el caso de los controladores biológicos, a excepción de *Bacillus subtilis* (controlador biológico), por su presentación en líquido se realizó mediante la primera prueba mencionada. A demás se incluyó un testigo, donde el medio de cultivo no fue mezclado con ningún producto. Y por último las placas inoculadas fueron incubadas a $25^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$.

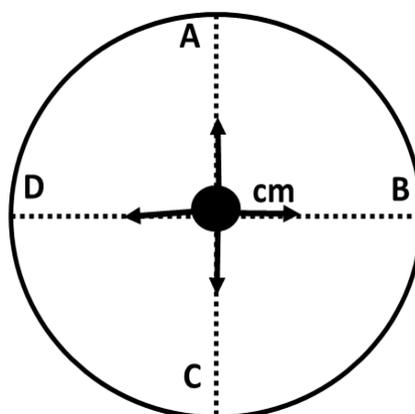
Las fotografías del procedimiento y productos se presentan en el Anexo 10 y 11 respectivamente y a continuación se mencionan los procedimientos más importantes:

Prueba del medio envenenado.- Esta prueba se realizó evaluando el crecimiento micelial diario y en centímetros de *Lasiodiplodia theobromae* en medio de cultivo PDA envenenado. Para cada producto se preparó 75 ml de PDA y cuando éste obtuvo la temperatura media fue mezclado con el producto químico, con las dosis mencionados en la tabla 2.3.

Tabla 2.3. Dosis aplicadas para 75 ml de PDA para los 14 tratamientos

TRAT.	PRODUCTO	DOSIS	und/75ml
T1	Phyton 27 (Phyton) – f. sistémico	VR	0.15 ml
T2	Phyton 27 (Phyton) – f. sistémico	VR+25%	0.19 ml
T3	Phyton 27 (Phyton) – f. sistémico	VR-25%	0.11 ml
T4	Benlate (Benomyl) – f. sistémico	VR	0.045 gr
T5	Benlate (Benomyl) – f. sistémico	VR+25%	0.056 gr
T6	Benlate (Benomyl) – f. sistémico	VR-25%	0.034 gr
T7	Sulfato de cobre – f. de contacto	VR	1.10 gr
T8	Sulfato de cobre – f. de contacto	VR+25%	1.40 gr
T9	Sulfato de cobre – f. de contacto	VR-25%	0.80 gr
T10	<i>Trichoderma viride</i> – biocontrolador	VR	0.5 cm
T11	<i>Trichoderma harzianum</i> - biocontrolador	VR	0.5 cm
T12	Serenade (<i>Bacillus subtilis</i>) - biocontrolador	VR	0.60 ml
T13	Serenade (<i>Bacillus subtilis</i>) - biocontrolador	VR+25%	0.70 ml
T14	Serenade (<i>Bacillus subtilis</i>) - biocontrolador	VR-25%	0.40 ml

En este medio envenenado ya solidificado en las placas, se realizó una línea horizontal y otra vertical en la parte inferior para facilitar la medición del crecimiento micelial, en dicha placa se sembró en el centro un disco de agar de 0.5 cm de diámetro con micelio de *L. theobromae* del margen de los cultivos (Figura 2.7), y por último las placas sembradas fueron selladas con parafilm e incubadas a ± 2 25°C.

**Figura 2.7.** Líneas de medición para el crecimiento micelial diario en placa Petri

Prueba del medio de enfrentamiento. - En esta prueba se evaluó el crecimiento micelial diario de *L. theobromae* en presencia de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* por separado. Para ello se utilizó solo el medio de cultivo PDA, donde se sembraron dos discos en puntos opuestos de una placa petri, uno de los discos fue extraído del aislamiento de *L. theobromae* y el otro disco de los aislamientos de uno de los biocontroladores.

Para realizar las mediciones del crecimiento micelial del patógeno y del controlador se realizó una línea horizontal y vertical en la parte inferior de la placa que sirvió de guía para tomar las medidas hacia el centro de la placa (Figura 2.8).

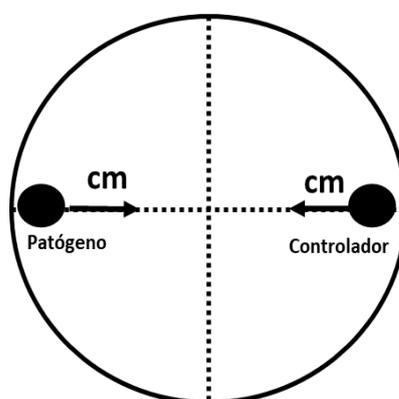


Figura 2.1. Líneas de medición para el crecimiento micelial diario del patógeno y controlador en placa Petri

Evaluación del crecimiento micelial del patógeno. - Diariamente se registró el crecimiento micelial, con ayuda de una regla. Dichas mediciones culminaron en cinco días, ya que en este tiempo fue cuando el testigo cubrió toda la superficie del micelio contenido en la placa Petri.

2.5. PARÁMETROS DE EVALUACIÓN

Los parámetros estimados se mencionan a continuación:

- Incidencia de la enfermedad

Esta evaluación se determinó mediante el porcentaje de incidencia o intensidad de la enfermedad muerte regresiva en los árboles de palto, con la siguiente fórmula mencionada por Barrantes (2007):

$$I = \frac{\text{Número de plantas enfermas}}{\text{Número de plantas observadas}} \times 100$$

Donde:

I = Intensidad o incidencia del daño o enfermedad

- **Etiología y caracterización del patógeno causal**

Para determinar la etiología y caracterizar al patógeno responsable de causar la muerte regresiva se ha evaluado los siguientes parámetros:

- Forma de la colonia (textura, color)
- Estructuras morfológicas del patógeno (micelios, picnidios y esporas).

- **Efectividad de los productos en el control in-vitro del patógeno**

El parámetro principal fue el ritmo de crecimiento del patógeno en porcentaje de inhibición como respuesta a los productos de control, realizando las mediciones diarias de la longitud del micelio. Para evaluar el ensayo se aplicó la fórmula propuesta por Vincent (1947), la prueba en medio envenenado con fórmula (1) y para la prueba en medio de enfrentamiento se aplicó la fórmula (2).

Fórmula 1.

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{crecimiento micelial testigo} - \text{crecimiento micelial tratamiento}}{\text{Crecimiento micelial testigo}} \times 100$$

Fórmula 2.

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{crecimiento micelial del patógeno} - \text{crecimiento micelial del controlador}}{\text{Crecimiento micelial del patógeno}} \times 100$$

2.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El ensayo fue conducido en el Diseño Completo Randomizado, con 14 tratamientos y tres repeticiones. Para comparar los resultados obtenidos se realizó el análisis de varianza (ANVA), con un rango de confianza del 95 %. Al conseguirse diferencias

significativas entre los tratamientos, se realizó pruebas de medidas utilizando el método de comparación de medias de tukey ($p < 0.05$)

El modelo aditivo lineal utilizado en el presente experimento es la siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Dónde:

- Y_{ij} : Variable respuesta
- μ : Media general
- τ_i : Efecto del tratamiento
- ε : Error experimental

CAPITULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. INCIDENCIA Y SINTOMATOLOGÍA DE LA MUERTE REGRESIVA EN EL PALTO EN LURICOCHA – HUANTA

3.1.1. Incidencia de la muerte regresiva

El porcentaje de árboles de palto con síntomas de muerte regresiva diagnosticados en toda la parte aérea como tallos, ramas, hojas y frutos fueron de 74% y 69%, en las localidades de Quinrapa y Azángaro (Fundo San Francisco) respectivamente, como se aprecia detalladamente en la tabla 3.1.

Tabla 3.1. Porcentaje de incidencia de muerte regresiva en el distrito de Luricocha

ZONA	LUGAR	N° DE ÁRBOLES OBSERVADOS	N° DE ÁRBOLES CON SÍNTOMAS	% INCIDENCIA
1	Quinrapa	100	74	74 %
2	Azángaro (Fundo San Francisco)	200	138	69%

Los resultados indican que la enfermedad muerte regresiva presentó mayor incidencia en la localidad de Quinrapa que en Azángaro. Así mismo, se observa que los porcentajes obtenidos son altos, debido a que están ocasionando daños significativos a la calidad de los árboles y frutos, debido a que estas dos zonas productoras de palto presentan un clima favorable no solo para el desarrollo adecuado del cultivo sino también para el desarrollo favorable del patógeno *Lasiodiplodia theobromae*.

Este resultado concuerda con lo referido por Ccahuin (2006), donde menciona que, en las zonas con temperaturas altas, campos con baja humedad del suelo y descuidos en labores culturales como es el caso de Luricocha, se observaron mayor incidencia de la muerte regresiva en árboles de palto.

Del mismo modo, Alama y Rodríguez (2006) mencionan que la incidencia de muerte regresiva en dos zonas productoras de palto de Piura, superaron el 80 y 86% de plantas afectadas, lo que demuestra la peligrosidad de la misma, lo cual no difiere con los resultados obtenidos en este trabajo de investigación.

3.1.2. Sintomatología de la muerte regresiva en el palto en Luricocha

Los síntomas de la muerte regresiva, observados en los árboles de palto en las localidades de Quinrapa y Azángaro (Fundo San Francisco), fueron principalmente la marchitez del árbol a nivel de follaje y la presencia de una sintomatología compleja que empieza con una marchitez vascular, acompañada de la pérdida de coloración verde oscura de las hojas hasta tornarse cloróticas, como se aprecia en la figura 3.1.



Figura 3.1. Muerte regresiva en los árboles de palto en Luricocha

A continuación, se describe los síntomas observados en las diferentes estructuras del árbol de palto:

- **Necrosis de ramas.**

En las ramas y brotes se observó necrosis, empezando con un amarillamiento en las hojas más jóvenes (Figura 3.3), hasta que adquiere una coloración marrón-pardo, o rojizo y que con el tiempo se puede tornar de un color gris oscuro, las cuales mueren rápidamente, como se muestra en la figura 3.2.a. A medida que la enfermedad avanza, las yemas terminales de las ramas empiezan a secarse ocasionando la muerte descendente de las mismas, haciendo que se caigan o queden suspendidas hacia abajo adheridos al fuste, como se aprecia en la figura 3.2.b.



Figura 3.2. Necrosis de ramas en árboles de palto en Luricocha; a) Quinrapa, b) Azángaro



Figura 3.3. Amarillamiento de las ramas del árbol de palto con síntomas de muerte regresiva en Luricocha

- Brotes

Los árboles afectados por esta enfermedad, al ser cortados a 25 cm del suelo continúan emitiendo los brotes epicórmicos (Figura 3.4.a). Estos rebrotes pueden llegar a marchitarse nuevamente y morir tal como ocurriera con el brote inicial, iniciándose nuevamente el proceso, hasta que el árbol muere completamente tal y como se aprecia en la figura 3.4.b.

Esta sintomatología se ve acompañada por una disminución en el crecimiento en la altura y el diámetro y posiblemente un daño interno en la orientación del xilema.



Figura 3.4. Rebrote de los árboles de palto afectados con muerte regresiva en Luricocha. a) Quinrapa, b) Azángaro

- Necrosis de Tallos

En los árboles afectados por la enfermedad, el daño logra algunos centímetros de profundidad, destruyendo el tejido vascular del área circular del fuste, así mismo el xilema cambia de color blanco (árbol sano) a pardo oscuro (árbol muerto) (Figura 3.6), además este síntoma en el tallo es la manifestación más severa del patógeno causal de ésta enfermedad, ubicándose en cualquier altura del tronco y ramas, presentándose como manchas oscuras, secas, agrietadas, decaídas y endurecidas en la corteza, mientras que internamente las necrosis ocasionan exudados de cristales blanquecinos, como se aprecian en la figura 3.5.a y 3.5.b. Esta necrosis se expande

rápidamente en varios sentidos, pudiendo alcanzar la médula y provocando la muerte de las áreas superiores o de toda la planta, y por obstrucción de los vasos del xilema.



Figura 3.5. Necrosis de tallos de árboles de palto en Luricocha. a) Tallo viejo, b) tallo joven



Figura 3.6. Corte longitudinal del tallo del árbol de palto con síntomas de muerte regresiva en Luricocha

- Necrosis de Frutos

Las lesiones ocasionadas por el patógeno causal de la muerte regresiva en frutos de palto son inicialmente difusas, dispersándose desde el pedúnculo en forma de huellas

dactilares, las cuales oscurecen y crecen rápidamente alrededor de la base del pedúnculo formando márgenes ondulados (Figura 3.7.a y 3.7b). La necrosis ocurre debajo de la cutícula, invadiendo la pulpa del fruto y llegando a descomponerse. Asimismo, se llegan a observar estructuras patogénicas primero sobre el pedúnculo y después sobre el fruto; además, de las lesiones puede fluir un exudado de color café (Figura 3.8).



