UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE *Phytophthora cinnamomi* Rands COMO PATÓGENO CAUSANTE DE LA ENFERMEDAD DE LA TRISTEZA DEL PALTO VARIEDAD HASS Y FUERTE EN EL DISTRITO DE MOQUEGUA

TESIS

PRESENTADA POR:

ESTEBAN REMBERTO GRANADOS CUAYLA

Para optar el Título Profesional de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

MOQUEGUA – PERÚ

2018

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

REGISTRO N°.....004.....

ACTA DE SUSTENTACIÓN

Los miembros del Jurado que suscriben, reunidos para evaluar la sustentación de tesis presentada por: ESTEBAN REMBERTO GRANADOS CUAYLA,
denominada: Caracterización morfológica de Phytophthora cinnamomi Rands como patógeno causante de la enfermedad de la tristeza del Palto variedad hass y fuerte en el Distrito de Moquegua, para cumplir con uno de los requisitos para optar el título profesional de INGENIERO AGROINDUSTRIAL.

Teniendo en consideración los méritos del referido trabajo así como los conocimientos demostrados por el sustentante, se declara la tesis como:

APROBADO

Con la nota de : ONCE

Calificativo de : REGULAR

En consecuencia de todos los actuados el Tesista queda APTO para poder recibir el título profesional de INGENIERO AGROINDUSTRIAL, de conformidad con lo establecido en el reglamento de grados y títulos de la Universidad Nacional de Moquegua.

Moquegua 27 de DICIEMBRE del 2017

Mg. Elías Escobedo Pacheco
PRESIDENTE DE JURADO

Dr. René Germán Sosa Vilca
PRIMER MIEMBRO DE JURADO

Mg. Olimpia Llalla Cordova
SEGUNDO MIEMBRO DE JURADO

DEDICATORIA

Al Todopoderoso, Admirable, Consejero Fiel, al que quita y pone Reyes, al que abre y nadie cierra y al que cierra y nadie abre, a Él sea la gloria por los siglos de los siglos.

Esteban R. Granados Cuayla

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de Moquegua, por su apoyo económico en la ejecución del proyecto de Investigación que sirvió para la elaboración de la presente tesis.

A mi familia por todo su amor, apoyo y comprensión en los buenos y malos momentos; son una motivación diaria para seguir adelante, con el deseo de mejorar cada día.

A la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial y cada uno de los docentes por brindarme sus sabios conocimientos durante mi vida universitaria, y por sus valiosos aportes en todo el proceso de la realización de esta tesis.

A las diversas Asociaciones de Productores de Palta que confiaron en el desarrollo y ejecución del Proyecto y desinteresadamente nos permitieron muestrear en sus fundos para la recolección de muestras de tejidos botánicos de palto.

Esteban R. Granados Cuayla

RESUMEN

La tristeza del palto (*Persea americana* Mill), causada por *Phytophthora cinnamomi* Rands, es una enfermedad que provoca grandes pérdidas a nivel nacional y mundial. Este trabajo se ha realizado con el propósito de aislar y caracterizar morfológicamente al patógeno causante de la enfermedad de la tristeza del palto variedad Hass y Fuerte, en la etapa de fructificación, así como evaluar el efecto de la temperatura en el crecimiento del hongo. La investigación tuvo dos fases una de campo y otra de laboratorio, en la fase de campo se seleccionaron cinco campos representativos de los sectores de Charsagua, El Rayo, Escapalaque, Siglo 21 y Asociación Cambrune, pertenecientes a la provincia Mariscal Nieto de la Región Moquegua; en cada campo, se seleccionaron árboles con síntomas característicos de la enfermedad, de los cuales se extrajeron muestras radiculares. En la fase de laboratorio las muestras se rotularon, desinfectaron y trozaron, luego se sembraron en Medio Agar Patata Dextrosa acidificado, los aislamientos obtenidos se identificaron bajo microscopio. Las Colonias evidenciaron una coloración blanquecina, con abundante micelio aéreo algodonoso y crecimiento uniforme o ligeramente petaloide. Los aislados presentaron un micelio cenocítico muy ramificado, las estructuras se caracterizaron por ser heterotálicas, con anteridios anfígenos, no papilados. Concluyéndose que en cuanto al aislamiento y la caracterización morfológica los aislamientos obtenidos en la investigación, identifican al patógeno *Phytophthora cinnamomi* Rands como responsable de la enfermedad de la tristeza del palto variedad Hass y fuerte, en cuanto al efecto de la temperatura se verificó que esta sí influye en el crecimiento del patógeno ya que a 30 °C el crecimiento de la colonia del hongo fue mayor respecto a la temperatura de 24 °C, y el menor crecimiento de la colonia del hongo se registró a 10 °C.

Palabras clave: Aislamiento, caracterización, *Phytophthora cinnamomi* Rands.

ABSTRACT

The avocado root rot (*Persea americana* Mill), caused by *Phytophthora cinnamomi* Rands, is a disease that causes great losses nationally and worldwide. This work was carried out with the purpose of characterizing morphologically to the pathogen causing the disease of the sadness of the avocado Hass and Fuerte variety. The research had two phases, one field and one laboratory, in the field phase were selected five fields representative of the sectors of Charsagua, el Rayo, Escapalaque, 21 Century and Cambrune Association, belonging to the Mariscal Nieto province of the Moquegua Region in each field, trees with characteristic symptoms of the disease were selected from which root samples were extracted. In the laboratory phase the samples were labeled, disinfected and cut, then seeded in Acidified Dextrose Potato Agar Medium, the isolations obtained were identified under a microscope. The colonies showed a whitish coloration, with abundant cottony aerial mycelium and uniform or slightly petaloid growth. The isolates presented a highly branched ccenocytic mycelium; the structures were characterized as heterotálicas, with amphigine anteridia, not papillated. It is concluded that as regards the isolation and morphological characterization of the isolations obtained in the research, they identify the pathogen *Phytophthora cinnamomi* Rands as responsible for the disease of the sadness of the avocado Hass and Fuerte variety , as for the effect of the temperature it was verified that this does influence the pathogen growth because at 30 ° C the growth of the fungus colony was higher than the temperature of 24 ° C, and the lowest growth of the fungus colony was recorded at 10 ° C.

Keywords: Isolation, characterization, *Phytophthora cinnamomi* Rands.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN 1

CAPITULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 DESCRIPCIÓN Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA 3

1.2 JUSTIFICACIÓN 5

1.3 FORMULACIÓN DE OBJETIVOS 7

1.4 FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS 8

CAPITULO II

MARCO TEORICO

2.1 ANTECEDENTES DEL ESTUDIO 9

2.2 GENERALIDADES DEL CULTIVO DE PALTO 12

2.2.1 Origen 12

2.2.2 Variedades de palta 13

2.2.3 Etapas de desarrollo del cultivo del palto 15

2.2.4 Portainjerto o patrón 18

2.2.5 Composición nutricional 19

2.2.6 Producción de palta 21

2.2.7 Rentabilidad del cultivo de palta en Moquegua 25

2.2.8 Plagas comunes del palto 27

2.2.9 Tipos de Suelo 27

2.2.10 Punto humo de aceite de palta 29

2.3 GÉNERO *Phytophthora* 30
2.3.1 Taxonomía del hongo (*Phytophthora cinnamomi* Rands) 32
2.3.2 Estructuras principales del hongo 32
2.3.3 Reproducción 36
2.3.4 Ciclo de la enfermedad 39
2.3.5 Sintomatología 40
2.4 TIPOS DE MUESTREO 46
2.4.1 Métodos de muestreo probabilísticos 46
2.4.2 Métodos de muestreo no probabilísticos 47
2.4.3 Métodos de muestreo del sistema radicular del palto 48
2.4.4 Métodos de aislamiento 49
2.4.5 Métodos de identificación 51
2.4.6 Prueba de Hipótesis 58
2.5 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS 60

CAPÍTULO III
MARCO METODOLÓGICO

3.1 TIPO Y DISEÑO 62
3.1.1 Tipo de Investigación 62
3.1.2 Diseño de la investigación 62
3.1.3 Nivel de investigación 62
3.1.4 Operacionalización de variables 63
3.1.5 Lugar de ejecución 64
3.1.6 Materia Prima 64
3.1.7 Materiales 65

3.1.8 Metodología de estudio 68
3.1.9 Fase de campo 69
3.1.10 Fase de laboratorio 70
3.1.11 Evaluación de crecimiento de *Phytophthora cinnamomi* Rands 74
CAPÍTULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIONES
4.1 MUESTREO Y RECOLECCIÓN 76
4.2 LA ETAPA DE FRUCTIFICACIÓN Y EL ATAQUE DE *Phytophthora cinnamomi* Rands 78
4.3 TIPOS DE SUELO ENCONTRADOS EN LAS SECTORES AGRÍCOLAS DE DONDE SE OBTUVIERON LAS MUESTRAS RADICULARES 80
4.4 IDENTIFICACIÓN DE *Phytophthora cinnamomi* Rands DE LOS CULTIVOS DE PALTO VARIEDAD HASS Y FUERTE EN ETAPA DE FRUCTIFICACIÓN 81
4.5 CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS 92
CONCLUSIONES 95
RECOMENDACIONES 97
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 97
ANEXOS 108

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Micelio del hongo (*Phytophthora cinnamomi* Rands) 33

Figura 2. Imagen del esporangio ovoide no papilado del hongo (*Phytophthora cinnamomi* Rands).....34

Figura 3. Clamidospora esférica del hongo (*Phytophthora cinnamomi* Rands). 36

Figura 4. Oogonio y Anteridio adjunto; (A) paragino, (B) anfígeno.....39

Figura 5. Árbol de palto con síntomas característicos del ataque de *Phytophthora cinnamomi* Rands, en el sector el Rayo del distrito de Moquegua. 42

Figura 6. Morfología de las estructuras de reproducción de los aislados de *Phytophthora* spp., a) esporangio elipsoide de *P. cinnamomi,* b) ramificación simpodial de los esporangióforos de *P. cinnamomi*, c) esporangio subesférico de *P. drechsleri*, d) esporangio obpiriforme de *P. cryptogea*.....55

Figura 7. Característica morfológicas de cepas de *Phytophthora cinnamomi*. En picos algodonosa (A), arrosetada (B), camelia sin formar la flor de camelia (C), camelia abierta formando la flor (D) y arrosetada concéntrica (E).....56

Figura 8. Patrón de crecimiento de *Phytophthora*, aislado en PDA a los 9 días.....57

Figura 9. Morfología de las colonias de *Phytophthora* spp., a) colonia petaloide con micelio aéreo algodonoso, identificado como *Phytophthora cinnamomi*, b) colonia tipo roseta, identificado como *Phytophthora cryptogea*, c) colonia tipo crisantemo, identificado como *Phytophthora drechsleri.* 58

Figura 10. Diagrama de la metodología de estudio. 69

Figura 11. Principales estructuras morfológicas y ciclo reproductivo del género *Phytophthora*. 75
Figura 12. Deformaciones y menor calibre en frutos de paltos en etapa de fructificación enfermos.....81
Figura 13. Manchas en frutos por efecto del sol debido a la disminución del área foliar de paltos en etapa de fructificación enfermos. 81
Figura 14. Caída de frutos y hojas en paltos enfermos en etapa de fructificación. 82
Figura 15. Gráfico de barras donde se muestra la cantidad total de aislamientos por cada variedad comparado con los que sí tuvieron y no tuvieron presencia de *Phytophthora cinnamomi* Rands. 85
Figura 16. Gráficos circulares indicando la cantidad y el porcentaje de aislamientos con presencia y sin presencia de *Phytophthora cinnamomi* Rands por cada variedad. 86
Figura 17**.** Morfología de las colonias de *Phytophthora cinnamomi* en medio Agar Patata Dextrosa (PDA). 87
Figura 18. Imagen obtenida con el microscopio donde se aprecia la Oóspora y el Oogonio con anteridio anfígeno, característico de *Phytophthora cinnamomi* Rands. 88
Figura 19. Imagen obtenida con el microscopio donde se aprecia el esporangióforo, el esporangio elipsoide con presencia de zoosporas y no papilado característico de *Phytophthora cinnamomi* Rands. 89
Figura 20. Imagen obtenida con el microscopio donde se aprecia las clamidosporas terminales y dando lugar a tubos germinativos, característico de *Phytophthora cinnamomi* Rands. 89

Figura 21. Medidas marginales estimadas de crecimiento (mm) del hongo *Phytophthora cinnamomi* Rands a 10 °C, 24 °C y 30 °C. 91

Figura 22. Gráfico de barras de la velocidad crecimiento de la colonia del hongo *Phytophthora cinnamomi* Rands. 92

Figura 23. Crecimiento de la colonia del hongo *Phytophthora cinnamomi* Rands a 10 °C, 24 °C y 30 °C durante 10 días. 92

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición nutricional de la palta cruda 20

Tabla 2: Producción y rendimiento de palta por Regiones 21

Tabla 3: Superficie cosechada, Rendimiento y Producción de palta de Moquegua 2013 23

Tabla 4:Asociaciones de productores de palta del distrito de Moquegua 24

Tabla 5: Rentabilidad agricola de Moquegua en el año 2013 25

Tabla 6: Producción, Área Cosechada y Rendimiento de Palta de Moquegua (2002 – 2012) 26

Tabla 7: Punto de humo de aceites vegetales según su calidad 30

Tabla 8: Temperaturas cardinales de crecimiento de algunas especies del *Phytophthora.* 44

Tabla 9: Características de los sitos de muestreo de la provincia de Mariscal Nieto 77

Tabla 10: Tipos de suelo encontrados en sectores agricolas seleccionados. 80

Tabla 11: Aislamientos con presencia de *Phytophthora* 81

Tabla 12: Aislamientos con presencia de *Phytophthora* según variedad de palta 82

Tabla 13: Crecimiento promedio de la colonia del hongo *Phytophthora cinnamomi Rands* 88

INTRODUCCIÓN

La palta es uno de los principales productos de la región Moquegua, se encuentra priorizado en el Catálogo de Oferta Exportable de la región. Este producto se cultiva en las provincias de Mariscal Nieto y en la provincia de General Sánchez Cerro. En el distrito de Moquegua según la Gerencia de Desarrollo Económico Social (GEDES) (2016), de la Municipalidad Provincial Mariscal Nieto se encuentran inscritas doce asociaciones de productores de palta que agrupan un total de 313 productores dedicados a este cultivo.

En la Región Moquegua Actualmente las familias y asociaciones dedicadas al cultivo del palto, sufren la perdida de plantas aparentemente por la enfermedad llamada la tristeza del palto, sin poder recuperar el capital invertido, esto porque no se tiene identificado el patógeno responsable de este problema, por ende abusan del uso de fertilizantes y pesticidas contaminando el medio ambiente, empobreciendo la calidad del suelo y dejando un mayor efecto residual en los frutos, existen pocos estudios acerca de este patógeno así como mejoras tecnologías alternativas para su control, lo cual genera una baja productividad y rentabilidad del cultivo, ocasionando que los niveles de exportación desciendan y opten por nuevas alternativas de cultivos como es el caso de la alfalfa.

Por lo tanto es importante identificar el patógeno responsable de la enfermedad de la tristeza del palto, y en base a esto ofrecer alternativas

de solución a los productores dedicados a la siembra de este cultivo en la Región Moquegua, con el fin de aumentar la productividad, permitiendo tener una mejor oferta exportable y obtener un producto de muy buenas características físicas, químicas y sensoriales.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 DESCRIPCIÓN Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Según el PLAN DE COMPETITIVIDAD DE LA REGIÓN MOQUEGUA 2012 – 2021, de acuerdo al Catálogo de Oferta Exportable de la Región Moquegua, elaborado por el MINCETUR, la palta Fuerte así como la palta Hass se encuentran entre los productos con mayor potencial de comercialización y exportación. Además de ello según el DIRCETUR (2012) la palta moqueguana por su exquisitez es reclamada en los mercados regionales, nacionales e internacionales; ya que sus grasas están consideradas como saludables. Pero el control no adecuado de las plagas limita su producción obteniendo productos de baja calidad, generando baja rentabilidad en el producto y por ende menguando los ingresos económicos de las familias dedicadas a este rubro.

A nivel mundial la tristeza del palto causada por el patógeno *Phytophthora cinnamomi* Rands provoca grandes problemas, por ejemplo,

las pérdidas por concepto de esta enfermedad son graves en California donde se estima que afecta entre un 60 a 75 % de los huertos, causando pérdidas anuales de aproximadamente 44 millones de dólares (Coffey, 1991).

A nivel nacional según Vidales (1999), en su estudio de la incidencia del patógeno en Perú se calcularon 50 mil árboles enfermos y Bazán de Segura (1967), menciona que la chupadera fungosa es, producida por, una gran variedad de hongos, entre los que figuran como más agresivos: *Fusarium, Pythium y Phytophthora*. Los productos químicos aplicados en las plantas repicadas no son lo suficientemente específicos como para controlar la acción de todos estos hongos.

Según la oficina de sanidad vegetal del SENASA (2012), en la región Moquegua no se cuenta con un registro de cuantos árboles de palto se encuentran afectados por el patógeno *Phytophthora cinnamomi* Rands.

Los productores de palto en Moquegua mantienen técnicas artesanales en su conducción, al notar los síntomas característicos de la enfermedad de la tristeza del palto aplican diversos productos, abusando del uso de insecticidas químicos, lo cual genera contaminación ambiental, disminución de la calidad del suelo, y por consiguiente se elevan los costos de producción, disminuyendo la rentabilidad de dicho cultivo así como la calidad organoléptica del producto final.

Según el INIA (2015), en Moquegua no se han realizado estudios que identifiquen al patógeno que genera los síntomas característicos de la enfermedad de la tristeza del palto.

Por ello se plantea la siguiente interrogante:

¿Cuáles son las características morfológicas del patógeno que causa la enfermedad de la tristeza del palto variedad Hass y Fuerte en el distrito de Moquegua?

1.2 JUSTIFICACIÓN

Según el Anuario Estadístico de la Producción Agrícola y Ganadera del MINAGRI (2015), la superficie cosechada de palta en la región Moquegua fue de 863 hectáreas y en el distrito de Moquegua según la Gerencia de Desarrollo Económico Social GEDES (2016), de la Municipalidad Provincial Mariscal Nieto se encuentran inscritas doce asociaciones de productores de palta que agrupan un total de 313 productores dedicados a este cultivo.

Pese a que la demanda de palta se incrementa en la región Moquegua, su producción y rentabilidad han venido disminuyendo en los últimos años, por ello urge atender la necesidad de una investigación más profunda que permita identificar al patógeno principal responsable de la

tristeza del palto, teniendo como antecedente que otras regiones de nuestro país han mejorado notablemente la producción y rentabilidad de este cultivo con investigaciones de este nivel.

El aislamiento, caracterización e identificación de este patógeno en el cultivo de palto, servirá como base para aplicar las estrategias para un control efectivo e integral, mejorando así el sistema radicular de las plantas y por ende su vigor, producción y rentabilidad, así como la reducción el uso de fungicidas y agroquímicos en su manejo, mejorando así la calidad de los suelos; logrando así frutos con menor contenido residual de plaguicidas y de mejor calidad organoléptica.

1.3 FORMULACIÓN DE OBJETIVOS

Objetivo general

Caracterizar morfológicamente al patógeno *Phytophthora cinnamomi* Rands como causante de la enfermedad de la tristeza del palto variedad Hass y Fuerte en el distrito de Moquegua.

Objetivos específicos:

- Aislar al patógeno *Phytophthora cinnamomi* Rands del sistema radicular del palto variedad Hass y Fuerte en etapa de fructificación en el distrito de Moquegua.

- Caracterizar Morfológicamente al patógeno *Phytophthora cinnamomi* Rands en el cultivo de palto variedad Hass y Fuerte en etapa de fructificación en el distrito de Moquegua.

- Evaluar el efecto de la temperatura (10 °C, 24 °C, 30 °C) sobre crecimiento del hongo (*Phytophthora cinnamomi* Rands) aislado de los cultivos de palto variedad Hass y Fuerte en la etapa de fructificación en el distrito de Moquegua.

1.4 FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS

Hipótesis general

La caracterización morfológica de *Phytophthora cinnamomi* Rands en el cultivo de palto, permite identificarlo como el patógeno causante de la enfermedad de la tristeza del palto variedad Hass y Fuerte en el distrito de Moquegua.

Hipótesis especifica

- El método de aislamiento de *Phytophthora cinnamomi* Rands permite identificarlo como el patógeno responsable de la tristeza del palto variedad Hass y Fuerte en etapa de fructificación en el distrito de Moquegua.

- La caracterización morfológica permite identificar al patógeno *Phytophthora cinnamomi* Rands en palto variedad Hass y Fuerte en etapa de fructificación en el distrito de Moquegua.

- La temperatura (10 °C, 24 °C y 30 °C) influye sobre el crecimiento del hongo (*Phytophthora cinnamomi* Rands) aislado de cultivos de palto variedad Hass y Fuerte en etapa de fructificación en el distrito de Moquegua.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes del estudio

Cadenas (2007), Con la finalidad de realizar una identificación preliminar de las enfermedades que afectan los cultivos de paltos 'Fuerte' y 'Hass', en los campos de cultivos ubicados en Huanta y Luricocha (Lima – Perú), se seleccionaron y visitaron tres campos de cultivos ubicados en tres zonas altitudinales del valle. En cada campo de cultivo se extrajeron raíces de plantas de paltos con síntomas de marchitamiento, amarillamiento del follaje, defoliaciones y muerte regresiva. El principal problema fitopatológico lo constituye las pudriciones de raíces causadas por *Phytophthora* sp. el cual estuvo presente en más del 90% de las zonas muestreadas. Los demás fitopatógenos aislados en raíces con pudriciones se encuentran como secundarios acelerando el proceso de muerte de raíces.