Figura 3.7. Manchas necróticas junto al pedúnculo del fruto de palto en Luricocha.
a) Quinrapa, b) Azángaro

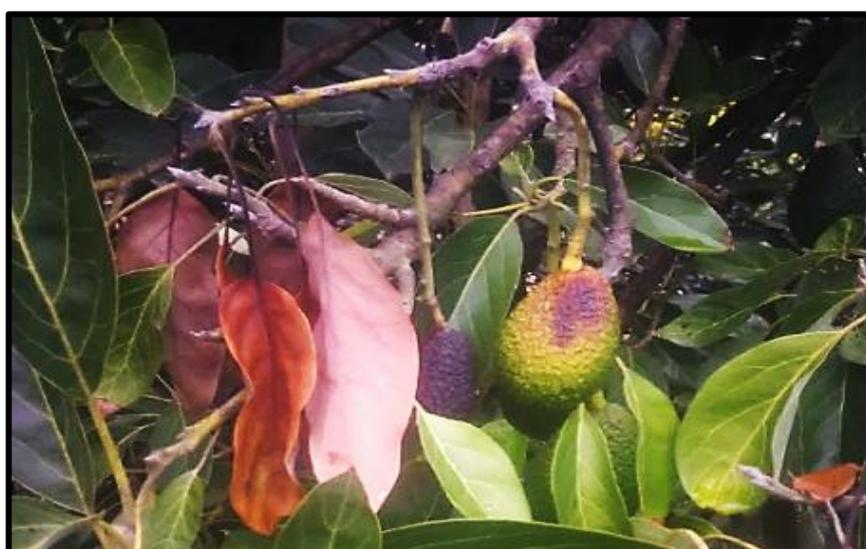


Figura 3.8. Muerte regresiva de la rama, hojas y frutos del árbol de palto en Luricocha

Estos resultados son similares con lo reportado por Ccahuin (2006), quien menciona que los síntomas importantes y constantes de la enfermedad son clorosis y necrosis en ramas, tallos, hojas y frutos en los árboles de palto, y que es muy frecuente, sobre todo en paltos adultos de las variedades Fuerte, Hass y mejicanos, además menciona que las partes más afectadas presentan una coloración marrón oscura como en los tejidos vasculares, todo esto bajo las condiciones de Huanta. Del mismo modo, los síntomas observados concuerdan con lo reportado por Alama y Rodríguez (2006), quienes señalan que el síntoma más conspicuo de esta enfermedad en arboles de palto bajo las condiciones de Piura, fue la presencia de chancros acompañados de exudados blanquecinos y grumosos de tamaños variables ubicados indistintamente en el tronco y ramas de árboles jóvenes y adultos afectados, que al realizar cortes longitudinales de la corteza del tallo, siempre presentó tejidos necrotizados de color marrón oscuro, otro síntoma que observaron fue las necrosis del follaje y ramillas, como también la pudrición de frutos en la parte de inserción al pedúnculo.

3.2. ETIOLOGÍA Y CARACTERIZACIÓN DEL AGENTE CAUSAL DE LA MUERTE REGRESIVA EN EL PALTO EN LURICOCHA

3.2.1. Identificación de los agentes aislados de las muestras

Al extraer los patógenos de las muestras recolectadas en campo, en el laboratorio se ha obtenido 10 placas con colonias de patógeno, inicialmente cada placa presentaba cuatro colonias pequeñas, de los cuales se pudieron observar un total de 40 colonias en etapa de desarrollo, tres colonias pequeñas correspondían a *Alternaria alternata*, una colonia correspondía a *Colletotrichum* sp. y 36 a *Lasiodiplodia theobromae*, posteriormente fueron purificados cada patógeno para ser identificados. El porcentaje de los patógenos obtenidos de las muestras con muerte regresiva en las unidades de muestreo se muestra a continuación:

- *Lasiodiplodia theobromae* (90%)
- *Alternaria alternata*. (7.5%)
- *Colletotrichum* sp. (2.5%)

3.2.2. Prueba de patogenicidad

Al realizar esta prueba con los tres patógenos obtenidos para identificar el agente causal de la muerte regresiva, se determinó que, el patógeno que está asociado a esta enfermedad en el palto en Luricocha es *Lasiodiplodia theobromae*.

La especie *L. theobromae* es más virulenta en comparación con otras especies, debido a que, en los plantones inoculados con este patógeno, provocaron la muerte regresiva total en cada plantón aproximadamente en dos meses, obteniéndose síntomas como necrosis de las hojas, tallos y raíces (Figura 3.9). Síntomas similares observados en los árboles jóvenes y adultos con esta enfermedad en paltos de Luricocha. Los resultados del reaislamiento de esta prueba concluyeron que *Lasiodiplodia theobromae* es el agente causal de la muerte regresiva del palto en esta zona. Sin embargo, los aislamientos de *Alternaria* y *Colletotrichum sp* no produjeron ningún síntoma de la muerte regresiva en los plantones inoculados durante el tiempo de evaluación.



Figura 3.9. Síntomas de muerte regresiva en los plantones inoculados con *Lasiodiplodia theobromae*

En relación a otras investigaciones, éstos resultados concuerdan con lo determinado por Alama y Rodríguez (2006) que, al realizar la prueba de patogenicidad en plantones de palto, demostraron que *Lasiodiplodia theobromae* era el causante de la muerte regresiva.

Del mismo modo, Úrbez et al. (2008) encontraron que *L. theobromae* es más virulento en el cultivo de vid ya que ocasionó lesiones de mayor tamaño en los tallos inoculados.

Por otro lado, Ismail et al. (2012) inocularon *L. theobromae* en frutos de mango, donde mostró una virulencia de media a alta en comparación a otras especies. Asimismo, Marques et al. (2013) describió a *L. theobromae* con una virulencia media comparada con otros patógenos, siendo ésta la más virulenta, ocasionando lesiones de 33.6 mm de diámetro en el fruto de mango, en tal sentido los resultados obtenidos no difieren a los resultados de los autores mencionados.

3.2.3. Caracterización morfológica y biométrica de *Lasiodiplodia theobromae*

Las características de *Lasiodiplodia theobromae* se especifican a continuación:

- Colonia

La colonia de *L. theobromae* se desarrolló exitosamente en el medio de cultivo PDA, y a los siete días mostró un crecimiento micelial aéreo abundante, algo algodonosa. El micelio aéreo inicialmente es blanco hialino (Figura 3.10.a), posteriormente forman un micelio de color gris a oscuro y más denso en el centro del disco (Figura 3.10.b).

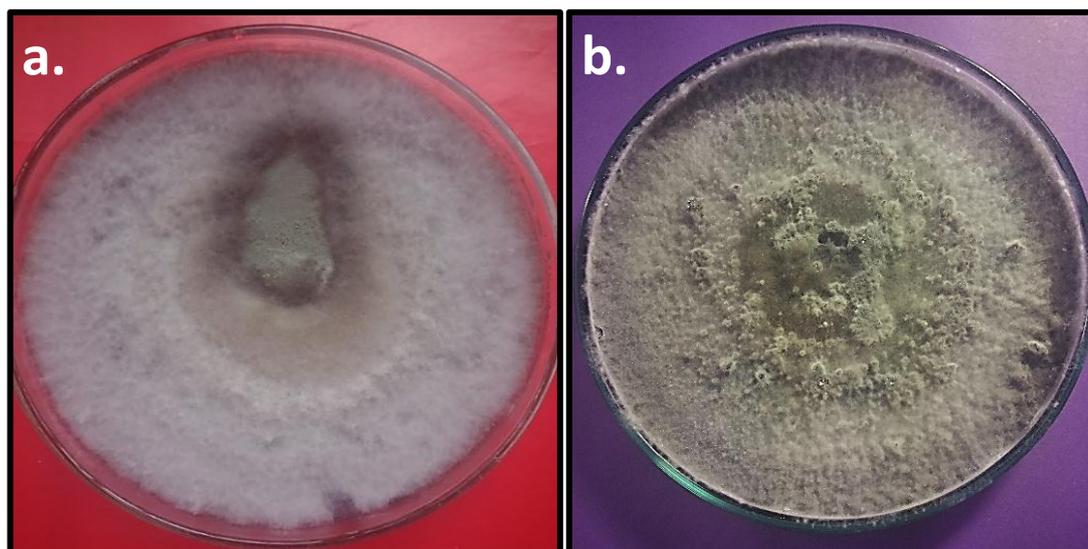


Figura 3.10. a) Colonia de *L. theobromae* de 7 días, b) *L. theobromae* de 14 días

- Hifas o micelios

Microscópicamente, las hifas jóvenes son blancas hialinas de aproximadamente 2.6 μm de diámetro, y cuando éstas son viejas forman un micelio granular, ramificado y septado de un color más oscuro (Figura 3.11), sobre éstas se forman los picnidios agrupados.

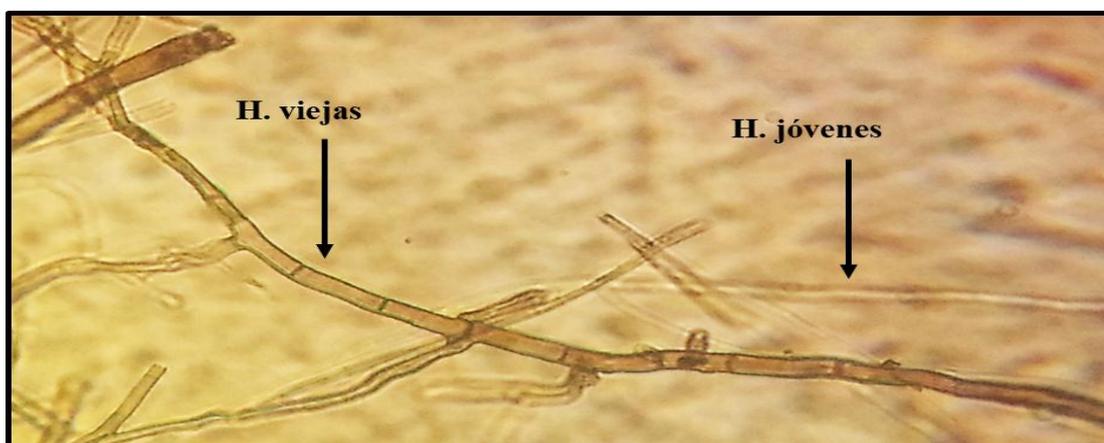


Figura 3.11. Hifas jóvenes y viejas de *Lasiodiplodia theobromae*

Este resultado coincide con la información reportado por Cutti (1985), quien indica que la colonia es de color blanco inicialmente, y a la madurez, negro, de bordes regulares a irregulares, de micelio algodonoso aéreo y rastrero, tiñe al medio de color oscuro claro a negro a la madurez.

- Picnidios

Observados al microscopio, los picnidios son de color oscuro y algo piriformes, éstos son estructuras de fructificación, que aparecen a las tres semanas aproximadamente del crecimiento micelial, además presenta un ostiolo ubicado en la parte apical, por donde son expulsadas las conidias, ya que dentro de éstas se forman las conidias inmaduras (Figura 3.12).

Al respecto Cedeño et al. (1995) indican que el hongo forma picnidios a las dos y tres semanas de crecimiento micelial y que son de color oscuro de paredes constituidas por células pseudoparenquimáticas, ostiolados y en su interior muestran paráfisis. Mientras tanto Biggs y Briton (1988) mencionan que los picnidios se observaron a las cuatro semanas en distintas etapas de desarrollo. bajo las condiciones de Georgia. En tal sentido los resultados obtenidos no difieren de los mencionados anteriormente.



Figura 3.12. Picnidio de *Lasiodiplodia theobromae*

- Conidias

A la vista de un microscopio, las conidias inmaduras son hialinos y de una sola célula, elipsoidales a subovoides, amerosporas, de aproximadamente 22-27 x 11-15 μm , con pared densa y contenido granular que se encuentran unidas a las células conidiogénicas (Figura 3.13.a), lo cual hace que este estado inmaduro de las conidias tenga un parecido con el género *Dothiorella*; Las conidias maduras son de color café oscuro, elipsoidales a ovoides, didimosporas, de 19-26 x 11-14 μm , y con estriaciones longitudinales irregulares cuanto más avanzado es su madurez (Figura 3.13.b).