Andraca (1997), En su estudio: Etiología y Control de la Tristeza del Palto causada por *Phytophthora cinnamomi* en palta variedad Hass,

concluye que todos los aislamientos de *Phytophthora cinnamomi* fueron patogénicos en paltos variedad Hass.

Bazán de Segura (1967), La chupadera fungosa es, producida por, una gran variedad de hongos, entre los que figuran como más agresivos: *Fusarium, Pythium y Phytophthora*. Los productos químicos aplicados en las plantas repicadas no son lo suficientemente específicos como para controlar la acción de todos estos hongos.

Ramírez (2013), Estudió la incidencia, comportamiento y los microorganismos asociados a la marchitez del palto, planteando estrategias de manejo con énfasis en *Phytophthora cinnamomi* Rands. Los objetivos específicos desarrollados fueron: 1). Identificar los agentes causales del complejo marchitez del aguacate en lotes cultivados en el Altiplano Norte de Antioquia; 2). Modelar la dinámica espacio-temporal del complejo marchitez del aguacate en un lote cultivado en Antioquia; 3). Determinar las variables edáficas asociadas a focos de infección del complejo marchitez. 4). Evaluar estrategias de manejo de la marchitez del aguacate causada por *P. cinnamomi* en invernadero y campo. Los resultados encontrados sirven de base para comprender los aspectos básicos de esta patología y así poder diseñar futuras investigaciones para establecer un plan de manejo integrado de la enfermedad.

Según Huaman et al. (2015), la tristeza del palto, causada por *Phytophthora cinnamomi* Rands ocurre muy a menudo en huertos ubicados en suelos arcillosos y saturados por periodos prolongados. En la identificación de *Phytophthora cinnamomi* Rands de los cultivos de palto Variedad Hass y Fuerte; Las muestras aisladas presentaron colonias de una coloración blanquecina, con micelio algodonoso y crecimiento uniforme o ligeramente petaloide, en todos los aislados se observó la formación de hinchazones hifales, siendo más abundantes a 15° C que a 20°C. Éstas fueron en su mayoría esféricas, intercalares y en racimos, todos los aislados obtenidos se caracterizaron por ser heterotálicos, con anteridios anfígenos y esporangios no papilados.

Según Hardham et al. (1991), la temperatura del suelo óptima para el desarrollo de *Phytophthora cinnamomi* Rands es de 20°C. El micelio se desarrolla entre 7.5 y 28°C con un óptimo entre 17.5 y 19.5°C. Los esporangios se producen a temperaturas de 12 a 30°C, el óptimo 24°C. Las zoosporas no se producen a temperaturas inferiores a 17°C.

Boccas y Laville, (1976), mencionan que es importante resaltar el papel que ocupa la temperatura entre los factores que limitan el crecimiento vegetativo, razones por las cuales constituye un parámetro de elevada relevancia en la taxonomía. El margen de temperatura en el cual está comprendido el desarrollo del micelio de *Phytophthora cinnamomi*

Rands va desde 1 ºC de temperatura mínima hasta los 37 ºC como máxima temperatura de crecimiento activo, situándose entre los 20 – 28 ºC la temperatura óptima para la mayoría de las especies, teniendo en cuenta que este valor es específico para cada una de ellas.

Benson (1987), Informa que durante el invierno el crecimiento del patógeno y la formación esporangial es limitado por las bajas temperaturas; la supresión microbiana también es restringida. La inactivación de *Phytophthora cinnamomi* está directamente relacionada con temperaturas inferiores de 0°C. La inactivación del micelio ocurre a 2, 6, ó 16 días a - 6.7°C, - 3.8°C y - 1.4°C, respectivamente.

2.2 Generalidades del cultivo de palto (*Persea americana*)

2.2.1 Origen

Los estudios arqueológicos indican la presencia del palto en México en el año 8000 a. C. y en Perú hacia el 3000-4000 a.C. Su área de origen no es conocida con precisión dada la existencia de varias poblaciones silvestres, pero se considera como tal, la región comprendida entre el sur de México y Colombia. El nombre español "aguacate" deriva del azteca "ahuacatl" (FAO, 1998).

2.2.2 Variedades de palta

El Plan Operativo de palta de Moquegua (2012) indica que originalmente existían 3 variedades: Mexicana, guatemalteca y antillana. Estas variedades desde la antigüedad se fueron mezclando y hoy tenemos las variedades: Lorena, Méndez, Trinidad, Criollo, Bacón, Monroe, Hass, Fuerte, entre otras.

Sánchez (2004) explica las variedades de palta predominantes en el mercado nacional:

A. Palta Fuerte

Es un cultivar híbrido de las razas mexicana y guatemalteca, fue en un periodo el más plantado en el ámbito mundial. Diversos problema, principalmente relacionados a su alternancia en la producción y dificultades en la conservación de la fruta han hecho que sea paulatinamente reemplazada por otras variedades.

La planta es muy vigorosa con tendencia a formar ramas horizontales y muy baja altura; su desarrollo inicial es lento y tiene un bajo índice de precocidad para iniciar su primera cosecha, y esto la diferencia de “Hass”.

Las yemas originales fueron llevadas de Atlixco (México) en 1911 a Altadena, California (EE.UU.). La calidad de su fruta es indiscutible, la pulpa carece de fibra y tiene un contenido de aceite que puede variar entre 18 y 26 %. El fruto es periforme de tamaño mediano con 300 a 400

g en promedio. La cáscara es ligeramente áspera, verde oscura, medianamente gruesa y de consistencia correosa; la semilla es de tamaño mediano.

Es un cultivar bastante sensible a las condiciones climáticas durante la floración; si las temperaturas son bajas (inferiores a 10 °C) la polinización y cuajado de los frutos puede ser pobre. Por otro lado, si hay vientos cálidos y secos después de la floración, puede haber serias caídas de frutos recién cuajados.

B. Palta Hass

Desarrollada en California por Rudolph G. Hass, es actualmente la variedad más comercial en el mundo. Este cultivar es considerado de la raza Guatemalteca aunque parece ser híbrido de esta raza con la raza Mexicana. Actualmente es considerado el cultivar más plantado a nivel mundial debido a su alto nivel de productividad y excelente calidad de pulpa, pudiendo permanecer la fruta un tiempo prolongado en la planta, sin sufrir cambios en su calidad. La cáscara gruesa le permite tolerar bastante bien el transporte a largas distancias. No obstante, en algunos lugares se informa de su alternancia en producción de un año para el otro.

El fruto es oval, periforme y con epicarpio grueso y granuloso de color violáceo a la madures; se pela con facilidad, Su peso promedio está comprendido entre 180 y 280 gramos. Influye sobre esto, el origen de la

yema empleada en el injerto, así como la forma de fertilización y riego que reciban las plantas “Hass” es muy exigente en estos aspectos.

Su fruto es de buena calidad, su pulpa carece de fibras y puede llegar a tener la madurez de 20 a 22 % de aceite; la cosecha se inicia cuando el contenido de aceite es de 11 a 12 %, aproximadamente, aunque el exterior de la cáscara no haya llegado a cambiar de coloración. La fruta puede permanecer en la planta, luego de iniciada la cosecha hasta 6-8 meses sin perder sus buenas características.

2.2.3 Etapas de desarrollo del cultivo del palto

Según Ataucusi (2015), menciona las siguientes etapas:

A. Propagación

- **Semilla**

Para extraer las semillas de la palta mexicana *Var. Drymifolia*, esta debe tener entre 5 a 25 años de edad, buena arquitectura, ninguna enfermedad o frutos uniformes, y buena carga de frutos. Esta especie califica por su probada resistencia a la pudrición radicular Phytophthora cinnamomi Rands y ante climas muy fríos. Después de haber recolectado los frutos, se despulpan cuando tienen una madurez fisiológica natural (pulpa blanda) lavando con abundante agua clorada. Después de ello se deja orear en jabas bajo sombra, para luego

desinfectar con insecticidas y fungicidas de manera que no ingresen los gorgojos.

- **Almácigos**

Se recomienda la esterilización del suelo mediante solarización o con calor de caldera artesanal a 180 ºC durante dos horas para eliminar nematodos, *fusarium* sp y otros tipos de enfermedades. La preparación del sustrato para realizar el embolsado y siembra de la semilla debe tener la siguiente proporción:

a. 50% de tierra agrícola descansada y que no tenga como cultivo anterior el de palto o papa.

b. 25% de arena de río lavada, para facilitar la percolación del agua de riego.

c. 25% de materia orgánica bien descompuesta.

- **Siembra del almácigo**

Para proceder a la siembra en las bolsas con sustrato se debe desinfectar la semilla con un fungicida a base de Benomil a razón de tres gramos por litro de agua. Después, se deja orear por espacio de dos horas para que esté lista para la siembra. La semilla se debe colocar en el centro y quedar cubierta debajo de 3 cm del ras del embolsado. Después de esto, se debe dar riegos ligeros durante todo el proceso.

- **Injerto**

El injerto se realiza cuando la planta tiene 20 cm de altura; desde el ras de la emergencia, el calibre del patrón y la yema deben ser iguales. Se recomienda que el grosor del tallo sea de 1 cm en promedio. Los árboles proveedores de yemas cv. Hass, Fuerte, entre otros deben tener buena productividad, sanidad y ningún defecto. Se tienen que realizar, en la yema o “púa”, cortes en bisel simple o doble bisel, y unir las partes con la mayor exactitud entre la yema y el patrón sin dejar espacios vacíos. De lo contrario, se forman hongos que afectan el desarrollo de la planta o la pérdida del injerto. Asimismo, se deben conservar los amarres con cinta plástica hasta que el injerto cicatrice. Desde el vivero y los primeros meses de desarrollo en campo definitivo se debe proteger la planta con “tutor” para evitar que los vientos rompan los injertos.

B. Floración

El aguacate es una especie predominantemente alógama, las flores presentan una protóginia dicogamia sincronizada, donde las flores son bisexuales, presentando los órganos masculinos y femeninos en una misma flor los cuales maduran y son funcionales en diferente tiempo, haciéndolo en primer lugar los órganos femeninos (Bernal y Díaz, 2008).

C. fructificación

El crecimiento del fruto ocurre en tres fases; la primera fase incluye el desarrollo del ovario, fertilización y cuajado de fruto; en la segunda fase continúa la división celular, formación de semilla y desarrollo embrionario; en la tercera fase se da la elongación celular y maduración del embrión. La primera fase puede tomar alrededor de 10 semanas después del pico de floración, la fase de crecimiento lineal puede llegar hasta 30 semanas después de floración, dependiendo de la variedad y condiciones ambientales, esto seguido de la fase de maduración en la cual el crecimiento se detiene. (Cowan et al., 1997).

2.2.4 Portainjerto o patrón

El portainjerto o patrón puede obtenerse por vía vegetativa (patrón clonal) o a partir de semilla (patrón franco).

A. Patrón Duke 7

Es el primer portainjerto clonal comercial en California, es una selección de raza mexicana propagada hace más de 50 años. Posee una gran resistencia a la salinidad, mayor que los portainjertos de semilla mexicanos. Tiene una tendencia a mantenerse verde en situaciones de suelos calcáreos, donde se producen grandes clorosis por deficiencias de

hierro. Por otro lado, es un árbol muy vigoroso, de brotación temprana, pero posee baja tolerancia a la pudrición radicular. (Gamalier et al., 2005)

B. Patrón Zutano

Originada en Fallbrook, California, por W.L. Ruitt. Fue introducida en 1941 de una selección hecha en 1926. Árbol frondoso, de hábito erecto, precoz y resistente al frío, pero muy susceptible a roturas por el viento. El fruto es aperado, de color verde claro, cáscara muy delgada y correosa, de moderada facilidad para pelar, de tamaño pequeño a medio, 200 a 400 g de peso y 10 a13 cm de largo (Ibar, 1979).

La pulpa es verde pálido, acuosa o “aguachenta”, por lo que se le considera una variedad de calidad mediocre; además, cuando madura tiende a rajarse y a decolorarse; es delicado para su manejo pos cosecha y muy susceptible a enfermedades durante su maduración. Tiene una vida moderada en estantería y se transporta bien cuando está verde, pero no cuando madura (Ibar, 1979; Newett et al., 2007). Se lo usa como semilla nodriza en la producción de portainjertos clonales en California y Sudáfrica. Es un excelente polinizador de palta variedad Hass. En el 2000 representó el 2% de la producción en California, 1.5% en Nueva Zelanda y cerca del 1% en España (Newett et al., 2007).

2.2.5 Composición nutricional

La importancia alimenticia de la palta se debe a que posee hasta 1,8 por ciento de proteínas y un alto contenido de lípidos, en donde los ácidos grasos predominantes son el oleico, linoleico y palmítico. La relación de ácidos grasos insaturados a saturados es alta (entre 6 y 8) por lo que comparado con otros frutos es de fácil digestión y rápida asimilación (Hernández et al., 1979).

La palta es la más completa de las frutas y verduras, su poder nutricional (Ver Tabla 1) reside en la gran cantidad de minerales y vitaminas que posee, lo que la convierten en un alimento imprescindible dentro de una dieta sana y equilibrada (MINSA, 2009).

Tabla 1

Composición nutricional de la palta cruda

Composición de la palta cruda por cada 100 g de pulpa			
Agua	79,20 g	**Hierro**	0,60 mg
Energía	131 kcal	**Zinc**	0,64 mg
Grasa	12,50 g	**Vitamina C**	6,80 mg
Proteína	1,70 g	**Vitamina B1**	0,03 mg
Carbohidratos totales	5,6 g	**Vitamina B2**	0,10 mg
Fibra cruda	5,8 g	**Vitamina B6**	0,280 mg
Potasio	600 mg	**Vitamina A**	7,0 µg
Sodio	10 mg	**Vitamina E**	1,340 mg

Fósforo	67 mg	**Folacina**	62 mg
Calcio	30 mg	**Niacina**	1,82 mg
Magnesio	39 mg	**Glutatión**	27,7 mg
Cobre	0,26 mg	**Luteína**	284 µg

Fuente: Hulme, (1971)

2.2.6 Producción de palta

2.2.4.1 Producción nacional de palta

Tabla 2

Producción y rendimiento de palta por Regiones.

(t) toneladas, (t/ha) toneladas por hectárea

Regiones	Producción (t)	Rendimiento (t/ha)
La Libertad	178,272	13
Lima	92,070	14
Ica	57,049	15
Junín	34,128	10
Ancash	20,476	8
Arequipa	12,579	15
Lambayeque	8,278	10
Cuzco	7,861	10
Piura	7,025	10
Moquegua	6,156	7
Ayacucho	5,219	7
Cajamarca	4,510	9
Apurímac	3,795	6
Loreto	3,453	10
Huánuco	2,833	9
Puno	2,469	10
Pasco	2,384	15
Ucayali	2,087	8
Amazonas	1,051	9

Huancavelica	729	10
Madre de Dios	491	8
Tacna	377	6
San Martin	301	12
Total	453,593	

Fuente: MINAGRI, (2016).

Según la tabla anterior de un total de 453,593 toneladas de palta producidas en el Perú en el año 2016, la región Moquegua tuvo un aporte de 6,156 toneladas, ubicándose como décimo productor a nivel nacional.

2.2.4.2 Producción Regional y Distrital de palta

La DRAM, (2014) indica que la palta es uno de los principales productos de la región Moquegua, este se cultiva en las provincias de Mariscal Nieto, en sus 6 distritos y en la provincia de General Sánchez Cerro, en 6 distritos.

Según el INEI, (2014) menciona que el comportamiento del Sector Agropecuario de Moquegua, en el mes de setiembre del año 2014, la producción de alfalfa registró 44 mil 306 toneladas y disminuyó en 15,3 % respecto al nivel obtenido en similar mes del año anterior que totalizó 52 mil 321 toneladas. De igual forma, decreció la producción de cebolla (-78,9 %), maíz morado (-71,4 %) y palta (-29,7 %), entre otros.

En la tabla 3 se muestra la producción, superficie cosechada así como el rendimiento por distritos en Moquegua.

Tabla 3

Superficie cosechada, Rendimiento y Producción de palta de Moquegua 2013. (Kg/ha) kilogramos por hectárea.

Región/ Provincia/ Distrito	Superficie Hectáreas	Rendimiento kg/ha	Producción Toneladas
Región Moquegua	**854**	**7 101**	**6 064,1**
Prov. Mariscal Nieto	**376**	**6 589**	**2 277,5**
Distrito Moquegua	132	7 619	1 005,6
Distrito Samegua	103	6 242	643,0
Distrito Torata	119	6 148	731,6
Distrito Carumas	1	4 580	4,6
Distrito Cuchumbaya	7	4 594	32,2
Distrito San Cristobal	14	4 321	60,5
Prov. Gral. Sánchez Cerro	**478**	**7 503**	**3 586,7**
Distrito Omate	372	7 758	2 886,1
Distrito Coalaque	60	7 139	428,3
Distrito Quinistaquillas	16	6 812	109,0
Distrito Puquina	2	4 285	8,6
Distrito La Capilla	5	3 724	18,6
Distrito Matalaque	23	5 917	136,1

Fuente: DRAM, (2013).

Según el Anuario Estadístico de la Producción Agrícola y Ganadera del MINAGRI (2015), la superficie cosechada de palta en la región Moquegua fue de 863 hectáreas con un rendimiento de 7.41 toneladas por hectárea.

En el distrito de Moquegua según la Gerencia de Desarrollo Económico Social (GEDES) (2016), de la Municipalidad Provincial Mariscal Nieto se encuentran inscritas doce asociaciones de productores de palta que agrupan un total de 313 productores dedicados a este cultivo, como se indica en la Tabla 4

Tabla 4

Asociaciones de productores de palta del distrito de Moquegua

DISTRITO	LOCALIDAD/SECTOR	ASOCIACIÓN	N° DE PRODUC-TORES
MOQUEGUA	Irrigación San Antonio	Asociación de Productores "Misky Hass"	25
	Irrigación San Antonio	Asociación de Productores "Siglo XXI"	22
	Charsagua aguas Muertas, las Huertas y Escapalaque	Asociación de "Productores y Comercializadores de Palta de Escapalaque"	50
	Valle Moquegua	Asociación de Productores de Palta Para la Exportación "APROPEX".	23
	Irrigación San Antonio	Asociación Productores. "Cerro Montón de Trigo"	28
	Valle Moquegua	Asociación "Sabor Frutos Campo Sol"	28
	Valle Moquegua	Asociación de "Productores Agrícolas y Exportadores de Moquegua"	17
	Huaracane	Asociación de Productores palta Hass "El Porvenir"	30
	Valle Moquegua	Asociación de Productores de Palta Moquegua "Palta Moq."	29
	Irrigación San Antonio	Asociación Agrícola "Campo Verde"	22
	Pachas	Asociación de Residentes campesinos "Pachas"	11

Valle Moquegua	Asociación de Productores de Palta Hass "San José"	28
TOTAL		**313**

Fuente: GEDES, (2016).

2.2.7 Rentabilidad del cultivo de palta en Moquegua

Según DRAM (2013) el principal producto cultivado en Moquegua es la alfalfa que representó más del 70 % del área cultivada en el periodo del 2010 al 2012. Sin embargo, en términos de ingresos por hectárea hay una marcada diferencia entre la alfalfa y la palta. Así, durante el 2013, una hectárea producida de alfalfa rindió ingresos por S/. 4 475 nuevos soles mientras que una hectárea de palta rindió S/. 18 067 nuevos soles. Estas cifras deben dar una idea de la importancia de la necesidad de sustituir los cultivos de alfalfa por productos más rentables y en los que Moquegua tiene ventaja comparativa como la palta, la vid, la cebolla y la papa, entre otros (Ver Tabla 5).

Tabla 5

Rentabilidad agrícola de Moquegua en el año 2013. (kg/ha) kilogramos por hectárea.

Producto	Superficie cosechada (ha)	Rendimiento (kg/ha)	Ingreso (S/. x ha)
Cebolla	101	37 036	32 423
Vid	361	12 368	23 459
Palta	800	6 938	18 067
Papa	618	13 481	11 002

Orégano	683	1 877	9 332
Olivo	284	1 369	6 534
Tuna	365	5 281	4 667
Alfalfa	10 748	62 617	4 475

Fuente: DRAM, (2013).

El rendimiento de la palta por hectárea en Moquegua el año 2012 fue de 6.8 toneladas, mientras que a nivel nacional se tuvo un rendimiento promedio de 11.4 toneladas por hectárea, lo cual significa que hay todavía amplio espacio para mejorar en base a la implementación de nuevas tecnologías de manejo del cultivo, control biológico de enfermedades, mejoramiento genético, portainjertos más resistentes, lo que hace que el rendimiento por hectárea sea mayor (Ver Tabla 6).