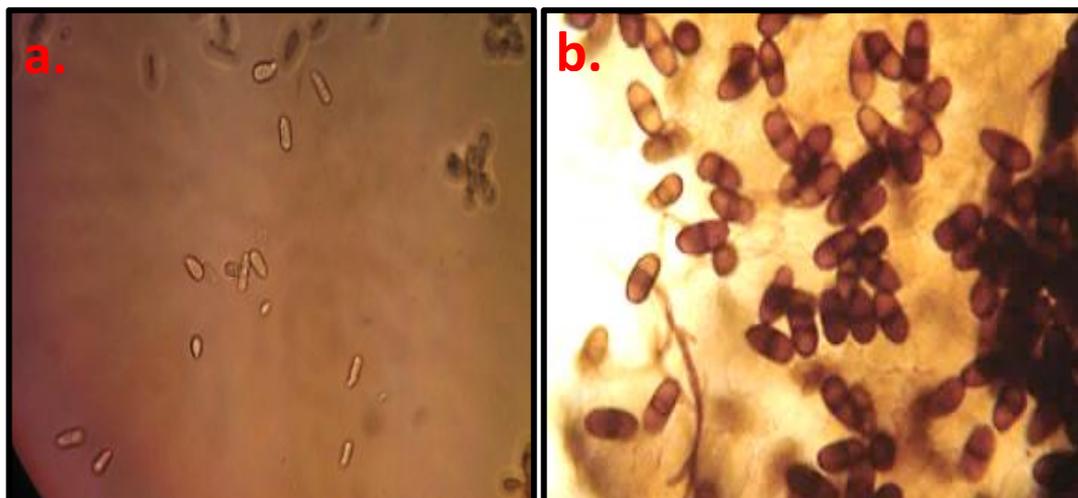


Figura 3.13. Conidias de *L. theobromae*. a) conidias maduras de *L. Theobromae*, b) conidias inmaduras de *L. Theobromae*

Resultados similares fueron reportados por Cedeño et al. (1995), al mencionar que los conidios fueron inicialmente unicelulares, hialinos y de pared celular gruesa, posteriormente se transformaron bicelulares, pigmentados de marrón oscuro, presentando estrías longitudinales en la superficie; el pigmento se observó acumulado en la pared celular, el septo y las estrías. Del mismo modo Cutti (1985) señaló que los conidios fueron cristalinos cuando joven con una pared gruesa y a la madurez presentan una septa central y pigmentación marrón de forma ovoide a elipsoidal.

3.3. EFECTIVIDAD DE LOS PRODUCTOS EN EL CONTROL QUÍMICO Y BIOLÓGICO IN-VITRO DE *Lasiodiplodia theobromae*

La evaluación de los tratamientos concluyó en cinco días, debido a que el testigo cubrió la placa Petri en ese periodo.

Los resultados obtenidos de la actividad antifúngica de los tratamientos, expresada como porcentajes de inhibición (PI) frente a las cepas de *Lasiodiplodia theobromae*, se muestran en la tabla 3.2.

Tabla 3.2. Valores de porcentaje de inhibición micelial obtenidos para los 14 tratamientos

TRATAMIENTO	DOSIS	REPETICIÓN	CREC. MICEL. /5 DÍAS (CM)	% DE INHIBICIÓN
T1	VR	r1	2.58	46.4
		r2	2.53	47.4
		r3	2.45	49.0
T2	VR-25%	r1	2.83	41.1
		r2	2.85	40.6
		r3	2.85	40.6
T3	VR+25%	r1	1.43	70.3
		r2	1.33	72.4
		r3	1.45	69.8
T4	VR	r1	1.00	79.2
		r2	0.98	79.7
		r3	0.90	81.3
T5	VR-25%	r1	1.08	77.6
		r2	1.23	74.5
		r3	0.95	80.2
T6	VR+25%	r1	0.83	82.8
		r2	0.68	85.9
		r3	0.65	86.5
T7	VR	r1	0.23	95.3
		r2	0.15	96.9
		r3	0.15	96.9
T8	VR-25%	r1	0.28	94.3
		r2	0.25	94.8
		r3	0.28	94.3
T9	VR+25%	r1	0.10	97.9
		r2	0.10	97.9
		r3	0.10	97.9
T10	VR	r1	3.05	53.4
		r2	3.20	50.0
		r3	3.55	41.3
T11	VR	r1	3.18	50.6
		r2	2.63	62.4
		r3	2.20	70.3
T12	VR	r1	0.00	100.0
		r2	0.00	100.0
		r3	0.00	100.0
T13	VR-25%	r1	0.00	100.0
		r2	0.00	100.0
		r3	0.00	100.0
T14	VR+25%	r1	0.00	100.0
		r2	0.00	100.0
		r3	0.00	100.0
Testigo	-		4.80	0.0

El análisis estadístico se ha realizado con los promedios de cada unidad experimental (tratamiento) con la finalidad de obtener datos uniformes en tamaño, siguiendo la metodología aplicada en el análisis del porcentaje de inhibición micelial.

Tabla 3.3. Análisis de varianza para el porcentaje de inhibición micelial a los cinco días de evaluación de los 14 tratamientos

F.D.V	G.L.	S.C.	C.M.	Fc	Ft (0.05 , 0.01)
Tratamiento	13	18116.5	1394	125.86	2.09 , 2.88 **
Error	28	310.03	11.07		
Total	41	18426.57			

CV = 4.24%

En la tabla 3.3 se observa que en el análisis de varianza para las variables porcentaje de inhibición del crecimiento micelial presentó diferencias altamente significativas entre los tratamientos, por ello se realizó la prueba de tukey, con la finalidad de realizar comparaciones entre tratamientos.

Tabla 3.4. Prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) del porcentaje de inhibición micelial de los 14 tratamientos

TRATAMIENTOS	% DE INHIBICIÓN MICELIAL	PRUEBA DE TUKEY
T12	100.0	a
T13	100.0	a
T14	100.0	a
T9	97.9	a
T7	96.4	a
T8	94.4	a
T6	85.1	a b
T4	80.0	b
T5	77.4	b
T3	70.8	b c
T11	61.1	c
T10	48.3	d
T1	47.6	d
T2	40.8	d

Leyenda:

- T1: Phytol (VR)
- T2: Phytol (VR-25%)
- T3: Phytol (VR+25%)
- T4: Benomyl (VR)
- T5: Benomyl (VR-25%)
- T6: Benomyl (VR+25%)
- T7: Sulfato de cobre (VR)
- T8: Sulfato de cobre (VR-25%)
- T9: Sulfato de cobre (VR+25%)
- T10: *Trichoderma viride* (VR)
- T11: *Trichoderma harzianum* (VR)
- T12: *Bacillus subtilis* (Serenade) (VR)
- T13: *Bacillus subtilis* (Serenade) (VR-25%)
- T14: *Bacillus subtilis* (Serenade) (VR+25%)

La prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) (Tabla 3.4) indica que los tratamientos T12, T13, T14, T9, T7 y T8 presentaron promedios estadísticamente similares en cuanto al porcentaje de inhibición micelial y superaron con diferencias significativas al resto de tratamientos T6, T4, T5 que presentaron promedios similares, pero superiores a los tratamientos T3 y T11.

Por otro lado, los porcentajes de inhibición micelial con promedios más bajos, fueron los tratamientos T10, T1 y T2 que presentan promedios similares.

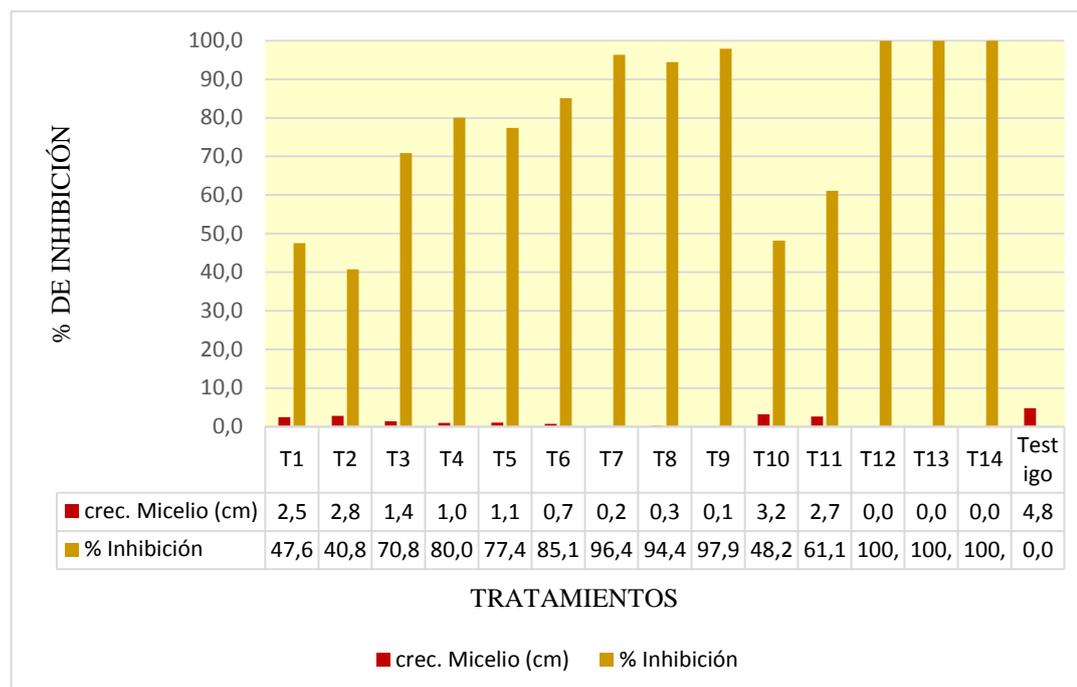


Figura 3.14. Número promedio de crecimiento de micelios y porcentaje de inhibición micelial

En la figura 3.14, se observa que el mayor porcentaje de inhibición micelial fue de 100 % para los tratamientos T12, T13 y T14, correspondientes al control biológico con *Bacillus subtilis* (Serenade), por lo que no pudieron medirse las colonias de inhibición. Los tratamientos T9, T7 y T8 presentan porcentaje de inhibición micelial (PI) de 97%, 96.4% y 94.4% respectivamente, que pertenecen al control químico con sulfato de cobre, donde las colonias se llegaron a medir entre 0.1, 0.2 y 0.3 cm de diámetro. Los tratamientos T6, T4 y T5 obtuvieron un PI de 85.1%, 80% y 77.4% respectivamente, que pertenecen al control químico con Benomil, donde las colonias llegaron a medir entre 0.7, 0.1 y 1.1 cm de diámetro. El tratamiento T3 obtuvo un PI de 70.8%, que corresponde al control químico con Phyton (VR + 25%) y el tratamiento T11 con PI de 61.1% que corresponde al control biológico con *Trichoderma harzianum*, donde las colonias llegaron a medir 2.7 cm.

Los tratamientos que se mencionan a continuación, son los que lograron un porcentaje de inhibición menor al 50%, como es el caso del tratamiento T10 con PI de 48.2% que corresponde a *Trichoderma viride*, donde las colonias del patógeno llegaron a medir hasta 3.2 cm, seguido por el tratamiento T1 y T2 con PI de 47.6% y

40.8% respectivamente que corresponden al control químico con Phyton (VR y VR – 25%) donde las colonias llegaron a medir entre 2.5 y 2.8 cm de diámetro.

Por otro lado, los tratamientos T10 y T11 llegaron a inhibir al 100% a *L. theobromae* dos días después de haber culminado la evaluación.

En relación a las dosis, los tratamientos que tienen la dosis recomendada más el 25% de su volumen (VR+25%) obtuvieron resultados altos en porcentajes de inhibición del patógeno, sin embargo, las dosis con volumen recomendado (VR) obtuvieron también resultados positivos en cuanto a la dosis con volumen recomendado menos el 25% (VR-25%).

En cuestión de producto, el que mostró mayor eficacia en el control in vitro de *Lasiodiplodia theobromae* fue Serenade (*Bacillus subtilis*) que inhibió en su totalidad el crecimiento del micelio, y el resto de fungicidas permitieron el crecimiento micelial, pero no llegaron a cubrir la totalidad de la placa Petri al finalizar la prueba. El tratamiento que no inhibió el crecimiento micelial en la placa petri fue el Testigo. Las fotografías de los resultados se observan en el anexo 12.

En relación a otras investigaciones, los resultados obtenidos con *B. subtilis* son similares a los obtenidos por Castellanos et al. (2008), donde manifiestan que *Bacillus subtilis* evidenció tener un alto potencial y espectro de acción in vitro como biocontrol de *Lasiodiplodia theobromae* con un porcentaje de inhibición micelial de 67.3%.

De igual modo, en cuanto a los resultados con sulfato de cobre, coincide por lo referido por Tamayo (2007), que recomienda la utilización de fungicidas cúpricos (sulfato de cobre) contra *L. theobromae*, debido a que en sus experimentos in vitro, éste patógeno resultó ser sensible a los ingredientes activos de este grupo.

Así mismo, los resultados con Benomil no difieren a lo mencionado por Huamán (2015), donde manifiesta que el fungicida que inhibió totalmente el crecimiento micelial de *L. theobromae* en la prueba in vitro, fue Benomil al 50%.

Por otro lado, los resultados con *Trichoderma* coinciden con lo referido por Mortuza e Ilag (1999), donde mencionan que *T. harzianum* exhibió la mayor inhibición en la prueba de control in vitro de *L. theobromae*, sin embargo, no coincide con los resultados de Yadav y Majumdar (2005), quienes informaron que *T. viride* fue más eficaz que *T. harzianum* en el control in vitro de *L. theobromae*.

Córdoba y Rodríguez (2013) demostraron la eficacia de Phyton 27 en el control in vitro de *L. theobromae*, indicando que hubo ausencia de desarrollo del hongo a la dosis de 2ml/L.; y a 1ml/L, solo se observó un escaso crecimiento micelial. Por el cual se puede afirmar que ambos resultados son similares a lo obtenido en el experimento.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en la investigación se lograron las siguientes conclusiones:

1. El porcentaje de incidencia de la muerte regresiva en los árboles de palto evaluados en las localidades de Azángaro y Quinrapa del distrito de Luricocha, provincia de Huanta es de 69 y 70% respectivamente.
2. Los resultados de la prueba de patogenicidad con *Aternaria alternata*, *Colletotrichum sp* y *Lasiodiplodia theobromae*, patógenos obtenidos al ser aislados en el laboratorio de las muestras extraídas en campo, demostraron que *Lasiodiplodia theobromae* es el agente causal de la muerte regresiva en árboles de palto evaluados.
3. El producto biológico Serenade con ingrediente activo *Bacillus subtilis* demostró mejores resultados de inhibición del crecimiento de *Lasiodiplodia theobromae* en pruebas in vitro.

RECOMENDACIONES

1. Identificar a nivel molecular la especie *Lasiodiplodia theobromae*, debido a que el descubrimiento puede complementar mayores conocimientos para el manejo del hongo.
2. Evaluar en vivero y campo la efectividad de los productos *Bacillus subtilis*, sulfato de cobre, Benomil, *T. harzianum* y *T. viride* para el control de *Lasiodiplodia theobromae*.
3. Proseguir la investigación del control in vitro, con otros productos químicos y biológicos diferentes a los estudiados, para el control de *Lasiodiplodia theobromae*.
4. Evaluar la efectividad de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* en el control in vitro de *Lasiodiplodia theobromae* en un tiempo más allá de cinco días.
5. Evaluar la efectividad de la colonia *Bacillus subtilis* en el control in vitro de *Lasiodiplodia theobromae* mediante el método de enfrentamiento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABCAGRO. 2002.** Agroinformación-El cultivo de palta-AbcAgro. Disponible en:
http://www.abcagro.com/frutas/frutas_tropicales/palta.asp (consultado el día 8 de setiembre de 2017, a las 8:32 a.m.).
- Agrios, G. N. 2005.** Plant pathology. Fifth edition. Elsevier. USA. 922 pp
- AGROAREQUIPA. 2011.** Producción Agraria: Cultivo de palto. Disponible en:
agroarequipa.blogspot.com/2011/08/cultivo-de-palto-html (consultado el 5 de setiembre de 2017, a las 10 a.m.).
- AGRODATA 2007.** La revista agraria. Disponible en:
<http://www.cepes.org.pe/revista/agraria.htm> (consultado el día 8 de setiembre de 2017, a las 5:21 p.m.).
- Alama, I., Maldonado, E., Rodríguez-Gálvez, E. 2006.** *Lasiodiplodia theobromae* afectando el Cultivo de Palto (*Persea americana*) en las condiciones de Piura-Perú. Facultad de Agronomía. Departamento Académico de Sanidad Vegetal. Universidad Nacional de Piura.
- Alves, A. P. W. Crous, A. Correia, and A. J. L. Phillips. 2008.** Morphological and molecular data reveal cryptic species in *Lasiodiplodia theobromae*. Fungal Divers. 28: 1-13.
- Anaya, M. 2000.** Identificación de ecotipos e importancia de *Persea americana* “palto” en el sector agrario de la provincia de Huanta – 2000. Tesis Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú.
- Avilán R. L. y Ciurana J. 2008.** Sistemas de plantación de altas densidades en aguacate. FONAIAP. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias Aptdo. 4653. Maracay 21 01. Venezuela
- Barrantes F. 2007.** Patología Vegetal. Fundamento de fisiología del parasitismo para el control de enfermedades. Ayacucho.
- Bayer Perú, 2018.** Crop Science Perú. Serenade ASO. Disponible en:
<https://www.cropscience.bayer.pe/es-PE/Productos-e-innovacion/Productos/Fungicidas/Serenade-ASO.aspx>
- Biggs, A. R., and K. O. Britton. 1988.** Presymptom histopathology of peach trees inoculated with *Botryosphaeria obtusa* and *B. dothidea*. Phytopathology 78: 1109-1118.

- Capriles de Reyes, L.; Reyes, H.; Molina, C. y Sornes, H. 1979.** Situación actual y potencial del cultivo de cacao Caucagua, Estación Experimental de Caucagua. Ceniap/Fonaiap, 81 p. (Mimeo).
- Castellanos J., Leanne G., Oliva P., Dueñas M., Fresneda J., Fraga S., Meléndez O., 2008.** Estudios relacionados con el uso de *Bacillus subtilis* en el control de hongos fitopatógenos. Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT). Cuba.
- Ccahuin W. 2006.** Tristeza o Muerte regresiva de palto (*Persea americana* Mill.) Análisis etiológico y prueba de administración patológica. Huanta – Ayacucho. Tesis para obtener título de ingeniero agrónomo. Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga.
- Cedeño L; Carrero C; Mohali S y Palacios E 1995.** Muerte regresiva en Panchita causada por *Lasiodiplodia theobromae*. Universidad de los Andes, Mérida -Venezuela.
- Córdoba, J. y Rodríguez E., 2013.** Control químico de la Muerte Regresiva y Pudrición del Mango. Libro de resúmenes, XXII Congreso Peruano de Fitopatología y XVII Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Chiclayo Perú, 22pg.
- Cultivo de palta, 2002.** <http://www.Agrobit.com>. Santiago del Estero. 1071 (5900) Villa María, Córdoba – Argentina.
- Cutti E. 1985.** Aislamiento, caracterización, prueba de patogenicidad y Control químico in vitro de *Botryodiplodia sp.* de Manzano (*Pirus malus*) y de Rosal (*Rosa indica*) en Ayacucho 2750 m.n.m. Tesis de Agronomía, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho – Perú.
- Duran, F. 2011.** Cultivo del Aguacate o Palta. Grupo Latina Editores. Bogotá Colombia. 326pp.
- Duarte, M. Hernandez, M. 1996.** Evaluación preliminar de extractos vegetales para el control de *Cladosporium echinulatum*, Berkeley, de Vries, en el cultivo de clavel. Trabajo de grado para optar por el título de ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía. Bogotá D.C. 84 pàgs.

- Ecuador Forestal. 2014.** Descripción del hongo *Lasiodiplodia theobromae*
Disponible en:
<http://ecuadorforestal.org/wp-content/uploads/2014/06/SPF-FOLLETO-PIF-2014-050614.pdf> Consultado el 20/02/15.
- Elias, P. 1984.** Contribución al estudio del control biológico de *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* y *Phytium sp.* mediante especies de *Trichoderma spp.* Trabajo de grado para optar el título de Biólogo. Universidad Nacional De Colombia. Facultad de Ciencias. Bogotá D.C. 79 págs.
- Escobedo, J. 1995.** Fruticultura General. Programa de Investigación en Frutales, Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima-Perú. 175pp.
- Farmex, 2018.** Vínculos fértiles. Benlate Fungicida. Disponible en:
<http://farmex.com.pe/productos/protecciondecultivos/fungicida/benlate.html>
- Franciosi, R. 2003.** El Palto, Producción, Cosecha y Post Cosecha. Ediciones Cimagraf. Lima - Perú. 225pp.
- French E. 1980.** Métodos de investigación Fitopatológica. Científico principal y jefe del Dpto del CIP – La Molina, Perú.
- Fundesyam. (S. f).** Pudrición negra de los frutos y cáncer del tronco, ramas y raíces. Disponible en la página web:
<http://www.fundesyam.info/biblioteca.php?id=3788>. Consultado el 28 de diciembre del 2017.
- Gamaliel, L; Ferreyra, R; Gil, P; Maldonado, P; Toledo, C. Barrera, C. Celedón, J. 2010.** El Cultivo de Palto. INIA. Chile. 82 p.
- Gamarra A. 2009.** *Lasiodiplodia* en mango. Disponible en la página angeldiga2000@hotmail.com angeldiga2000@yahoo.com.ar. Publicado el 08 de enero de 2013. Consultado el 02 de enero del 2018.
- Garbanzo, M. 2010.** Manual de aguacate: buenas prácticas de cultivo variedad Hass Costa Rica. 96 pág.
- Griffon, É.; Maublanc, A. 1909:** Sur une maladie du cacaoyer. Bulletin Trimestriel de la Société Mycologique de France 25(1): 51-58

- Huaman R., 2015.** Etiología y control de la pudrición del tallo de la vid, en la localidad de Chincha – Ica. Tesis para optar el Título de ingeniero agrónomo. Universidad Nacional Agraria La Molina. Perú.
- Ibacache A. y N. Rojas. 2007.** Factores Ambientales a considerar. Cultivo de paltos en el valle del Elqui. Tierra Adentro N° 72, p: 27-29.
- Ismail AM, Cirvilleri G, Polizzi G, Crous PW, Groenewald JZ, Lombard L, 2012.** *Lasiodiplodia* species associated with dieback disease of mango (*Mangifera indica*) in Egypt. Australasian Plant Pathology 41.
- Khazada, M., Lodhi and S. 2004.** Pathogenicity of *Lasiodiplodia theobromae* and *Fusarium solani* on. Mango. Pak. J. Bot., 36(1): 181-189.
- Koller, O. 2002.** Abacate. Producao de mudas, instalacao e manejo de pomares, colheita e pos-colheita. Cinco continentes editora. Porto alegre- Brasil. 154pp.
- Marques MW, Lima NB, Morais Junior MA, Barbosa MAG, Souza BO, Michereff SJ, Phillips JL and Câmara MPS. 2013.** Species of *Lasiodiplodia* associated with mango in Brazil. Fungal Diversity61:181-193.
- Mengel, K and Kirkby, E. A. 1987.** Principles of Plant Nutrition. International Potash Institute. Bern, Suiza. 687 p.
- MINAG.** Producción de Palta. Disponible en www.minag.gob.pe. Consultado el 22 de setiembre del 2017 a las 6:45 a.m.
- Mortuza, M., Ilag, G. and Lina, L. 1999.** Potential for Biocontrol of *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl. in Banana Fruits by *Trichoderma* Species. Biological Control. 15 (3): 235-240.
- Ochoa, D. 2004.** Determinación de los niveles de sensibilidad en aislamientos colombianos de *Phytophthora infestans* hacia tres fungicidas comúnmente utilizados en su control. Trabajo de grado para optar el título de Microbiólogo Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias Básicas.
- Palomino P. E. 2013.** “Análisis de los sistemas productivos y de comercialización del cultivo de palto (*Persea americana*) en el valle de Luricocha- Distrito de Luricocha – Huanta – Ayacucho”. Línea de investigación para optar el

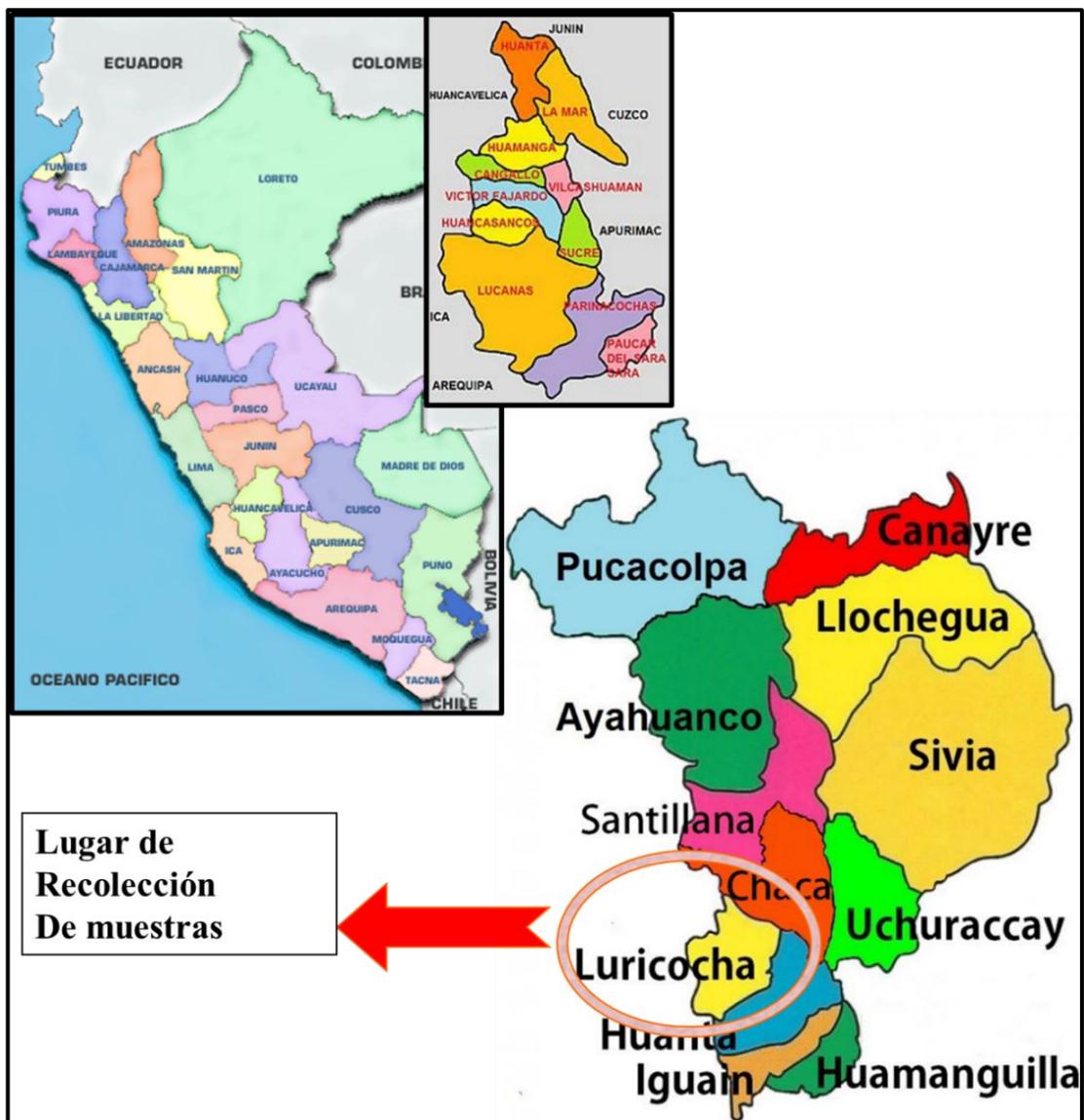
título profesional de ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de Huancavelica