Tabla 6

Producción, Área Cosechada y Rendimiento de Palta de Moquegua (2002 – 2012)

Año	**(Miles de toneladas, miles de hectáreas, toneladas por hectárea.)**					
	Producción		**Área cosechada**		**Rendimientos**	
	Moquegua	**Nacional**	**Moquegua**	**Nacional**	**Moquegua**	**Nacional**
2002	1.9	94.2	0.3	10.3	7.1	9.1
2003	2	100	0.3	11.2	7.5	9
2004	1.4	108.5	0.2	11.7	7.6	9.3
2005	2	103.4	0.3	11.8	7.7	8.8
2006	1.9	113.3	0.3	12.5	6.8	9
2007	2	121.7	0.3	13.6	6.8	8.9
2008	2.7	136.3	0.4	14.4	7.1	9.5
2009	3.1	157.4	0.4	16.3	7.1	9.7

2010	3.1	184.4	0.5	17.8	6.6	10.4
2011	2.8	213.7	0.5	19.3	5.8	11
2012	5.2	268.5	0.8	23.6	6.8	11.4

Fuente: Ministerio de Agricultura, (2012)

2.2.8 Plagas comunes del palto

Según Pérez et al. (1993) y Aguirre et al. (2015) Los trips son insectos que miden de 0.3 a 14 mm de longitud; de color blanco, amarillo a castaño oscuro, estos poseen un aparato bucal picador-chupador, con el que causan lesiones en hojas y frutos como resultado de su alimentación en las capas de células de la epidermis, creando áreas pálidas o cafés, en altas poblaciones puede causar deformación de hojas, hojas pequeñas y defoliación de árboles. Las arañitas rojas son las especies más importantes y persistentes de ácaros y se encuentran presente en todas las zonas productoras de palta, se encuentran en el haz de la hoja causando bronceamiento y reducción en la actividad fotosintética debido a que succionan la savia, densidades de 300 ácaros por hoja ocasionan además del bronceado de hojas, una defoliación parcial. La defoliación puede también ocurrir cuando se presentan 70 hembras adultas por hoja durante periodos de sequía. Las lesiones originadas por estos insectos y ácaros pueden ser puntos de entrada de microorganismos patógenos.

2.2.9 Tipos de Suelo

Para obtener la medición de la distribución del tamaño de las partículas del suelo se ocupa un método para estimar el tamaño y distribución de las partículas del suelo, el método manual es el siguiente: Una bola de suelo fino de aproximadamente 2.5 cm de diámetro es formada, se le agrega agua lentamente hasta que se aproxima a su punto pegajosos, es decir en el punto en el cual el suelo apenas empieza a pegarse en la mano. La extensión a la cual el suelo húmedo puede deformarse es indicativa de su textura.

A Arenoso: El suelo permanece flojo y disgregado, solo puede formarse en una pirámide.

B Arena-francosa: El suelo contiene suficiente limo y arcilla para volverse algo cohesivo y puede formarse en una bola que se desbarata fácilmente.

C Franco-limoso: es como a la arena-francosa pero rodándosele toma la forma de un cilindro corto y grueso.

D Franco: Debido a que contiene aproximadamente igual cantidad de arena, limo y arcilla puede formársele en un cilindro de más o menos 15 cm de longitud que se rompe si se dobla.

E Franco-arcilloso: Es como para el franco aunque puede doblarse en “U”, pero no más, sin que se rompa.

F Arcilla ligera: se le puede doblar en circunferencia que muestra quebraduras.

G Arcilla pesada: se le puede doblar en circunferencia sin que muestre quebraduras.

Podrá notarse que cuando un suelo franco o limoso se seca, desprenderá polvo fino al rascársele o soplarle en la superficie, pero al suelo arcilloso no; el limoso es extremadamente polvoso debido a su bajo contenido en arcilla. El franco cuando esta húmedo se le siente jabonoso y más o menos plástico; si se le talla entre los dedos hasta secarlo deja polvo en la piel, pero el arcilloso no (Smith y Sims, 1993).

2.2.10 Punto humo de aceite de palta

El punto de humo nos indica la temperatura en la que las muestras de aceite comienzan a humear, de acuerdo a la procedencia del aceite, este se da en un rango de temperatura que va de los 107 °C a los 271 °C (Nielsen et al., 2009).

El punto de humo del aceite de palta se da a los 250 °C a diferencia del aceite de oliva que es de 180 °C, lo que lo hace un excelente producto para fines culinarios ya que tiene mayor resistencia a altas temperaturas al cocinarlo lo cual disminuye la liberación de ácidos grasos dañinos para la salud (Santana, 2013).

El punto de humo es el punto en el cual el aceite comienza a quemarse. En este momento, aparecen aromas extraños, olores a recalentado. Luego de ésta primera señal que ofrece el aceite naturalmente, si continuamos con calor, la generación de vapores podría generar incluso el clásico fuego sobre el recipiente en el cual se está trabajando (Boskou, 1998)

En la tabla 7 se puede apreciar la variación del punto de humo de los aceites vegetales más utilizados en la elaboración de alimentos.

Tabla 7

Punto de humo de aceites vegetales según su calidad

Aceite	Calidad	Punto de humo
Aceite de palta	Sin refinar	204 °C
Aceite de palta	Refinado	271 °C
Aceite de maíz	Sin refinar	178 °C
Aceite de maíz	Refinado	232 °C
Aceite de oliva	Extra virgen	160 °C
Aceite de oliva	virgen	216 °C
Aceite de soja	Sin refinar	160 °C
Aceite de soja	Refinado	232 °C
Aceite de girasol	Sin refinar	107 °C
Aceite de girasol	Refinado	232 °C
Aceite de canola	Sin refinar	107 °C
Aceite de canola	Refinado	204 °C

Fuente: Boskou (1998)

2.3 Género *Phytophthora*

El género *Phytophthora* (del griego *Phyton*: planta; *phthora*: destructor) fue descubierto por De Bary en 1876 con *Phytophthora. infestans* como especie tipo. Este investigador reconoció a dicho hongo como causante del ¨blight¨ tardío en la patata, en Europa (1840), previamente identificado como *Botrytis infestans* (Montagne) y luego como *Peronospora infestans* (Montagne). Las especies de *Phytophthora* producen varias enfermedades en distintas plantas. La mayoría generan pudriciones de la raíz, ahogamiento de plántulas y pudriciones de tubérculos, cormos, tallos cortos y otros órganos, enfermedades muy semejantes a las ocasionadas por el género *Pythium sp*. Otras especies causan pudriciones de yema o de frutos y algunos tizones foliares (Ho – Hing, 1990).

Las especies de *Phytophthora* producen varias enfermedades en muchos tipos distintos de plantas. La mayoría generan pudriciones de la raíz, ahogamiento de plántulas, pudriciones de yema o de frutos. Algunas especies son específicas al hospedero, pero otras tienen un amplio rango de éstos y pueden producir síntomas similares o distintos en muchos tipos de plantas hospederas (Agrios, 1985).

Diversos estudios demostraron que estos patógenos pueden afectar la planta en todos sus estados de desarrollo induciendo síntomas similares, caracterizados por marchitez generalizada, estancamiento del

desarrollo, pérdida de vigor, color, brillo y amarillamiento de las hojas y finalmente en estados avanzados, muerte de los árboles (Pérez, 2008; Tamayo, 2007; Zentmyer, 1984).

La tristeza del palto es causada por el hongo (*Phytophthora cinnamomi* Rands), que pertenece a la clase de Oomycetes, debido a que posee las estructuras características de éstos. Este hongo pertenece al grupo IV, dentro de las especies de *Phytophthora* (Stamps *et al*., 1990).

2.3.1 Taxonomía del hongo (*Phytophthora cinnamomi* Rands)

El hongo tiene la siguiente clasificación taxonómica (Agrios, 1985).

División: *Mastigomycota*

Subdivisión: *Diplomastigomycotina*

Clase: *Phycomycete*

Subclase: *Oomycetes*

Orden: *Peronosporales*

Familia: *Pythiaceae*

Género: *Phytophthora*

Especie: *Phytophthora cinnamomi*

Variedad: Rands

2.3.2 Estructuras principales del hongo

A. Micelio

La principal característica del micelio es que no presenta septos y sirve para diferenciarla de otras especies, el micelio está formado por un conjunto de hifas con forma de filamentos tubulares ramificados, éstas presentan hinchazones, (Ver figura 1) las que adquieren un aspecto botrioso a coraliforme y son formadas más profusamente que por la mayoría de las otras especies de *Phytophthora* (Erwin y Ribeiro, 1996).

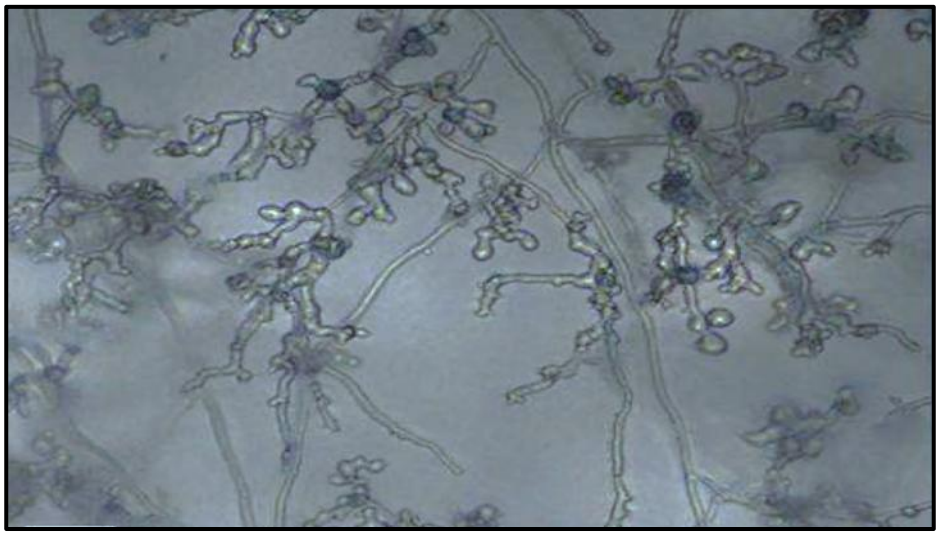


Figura 1. Micelio del hongo (*Phytophthora cinnamomi* Rands)

Fuente: Fierro (2011).

B. Esporangios

Posee esporangios no papilados de forma ovoide, piriforme o elipsoidal a elongado - elipsoidal con un ápice compacto, no

sobresaliente. Se estrechan o redondean hacia la base, son no caducos y nacen en el extremo terminal (Erwin y Ribeiro, 1996).

Miden en promedio 75 µm de largo y 40 µm de ancho, aunque esto último es variable (Ho y Zentmyer, 1977). Posee también zoosporas móviles con una marcada habilidad para sintetizar una pared celular enquistada en pocos minutos (Bartnicki - García y Wang, 1983). Una completa diferenciación ocurre dentro del esporangio antes de que las zoosporas sean liberadas a través de éste (Gisi *et al*., 1983). Estas únicas unidades naturalmente infectivas proveen un potencial de enfermedad grande y explosivo (Zentmyer, 1983).



Figura 2. Imagen del esporangio ovoide no papilado del hongo (*Phytophthora cinnamomi* Rands)

Fuente: Fierro (2011).

C. Zoosporas

Las zoosporas producidas en abundancia, su función como unidad primaria, es causar nuevas infecciones en raíces; nadan distancias cortas en el suelo y son transportadas en el agua de lluvia o de riego. Son atraídas por quimiotaxia a las raíces de Palto donde germinan, penetran e inician la pudrición radical. Las zoosporas son las estructuras primarias que causan una nueva infección de las raíces. Estas esporas pueden nadar cortas distancias en el suelo con elevada humedad, así como también pueden ser transportadas grandes distancias en el agua de irrigación o por las lluvias (Ho, 1992; Oudemans y Coffey, 1991).

Además de esta forma de dispersión las especies del hongo (*Phytophthora sp.*) pueden dispersarse en la naturaleza por el aire o siendo transportadas por la actividad de los humanos y algunos invertebrados (Ristaino y Gumpertz, 2000).

D. Clamidosporas

Son estructuras de sobrevivencia que se forman abundantemente en cultivos y tejidos infectados. Poseen un diámetro promedio de 41 µm. Pueden ser terminales o intercalares en el micelio y a menudo aparecen como racimos de uvas de 3 a 10 clamidosporas (Erwin y Ribeiro, 1996). Son globosas y de paredes delgadas (Zentmyer, 1980).

Estas estructuras son eventualmente liberadas en el suelo donde persisten por largos períodos. Germinan a través de varios tubos germinativos (Coffey, 1991).Las clamidosporas pueden germinar dando

lugar a numerosos tubos germinativos o a la producción de esporangios, lo cual dependerá de la cantidad de nutrientes presentes en el medio de cultivo (Boccas y Laville, 1976). En cuanto a la influencia de la temperatura se plantea que un rango entre 18 - 30 ºC es óptimo para que ocurra la germinación de las clamidosporas, aunque también se ha producido germinación entre 9 - 12 ºC y a 33 ºC. El pH óptimo para que ocurra este proceso está comprendido entre 5 y 7, aunque a valores de pH de 3 y 9 también se ha producido germinación de las clamidosporas (Zamora y Casín, 1986).

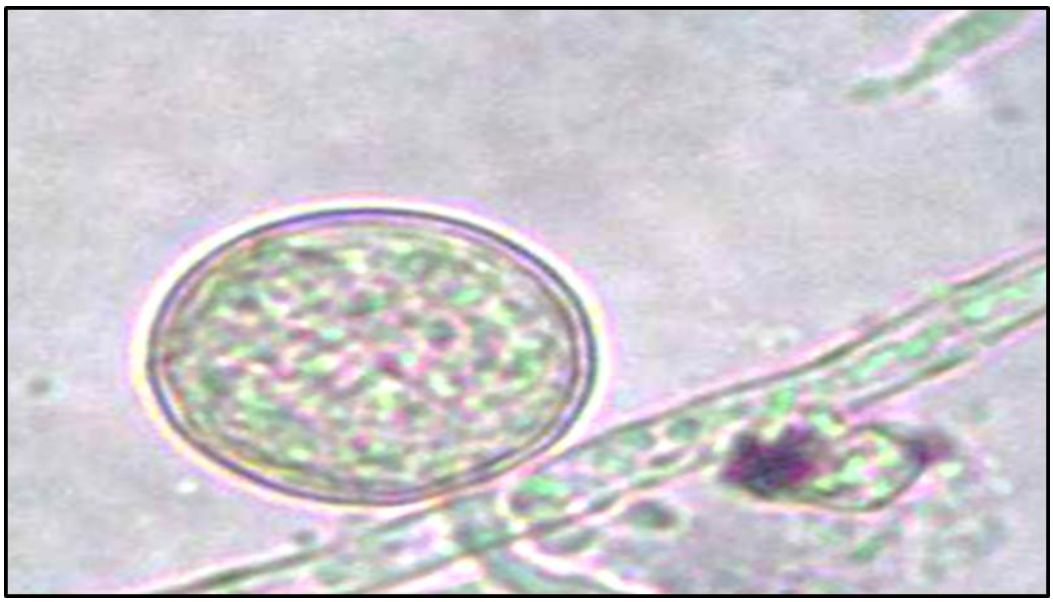


Figura 3. Clamidospora esférica del hongo (*Phytophthora cinnamomi* Rands).

Fuente: Fierro (2011).

2.3.3 Reproducción

Zamora y Casín (1986) mencionan que las especies del hongo (*Phytophthora sp.*), presentan dos tipos de reproducción: asexual (con la formación de clamidosporas y esporangios, que contienen las zoosporas) y sexual (mediante la formación de oósporas), las cuales se detallan a continuación:

A. Reproducción asexual

El esporangióforo el cual sirve de soporte a los esporangios, no se diferencia normalmente de las hifas, aunque en algunas ocasiones este puede ser más ancho o delgado que éstas y puede presentar hinchamientos. La presencia de esporangios es común para todas las especies del género, y de manera general se insertan terminalmente en el esporangióforo, aunque también pueden estar intercalados. La presencia de humedad es fundamental para la formación de esporangios, aunque la cantidad necesaria de la misma varía para cada especie. En la mayoría de las especies los esporangios se producen más abundantemente en presencia de luz, aunque el efecto de la misma es muy variable, llegando a estimularla en algunos casos e inhibiéndola en otros. Las especies de este género presentan además una forma de germinación directa, en la cual el tubo germinativo se origina, principalmente, a partir de la papila del esporangio, este a su vez puede dar lugar rápidamente al micelio o producir un nuevo esporangio, todo lo cual depende de las condiciones del medio de cultivo.

B. Reproducción sexual

Los órganos sexuales constituyen el elemento taxonómico más constante y por tanto, son de gran importancia en la clasificación de las especies. No todas las especies los producen o se muestran inconstantes en cuanto a su formación, por lo que en algunos casos se requieren medios de cultivo especiales.

- **Oogonio (Órgano sexual femenino)**

Su forma es esférica o ligeramente ahusada, usualmente se encuentra en el ápice de una hifa, aunque también puede aparecer intercalado, separado del resto de la hifa por un grueso tabique.

En cultivos jóvenes es hialino pero posteriormente, con el envejecimiento, se torna amarillo o ligeramente marrón (Ver figura 4).

- **Anteridio (Órgano sexual masculino)**

Este presenta una forma variable, puede ser esférico, oval, en forma de clavo o cilíndrico. Observándose de manera habitual solitario, hialino y con una pared externa delgada. Su disposición respecto al oogonio puede ser anfígeno o paragino (Ver figura 4), o ambas a la vez, siendo importante tener en cuenta esta disposición para realizar la clasificación taxonómica de las especies.

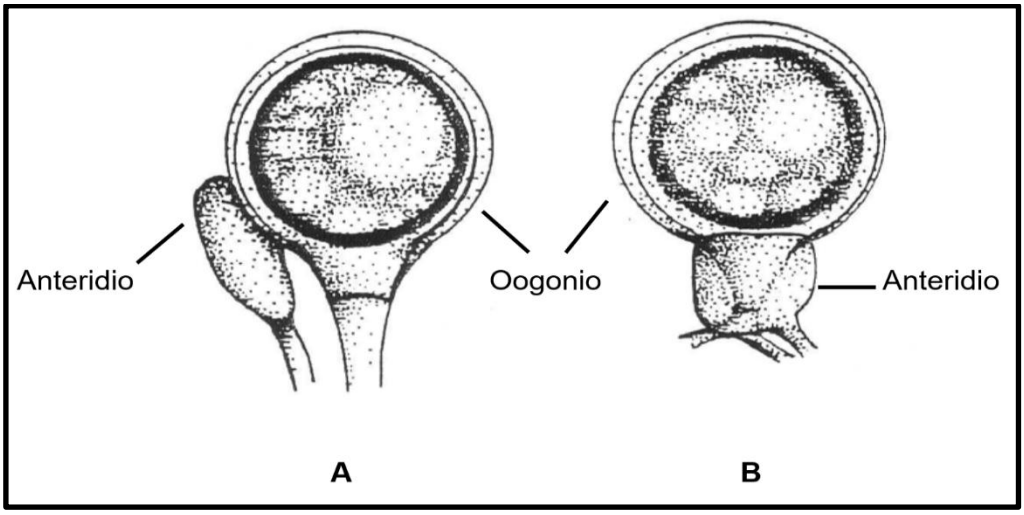


Figura 4. Oogonio y Anteridio adjunto; (A) paragino, (B) anfígeno.

Fuente: Erwin y Ribeiro (1996).

- **Oóspora o Clamidospora**

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

El medio de cultivo ejerce una influencia considerable en la formación de la Oóspora, según Grente (1961) los medios naturales ricos, tales como: el maíz y la avena, son los más favorables. No produciéndose en medios líquidos.

2.3.4 Ciclo de la enfermedad

Mora *et al.* (1994) el hongo sobrevive en el suelo por varios años en forma abundante como clamidosporas u oósporas en raíces o residuos de palto y de otras plantas cultivadas o en la maleza. Las clamidosporas actúan como semillas de propagación y son resistentes a condiciones

adversas del ambiente como: sequía, temperaturas bajas y falta de alimento entre otras. Cuando la temperatura se eleva y hay humedad excesiva por efecto de riegos pesados, lluvia abundante o por inundación o cuando hay mal drenaje, las clamidosporas germinan y dan origen al micelio. El micelio origina los esporangios donde se formarán posteriormente las zoosporas; estas tienen movimiento propio y se desplazan con agilidad sobre la superficie del agua e infectan raíces nuevas y el cuello del árbol o contagian árboles vecinos. Las zoosporas se forman siempre que hay excesos de humedad. Con el avance de la infección se pudre gran cantidad de raíces y los árboles desarrollan los síntomas de la enfermedad.

Al morir el árbol, el patógeno forma nuevamente abundantes clamidosporas para soportar la falta de alimento. Cuando se vuelven a presentar condiciones favorables, las clamidosporas germinan y reinician el ciclo de la enfermedad sobre árboles de palto de replante o sobre otros cultivos que también son afectados por el patógeno.

2.3.5 Sintomatología

El hongo (*Phytophthora cinnamomi* Rands) puede atacar paltos de diferentes edades, incluyendo árboles recién propagados. El daño más severo se produce en suelos pesados o suelos livianos arenosos con un impedimento de drenaje (Coffey, 1991).

El síntoma más destacable de la enfermedad en paltos consiste en la muerte progresiva del follaje. Las hojas producidas son más pequeñas, existiendo una amarillez y clorosis progresiva, que comienza en las ramas superiores (ver figura 5). Posteriormente, se va produciendo una defoliación y muerte de las ramas hasta causar la muerte del árbol (Zentmyer, 1980). Es característico en árboles con un estado avanzado de la enfermedad, que carezcan de nuevos crecimientos y además, que presenten una carga abundante y de bajo calibre (Coffey, 1991).

En los primeros estadios de la enfermedad, es común que los árboles presenten mayor carga frutal, producto probablemente de la acumulación de carbohidratos en la parte superior del árbol, siendo un efecto atribuido a la muerte de raíces (Zentmyer, 1980). En algunos casos, se puede observar el tronco afectado por la formación de cancros con presencia de exudados o secreciones (Latorre B., 1988).

Todos estos síntomas aéreos, son producto de una invasión a nivel de las raicillas absorbentes (1-3 mm de diámetro), las que presentan una pudrición negra y firme, que puede progresar en longitud (Coffey, 1991). El fruto del palto también puede ser colonizado por el hongo, produciendo una pudrición firme, de un color café; sin embargo, este síntoma no es muy común bajo condiciones de campo (Zentmyer, 1980).



Figura 5. Árbol de palto con síntomas característicos del ataque de *Phytophthora cinnamomi* Rands, en el sector el Rayo del distrito de Moquegua.

2.3.6 Factores ambientales y su relación con el hospedante y el patógeno

A. Humedad

La aplicación en exceso del agua en el riego y de las lluvias es el factor más importante en la diseminación de la enfermedad en el campo, porque favorece la reproducción de *Phytophthora cinnamomi* debido a que producen esporangios y éstos liberan zoosporas (Duniway, 1983; Grove y Boal, 1991).

Todos los factores físicos son importantes para la actividad de los microorganismos en el suelo, pero ninguno es más dinámico en el tiempo y espacio que el agua y la aireación en el suelo. El agua es el factor primario y afecta selectivamente la actividad de los microorganismos por lo menos en cuatro formas: 1) intercambio de gases (aireación del suelo), 2) difusión de solutos, 3) movilidad de organismos y 4) energía libre (potencial de agua), la cual determina la disponibilidad de agua para el crecimiento, nutrición y metabolismo (Cook y Baker, 1983; Grove y Boal, 1991).

La supervivencia de especies del hongo, puede ser en forma de micelio, esporangios, quistes, clamidosporas y oósporas. El micelio es un propágulo muy vulnerable, de fácil destrucción por bacterias por ello el periodo de supervivencia varía de 1-60 días. Mientras que para esporangios de 3 - 42 días. En relación a las clamidosporas, por su gruesa pared y tolerancia a humedad mínima la sobrevivencia es 84 - 365 días, las oósporas estructuras de latencia, pueden permanecer viables más de 365 días (Weste, 1994).

B. Temperatura

Zentmyer (1985), relaciona la curva de crecimiento de Phytophthora cinnamomi con la del hospedero a diferentes temperaturas y observa que las curvas se comportan de manera similar excepto a 33°C en que el hospedero desarrolla bien y el patógeno es inhibido. En

especies forestales susceptibles también se observa que la colonización y avance del patógeno en la raíz, siempre es dependiente de la temperatura de la raíz y que a 28°C el Oomycete se dispersa abundantemente por todo el sistema radical (Grant y Byrt, 1984).

Existe una porción del año en que las condiciones son más favorables para el crecimiento e infección micelial o para la formación de esporangios y la infección de zoosporas. Durante el invierno el crecimiento del patógeno y la formación esporangial es limitado por las bajas temperaturas; la supresión microbiana también es restringida. La inactivación de *Phytophthora cinnamomi* está directamente relacionada con temperaturas inferiores de 0°C. La inactivación del micelio ocurre a 2, 6, ó 16 días a - 6.7°C, - 3.8°C y - 1.4°C, respectivamente (Benson, 1987). La temperatura del suelo óptima para el desarrollo de la enfermedad es de 20°C. El micelio se desarrolla entre 7.5 y 28°C con un óptimo entre 17.5 y 19.5°C. Los esporangios se producen a temperaturas de 12 a 30°C, el óptimo 24°C. Las zoosporas no se producen a temperaturas inferiores a 17°C (Hardham et al., 1991).

Es importante resaltar el papel que ocupa la temperatura entre los factores que limitan el crecimiento vegetativo, razones por las cuales constituye un parámetro de elevada relevancia en la taxonomía. El margen de temperatura en el cual está comprendido el desarrollo del micelio de *Phytophthora cinnamomi* Rands va desde 1 ºC de temperatura mínima hasta los 37 ºC como máxima temperatura de crecimiento activo,

situándose entre los 20 – 28 ºC la temperatura óptima para la mayoría de las especies (Boccas y Laville, 1976).

Tabla 8

Temperaturas cardinales de crecimiento de algunas especies de Phytophthora.

ESPECIES	**T. MÍNIMA**	**T. ÓPTIMA**	**T. MÁXIMA**
P. parasítica	10 °C	30-32 °C	37 °C
P. citrophthora	5 °C	26-27 °C	32 °C
P. palmivora	11 °C	28-29 °C	35 °C
P. citricola	3 °C	25-28 °C	31 °C
P. syringae	5 °C	20 °C	23 °C
P. hibernalis	5 °C	20 °C	23 °C
P. magasperma	2 °C	25 °C	30 °C
P. cinnamomi	5 °C	24-28 °C	32-34 °C
P. drechsleri	5 °C	28-31 °C	36-37 °C

Fuente: Boccas y Laville (1976).

Vidales (2002), menciona que el efecto de las temperaturas máximas alcanzadas en el suelo de la rizósfera de los paltos, fueron letales al hongo (*Phytophthora cinnamomi* Rands) por efecto de la solarización. Se observó a 30 - 52 cm de profundidad, la temperatura se eleva hasta 35 °C durante la solarización con plástico cristalino que causa la muerte de los propágulos del hongo en raíces. En consecuencia, se inició una rápida recuperación de los árboles dañados. Debido a que a

esa profundidad se localiza la mayor distribución de raíces absorbentes menores de 5 mm de diámetro.

C. Suelo

Los suelos más recomendados son los de textura ligera, profundos, bien drenados con un pH neutro o ligeramente ácidos (5,5 a 7), pero puede cultivarse en suelos arcillosos o franco arcillosos siempre que exista un buen drenaje, pues el exceso de humedad propicia un medio adecuado para el desarrollo de enfermedades de la raíz, fisiológicas como la asfixia radical y fúngicas como *Phytophthora.* (Anacafé, 2004). Sin embargo, suelos ricos en materia orgánica favorecen el desarrollo de la micro flora antagonista contra *Phytophthora cinnamomi.* (Zentmyer, 1980).

Al existir una baja proporción de oxígeno en el suelo se produce un fenómeno llamado asfixia radicular. Este determina una respiración anaerobia intramolecular en tejidos radicales, que promueve la formación de productos como anhídrido carbónico, aldehído acético, alcohol etílico, ácido láctico y otros, que resultan tóxicos para las propias raíces. La baja proporción de oxígeno en el suelo puede deberse a un exceso de agua, elevado porcentaje de arcilla o de elementos muy finos, plantaciones a demasiada profundidad, compactación del terreno, entre otros (Duran, 1976).

Stolzy et al. (1967) Finalmente, concluyeron que los niveles de humedad conducen a que la pudrición de raíces ocurra primariamente

bajo condiciones de drenaje restringido del suelo, por esto, con palto, la selección de tipos de suelo bien drenados es muy importante.

2.4 Tipos de muestreo

Los autores proponen diferentes criterios de clasificación de los diferentes tipos de muestreo, aunque en general pueden dividirse en dos grandes grupos: métodos de muestreo probabilísticos y métodos de muestreo no probabilísticos.

2.4.1 Métodos de muestreo probabilísticos

Los métodos de muestreo probabilísticos son aquellos que se basan en el principio de equiprobabilidad. Es decir, aquellos en los que todos los individuos tienen la misma probabilidad de ser elegidos para formar parte de una muestra y, consiguientemente, todas las posibles muestras de tamaño n tienen la misma probabilidad de ser elegidas. Sólo estos métodos de muestreo probabilísticos nos aseguran la representatividad de la muestra extraída y son, por tanto, los más recomendables. Dentro de los métodos de muestreo probabilísticos encontramos los siguientes tipos: Aleatoria Simple, Sistemática, Estratificada y en Conglomerados (Salinas, 2004)

2.4.2 Métodos de muestreo no probabilísticos

El muestreo No Probabilístico corresponde a procedimientos de selección de muestras en donde intervienen factores distintos al azar. “Este tipo de muestreo se caracteriza por un esfuerzo deliberado de obtener muestras ***representativas*** mediante la inclusión en la muestra de grupos supuestamente típicos” (Parra, 2003). Es un tipo de muestreo Intencional, es aquel donde los elementos maestrales son escogidos en base a criterios o juicios preestablecidos por el investigador, dentro de los métodos de muestreo no probabilísticos encontramos los siguientes tipos: Muestreo Causal o accidental, Muestreo intencional u Opinático y Muestreo por Cuotas. Arias (2006),

- **Muestreo por Cuotas**

El muestreo por cuotas también denominado en ocasiones "accidental". Se asienta generalmente sobre la base de un buen conocimiento de los estratos de la población y/o de los individuos más "representativos" o "adecuados" para los fines de la investigación. Mantiene, por tanto, semejanzas con el muestreo aleatorio estratificado, pero no tiene el carácter de aleatoriedad de aquél. En este tipo de muestreo se fijan unas "cuotas" que consisten en un número de individuos que reúnen unas determinadas condiciones (Rodríguez, 1991).

2.4.3 Métodos de muestreo del sistema radicular del palto

La muestra de los árboles de palto se eligen en base a la sintomatología visual, considerando por lo tanto el vigor del árbol, el estado de la canopia, presencia de ramillas muertas, coloración del follaje, tamaño de las hojas, carga frutal, calibre de los frutos, la sanidad y cantidad de raicillas presentes bajo la canopia. Se toman muestras de raíces en los cuatro puntos cardinales de cada árbol que compone la muestra, ya sea sano, moderadamente afectado o severamente afectado. Se utiliza una pala para extraer las muestras que contiene trozos de raicillas, raíces secundarias y principales, junto a un buen volumen de suelo, para evitar que se deshidraten. Las muestras se depositan por separado en bolsas de polietileno, siendo clasificadas y posteriormente llevadas al laboratorio (Georgi, 1993)

Se muestrean las raíces de árboles con síntomas de tristeza del palto. La colecta se realiza a una profundidad de 0 a 20 cm en puntos cercanos al tronco de los árboles a una distancia aproximada de 0.5 a 0.8 m. Con pala recta se sacan las muestras del suelo y se tamizan por separado en una malla de 5 mm; las raíces separadas se colocan en bolsas de polietileno previamente etiquetadas, a cada bolsa con raíces se le agrega aproximadamente 0.5 kg de suelo húmedo y se transportan al laboratorio (Fierro, 2011).

Se identifican plantas de palto que presentan síntomas de marchitez. Se toman muestras de raíces y tallos, se envuelven en servilletas de papel y se transportan en bolsas plásticas hasta el

laboratorio, en donde se realiza el procedimiento de lavado de muestras, esporulación en cámara húmeda, aislamiento e identificación de microorganismos y las pruebas de patogenicidad. (Ramírez, 2013)

Para el aislamiento del patógeno se recogen muestras de suelo y de raíces de árboles de palto con síntomas de la enfermedad. Las muestras de suelo se toman de las zonas próximas a las raíces absorbentes, que suelen situarse a una profundidad de 20 cm. Las muestras tomadas se llevan al laboratorio (Mansilla, et al. 1993)

2.4.4 Métodos de aislamiento

A. A partir de raíces

Las muestras de raíces colectadas se lavan con agua, se secan al aire y se seccionan en trozos (0.5 cm^3). Luego se introducen en cabina de flujo laminar estéril, se desinfestan superficialmente con etanol (70%) por 30 segundos, seguido de un lavado en agua destilada estéril por 30 segundos, después se sumergen en hipoclorito de sodio (3%) por 30 segundos y por último se lavan con agua destilada estéril por 30 segundos. De las muestras desinfestadas se cortan trozos pequeños de 0.1 cm^3 y se siembran en medios semi-selectivos para *Phytophthora* sp. V8-PARPH y V8-NARPH, PDA-acidificado, V8 para hongos y AN para bacterias. Las cajas de Petri sembradas se incubaron a 28ºC por 15 días,

con un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 de oscuridad (Madigan et al., 2004; Hardham, 2005).

B. A partir de muestras de suelo

Los procedimientos están basados en la utilización de trampas vegetales o cebos que permiten atrapar el hongo, el cual se aísla posteriormente en medios selectivos para identificar la especie de *Phytophthora* de que se trate. Las trampas vegetales a base de pétalos inmaduros de clavel u hojas jóvenes de aguacate troceadas son las más frecuentemente utilizadas en la determinación de la existencia de esporangios del hongo (Dhingra y Sinclair, 1986).

C. A partir de muestras de frutos

Se eligen frutos de aguacate de piel lisa que se encuentren lo más lejos posible de su punto de maduración y que no hayan tocado el suelo. Se disponen tales frutos en cajas pequeñas de plástico donde se introduce el suelo problema, enrasándose con agua hasta superar ligeramente el punto de saturación. Se incuba el fruto en el suelo durante 4 ó 5 días a 24-27° C, después de los cuales se retira, se lava con agua destilada y se deja 3 ó 4 días a temperatura ambiente, observándose sobre los frutos manchas de color marrón púrpura en la zona de contacto con el suelo. Se toman trozos de pulpa de la zona de avance y se

siembran en medios selectivos, V8, apareciendo a los 3-4 días un crecimiento miceliar típico en roseta de la *Phytophthora cinnamomi* (Zentmyer *et al,* 1967).

2.4.5 Métodos de identificación

A. Coloración

Para la identificación o determinación de hongos con fines de diagnóstico o estudios taxonómicos es necesario observar estructuras fúngicas con alta nitidez y contraste, y se utilizan diversos compuestos químicos que permitan tinción diferencial entre las paredes y citoplasma de las células fúngicas. Entre los compuestos más usados en pruebas rutinarias se incluyen: fenol, ácido láctico en combinación con azul de algodón o fucsina ácida, entre otros (CMI, 1985; Dhingra y Sinclair, 1986).

Este procedimiento está basado en la afinidad del colorante por componentes de las células, en este caso por las estructuras fúngicas. Los colorantes vegetales rojo allura Nº 40 y azul brillante Nº 1, permiten teñir el citoplasma de las células para dar un buen contraste con las paredes de las mismas, con el azul brillante se observa la diferenciación de zoosporas y el rojo allura resulta adecuado para teñir núcleos en hifas jóvenes. Además, el uso de estos colorantes para la tinción de estructuras fúngicas resulta confiable, no costosa, no tóxica, con alta capacidad de

tinción y con larga durabilidad. La técnica constituye una buena alternativa para fines didácticos, además que no es contaminante, ya que los reactivos son inocuos al humano y al ambiente (Gonzáles et al., 2011).

CMI (1985). Utilizó los colorantes vegetales rojo allura Nº 40 (16035) y azul brillante Nº 1 (42090). Para cada colorante preparó una solución compuesta de: colorante vegetal (1 mL), ácido acético (10 mL) el cual lo usó como mordiente y glicerina (15 mL) usada como humectante, mezclados en 75 mL de agua destilada esterilizada. Para cada solución de colorantes se preparan láminas semipermanentes, se coloca una gota de los colorantes vegetales rojo allura Nº 40 y azul brillante Nº 1. En el microscopio óptico, *Phytophthora cinnamomi* aparece como un micelio transparente compuesto por hifas no tabicadas, con formas coraloides e hinchamientos en sus extremos que recuerdan a un racimo de uvas (botriosos). Es capaz de formar un tipo especial de esporas con forma globosa y paredes más gruesas, denominadas clamidosporas, que actúan como estructuras de resistencia con una capacidad de supervivencia que puede superar los 6 años dentro de los tejidos vegetales o en el suelo húmedo (Zentmyer 1966).

B. Identificación y Caracterización Morfológica

Para la identificación de los aislamientos de *Phytophthora cinnamomi* obtenidos se observan bajo microscopio óptico y se identifican siguiendo las claves descritas por Erwin y Ribeiro (1996) (ver anexo 4).

El micelio de la especie *Phytophthora cinnamomi* es la estructura básica que contiene las estructuras de reproducción y sobrevivencia está constituida por hifas con hinchazones, las que adquieren un aspecto botrioso a coraliforme y son formadas más profusamente que por la mayoría de las otras especies de *Phytophthora* (Erwin y Ribeiro, 1996).

En los aislados los esporangios formados son persistentes y no papilados. Los esporangios producidos por el aislado *Phytophthora cinnamomi* son de forma ovoide-elipsoide, con un alto porcentaje de esporangios con ápice truncado (Figura 6a). Los esporangióforos son en su gran mayoría simples y largos, aunque también los hay ramificados simpodialmente (Figura 6b). *Phytophthora drechsleri* produce esporangios subesféricos (Figura 6c) y en menor proporción ovoides. Sólo un pequeño porcentaje de los esporangios presentó el ápice truncado. Los esporangióforos son en su mayoría simples y largos, con proliferación externa, generalmente no ramificados. Los esporangios producidos por el aislado. El aislado *Phytophthora cryptogea* produjo esporangios obpiriformes (Figura 6d) y elipsoides con un 100% de ápices truncados y esporangióforos simples.

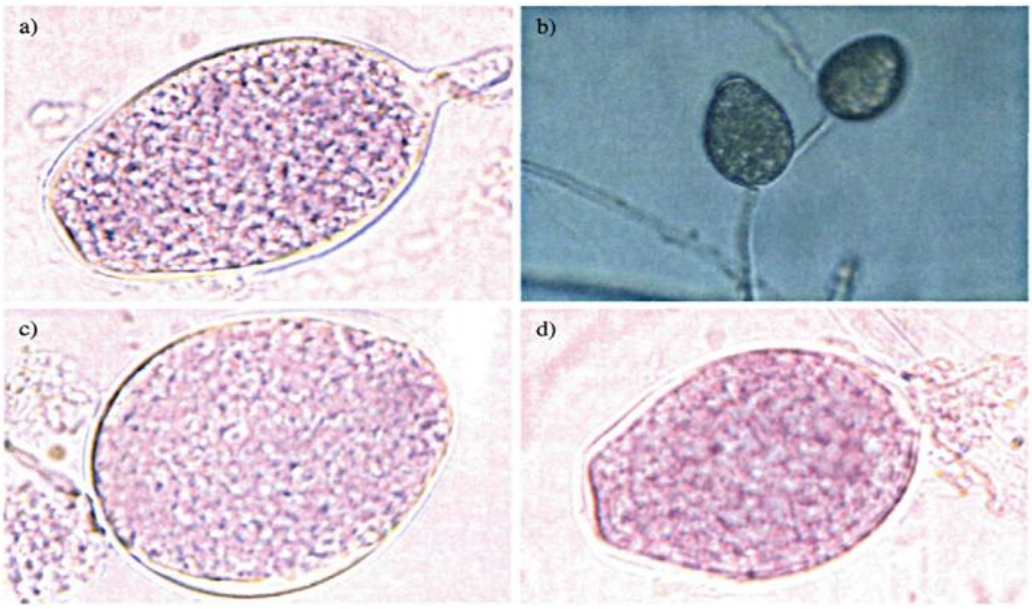


Figura 6. Morfología de las estructuras de reproducción de los aislados de *Phytophthora spp*., a) esporangio elipsoide de *P. cinnamomi*, b) ramificación simpodial de los esporangióforos de *P. cinnamomi*, c) esporangio subesférico de *P. drechsleri*, d) esporangio obpiriforme de *P. cryptogea.*

Fuente: Sánchez et al. (2004)

Las cepas de *Phytophthora* se caracterizan morfológicamente observando la siguiente variabilidad morfológica que incluye cepas que forman camelia abierta, camelia en picos y algunas cepas con crecimiento algodonoso y cerrada; camelia cerrada, en picos; arrosetada y concéntrica. No se observan cambios en el color de la colonia, ni al reverso, tampoco en el medio nutritivo. En la Figura 7, se presenta una

fotografía de cinco formas diferentes observadas en las cepas de *Phytophthora cinnamomi* (Lara et al., 2007)

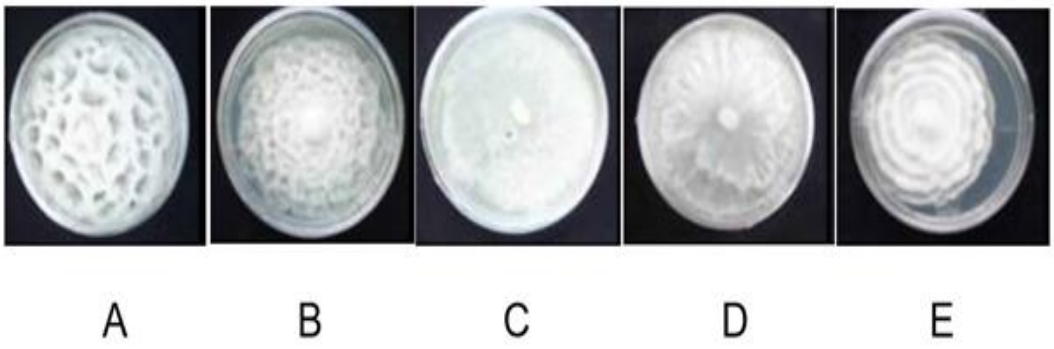


Figura 7. Característica morfológicas de cepas de *Phytophthora cinnamomi*. En picos algodonosa (A), arrosetada (B), camelia sin formar la flor de camelia (C), camelia abierta formando la flor (D) y arrosetada concéntrica (E).

Fuente: Lara et al. (2007).

Aragón et al. (2007), menciona que en el medio PDA la colonia de *Phytophthora spp*., fue ligeramente algodonosa, de coloración blanquecina (figura 8); el patrón de desarrollo fue parcialmente anillado y el diámetro de la colonia fue de 63 mm a los 9 días.