- Patiño, L. Rodríguez, M. 2001.** Aislamiento e identificación de hongos fitopatógenos y evaluación de fungicidas frente a los hongos más relevantes en vid (*Vitis vinífera*), variedad chardonnay en el viñedo San Martín en el municipio de Sogamoso, departamento de Boyacá. Trabajo de grado para optar por el título de Microbiólogo Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias Básicas.
- Rimache, M. 2007.** Cultivo de Paltos. Editora Macro. Lima - Perú. 117pp.
- Rodríguez, F. 1982.** El aguacate. México. AGT. 167 p.
- Rodríguez G. 2010.** *Lasiodiplodia theobromae*. Fitopatógeno de Mango (*Mangifera indica*) y Palto (*Persea americana*). Piura.
- Sandoval, D.; Nieto, A.; Orozco, H.; Silva, V. 2013.** Hongos asociados a pudrición del pedúnculo y muerte descendente del mango (*Mangifera indica* L.). Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Carretera Colima-Manzanillo.
- SCRIBD. 2004.** Requerimientos edafoclimáticos del palto. Disponible en: <http://www.es.scribd.com/doc/110957863/Clima-y-Suelo-Para-Palto> (consultado el día 9 de setiembre de 2017, a las 10:43 a.m.).
- SERFISA, 2018.** Phyton 27. Fungicida – Bactericida. Disponible en: http://www.plmlatina.com.pe/deaq/src/productos/6089_52.htm
- SOLIDINTERNATIONAL, 2010.** Programa Modular Tecnológico Productivo de Palta. Disponible en www.solidinternational.ch/wp-content/.../Palta-Marco-Referencia121.pdf (consultado el 9 de setiembre de 2017, a las 3:00 p.m).
- Tabares, F. 2002.** Evaluación in Vitro de diferentes compuestos químicos agrícolas para el control de los hongos *Colletotrichum gloeosporoides* y *C. acutatum*, causantes de la antracnosis de los cítricos. Trabajo de grado para optar por el título de Microbiólogo Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias Básicas.
- Tamayo PJ. 2007.** Enfermedades del aguacate. Politécnica. Pág. 4:51-70.

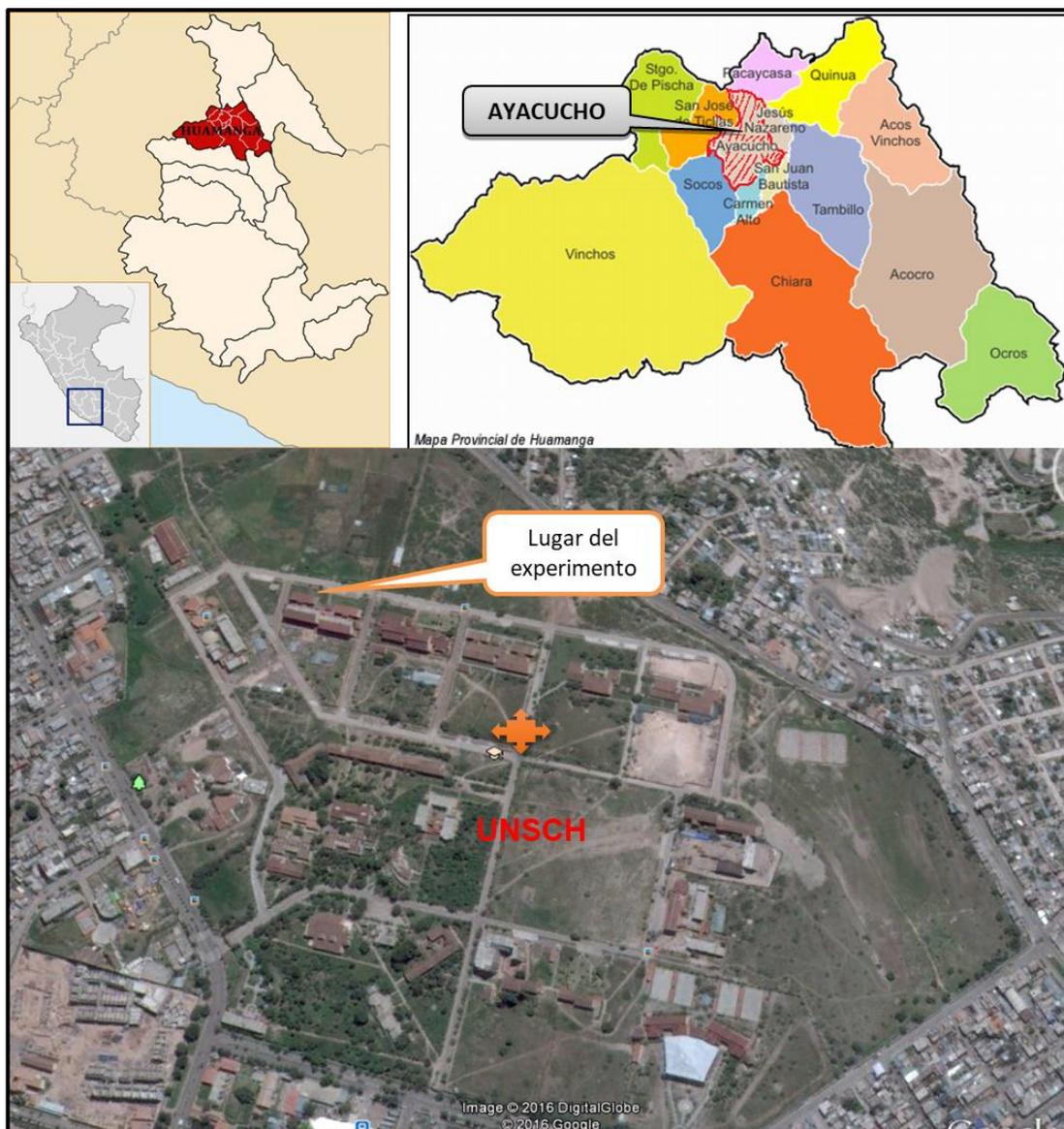
- Úrbez, Torres JR, Leavitt GM, Guerrero JC, Guevara J and Gubler WD. 2008.** Identification and pathogenicity of *Lasiodiplodia theobromae* and *Diplodia seriata*, the causal agents of bot canker disease of grapevines in Mexico. Plant Disease 92:519-529.
- Vincent, J.M. 1947.** Distortion of fungal hyphae in the presence of certain inhibitors. Nature, 159:850
- Whiley, A. 2001.** Interpretación de la Fenología y Fisiología del Palto para Obtener mayores producciones Australian & New Zealand Avocado Growers Conference 2001 Bundaberg, Queensland, Australia, 3rd June to 7th June, 2001.
- Yadav, R.K. and Majumdar. V.L. 2005.** Efficacy of Plant Extracts, Biocontrol Agents and fungicides Against *Lasiodiplodia theobromae* Incited Die – back of Guava (*Psidium guajava* L.) J.Mycol.Pl.Pathol. 35(2): 352-353.

ANEXOS

Anexo 1. Ubicación geográfica del distrito de Luricocha



Anexo 2. Ubicación geográfica del Laboratorio de Fitopatología



Anexo 3. Reconocimiento de las zonas de muestreo y de evaluación en google Earth



Anexo 4. Reconocimiento del campo de cultivo de palto en el distrito de Luricocha