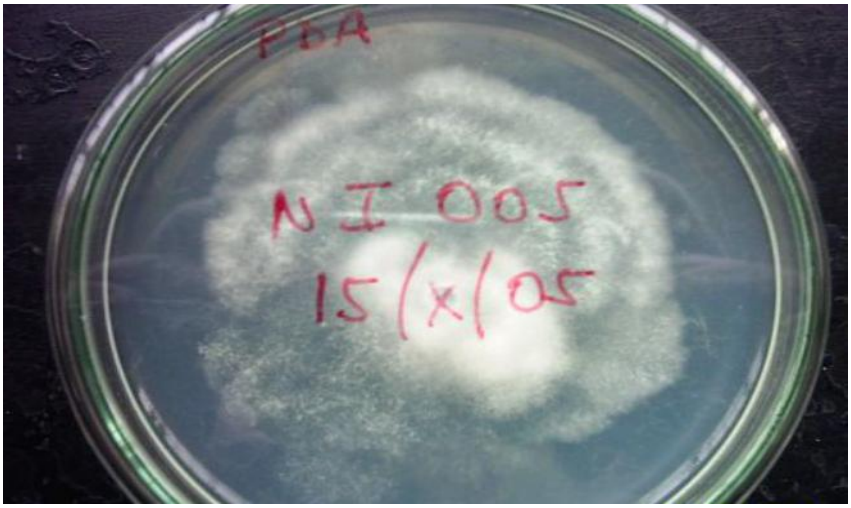


Figura 8. Patrón de crecimiento de *Phytophthora*, aislado en PDA a los 9 días.

Fuente: Aragón et al. (2007).

Sánchez et al. (2004), menciona que en cuanto a la morfología de las colonias luego de su crecimiento a 20° C en el medio de cultivo CA, los aislados identificados como *Phytophthora cinnamomi* formaron colonias de color blanco, con abundante micelio aéreo algodonoso y crecimiento uniforme o ligeramente petaloide (Figura 9a). Las colonias de los aislados identificados como *Phytophthora cryptogea* presentaron formaciones miceliares blanquecinas a modo de pétalos, dando lugar a una colonia tipo "roseta", con micelio aéreo escaso (Figura 9b). Por último, el aislado identificado como *Phytophthora drechsleri* formó colonias blancas tipo "crisantemo", con pétalos pequeños e imbricados, micelio aéreo escaso y pulverulento (Figura 9c).

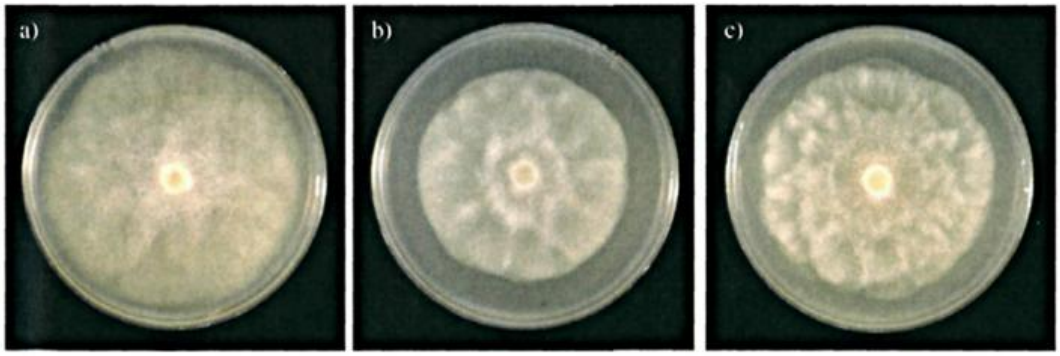


Figura 9. Morfología de las colonias de *Phytophthora spp*., a) colonia petaloide con micelio aéreo algodonoso, identificado como *Phytophthora cinnamomi,* b) colonia tipo roseta, identificado como *Phytophthora cryptogea,* c) colonia tipo crisantemo, identificado como *Phytophthora drechsleri.*

Fuente: Sánchez et al. (2004)

Las clamidosporas u oósporas son estructuras de sobrevivencia que se forman abundantemente en los cultivos y tejidos infectados. Pueden ser terminales o intercalares en el micelio y a menudo aparecen como racimos de uvas de 3 a 10 clamidosporas (Erwin y Ribeiro, 1996). Las clamidosporas pueden germinar dando lugar a numerosos tubos germinativos o a la producción de esporangios, lo cual dependerá de la cantidad de nutrientes presentes en el medio de cultivo (Boccas y Laville, 1976).

2.4.6 Prueba de Hipótesis

Según Reyes (2007), la inferencia estadística es el proceso mediante el cual se utiliza la información de los datos de una muestra para extraer conclusiones acerca de la población de la que se seleccionó la muestra. Las técnicas de inferencia estadística se dividen en dos áreas principales: *Estimación de intervalos de confianza* y *Pruebas de hipótesis.*

En cada prueba estadística, se comparan algunos valores observados contra algunos esperados u otro valor observado comparando estimaciones de parámetros (media, desviación estándar, varianza). Estas estimaciones de los verdaderos parámetros son obtenidos usando una muestra de datos y calculando los estadísticos.

La capacidad para detectar una diferencia entre lo que es observado y lo que es esperado depende del desarrollo de la muestra de datos. Incrementando el tamaño de la muestra mejora la estimación y la confianza en las conclusiones estadísticas.

Al realizar pruebas de hipótesis, se parte de que un valor supuesto (hipotético) es el parámetro poblacional. Después de recolectar una muestra aleatoria, se compara el estadístico muestral, así como la media (x), con el parámetro hipotético, se compara con una supuesta media poblacional. Después se acepta o se rechaza el valor hipotético, según proceda. Se rechaza el valor hipotético sólo si el resultado muestral resulta muy poco probable cuando la hipótesis es cierta.

- **Hipótesis de una Proporción**

Orús (2014), menciona que en otros estudios estadísticos, por ejemplo en aquellos que nos interesa saber qué porcentaje de sujetos, empresas, etc., de nuestra muestra, cumplen una determinada condición, se calcula para ello un porcentaje, es decir, la proporción de elementos de nuestra muestra que cumplen dicha condición.

Tanto si se calcula una media como una proporción, en ambos casos, esos valores, hacen referencia a nuestra muestra y evidentemente, en todo estudio estadístico no nos interesa tan solo dar resultados de nuestra muestra, sino que, lo que nos interesa es poder extrapolar esos resultados a nivel poblacional. O lo que es lo mismo, poder afirmar, que la proporción de ese dato que estamos estudiando, si pudiéramos estudiarlo en toda la población, se obtendría un determinado valor.

Según Rustom (2012), La hipótesis de una proporción es el caso en el cual la característica A produce dos subpoblaciones y se requiere probar que porcentaje representa la subpoblación con la característica A respecto al total.

1° Las hipótesis son:

Ho: $P=Po$ Vs. H1: ($P \neq Po$, $P > Po$, $P < Po$)

2° El nivel de significación se determina con los criterios habituales.

3° En esta situación, con n suficientemente grande, el estadígrafo de prueba, bajo la hipótesis Ho, es: $Z = P\text{-}Po/\sqrt{PoQo/n}$.

4°La región crítica corresponde a la de una distribución normal y puede ser:

- Región crítica bilateral
- Región crítica unilateral derecha
- Región crítica unilateral izquierda

2.5 Definición de términos

- **Anfígeno.** Se dice que el anteridio es anfígeno cuando este rodea el tallo del Oogonio.
- **Anteridio.** El órgano sexual masculino.
- **Caduco.** Describe esporangios que se separan fácilmente del esporangióforo.
- **Clamidóspora.** Espora en reposo que está separada del micelio por un septum; Puede ser terminal (en el extremo de una hifa) o intercalar (dentro de una hifa). Con una pared engrosada. Sobrevive por largos períodos en el suelo.
- **Heterotálico.** Reproducción sexual que implica la fertilización cruzada de aislamientos de diferentes tipos de apareamiento, A1 y A2, poseen oogonio y anteridio.
- **Homotálico.** Reproducción sexual por auto fertilización (sólo se requiere un tipo de apareamiento)

- **Oogonio.** El órgano sexual femenino (gametangium) en el que se forma la oóspora después de la fertilización por el anteridio
- **Oóspora.** Cigoto (o espuma de paredes gruesas) que se forma dentro del oogonio después de la fecundación
- **papila.** Engrosamiento en el ápice (parte superior) del esporangio
- **Paragino.** cuando el anteridio está unido al lado del tallo del oogonio.
- **Pedicelo.** Tallo que une el esporangio al esporangióforo
- **Plerótico/a**. cuando la oóspora llena la cavidad del oogonio.
- **Esporangióforo.** Tallo sobre el que se carga el esporangio; Puede ser simple o ramificado.
- **Esporangiospora**. Espora móvil que emerge de un esporangio germinado (también llamado zoospora).
- **esporangio.** Saco dentro del cual se forman las zoosporas.

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1 TIPO Y DISEÑO

3.1.1 Tipo de Investigación

Según los objetivos propuestos corresponde a un tipo de investigación Descriptiva - Explicativa.

3.1.2 Diseño de la investigación

El diseño de la investigación se compone de dos fases:

- Fase de Campo.
- Fase de Laboratorio.

3.1.3 Nivel de investigación

Según la complejidad de la investigación corresponde a un Nivel de Investigación Perceptual - Comprensivo.

3.1.4 Operacionalización de variables

De acuerdo al Método estadístico se utilizaron las siguientes:

A. En la hipótesis sobre la presencia del patógeno en paltos con síntomas característicos de la enfermedad de la tristeza del palto:

- Variable Cualitativa: Presencia de *Phytophthora cinnamomi.*
- Indicador: El porcentaje de paltos con síntomas característicos de la enfermedad.
- Escala: del 1% al 100 %

Para la prueba de hipótesis se utilizó “la prueba de hipótesis de una proporción”, con un nivel de significancia de 0.05.

Para el cálculo de la prueba de hipótesis se utilizó el software estadístico SPSS versión 24, las Tablas estadísticas y de prueba de una muestra se encuentran en el Anexo 6.

B. En la hipótesis sobre la influencia de la temperatura en el crecimiento de la colonia del patógeno:

- Variable independiente: la Temperatura.
- Variable dependiente: Crecimiento del micelio del hongo *Phytophthora cinnamomi*.
- Indicador: Milímetros.

- Instrumento: Vernier.

Para la prueba de hipótesis se utilizó un ANOVA con un diseño en bloques completos al azar (DBCA), con un nivel de significancia de 0.05.

Para el cálculo de la prueba de hipótesis se utilizó el software estadístico SPSS versión 24, las Tablas estadísticas se encuentran en el Anexo 6.

3.1.5 Lugar de ejecución

El presente proyecto se realizó en el laboratorio de microbiología de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional de Moquegua.

3.1.6 Materia Prima

Las muestras radiculares se seleccionaron de los sectores agrícolas de Charsagua, el Rayo, Escapalaque, Siglo 21 y Asociación Cambrune del Distrito de Moquegua, en los que se seleccionaron plantas de palto variedad Hass y Fuerte en etapa de fructificación con síntomas característicos de la enfermedad de la tristeza del palto, caracterizados por marchitez generalizada, caída de hojas, estancamiento del desarrollo de la planta, caída de frutos; pérdida tanto del vigor, color y de brillo en las hojas y en estados avanzados, muerte de los árboles.

3.1.7 Materiales

A. Materiales de campo

- Caja conservadora de temperatura de polietileno de 32 litros de capacidad
- GPS de mano monocromo de 2,2''
- Guantes de operario de cuero
- Hielo en cubos embolsado
- Recipientes de plástico herméticos de 0.5 litros
- Cincel de metal de dos puntas
- Lampa jardinera de 40 cm
- Marcador indeleble de 0.8 mm

B. Equipos y Materiales de laboratorio

Equipos

- Autoclave: marca J. P. Selecta, modelo MED 20
- Balanza analítica: marca A & D, modelo FX-3000i
- Cámara fotográfica: marca Lumix, modelo FS7
- Congelador: marca Electrolux, modelo ERD052UBHX
- Destilador de agua: marca J.P. Selecta, modelo AC-L8
- Incubadora: marca BTM, modelo IC 55

- Microscopio: modelo Primo Star, marca Zeiss., tipo óptico compuesto
- Potenciómetro: marca BOECO, modelo PT-370
- Vernier marca PRETUL con lecturas desde 0.1 mm
- Cámara de siembra de vidrio
- Computadora portátil TOSHIBA CORE i7
- Cámara fotográfica BENQ ,16 MEGAPÍXELES, ZOOM 5X

Materiales de laboratorio

- Hoja de Bisturí N° 10
- Laminas Cubre objetos de 22 X 22 milímetros
- Laminas Portaobjetos de 26 X 76 X 1 mm
- Vaso de precipitados de 250 mL
- Matraz Erlenmeyer 250 mL
- Lámparas de alcohol
- Vasos de precipitados de 500 mL
- Pinza de disección curva de 150mm
- Pipetas de Pasteur de 10 mL
- Pizeta de plástico de 500 mL
- Placas Petri de 100 por 15 mm
- Probeta de 250 mL
- Algodón, gasa, cinta adhesiva de 1’’

- Papel aluminio de 300 mm X 8 m
- Guantes quirúrgicos descartables N° 7

Reactivos

- Aceite de inmersión microscopia 100mL
- Ácido acético 100 %
- Ácido tartárico Q. P. X 100 g
- Agar Patata Dextrosa MOVILAB
- Alcohol etílico al 96°
- Colorante vegetal azul brillante Nº 1
- Colorante vegetal rojo allura N° 40
- Cristal violeta al 1 %
- Decolorante Gram (Metanol: 75%, Acetona: 25 %)
- Glicerina 15 mL
- Hidróxido de sodio 1 N
- Hipoclorito de sodio 0,05 %

3.1.8 Metodología de estudio

La metodología utilizada se puede apreciar en el siguiente diagrama:

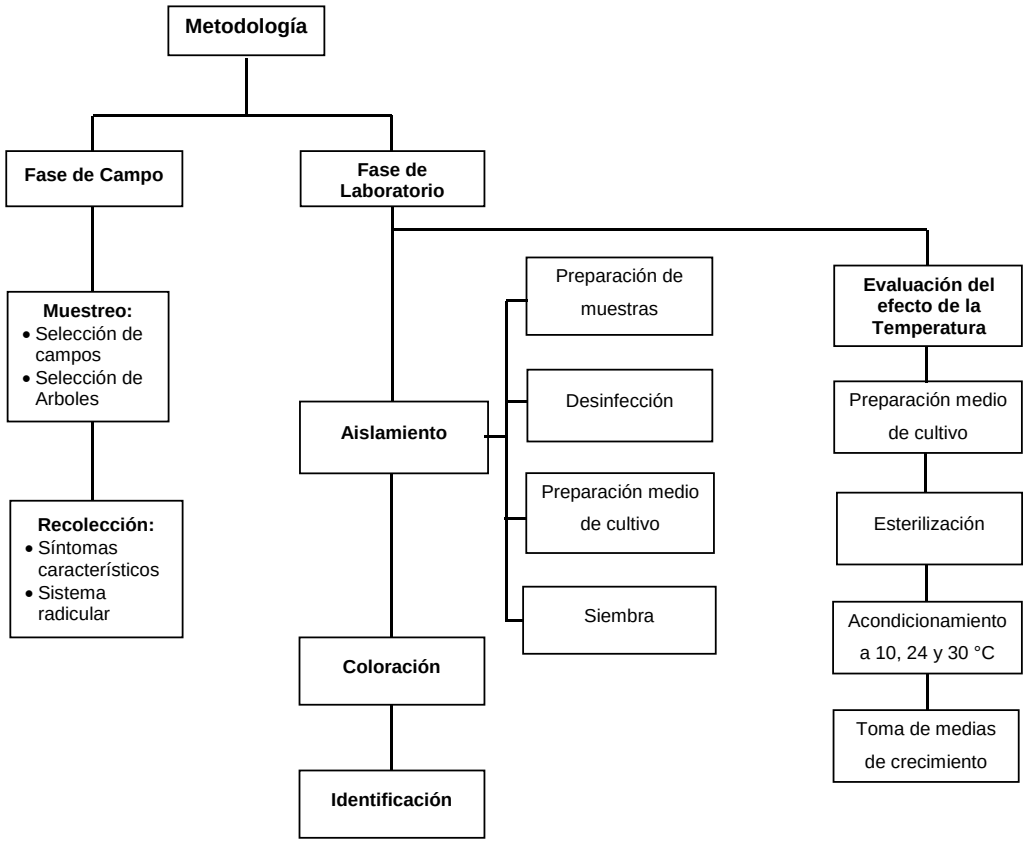


Figura 10. Diagrama de la metodología de estudio.

3.1.9 Fase de campo

A. Zonas de Muestreo

Se seleccionaron cinco campos de cultivos de palto ubicados en el distrito de Moquegua, pertenecientes a la provincia de Mariscal Nieto, departamento de Moquegua. Estos campos están ubicados en los sectores agrícolas: Charsagua, el Rayo, Escapalaque, Siglo 21 y Asociación Cambrune (ver figura 1 del anexo 1,), en los que se seleccionaron árboles de palto variedad Hass y Fuerte en etapa de fructificación con síntomas característicos de la enfermedad de la tristeza del palto, caracterizados por marchitez generalizada, estancamiento del desarrollo de la planta, pérdida de vigor, color, brillo, amarillamiento y caída de las hojas, y en estados avanzados muerte de los árboles (ver figuras 2, 3 y 4 del anexo 1).

El método de muestreo utilizado fue un Muestreo por Cuotas, el cual es adecuado para este tipo de investigación, este es un método que se asienta generalmente sobre la base de un conocimiento de los individuos representativos o adecuados, de acuerdo a determinadas condiciones o características, según lo descrito por Rodríguez (1991).

B. Recolección de muestras

En cada campo, se seleccionaron plantas de palto variedad Hass y Fuerte en etapa de fructificación de 5 a 7 años de edad, con síntomas característicos de la enfermedad de la tristeza del palto tales como, marchitez generalizada, estancamiento del desarrollo de la planta, pérdida de vigor, color, brillo, amarillamiento de las hojas y en estados avanzados, muerte de los árboles, de estos paltos se extrajeron muestras del sistema radicular por triplicado, hasta una profundidad aproximada de 20 cm o hasta llegar a las raíces absorbentes. Las muestras se colocaron en envases plásticos herméticos, se codificaron, y se colocaron en una caja conservadora de temperatura con bolsas de hielo, las cuales fueron llevadas al laboratorio (ver figuras 8 y 9 del anexo 1) para su análisis posterior Georgi (1993) y Fierro (2011).

3.1.10 Fase de laboratorio

A. Aislamiento

- **Preparación de Agar patata Dextrosa Acidificado (PDA)**

Para la preparación se agregó 39 g/L de agar patata dextrosa en polvo en agua destilada, para acidificar el medio de cultivo se agregó ácido tartárico a razón de 0.25 gramos por litro, el medio se esterilizó en autoclave a 121 ºC y 15 libras de presión por 20 minutos; luego de la esterilización del medio de cultivo, se llevó a la cámara de siembra

previamente desinfectada con alcohol etílico al 96° y en presencia de 3 lámparas de alcohol encendidas para mantener la inocuidad (ver figura 1 del Anexo 2), a una temperatura de 50 °C se colocó el medio de cultivo en placas de Petri a razón de 20 ml por placa, se dejó enfriar y se guardó en refrigeración a 10 °C por tres días para verificar la no contaminación del medio.

- **Preparación de las muestra radiculares y siembra en medio de cultivo PDA**

Las muestras de raíces colectadas fueron lavadas con agua destilada estéril y se cortaron a 5 cm de longitud, luego estas se sometieron a desinfección superficial con etanol (70%) por 30 segundos, seguido de un lavado en agua destilada estéril por 30 segundos, después se sumergieron en hipoclorito de sodio (3%) por 30 segundos y por último se lavaron con agua destilada estéril por 30 segundos y se colocaron en un vaso de precipitados esterilizado; sobre una placa Petri esterilizada y con ayuda de una pinza y bisturí esterilizados las muestras radiculares desinfestadas se cortaron en trozos pequeños de 1 cm y se sembraron en el agar patata dextrosa acidificado contenido en las placas Petri, insertándolos en a un ángulo de 60°, verificando que haya un buen contacto entre el trozo de raíz y el medio de cultivo, a las placas Petri sembradas se les coloco cinta adhesiva alrededor de la unión de las dos tapas, se rotularon y se incubaron a 28ºC por 12 días, con un fotoperiodo

de 12 horas de luz y 12 de oscuridad (Madigan et al*.,* 2004 y Hardham, 2005).

B. Coloración

Se utilizaron los colorantes vegetales rojo allura Nº 40 y azul brillante Nº 1 (ver figura 6 del anexo 2), para cada colorante se preparó una solución compuesta de: colorante vegetal (1 mL), ácido acético (10 mL) el cual se usó como mordiente y glicerina (15 mL) usada como humectante, mezclados en 75 mL de agua destilada esterilizada; de las colonias aisladas con ayuda del bisturí se cortó parte del micelio superficial en forma cuadrada de un tamaño de 0.5 cm de lado, se puso sobre el porta objetos y se colocó una gota de los colorantes vegetales rojo allura Nº 40 y azul brillante Nº 1, se colocó el cubreobjetos, se aplicó el aceite de inmersión y se colocó en el microscopio óptico compuesto (CMI, 1985; Dhingra y Sinclair, 1986)

C. Identificación y caracterización morfológica

Para la identificación del patógeno, se observó las estructuras fúngicas con alta nitidez y contraste por medio de microscopio óptico compuesto, con el objetivo 100 X, las estructuras fúngicas se identificaron siguiendo las claves descritas por Erwin & Ribeiro (1996) (ver Anexo 4).

Para la Caracterización morfológica se observó las principales estructuras que forma el hongo entre las que tenemos: las características de la estructura básica como es el micelio, las estructuras de reproducción entre las que se observó el tipo y forma del esporangio, el esporangióforo, la posición del anteridio respecto al Oogonio y las características de las estructuras de supervivencia que son las clamidosporas (Boccas y Laville, 1976; Erwin y Ribeiro, 1996; Sánchez et al. 2004)

El la figura 11 se puede apreciar las principales estructuras fúngicas así como el ciclo reproductivo del género *Phytophthora*

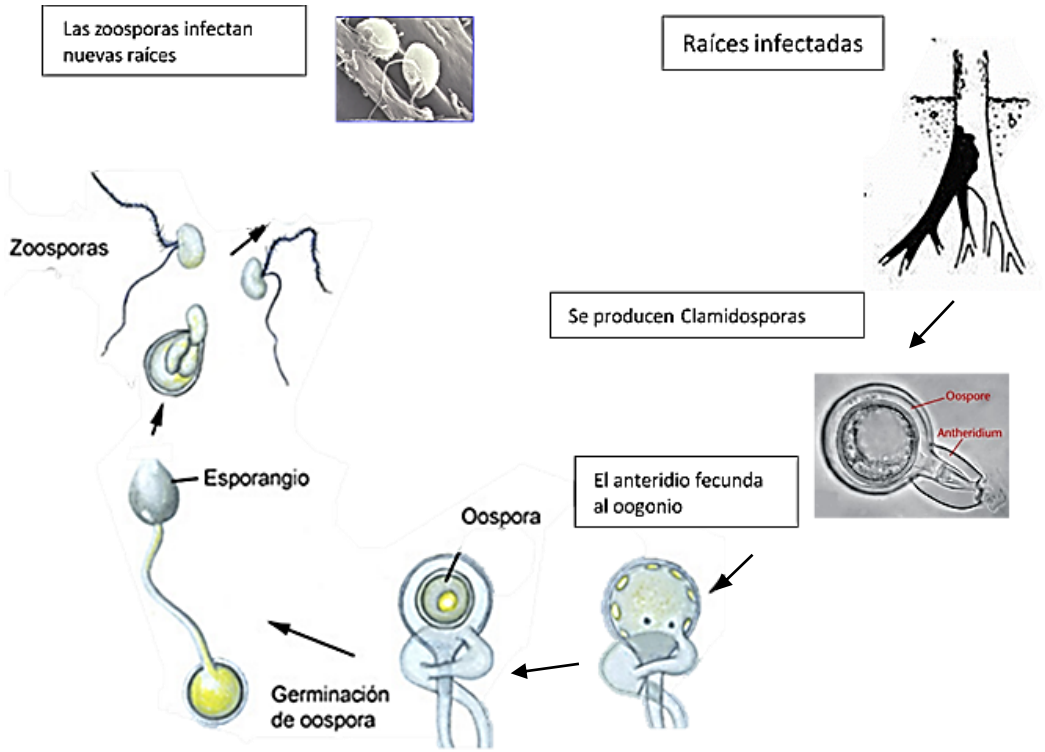


Figura 11. Principales estructuras morfológicas y ciclo reproductivo del género *Phytophthora.*

3.1.11 Evaluación de crecimiento de *Phytophthora cinnamomi* Rands a tres temperaturas (10, 24 y 30 ºC)

De las colonias obtenidas en el procedimiento de aislamiento anterior se extrajeron partes del micelio obtenido para realizar la evaluación de crecimiento de *Phytophthora cinnamomi* Rands a tres

temperaturas (10, 24 y 30 ºC). Para lo cual se prepararon los medios de cultivo a base de Agar Patata Dextrosa (PDA) a razón de 39 gramos por litro, se acidifico con ácido tartárico a proporción de 0.25 gramos por litro, para una cantidad de 9 placas Petri de un contenido aproximado de 20 mL, se disolvió 7,8 gramos de PDA en 200 mL de agua destilada tibia en un matraz y se agito hasta quedar completamente disuelto, posteriormente se esterilizó en autoclave a 121 °C durante 20 minutos Transcurrido el tiempo se sacó del autoclave el matraz conteniendo el medio PDA y se vertió en las placas Petri dentro de la cámara de siembra, previamente desinfectada con alcohol etílico al 96° y en presencia de 3 lámparas de alcohol encendidas para mantener la inocuidad, a una temperatura de 50 °C se colocó el medio de cultivo en placas de Petri a razón de 20 ml por placa, se dejó enfriar y se guardó en refrigeración a 10 °C por tres días para verificar la no contaminación del medio, luego se cortaron con un bisturí discos del borde del micelio del hongo aislado anteriormente y se colocó en el borde de cada placa Petri conteniendo el PDA. Se selló cada placa con cinta adhesiva y se colocaron tres placas por cada temperatura, a 10 °C (congelador), 24 °C (incubadora) y 30 °C (incubadora) durante 10 días.

Cada día se tomaron medidas en milímetros del crecimiento radial de la colonia del hongo (*Phytophthora cinnamomi* Rands) observado en las placas Petri, mediante el uso un vernier, verificando y anotando el crecimiento diario de cada colonia (ver Anexo 5) para así poder establecer

la velocidad media de crecimiento de cada colonia en cada una de las temperaturas utilizadas (10, 24 y 30 ºC).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 Muestreo y Recolección

Se seleccionaron cinco campos de cultivos de palto en etapa de fructificación ubicados en el distrito de Moquegua, pertenecientes a la provincia de Mariscal Nieto, departamento de Moquegua. Estos campos están ubicados en los sectores agrícolas: El Rayo, Charsagua, Escapalaque, Siglo 21 y Asociación Cambrune, en los que se seleccionaron plantones de palto variedad Hass y Fuerte en etapa de fructificación con síntomas característicos de ataque de *Phytophthora cinnamomi* Rands (ver Tabla 9).

Tabla 9

Características de los sitos de muestreo de la provincia de Mariscal Nieto

Sector	Coordenadas	Altitud (m s.n.m.)
Charsagua	17° 59´49.1" S 70° 58´09"	1431
Escapalaque	17° 57´30" S 70° 55´59,39”	1438
El rayo	17° 10´55.33" S 55´32.09"	1430
Siglo 21	17°13´37.87"S70°55´27.82"	1472
Asoc. Cambrune	17°14´07.67"S70°55´46.50"	1480

En cuanto a las temperaturas de las zonas de muestreo según el SENAMHI (2017) estas oscilaron entre un rango mínimo de 9.6 °C y un máximo de 27.3 °C, así mismo el tipo de suelo es franco arcilloso, este tipo de suelo se caracteriza por retener bastante humedad, impidiendo la aireación de las raíces por consiguiente provocando la pudrición de las mismas; este tipo de condiciones crea un ambiente adecuado para el desarrollo óptimo de *Phytophthora cinnamomi* Rands agravando de esta manera su ataque al cultivo del palto, lo cual concuerda con lo mencionado por Boccas y Laville, (1976), Coffey (1991), Grant y Byrt, (1984) y Mora *et al.* (1994).

4.2 La etapa de fructificación y el ataque de *Phytophthora cinnamomi* Rands

En cuanto a la etapa de fructificación se pudo apreciar que los árboles de palto afectados por el ataque de *Phytophthora cinnamomi* Rands presentaron caída de hojas, marchitez generalizada, poco cuajado y caída de frutos; los frutos que lograron cuajar presentaron menor calibre y deformaciones, así como manchas amarillas provocadas por el golpe de sol debido a la falta de área foliar (ver figuras 12, 13 y 14), lo cual concuerda con lo mencionado por Agrios (1985), Pérez (2008) y Tamayo (2007).

En la etapa de fructificación, en el periodo que va de la floración al cuajado del fruto, los agricultores limitan el uso de agroquímicos o abonos que controlen la enfermedad de la tristeza del palto ya que las flores y los frutos que están cuajando son muy sensibles a estos productos; además de esto la demanda de agua en la etapa de fructificación es mayor, por lo que se incrementa la frecuencia de riegos produciendo un incremento en la humedad del suelo, aunado a esto los tipos de suelos de los sectores agrícolas muestreados fueron de tipo arcilloso y franco arcilloso (retienen mayor cantidad de humedad) estas condiciones favorecen la reproducción de *Phytophthora cinnamomi* Rands, por lo que en esta etapa el ataque de este hongo se incrementa, lo cual concuerda con lo mencionado por

Duniway, (1983); Grove y Boal, (1991); Stolzy et al. (1967) y (Anacafé, 2004).



Figura 12. Deformaciones y menor calibre en frutos de paltos en etapa de fructificación enfermos.



Figura 13. Manchas en frutos por efecto del sol debido a la disminución del área foliar de paltos enfermos en etapa de fructificación.



Figura 14. Caída de frutos y hojas en paltos enfermos en etapa de fructificación.

4.3 Tipos de suelo encontrados en las Sectores Agrícolas de donde se obtuvieron las muestras radiculares.

Los tipos de suelo encontrados en los sectores agrícolas de donde se obtuvieron las muestras radiculares se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 10

Tipos de suelo encontrados en los sectores agrícolas seleccionados

Sector Agrícola	Tipo de Suelo
Charsagua	Arcilloso
El rayo	Arcilloso
Escapalaque	franco arcilloso

Siglo 21	Arcilloso
Asoc. Cambrune	franco arcilloso

4.4 Identificación de *Phytophthora cinnamomi* Rands de los cultivos de palto variedad Hass y Fuerte en etapa de fructificación en el distrito de Moquegua.

4.3.1 Número de aislamientos por variedad de palta

El número de aislamientos obtenidos del sistema radicular del palto según la variedad se puede apreciar en la siguiente tabla:

Tabla 11

Aislamientos con presencia de Phytophthora cinnamomi Rands

Sector	**Cantidad de aislamientos por variedad de palta**		**N° de aislamientos**
	Variedad Hass	Variedad Fuerte	
Charsagua	6	4	10
El rayo	2	8	10
Escapalaque	0	10	10
Siglo 21	10	0	10
Asoc. Cambrune	10	0	10
total			50

4.3.2 Número de aislamientos con presencia de *Phytophthora cinnamomi* Rands en palto variedad Hass y Fuerte.

El número de aislamientos con presencia de *Phytophthora cinnamomi* Rands según la variedad de palta se puede apreciar en la siguiente tabla:

Tabla 12

Aislamientos con presencia de Phytophthora cinnamomi Rands según variedad de palta

Sector	**Presencia de *Phytophthora cinnamomi* Rands**					
	SI		**Total**	**NO**		**Total**
	Variedad Hass	Variedad Fuerte		Variedad Hass	Variedad Fuerte	
Charsagua	6	3	9	0	1	1
El rayo	1	7	8	1	1	2
Escapalaque	0	10	10	0	0	0
Siglo 21	8	0	8	2	0	2
Asoc. Cambrune	10	0	10	0	0	0
			45			5

En cuanto a las variedades de palta Hass y Fuerte, el hongo *Phytophthora cinnamomi* Rands se presentó en el sistema radicular de las dos variedades (89.3% Hass y 90.9 % Fuerte), por lo que se puede afirmar que las dos variedades son susceptibles al ataque de este

patógeno; lo cual concuerda con lo mencionado por Cadenas (2007) y Andraca (1997). El detalle de lo anterior se puede apreciar en los gráficos de las figuras 15 y 16.

En cuanto a los 5 aislamientos que no tuvieron presencia de *Phytophthora cinnamomi* Rands, cabe mencionar que en dos de ellos se verificó la presencia del hongo *Trichoderma harzianum* (colonia de color verde) el cual es un antagonista del patógeno, en los otros dos no se desarrolló ninguna colonia y en uno se desarrolló otro tipo de hongo cuyas características concuerdan con el hongo *Aspergillus* (colonia de color negro).

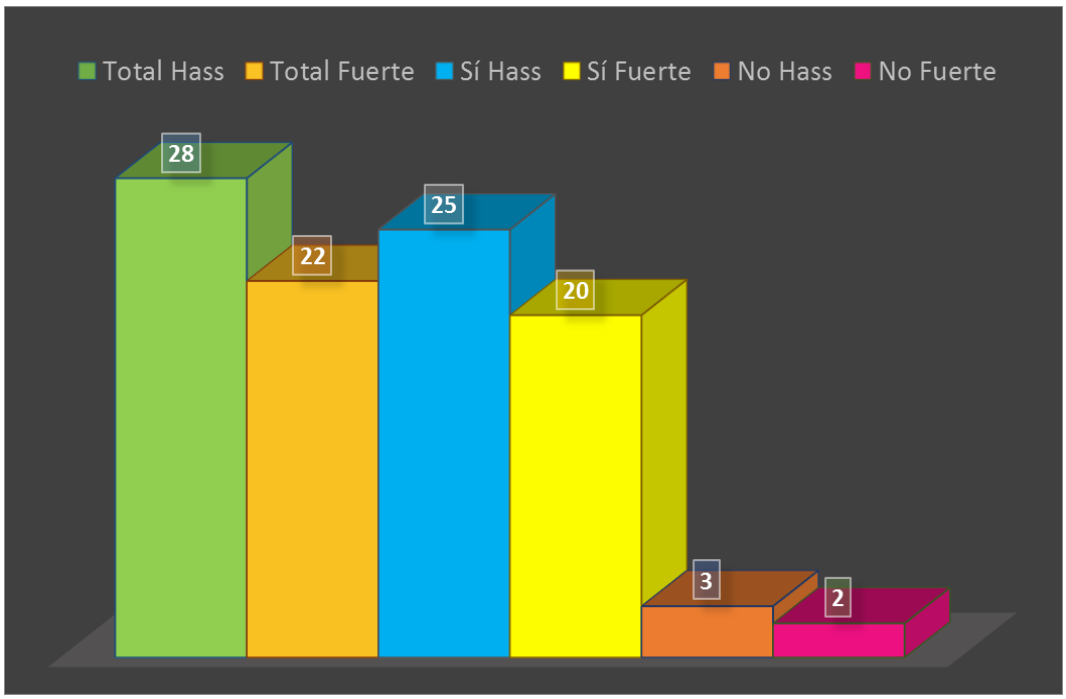


Figura 15. Gráfico de barras donde se muestra la cantidad total de aislamientos por cada variedad comparados con los que tuvieron y no tuvieron presencia de *Phytophthora cinnamomi* Rands.

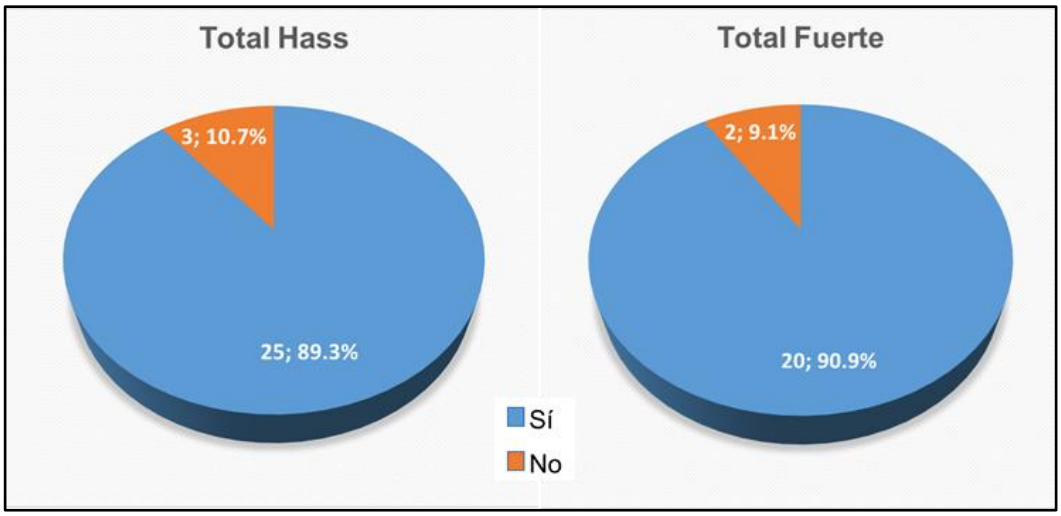


Figura 16. Gráficos circulares indicando la cantidad y el porcentaje de aislamientos con presencia (celeste) y sin presencia (anaranjado) de *Phytophthora cinnamomi* Rands por cada variedad.

4.3.3 Caracterización Morfológica de los aislados

A. Características Morfológicas Macroscópicas

Las colonias de todos los aislamientos con presencia de *Phytophthora cinnamomi* Rands tuvieron las siguientes características morfológicas macroscópicas: formaciones miceliares con camelia abierta, camelia en picos, abundante micelio aéreo algodonoso de color blanco, arrosetadas, parcialmente anillado y con crecimiento ligeramente petaloide (ver figura 17). En cuanto a la morfología de las colonias las características halladas concuerdan a las descritas por Lara et al. (2007), Aragón et al. (2007) y Sánchez et al. (2004), quienes caracterizaron

morfológicamente las colonias de *Phytophthora cinnamomi*, ver figuras: 7, 8 y 9a. (Páginas 55, 56, 57).



Figura 17. Morfología de las colonias de *Phytophthora cinnamomi* en medio Agar Patata Dextrosa (PDA).

B. Características Morfológicas Microscópicas

En los aislamientos con presencia de *Phytophthora cinnamomi* Rands, entre las principales características morfológicas microscópicas de las estructuras, tenemos:

El micelio formado por hifas a manera de filamentos tubulares y con hinchazones hifales, estas fueron en su mayoría esféricas, intercalares y en racimos (ver figura 19).

Las estructuras reproductivas se caracterizaron por ser heterotálicas es decir apareamiento de dos talos con signo sexual diferente (anteridio y oogonio), con anteridio anfígeno (rodea la base del

oogonio) respecto al oogonio (ver Figura 18) y oósporas pleróticas. Además, los esporangios en posición terminal en el esporangióforo, no papilados de forma elipsoide y conteniendo a las zoosporas (ver figura 19).

En cuanto a las estructuras de resistencia se observó clamidosporas terminales y dando lugar a tubos germinativos o hifas que forman al micelio (ver figura 20).

Estas características concuerdan con lo mencionado por Fierro (2011) ver figuras: 1, 2 y 4 (Páginas 33, 34, 38); y con las descripciones de Erwin y Ribeiro (1996) ver Anexo 4.



Figura 18. Imagen obtenida con el microscopio donde se aprecia la Oóspora y el Oogonio con anteridio anfígeno, característico de *Phytophthora cinnamomi* Rands.

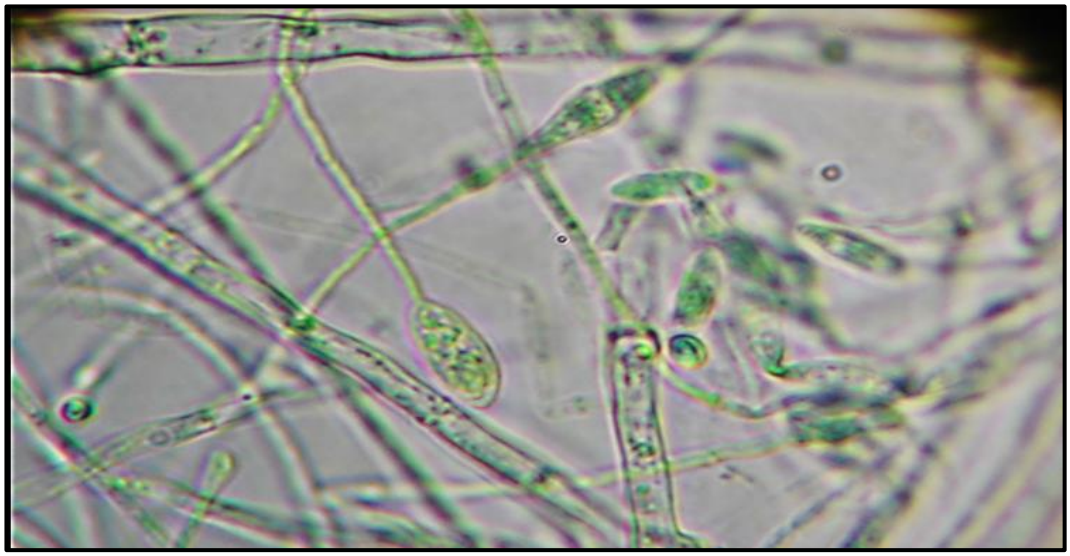


Figura 19. Imagen obtenida con el microscopio donde se aprecia el esporangióforo, el esporangio elipsoide con presencia de zoosporas y no papilado característico de *Phytophthora cinnamomi* Rands.



Figura 20. Imagen obtenida con el microscopio donde se aprecia las clamidosporas terminales y dando lugar a tubos germinativos, característico de *Phytophthora cinnamomi* Rands.