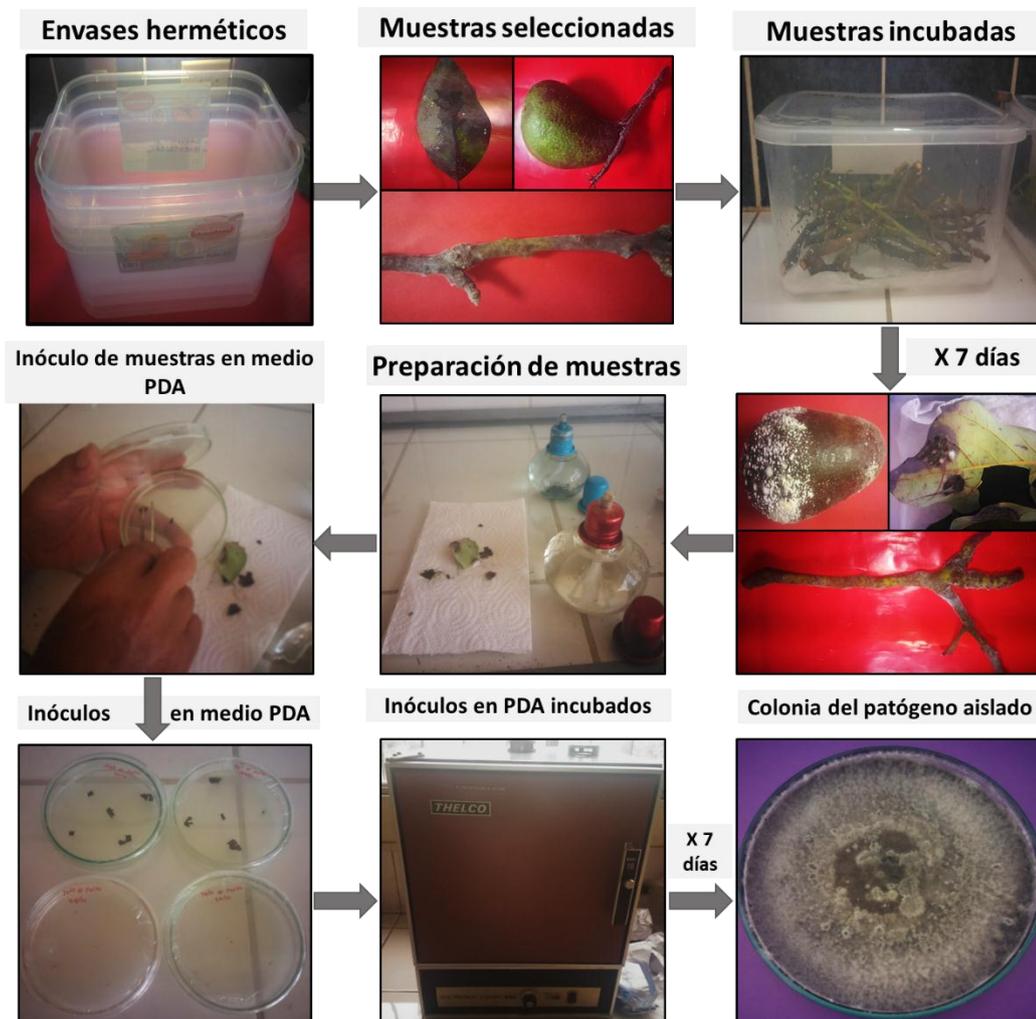


Anexo 5. Recolección de muestras asistido por el asesor de tesis

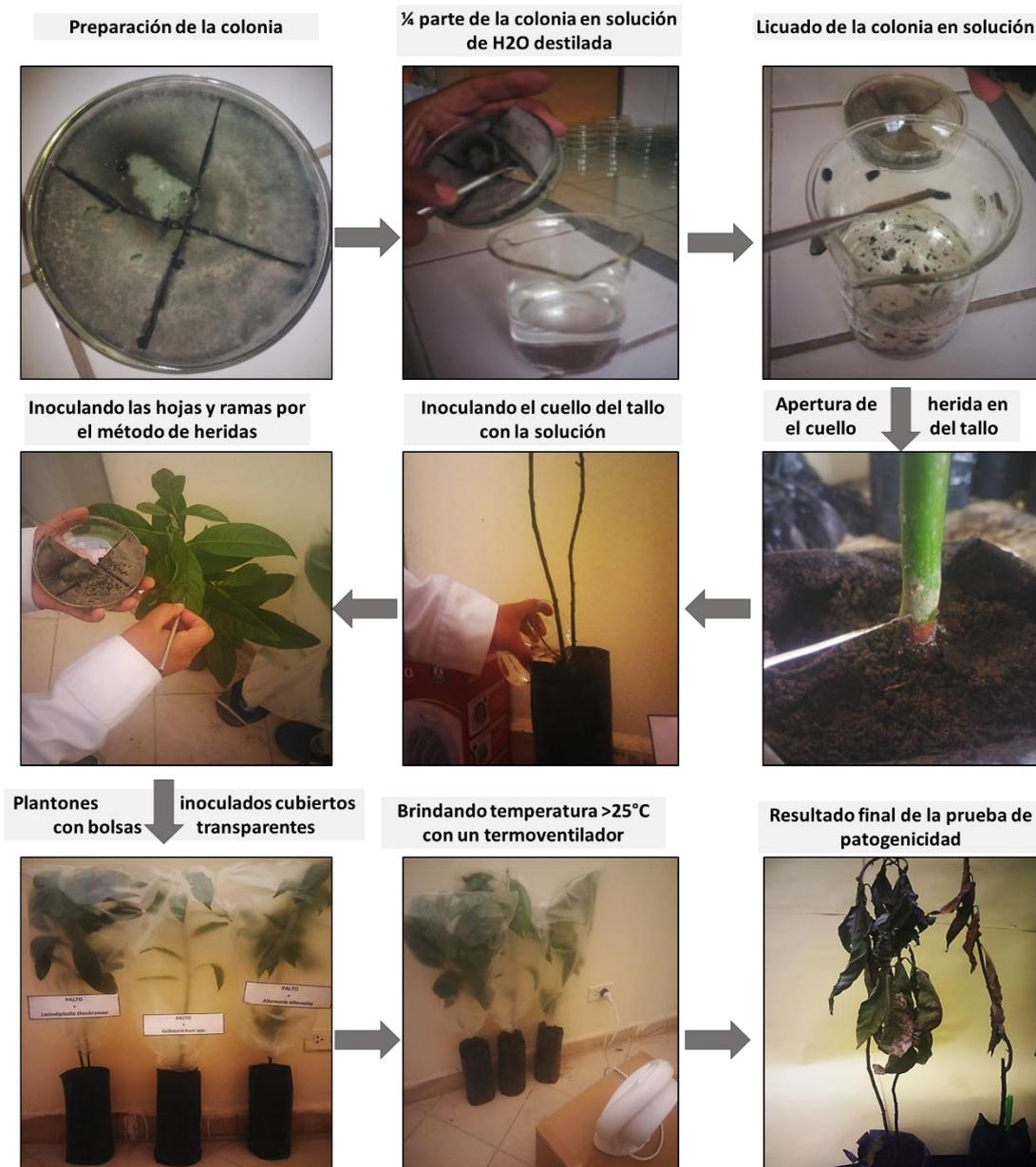


Anexo 6. Selección de muestras obtenidas en el campo, bajo las condiciones del laboratorio de Fitopatología

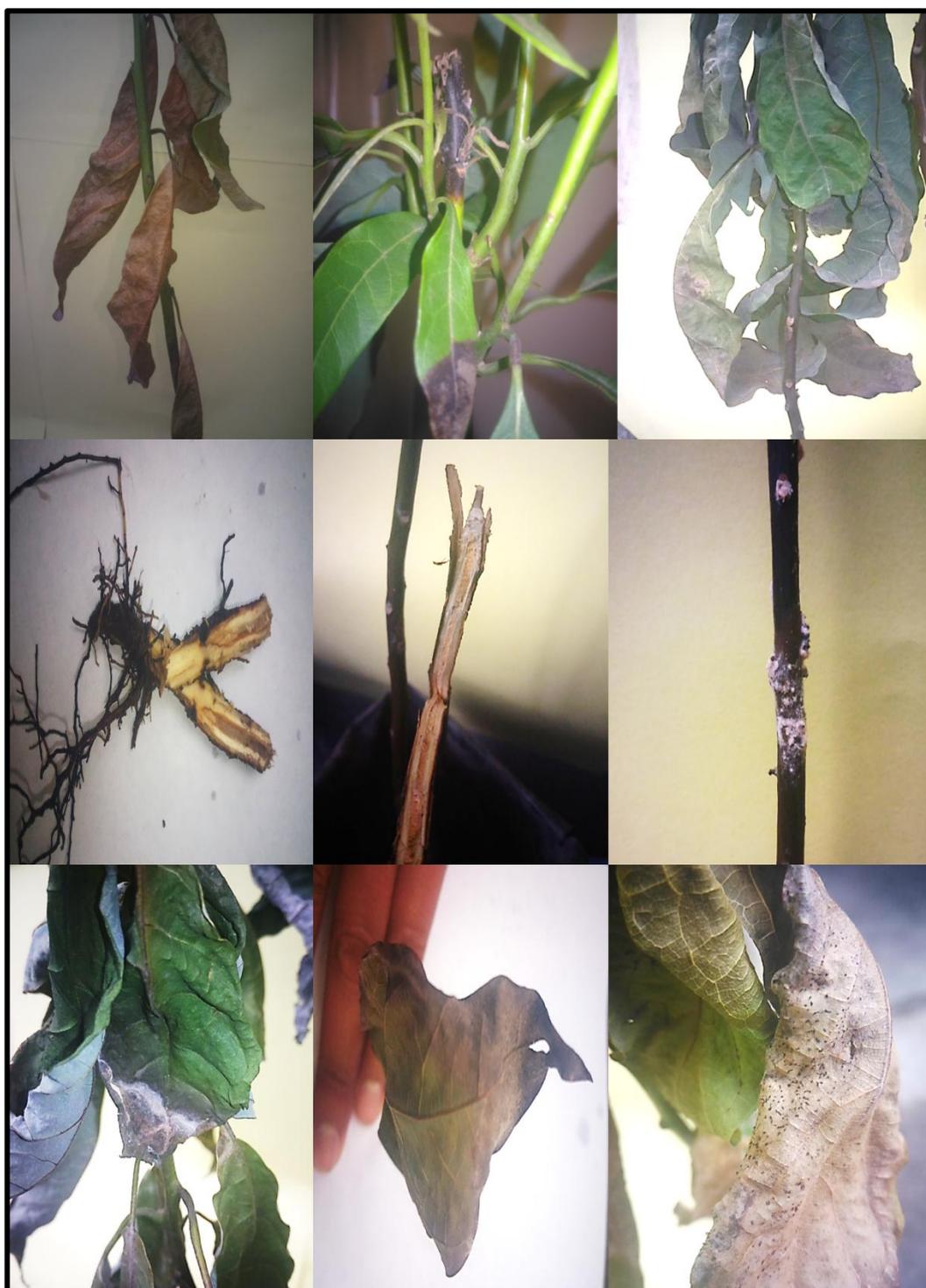


Anexo 7. Procedimiento de aislamiento del patógeno

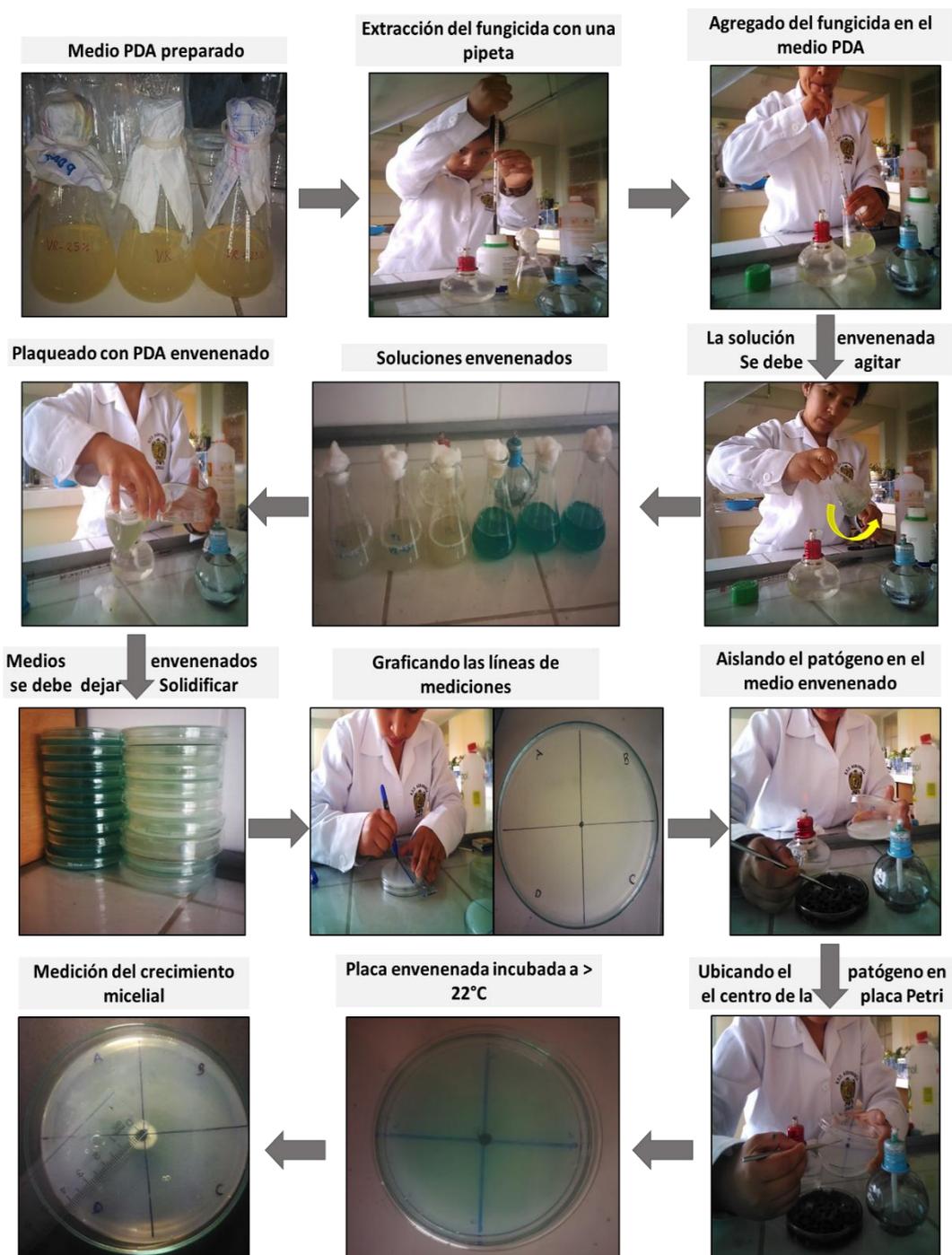
Anexo 8. Procedimiento para realizar la prueba de patogenicidad en los plántones de palto



Anexo 9. Resultado de la prueba de patogenicidad con *Lasiodiplodia theobromae* en
plantones de palto



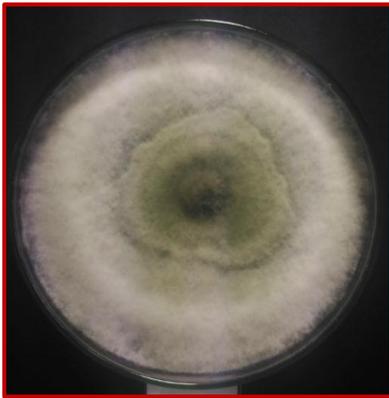
Anexo 10. Procedimiento para la elaboración del medio PDA envenenado



Anexo 11. Productos químicos y biológicos utilizados en el experimento

Anexo 12. Crecimiento micelial en medios envenenados y en medios de enfrentamiento de *Lasiodiplodia theobromae* en cinco días

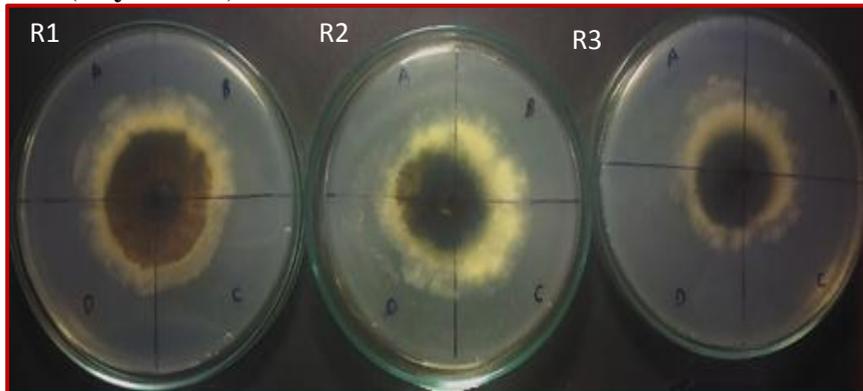
Testigo



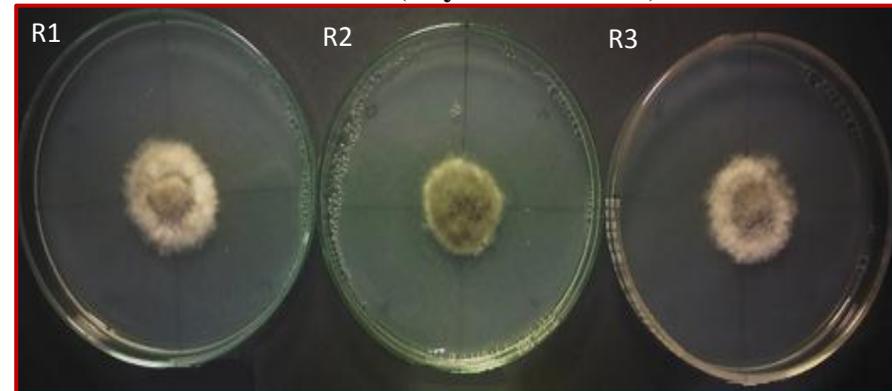
T2 (Phyton VR – 25%)



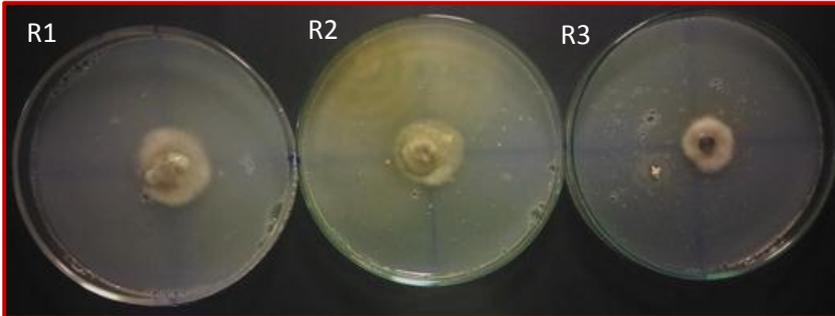
T1 (Phyton VR)



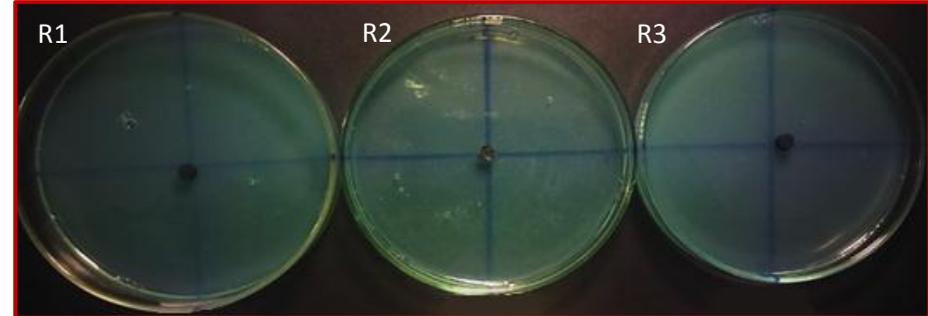
T3 (Phyton VR + 25%)



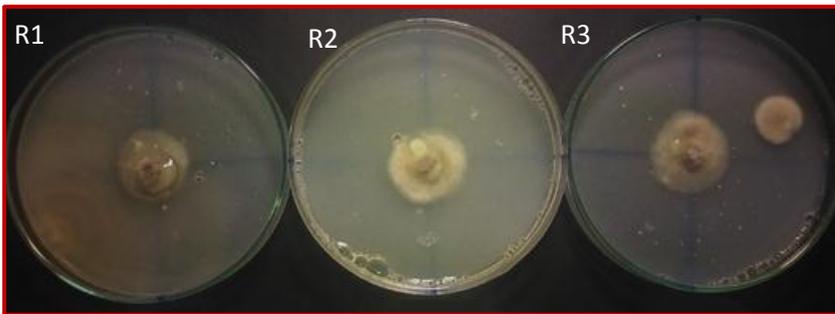
T4 (Benomyl VR)



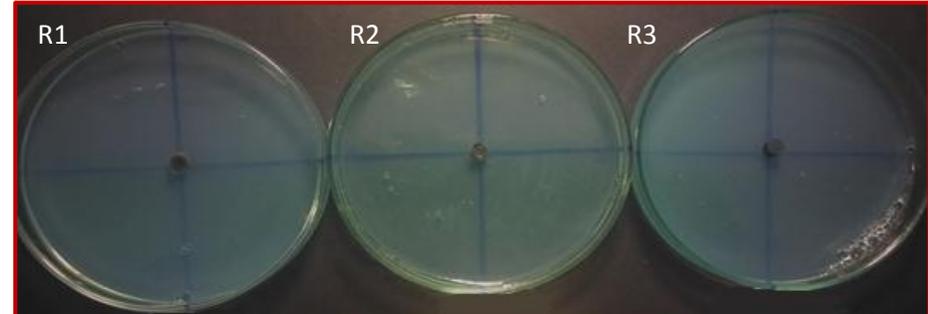
T7 (Sulfato de cobre VR)



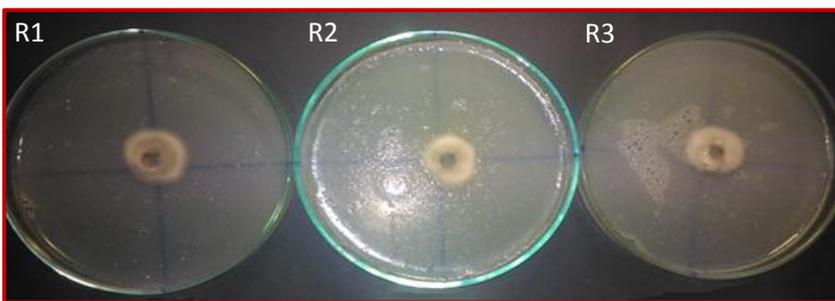
T5 (Benomyl VR - 25%)



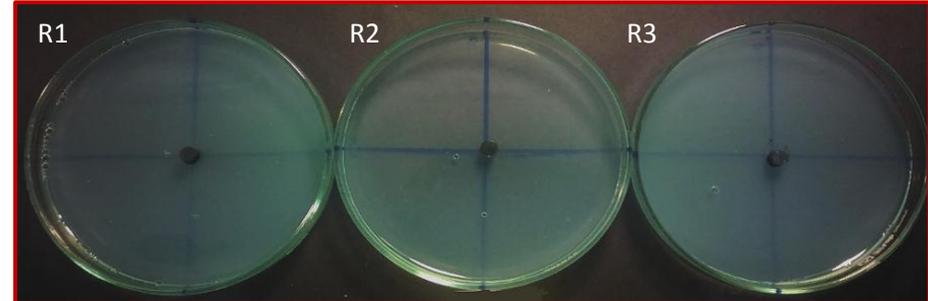
T8 (Sulfato de cobre VR - 25%)

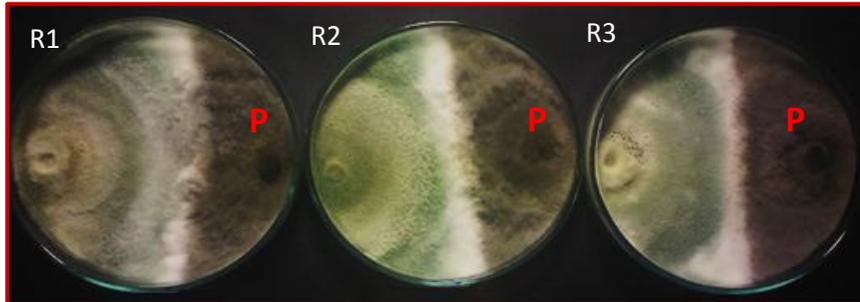
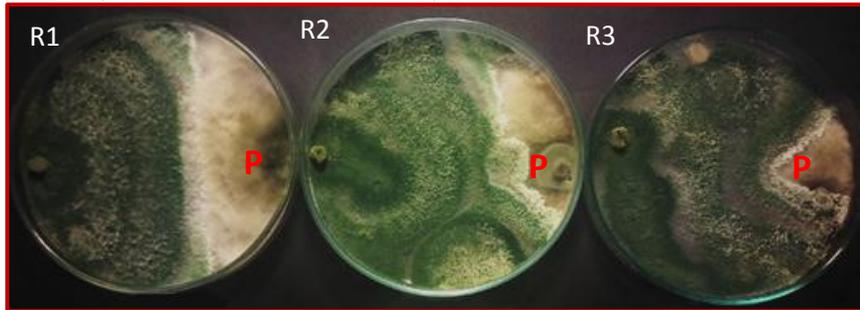
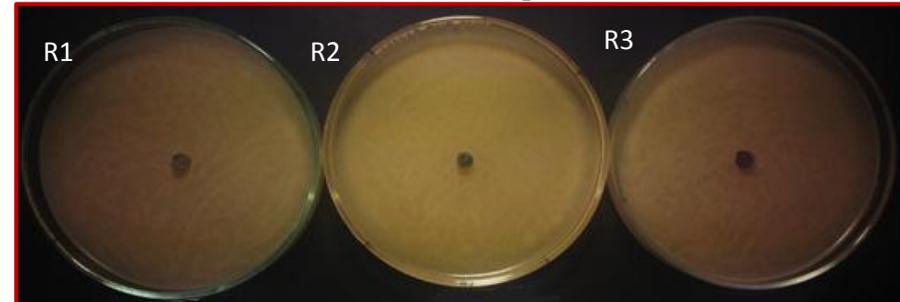
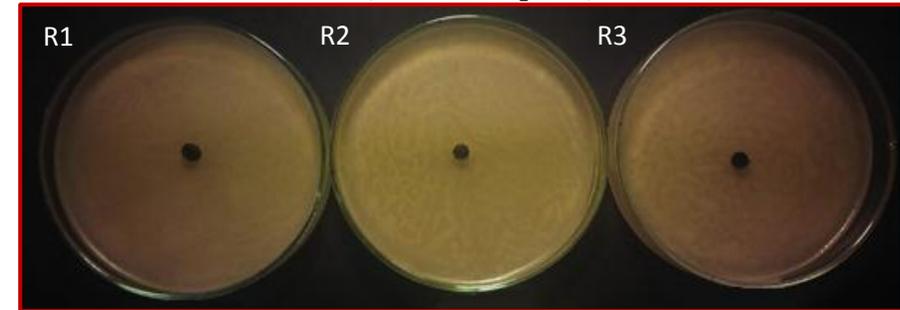


T6 (Benomyl VR + 25%)

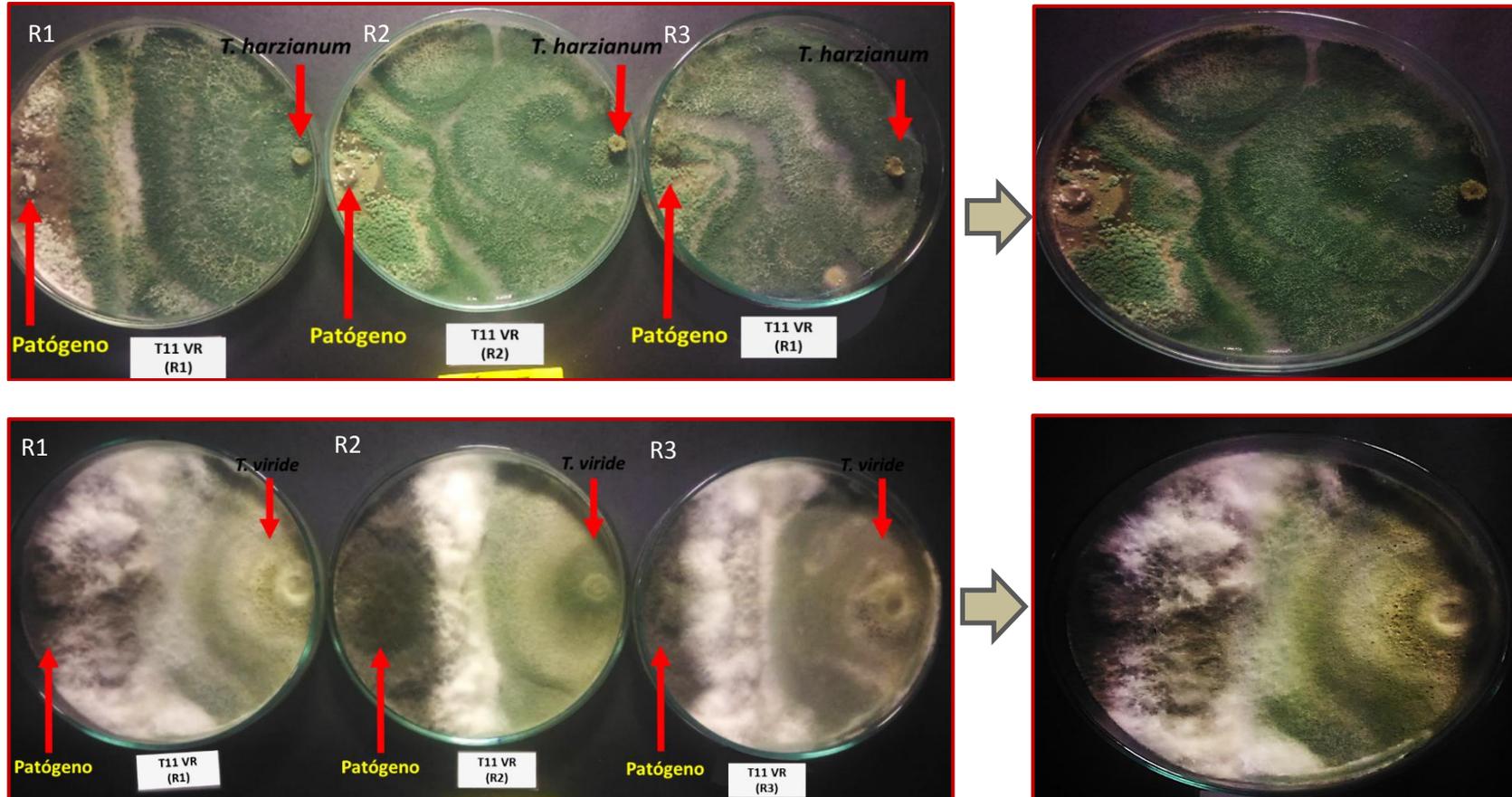


T9 (Sulfato de cobre VR + 25%)