4.3.4 Efecto de la temperatura en el crecimiento de las colonias del hongo *Phytophthora cinnamomi* Rands.

En cuanto al efecto de la temperatura sobre el crecimiento de la colonia del hongo *Phytophthora cinnamomi* Rands luego de los diez días de evaluación (ver tablas del anexo 5) se verificó que a 30 °C el crecimiento de la colonia del hongo fue mayor respecto a la temperatura de 24 °C, y el menor crecimiento de la colonia del hongo se registró a 10 °C, el crecimiento promedio se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 13

Crecimiento promedio de la colonia del hongo Phytophthora cinnamomi Rands

Crecimiento promedio(mm) en 10 días					
Muestras	**10 °C**	**Muestras**	**24 °C**	**Muestras**	**30 °C**
A 1	2.64	**A 2**	7.06	**A 3**	9.62
B 1	2.70	**B 2**	7.17	**B 3**	9.76
C 1	2.68	**C 2**	7.03	**C 3**	9.79
Media	**2.67**		**7.09**		**9.72**

Los datos hallados concuerdan con lo mencionado por Zentmyer (1985) y Grant y Byrt (1984) quienes observan que la colonización y avance del patógeno en la raíz, siempre es dependiente de la temperatura

de la raíz y que a 28°C el hongo se dispersa abundantemente por todo el sistema radical. Así mismo, Hardham et al. (1991) mencionan que los esporangios se producen a temperaturas de 12 a 30°C. Por otro lado (Boccas y Laville (1976) indican que el margen de temperatura en el cual está comprendido el desarrollo del micelio de *Phytophthora cinnamomi* Rands va desde 5 ºC de temperatura mínima hasta los 34 ºC como máxima temperatura de crecimiento activo, situándose entre los 24 – 28 ºC la temperatura óptima para la mayoría de las especies.

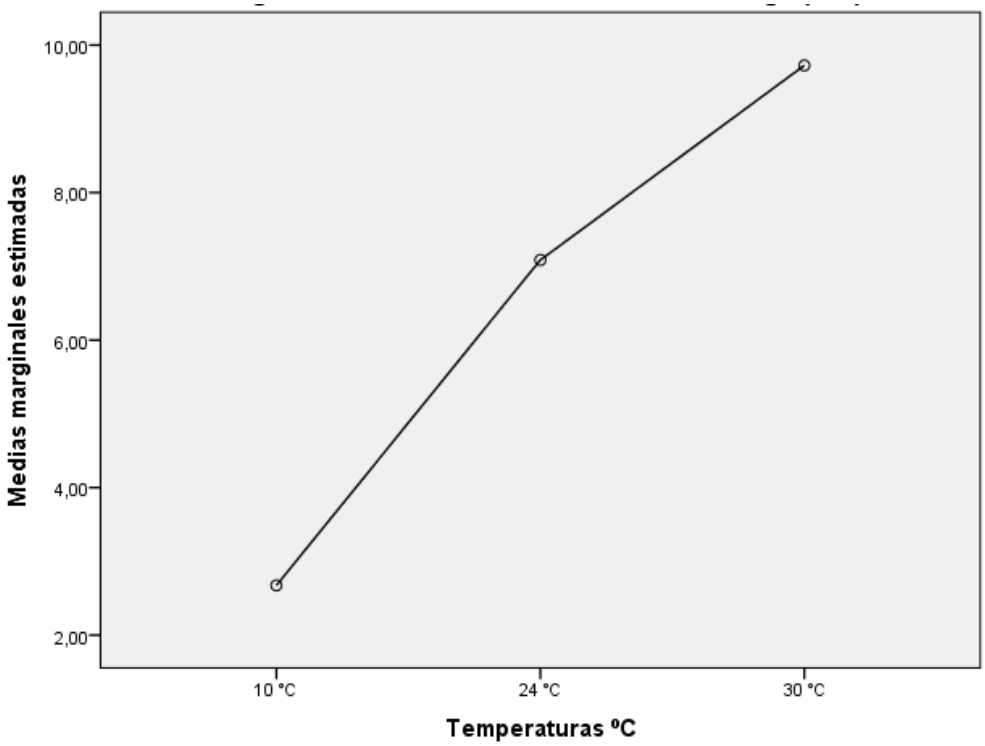


Figura 21. Medidas marginales estimadas de crecimiento (mm) del hongo *Phytophthora cinnamomi* Rands a 10 °C, 24 °C y 30 °C.

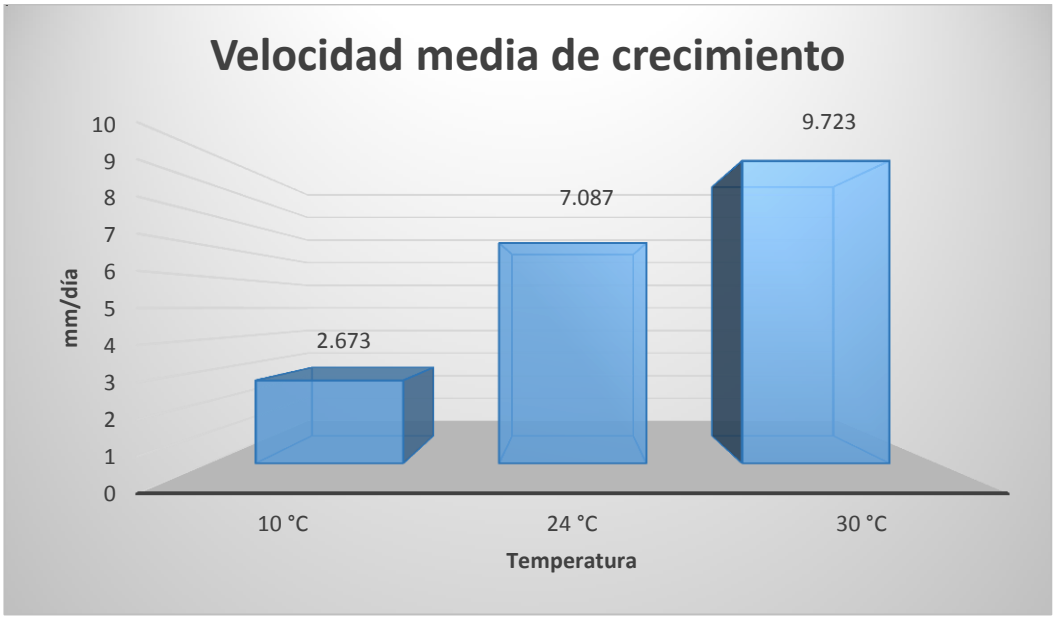


Figura 22. Gráfico de barras de la velocidad crecimiento de la colonia del hongo *Phytophthora cinnamomi* Rands.

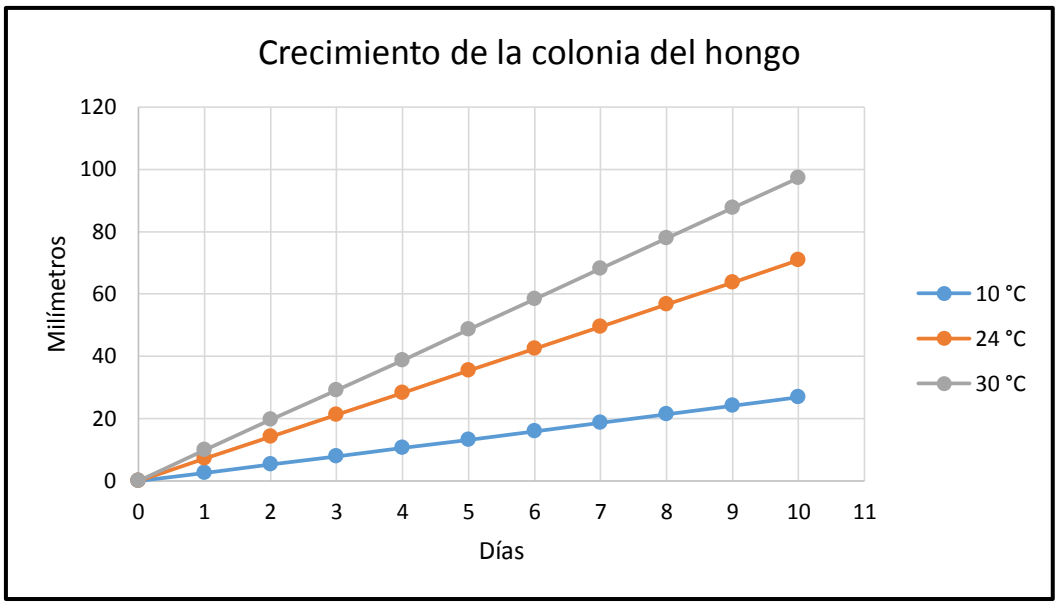


Figura 23. Crecimiento de la colonia del hongo *Phytophthora cinnamomi* Rands a 10 °C, 24 °C y 30 °C durante 10 días.

En cuanto a la evaluación de la influencia de la temperatura en el crecimiento de *Phytophthora cinnamomi* Rands, las colonias del hongo se activaron de forma distinta ya que a 10 °C la colonia tuvo una activación más lenta (2.6 mm en promedio, ver Anexo 5 página 125) respecto a las temperaturas de 24 °C y 30 °C (7.2 mm y 9.8 mm en promedio respectivamente, ver Anexo 5), que tuvieron una activación más rápida, al día siguiente de la siembra se las pudo apreciar a simple vista. Además la formación del micelio a 10 °C fue más reducido y con menor presencia algodonosa y menor coloración blanquecina respecto a las temperaturas de 24 ° C y 30 °C.

Cabe mencionar que para realizar las pruebas de la influencia de la temperatura sobre *Phytophthora cinnamomi* Rands, las partes de micelio utilizadas, se cogieron de los aislamientos realizados anteriormente, ya que todos los aislamientos presentaron las mismas características morfológicas macroscópicas.

4.5 Contrastación de hipótesis

4.4.1 Formulación de hipótesis sobre la presencia del patógeno en paltos con síntomas característicos de la enfermedad de la tristeza del palto:

$\boldsymbol{H_0}$: La presencia de *Phytophthora cinnamomi* Rands en paltos variedad Hass y Fuerte en etapa de fructificación con síntomas característicos de la enfermedad de la tristeza del palto variedad Hass y Fuerte en el distrito de Moquegua es menor del 80%.

$\boldsymbol{H_a}$: La presencia de *Phytophthora cinnamomi* Rands en paltos variedad Hass y Fuerte en etapa de fructificación con síntomas característicos de la enfermedad de la tristeza del palto variedad Hass y Fuerte en el distrito de Moquegua es mayor al 80%.

A. Estadístico de prueba

El estadístico utilizado es la prueba de hipótesis de una proporción.

B. Decisión estadística

Como valor del nivel de significancia = 0.024 es menor a 0.05 (ver tabla 2 del Anexo 06), entonces se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna, por lo tanto concluimos que existen evidencias estadísticamente significativas para afirmar que la presencia de *Phytophthora cinnamomi* Rands es mayor al 80 % en los paltos variedad Hass y Fuerte en etapa de fructificación con síntomas característicos de la enfermedad de la tristeza de palto en el distrito de Moquegua.

4.4.2 Formulación de hipótesis sobre la influencia de la temperatura en el crecimiento de la colonia del patógeno:

$\boldsymbol{H_0}$: Las temperaturas (10 °C, 24 °C y 30 °C) no influyen sobre el crecimiento del hongo (*Phytophthora cinnamomi* Rands) aislado de cultivos de palto variedad Hass y Fuerte en etapa de fructificación en el distrito de Moquegua.

$\boldsymbol{H_a}$: Las temperaturas (10 °C, 24 °C y 30 °C) influyen sobre el crecimiento del hongo (*Phytophthora cinnamomi* Rands) aislado de cultivos de palto variedad Hass y Fuerte en etapa de fructificación en el distrito de Moquegua.

A. Estadístico de prueba

Para la prueba de hipótesis se utilizó un ANOVA con un diseño en bloques completos al azar (DBCA)

B. Decisión estadística

Como el nivel de significancia = 0.00, es menor a 0.05 (ver tabla 4 del Anexo 06); entonces se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna, por lo tanto concluimos que existen evidencias estadísticamente significativas para afirmar que la temperatura influye sobre el crecimiento del hongo *Phytophthora cinnamomi* Rands en paltos variedad Hass y Fuerte en etapa de fructificación en el distrito de Moquegua.

CONCLUSIONES

- En más del 89 % de los aislamientos del sistema radicular del palto de la variedad Hass y Fuerte en etapa de fructificación, se confirmó la presencia de *Phytophthora cinnamomi* Rands como causante de la enfermedad de la tristeza del palto en el distrito de Moquegua.

- De los aislamientos del sistema radicular de la variedad Hass y Fuerte, el 89.3% y el 90.9% respectivamente, confirmaron la presencia del hongo *Phytophthora cinnamomi* Rands, por lo que se afirma que las dos variedades son susceptibles al ataque de este patógeno.

- La caracterización morfológica de las estructuras del patógeno aislado confirma que estas pertenecen a la especie *Phytophthora cinnamomi* Rands, dentro de las principales características tenemos: desarrollo de colonias blancas, con aspecto cameloide y parcialmente anillado; sistema de reproducción heterotálico y con anteridio anfígeno, las oósporas pleróticas, los esporangios en posición terminal en el esporangióforo y no papilados.

- En cuanto a la evaluación del efecto de la temperatura (10 °C, 24 °C y 30 °C), se demostró que esta sí influye en el crecimiento del micelio del hongo *Phytophthora cinnamomi* Rands, ya que a 30 °C

el crecimiento fue mayor (9,723 mm/día) que a 24 °C (7,087 mm/día) y a 10°C (2,673mm/día) respectivamente.

RECOMENDACIONES

- Realizar el envío de muestras aisladas para su caracterización molecular en un laboratorio especializado.

- Utilizar la información obtenida para realizar trabajos de investigación acerca de la implementación de medios de control biológico (microorganismos benéficos al cultivo de palto y antagonistas de *Phytophthora cinnamomi* Rands), como parte de una producción más orgánica y de esta manera mejorar la productividad, rentabilidad del cultivo del palto así como mejorar la calidad organoléptica de los frutos.

- Realizar técnicas en el manejo de cultivo como son: sistemas de drenaje, análisis de suelos, incorporación de materia orgánica, yeso agrícola, ácidos húmicos, entre otros; orientadas a mitigar el desarrollo y proliferación de este patógeno.

- Aplicar los agroquímicos que son específicos para el control de *Phytophthora cinnamomi* Rands, realizando un uso eficiente de ellos.

- Trabajar en una Cámara de flujo Laminar para evitar toda contaminación durante el proceso de aislamiento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agrios, G. (1985). *Fitopatología*. México, editorial Limusa.

Aguirre S., Martínez M., Vargas M., Lara M., Ávila T., Gutiérrez M. y Venegas E., (2015). *Monitoreo de trips en aguacate 'Hass' en el Municipio de Ziracuaretiro Michoacán*. México.

Anacafé. (2004). *Cultivo de Aguacate*. Programa de Diversificación de Ingresos en la Empresa Cafetalera.

Andraca. F. (1997). *Etiología y Control de la Tristeza del Palto causada por Phytophthora cinnamomi*. Agronomía e Ingeniería Forestal. Chile.

Ataucusi, S. (2015). *Manejo técnico del cultivo de palta.* Programa PRA Buenaventura. CSE Arequipa.

Aragón, L., Hurtado O., Torres F., Figueroa C. y Lamour K. (2007). *La pudrición radicular del níspero ocasionada por Phytophthora.* Anales científicos, UNALM. Perú.

Arias, F. (2006). *El proyecto de investigación: Introducción a la metodología científica*. (5º. ed.) Caracas – Venezuela.

Barnett H. y HUNTER B. (1972). *Géneros ilustrados de hongos imperfectos*. Tercera edición. Editorial Burgess. Minnesota E.U.

Bartnicki-Garcia, S. y Wang, M. (1983). *Aspectos bioquímicos y morfogénesis en Phytophthora*: Minnesota.

Bazán De Segura, C. (1967). *La chupadera de los pinos en almácigos peruanos*. Revista Forestal del Perú.

Benson, D. (1987). Caso de *Phytophthora cinnamomi* en la pudrición de la raíz de una azalea tratados con preinoculación y posinoculación de metalaxil.

Bernal, A. y Díaz, C. (2008). *Tecnología para el cultivo del Aguacate*. Manual técnico 5. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA, Centro de Investigación La Selva, Rio Negro, Colombia.

Boccas, B., y Laville, E. (1976). *Enfermedades de Phytophthora en cítricos.* IRFA. Francia. Ediciones SETCO.

Boskou (1998), *Temperatura de fritura y constituyentes menores de aceites y grasas*.

Casilla 4-D, Quillota, Chile.Boccas, B., Y Laville, E. (1976). *Enfermedades de Phytophthora.*IRFA. Francia. Ediciones SETCO.

Cadenas C. (2007) *Fitopatógenos que afectan palta Hass y Fuerte en Luricocha y Huanta.* UNALM. Perú.

CMI (Instituto de Micología) (1985). *Manual para patólogos vegetales*. Agencias Agrícolas de Riqueza Común. Londres.

Coffey, M. (1991). *Causa y diagnóstico de raíz en la podredumbre de aguacate*. California.

Coffey, M. (1991). *Estrategias para el control integrado de las especies de Phytophthora transmitidas por el suelo*. Cambridge Univ. Press. Cambridge.

Cook R. y Baker K., (1983), *El tipo y la práctica del control biológico de patógenos*, Sociedad Fitopatológica Americana, St. Paul, Min.

Cowan, A., Moore-Cordon, C., Bertling I. y Wolstenholme, B. (1997). *Control metabólico del crecimiento de frutos de aguacate*. Fisiología de plantas.

Dhingra, O. y Sinclair J. (1986). *Métodos Básicos de Patología Vegetal*. C.R.C. Press. Boca Ratón. Florida.

DIRCETUR (Direccion Regional de Comercio Exterior y Turismo) Moquegua, (2012) *Cultivo del Palto*.

DRAM (Dirección Regional Agraria de Moquegua), (2013). *Anuario Estadístico Agropecuario de la región Moquegua*, Cultivo de palto.

DRAM (Dirección Regional Agraria de Moquegua), (2014), *Anuario Estadístico Agropecuario Moquegua* 2014.

Duniway, J. (1983). *Papel de los factores físicos en el desarrollo de las enfermedades de Phytophthora*. Páginas 175-187 Phytophthora: Biología, taxonomía, ecología y patología.

Erwin, D. y Ribeiro, O. (1996). *Enfermedades de Phytophthora en todo el mundo.* Minnesota. Editorial APS.

FAO, (1998). *Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación*.

Fierro, D. (2011). *Etiología y manejo de Phytophthora cinnamomi (Rands) en aguacate en Michoacan*, Fitopatología.

Gamalier, L., Ferreyra, R., Gil P., Maldonado, P., Toledo, C., Barrera, C., Celedón, J. (2005). *El Cultivo del Palto*. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Boletín INIA Nº 129. La Cruz, Chile.

(GEDES) (2016). Gerencia de Desarrollo Económico Social, de la Municipalidad Provincial Mariscal Nieto. Proyecto: *Mejoramiento del servicio de apoyo al desarrollo de la cadena productiva del palto variedad Hass de productores de la Provincia Mariscal Nieto Moquegua.*

Georgi, K. (1993). *Metodología para la evaluación de la incidencia y severidad de la enfermedad "Tristeza del palto" aislamiento, identificación y patogenicidad de cepas de Phytophthora asociadas*. Quillota Chile.

Gisi, U., Zentmyer, G. A y Klure, L. J. (1983). *Producción de esporangios por Phytophthora cinnamomi y P. palmivora en suelos con diferentes potenciales matriciales*. Fitopatología.

Gonzáles, M., Diamont, D. y Gutiérrez, B. (2011). *Técnica de tinción de estructuras fúngicas con colorantes vegetales como una alternativa no contaminante.* Bioagro 23.

Google Maps, (2017). *Mapa satelital del Distrito de Moquegua*. Recuperado de: https://www.google.com.pe/maps/place/Moquegua/@-17.202129,-70.9513552,9108m/data=!3m1!1e3!4m5!3m4!1s0x914343324a2675fd:0x34e97a7c393cf978!8m2!3d-16.895405!4d-70.8574902?hl=es

Grant, B. y Byrt P., (1984). *Efectos de la temperatura de la raíz en el crecimiento de Phytophthora cinnamomi en las raíces de Eucalyptus marginata y E. calophylla*. Phytophatology.

Grente, J. (1961). *La enfermedad de la tinta del castaño*. Anales Epífita.

Grove, G., y Boal. (1991*). Influencia de la temperatura y la duración de la humedad en la infección de frutos de manzana y pera inmaduros por Phytophthora cactorum*. Fitopatología.

Hakizimana, J.; Gryzenhout, M.; Coutinho, T. y Van Den Berg, N. (2011). *La diversidad endofítica en los árboles de aguacate (Persea Americana) y su capacidad para mostrar actividad de biocontrol contra Phytophthora cinnamomi. Actas del VII Congreso Mundial del Aguacate, Cairns.* Australia.

Hardham, A., Gubler, F., Duniec, J., y Elliott, J. (1991). *Una revisión de métodos para la producción y uso de anticuerpos monoclonales para el estudio de patógenos zoospóricos de plantas.*

Hardham, A. (2005). *Phytophthora cinnamomi*. Patología Molecular de Plantas.

Hernandez, M. Chavez, A. Y Bourges, H. 1979, *valor Nutritivo de los alimentos mexicanos*, Instituto nacional de la Nutrición, México, D.F., citado por Delgado- Rosas, A.C. y Valle-Vega, P, 1985.

Ho – Hing, H. (1990). *Phytophthora* en Taiwan*. Boletín botánico de la Academia Sinica*. Taiwan.

Ho, H. and Zentmyer, G. (1977). *Morfología de Phytophthora cinnamomi.* Micología*.*

Ho, H. (1992). *Clave para las especies de Phytophthora en Taiwán. Plant Pathol*. 1:104- 109. INIFAP. 1996. Programa nacional de investigación en aguacate. Documento de circulación interna. SAGAR. México.

Huaman, N., Valeriano, J., y Granados, E. (2015). *Aislamiento e Identificación de Phytophthora cinnamomi Rands*. Cienciagro, Perú.