T10 (*Trichoderma viride*)**T11** (*Trichoderma harzianum*)**T12** (*Bacillus subtilis*) VR**T13** (*Bacillus subtilis*) VR - 25%**T12** (*Bacillus subtilis*) VR + 25%

Anexo 13. Inhibición micelial al 100% de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* al séptimo día



Anexo 14. Registro de las mediciones diarias del ritmo de crecimiento de
Lasiodiplodia theobromae en cinco días

Phyton VR						Phyton VR -25 %						Phyton VR + 25%					
día	r1				promedio	día	r1				promedio	día	r1				promedio
	A	B	C	D			A	B	C	D			A	B	C	D	
1	0.6	0.6	0.4	0.5	0.53	1	0.5	0.5	0.4	0.6	0.50	1	0.3	0.4	0.4	0.3	0.35
2	1	0.9	0.6	0.7	0.80	2	1.1	1.1	1.1	1.2	1.13	2	0.6	0.7	0.7	0.6	0.65
3	1.6	1.5	1.1	1.3	1.38	3	1.6	1.9	1.5	1.6	1.65	3	0.8	0.8	1	0.8	0.85
4	2.5	2.4	1.9	2.2	2.25	4	2.3	2.2	2.1	2.1	2.18	4	1.1	1.1	1.1	1.1	1.10
5	2.6	2.5	2.5	2.7	2.58	5	2.8	3	2.7	2.8	2.83	5	1.5	1.5	1.5	1.2	1.43
r2						r2						r2					
1	0.6	0.5	0.7	0.7	0.63	1	0.5	0.4	0.5	0.4	0.45	1	0.4	0.4	0.4	0.3	0.38
2	1	1.1	1.2	1.2	1.13	2	1.2	1.3	1.2	1.2	1.23	2	0.7	0.7	0.7	0.8	0.73
3	1.6	1.7	1.9	1.6	1.70	3	1.5	1.7	1.8	1.8	1.70	3	0.9	0.9	0.9	1.1	0.95
4	2.2	2.1	2.4	2.1	2.20	4	1.9	2.2	2.5	2.5	2.28	4	1.1	1.2	1.3	1.3	1.23
5	2.4	2.5	2.6	2.6	2.53	5	2.5	2.9	3.1	2.9	2.85	5	1.2	1.4	1.3	1.4	1.33
r3						r3						r3					
1	0.5	0.5	0.4	0.4	0.45	1	0.3	0.3	0.3	0.4	0.33	1	0.4	0.5	0.4	0.3	0.40
2	1.1	1	0.9	0.8	0.95	2	0.6	0.6	0.7	0.7	0.65	2	0.7	0.8	0.7	0.7	0.73
3	1.6	1.5	1.3	1.3	1.43	3	1.1	1	1.7	1.4	1.30	3	1	1.1	0.9	0.9	0.98
4	2.1	1.9	1.7	1.9	1.90	4	2.6	1.6	2.5	2.3	2.25	4	1.2	1.2	1.1	1.1	1.15
5	2.7	2.4	2.3	2.4	2.45	5	2.7	2.7	3	3	2.85	5	1.5	1.5	1.5	1.3	1.45

Benomyl VR						Benomyl VR -25 %						Benomyl VR + 25%					
día	r1				promedio	día	vr r1				promedio	día	vr r1				promedio
	A	B	C	D			A	B	C	D			A	B	C	D	
1	0	0	0	0	0.00	1	0	0	0	0	0.00	1	0	0	0	0	0.00
2	0.4	0.4	0.3	0.4	0.38	2	0.6	0.5	0.5	0.6	0.55	2	0.5	0.3	0.4	0.3	0.38
3	0.5	0.5	0.4	0.5	0.48	3	0.4	0.7	0.8	0.6	0.63	3	0.5	0.5	0.3	0.5	0.45
4	0.6	0.7	0.6	0.6	0.63	4	0.8	0.8	0.9	1	0.88	4	0.7	0.6	0.5	0.6	0.60
5	1	1	1	1	1.00	5	1	1.1	1.2	1	1.08	5	0.9	0.8	0.8	0.8	0.83
r2						r2						r2					
1	0	0	0	0	0.00	1	0	0	0	0	0.00	1	0	0	0	0	0.00
2	0.3	0.3	0.3	0.2	0.28	2	0.5	0.4	0.5	0.5	0.48	2	0.1	0.1	0.1	0.2	0.13
3	0.5	0.4	0.6	0.5	0.50	3	0.7	0.7	0.6	0.7	0.68	3	0.2	0.3	0.2	0.4	0.28
4	0.7	0.6	0.7	0.6	0.65	4	0.9	0.9	1	0.9	0.93	4	0.7	0.5	0.6	0.5	0.58
5	1	0.9	1	1	0.98	5	1.3	1	1.2	1.4	1.23	5	0.7	0.7	0.6	0.7	0.68
r3						r3						r3					
1	0	0	0	0	0.00	1	0	0	0	0	0.00	1	0	0	0	0	0.00
2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.20	2	0.6	0.4	0.7	0.5	0.55	2	0.2	0.1	0.2	0.2	0.18
3	0.5	0.5	0.5	0.4	0.48	3	0.6	0.5	0.7	0.5	0.58	3	0.4	0.3	0.3	0.3	0.33
4	0.6	0.8	0.6	0.6	0.65	4	0.7	0.7	0.9	0.8	0.78	4	0.6	0.6	0.5	0.6	0.58
5	0.9	1	0.9	0.8	0.90	5	1	0.9	1	0.9	0.95	5	0.6	0.7	0.6	0.7	0.65

Sulfato de cobre VR						Sulfato de cobre VR -25 %						Sulfato de cobre VR + 25%					
día	r1				promedio	día	vr r1				promedio	día	vr r1				promedio
	A	B	C	D			A	B	C	D			A	B	C	D	
1	0	0	0	0	0.00	1	0	0	0	0	0.00	1	0	0	0	0	0.00
2	0	0	0	0	0.00	2	0.1	0	0	0.1	0.05	2	0	0	0	0	0.00
3	0.1	0	0.1	0.1	0.08	3	0.1	0.1	0.1	0.1	0.10	3	0	0	0	0	0.00
4	0.1	0.1	0.1	0.1	0.10	4	0.2	0.2	0.2	0.1	0.18	4	0.1	0	0.1	0.1	0.08
5	0.3	0.2	0.2	0.2	0.23	5	0.3	0.3	0.3	0.2	0.28	5	0.1	0.1	0.1	0.1	0.10
r2						r2						r2					
1	0	0	0	0	0.00	1	0	0	0	0	0.00	1	0	0	0	0	0.00
2	0	0	0	0	0.00	2	0.1	0	0.1	0	0.05	2	0	0	0	0	0.00
3	0	0.1	0.1	0	0.05	3	0.1	0.1	0.1	0.1	0.10	3	0	0	0	0	0.00
4	0	0.2	0.1	0.1	0.10	4	0.2	0.2	0.1	0.1	0.15	4	0	0.1	0.1	0.1	0.08
5	0.1	0.2	0.1	0.2	0.15	5	0.3	0.3	0.2	0.2	0.25	5	0.1	0.1	0.1	0.1	0.10
r3						r3						r3					
1	0	0	0	0	0.00	1	0	0	0	0	0.00	1	0	0	0	0	0.00
2	0	0	0	0	0.00	2	0.1	0.1	0	0.1	0.08	2	0	0	0	0	0.00
3	0.1	0	0.1	0	0.05	3	0.1	0.1	0.1	0.1	0.10	3	0	0	0	0	0.00
4	0.1	0	0.1	0.1	0.08	4	0.2	0.1	0.2	0.2	0.18	4	0.1	0.1	0.1	0.1	0.10
5	0.2	0.1	0.2	0.1	0.15	5	0.3	0.2	0.3	0.3	0.28	5	0.1	0.1	0.1	0.1	0.10

Trichoderma V. VR					
día	r1				promedio
	A	B	C	D	
1	0.6	0.8	0.8	0.5	0.7
2	2.4	2.3	2.3	2.5	2.4
3	3.6	3.2	3.1	4	3.5
4	3.5	3.3	3.1	3.9	3.5
5	2.6	3.4	3.4	2.8	3.1
r 2					
1	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
2	2.4	2.4	2.5	2.3	2.4
3	4	3.6	4	3.5	3.8
4	3.4	3.3	4	3.2	3.5
5	3.2	3.1	3.6	2.9	3.2
r3					
1	0.6	0.8	0.8	0.6	0.7
2	2.2	2.3	2.2	2	2.2
3	4	3.5	3.6	3.6	3.7
4	3.2	3.9	3.8	3.6	3.6
5	3	3.8	3.8	3.6	3.6

Trichoderma H. VR					
día	r1				promedio
	A	B	C	D	
1	0.8	0.7	0.8	0.7	0.75
2	2.2	2.5	2.1	2.2	2.25
3	4.1	3.9	3.7	3.8	3.88
4	4.2	5	5.1	4.5	4.70
5	3.1	3.1	3.3	3.2	3.18
r 2					
1	0.4	0.3	0.2	0.3	0.30
2	1.9	2.1	2.3	1.8	2.03
3	2.9	3.5	3	3.2	3.15
4	4.2	5	5.1	4.8	4.78
5	1.8	2	3.2	3.5	2.63
r3					
1	0.5	0.4	0.6	0.5	0.50
2	2.2	2	1.4	2	1.90
3	2.9	3.3	1.5	3.5	2.80
4	3.3	1.7	4	2.8	2.95
5	2.4	1.4	2.9	2.1	2.20

Serenade VR						Serenade VR -25 %						Serenade VR + 25%							
día	r1				promedio	día	vr	r1				promedio	día	vr	r1				promedio
	A	B	C	D				A	B	C	D				A	B	C	D	
1	0	0	0	0	0.00	1	0	0	0	0	0.00	1	0	0	0	0	0.00		
2	0	0	0	0	0.00	2	0	0	0	0	0.00	2	0	0	0	0	0.00		
3	0	0	0	0	0.00	3	0	0	0	0	0.00	3	0	0	0	0	0.00		
4	0	0	0	0	0.00	4	0	0	0	0	0.00	4	0	0	0	0	0.00		
5	0	0	0	0	0.00	5	0	0	0	0	0.00	5	0	0	0	0	0.00		
r 2						r 2						r 2							
1	0	0	0	0	0.00	1	0	0	0	0	0.00	1	0	0	0	0	0.00		
2	0	0	0	0	0.00	2	0	0	0	0	0.00	2	0	0	0	0	0.00		
3	0	0	0	0	0.00	3	0	0	0	0	0.00	3	0	0	0	0	0.00		
4	0	0	0	0	0.00	4	0	0	0	0	0.00	4	0	0	0	0	0.00		
5	0	0	0	0	0.00	5	0	0	0	0	0.00	5	0	0	0	0	0.00		
r3						r3						r3							
1	0	0	0	0	0.00	1	0	0	0	0	0.00	1	0	0	0	0	0.00		
2	0	0	0	0	0.00	2	0	0	0	0	0.00	2	0	0	0	0	0.00		
3	0	0	0	0	0.00	3	0	0	0	0	0.00	3	0	0	0	0	0.00		
4	0	0	0	0	0.00	4	0	0	0	0	0.00	4	0	0	0	0	0.00		
5	0	0	0	0	0.00	5	0	0	0	0	0.00	5	0	0	0	0	0.00		

testigo					
día	r1				promedio
	A	B	C	D	
1	0.8	0.7	0.9	0.7	0.78
2	1.8	1.7	1.9	2	1.85
3	3.5	3.5	3.6	3.5	3.53
4	4.3	4.4	4.6	4.3	4.40
5	4.8	4.8	4.8	4.8	4.80