Hulme, (1971), citado por Cornejo M., *Deshidratación de rebanadas de aguacate variedad Hass por el método OSMO-VAC (osmótico-vacío) y evaluación de la calidad del producto*, 2010, México.

Ibar, L. (1979*). El Aguacate*. En: Aguacate, chirimoyo, mango, papaya. Ed. Aedos. Barcelona, España.

INEI (2004) (Instituto Nacional de estadística e Informática) *Comportamiento de la Actividad Agropecuaria Regional Moquegua*.

INEI (2014), (Instituto Nacional de estadística e Informática) *Panorama Económico Departamental* – Informe Técnico N°11

INIA (2015) (Instituto Nacional de Innovación Agraria) *Proyectos de investigación en Palto.* Moquegua.

Latorre B. (1988*). Problemas atribuidos a Phytophthora en uva de mesa*.

Lara, H., Guillén, J., Vidales, M., Gutiérrez, J., López, M., E., Palomares A., y Chávez, T. (2007) *Caracterización de Aislados de Phytophthora cinnamomi Rands de la franja aguacatera de Michoacán*, México. Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”. Universidad

Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Paseo Lázaro Cárdenas s/n Uruapan, Michoacán, CP 60190. México.

Madigan, M., Martinko, J., Parker, J. (2004). Brock. *Biología de los microorganismos*. Decime edición revisada por Educación Pearson, S. A. Madrid, España.

Mansilla, J., Pintos, C. y Salinero, M. (1993). *Aislamiento e identificación en la provincia de Pontevedra de Phytophthora cinnamomi Rand*. Chile.

MINAGRI (2015). (Ministerio de Agricultura y Riego)*Anuario Estadístico de la Producción Agrícola y Ganadera* 2015.

MINAGRI (2016). (Ministerio de Agricultura y Riego)*Anuario Estadístico de la Producción Agrícola y Ganadera* 2016.

MINSA (2009). *Tablas Peruanas de Composición de Alimentos*. (Ed. 8ª). Lima.

Mora, A, Téliz D., Etchevers J., Huerta De La Parra A. (1994). *Manejo integrado de la tristeza del aguacate* (*Persea americana*): Validación de tecnología en Puebla, México. Revista Mexicana de Fitopatología.

Newett, S., Crane, J. y Balerdi, C. (2007). *Cultivares y portainjertos*. En: Whiley AW, Schaffer B, Wolstenholme BN (Eds.). El Palto. Botánica, Producción y Usos. Ediciones Universitarias de Valparaíso. Chile.

Nielsen, S., y Finkenzeller, M. (2009). *Análisis de los alimentos*. Zaragoza: Acribia.

Orús, L. (2014). *Estadística Descriptiva e Inferencial*. Esquemas de Teoría y Problemas Resueltos. Primera Edición.

Oudemans, P., y M. Coffey. (1991). *Comparación enzimática entre las fuentes mundiales de tres especies morfológicamente distintas de Phytophthora*. Micología.

Pérez, R. (2008). *Enfermedades Significativas del aguacate causadas por hongos y oomicetos*. La Revista Europea de Ciencia Vegetal y Biotecnología.

Pérez F., Martínez C., Sandoval C. y Valle P., (1993). *Descripción y control químico de las principales plagas y enfermedades que atacan al cultivo del aguacate en Uruapan*. Michoacán. Universidad de Guadalajara. México.

POP, (2012) *Plan Operativo de la Palta* – Región Moquegua.

Ramírez, J. (2013). *Incidencia, diagnóstico, comportamiento y alternativas de manejo de la marchitez del aguacate con énfasis en Phytophthora cinnamomi Rands*, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Ciencias Agronómicas, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.

Reyes, P. (2007). *Pruebas de Hipótesis de una Población*.

Ristaino, J., y Gumpertz, M. (2000). *Nuevas fronteras en el estudio de la dispersión y análisis espacial de epidemias causadas por especies del género Phytophthora.* Revisión Anual de Fitopatología.

Rodríguez, J., (1991). *Métodos de muestreo*. Madrid: CIS.

Rustom, J. (2012). *Estadística Descriptiva*, Probabilidad e Inferencia. Una Visión conceptual y Aplicada. Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile.

Salinas, A., (2004). *Métodos de Muestreo.* Universidad autónoma de nuevo León. Monterrey. México.

Sánchez, A., (2004). *Perfil de Mercado de la Palta* – Cajamarca.

Sánchez, M., Andicoberry S. y Trapero A. (2004). *Patogenicidad de Phytophthora* sp. *causantes de podredumbre radical de Quercus ilex ssp. ballota en viveros forestales*, Universidad de Córdoba. Apdo. 3048. 14080-Córdoba.

Santana, L., (2013). *Obtención de aceite de aguacate* (Persea americana Mill) con tres variedades: (P. a. Mill Hass) (P. a. Mill Santana) y (P. a. Mill Choquete), utilizando tres métodos de extracción.

SENAMHI, (2017). (Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología) *Reporte climático de Moquegua*. Tomado de: http://www.senamhi.gob.pe/?p=pronostico-detalle-turistico&localidad=0035

SENASA, (2012). (Servicio Nacional de sanidad Agraria). *Oficina de Sanidad Vegetal*. Moquegua

Smith, D.; Sims, B. (1993) *Evaluación técnica de equipos para pequeños Productores*. Silsoe Research Institute.

Stamps, D., Waterhouse, G., Newhook, F., and Hall, G. (1990). *Clave tabular revisada para las especies de Phytophthora*. Instituto de Micología. Inglaterra.

Tamayo P., (2007). *Enfermedades del aguacate*. Revista Politécnica.

Vidales, F. (1999). *Acción de la solarización y de la materia orgánica en el control de la tristeza (Phytophthora cinnamomi Rands), del aguacate* (*Persea americana* Mill *cv Hass*) Revista Chapingo.serie Horticultura.

Vidales F. (2002), *Efecto de factores físico químicos sobre la actividad microbiana de la rizosfera del aguacatero (Persea americana* Mill*) para el control de Phytophthora cinnamomi (Rands)*, Universidad de Colima, Apartado Postal No.36, C.P.28100, Tecomán, Colima, México.

Weste, G. (1994). *Impacto de las especies de Phytophthora en la vegetación nativa de Australia y Papua, Nueva Guinea.* Patología de Plantas. Australia.

Zamora, V. y Casín, J. (1986). *El género Phytophthora como causante de enfermedades en los cítricos*. Boletín de Reseñas. Cítriy otros Frutales.

Zentmyer, G. and Mircetich, S. (1966). *Saprofistismo y persistencia en suelo por Phytophthora cinnamomi.* Fitopatología.

Zentmyer, G. (1985). *Origen y distribución de Phytophthora cinnamomi* Anuarios de la Sociedad de Aguacates. California.

Zentmyer G. (1984). *Enfermedades del aguacate. Manejo de Plagas Tropicales*.

Zentmyer, G.; Paulus, A.; Burns, R., (1967): *La pudrición de raíz en Aguacate.* Estación Experimental agraria. California.

Zentmyer, G. (1980). *Phytophthora Cinnamomi y la enfermedad que causa.* Minnesota, Editorial APS.

ANEXOS

ANEXO 1

FASE DE CAMPO: Figura 1 MAPA DE LAS ZONAS DE MUESTREO



Fuente: Google Maps (2017)

FASE DE CAMPO

FIGURAS DE LA TOMA DE MUESTRAS

Figura 2: Sector el Rayo, árbol de palto con decaimiento por la enfermedad de la tristeza del palto



Figura 3: Sector de Charsagua, árbol de palto con perdida hojas por la enfermedad de la tristeza del palto



Figura 4: Sector de Escapalaque, árbol de palto con caída y amarillamiento de hojas así como pérdida de vigor



Figura 5: Árbol de palto sano (izquierda) derecha (árbol de palto enfermo)



Figura 6: Sector Asociación Cambrune, arboles de palto con amarillamiento de hojas



Figura 7: Plantación joven de paltos reducida por la tristeza del palto en el sector Escapalaque



Figura 8: Envase de plástico hermético conteniendo las muestras radiculares y parte de suelo



Figura 9: Caja conservadora de temperatura en donde se trasladó las muestras al laboratorio



ANEXO 2

FASE DE LABORATORIO

AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN

Figura 1: Disposición de Materiales



Figura 2: Lavado de Muestras Radiculares



Figura 3: Desinfección de Muestras Radiculares



Figura 4: Siembra de Muestras Radiculares



Figura 5: Periodo de incubación



Figura 6: Preparación de los Colorantes rojo allura N° 40 y azul brillante N° 1 para la Identificación



Figura 7: Corte de los Aislados Para la Identificación



Figura 8: Coloración de las Muestras

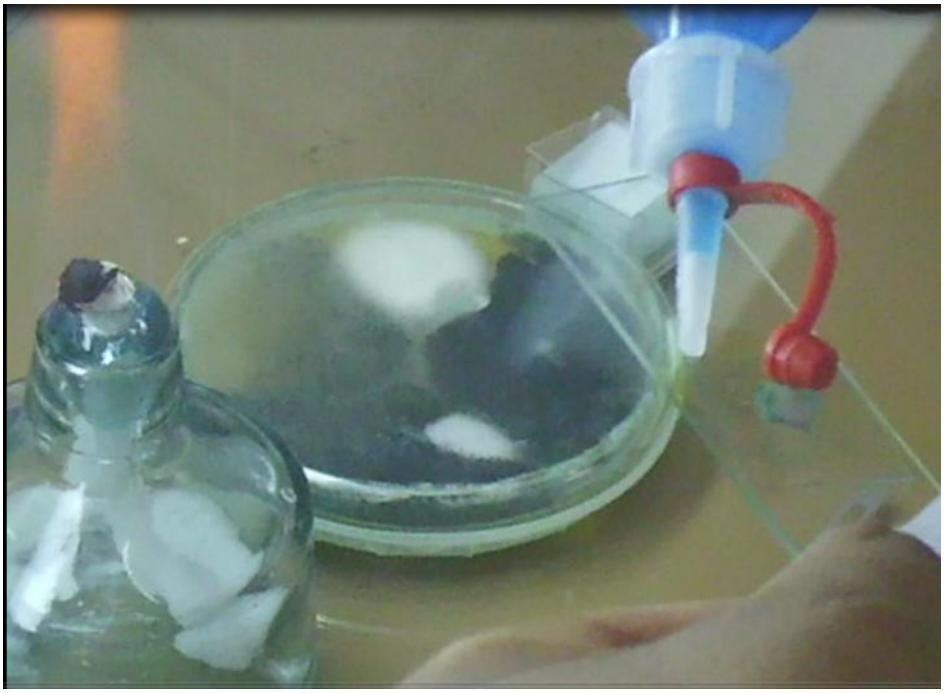


Figura 9: Microscopio óptico compuesto modelo Primo Star, marca Zeiss.



Figura 10: Computadora portátil Toshiba CORE i7; Cámara fotográfica BENQ ,16 Megapíxeles, Zoom 5X



Figura 11: Imagen obtenida por medio de microscopio donde se aprecia el esporangióforo con esporangios característicos de *Phytophthora cinnamomi* Rands

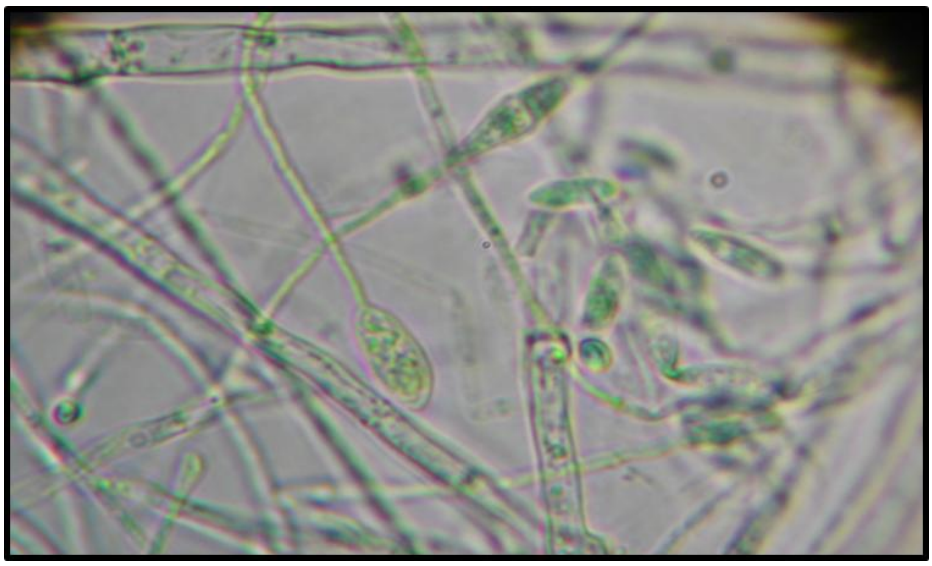
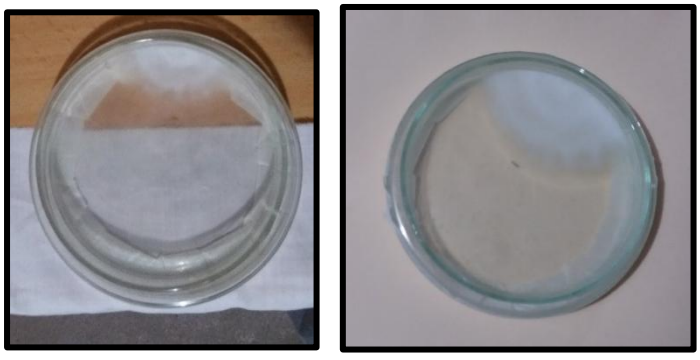
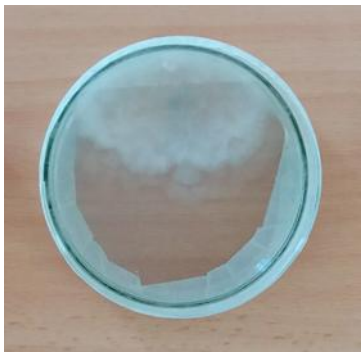


Figura 12: Imagen obtenida por medio de microscopio donde se aprecia la Oospora con el Oogonio y el anteridio anfígeno característico de *Phytophthora cinnamomi* Rands



Figura 13: desarrollo de las colonias







ANEXO 3

EFECTO DE LA TEMPERATURA EN EL CRECIMIENTO DEL HONGO

Figura 1: Preparación de los medios de cultivo

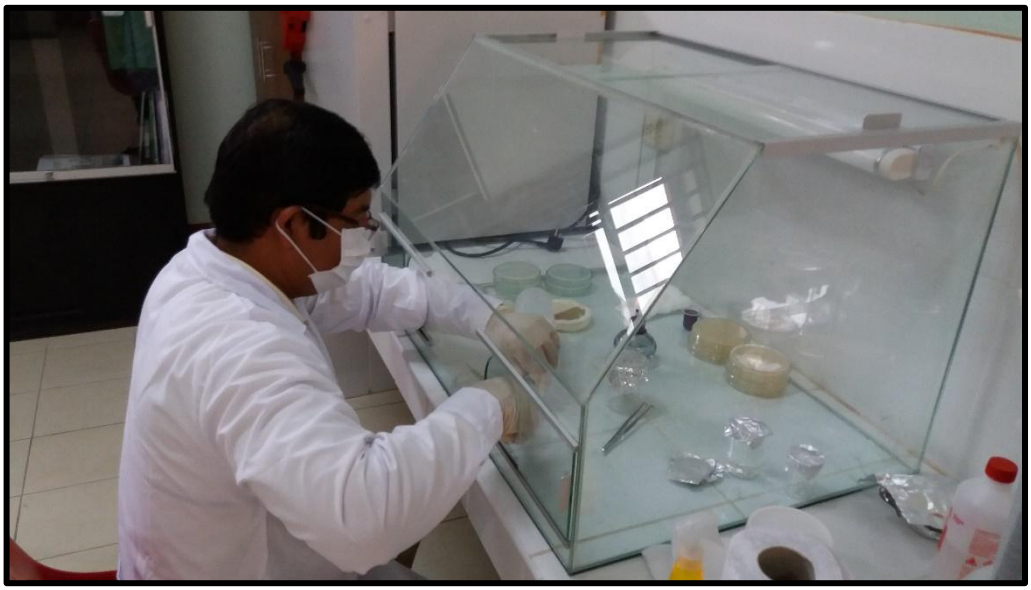


Figura 2: Siembra de las muestras radiculares

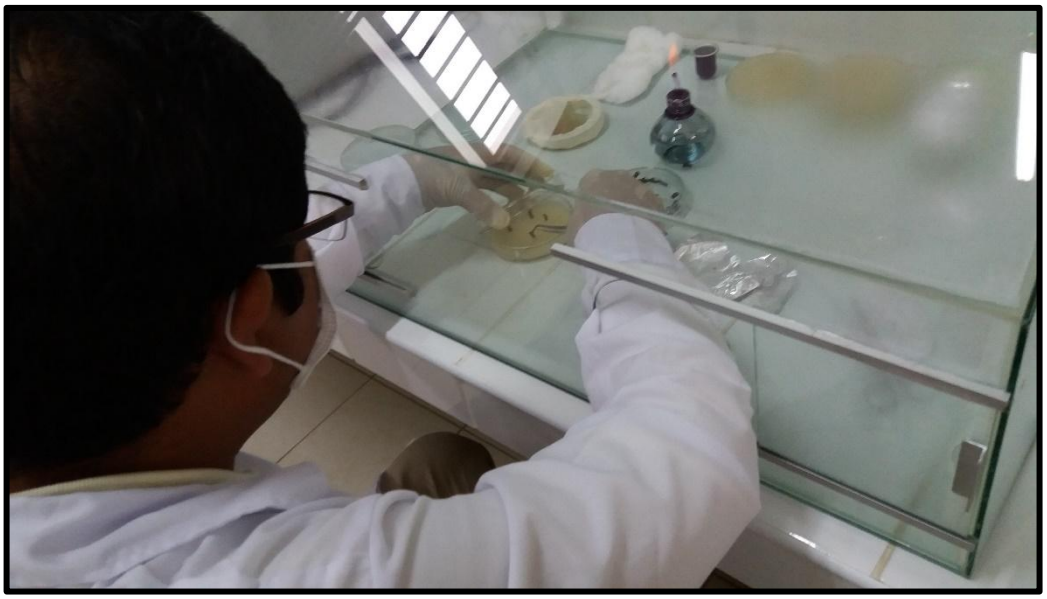


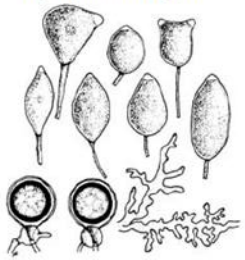
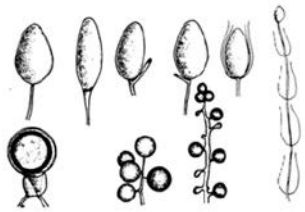
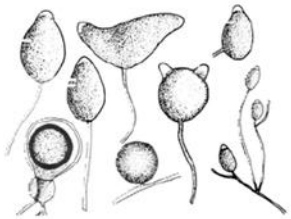
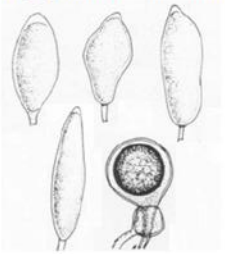
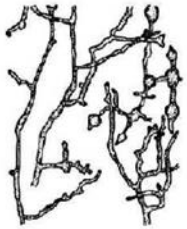
Figura 3: Toma de medidas del crecimiento de las colonias del hongo



ANEXO 4

Figura 1: Características morfológicas de algunas especies de Phytophthora (Erwin y Ribeiro, 1996)

Species	*Phytophthora capsici*	*Phytophthora cinnamomi*	*Phytophthora citrophthora*	*Phytophthora colocasiae*
Waterhouse Group	Group II	Group VI	Group II	Group IV
Mating system	Heterothallic	Heterothallic	Sexual reproduction rare	Heterothallic
Optimum growth temperature	28°C	24-28°C	24-28°C	27-30°C
Morphology				
Sporangia: Papillation	Papillate or semi-papillate (sometimes with 2 or 3 apices)	Non-papillate	Papillate	Semi-papillate. A conspicuous basal plug is seen where the sporangium meets the sporangiophore
Shape	Ovoid, obovoid, ellipsoid	Includes ovoid, obpyriform, ellipsoid. Tapered at the base.	Varies from spherical, ovoid, obpyriform, obturbinate to ellipsoidal	Includes ovoid, ellipsoid, and fusiform. Tapered base, sometimes with attachments
Attachment	Caducous with long pedicels	Non caducous. Borne terminally	Non-caducous. Usually terminal, sometimes lateral or intercalary	Caducous
Sporangiophores	Sporangiophores irregularly branched	Usually unbranched	Irregularly branched	Irregularly branched
Length:width ratio of sporangia	Varies from 1.3 to 2.1	>1.5	Varies from 1.2 to 2.0	1.6
Antheridia	Paragynous	Amphigynous	Sex organs not produced in nature	Amphigynous, sub-terminal
Oogonia	Globose	Globose, with smooth, thin walls	Globose	Globose
Oospores	Spherical to subspherical 15-40 µm	Round, thin walled 19-54 µm	Produced only rarely in culture	18-30 µm
Chlamydospores	Produced abundantly by isolates from cacao, black pepper, macadamia	Produced abundantly in culture, globose, thin-walled. Terminal or intercalary, often in grapelike clusters of 3-10	Reported only in isolates from cacao	Abundant in some isolates, rare in others. Borne terminally or intercalary in the mycelium
Mycelium	Torulose, with hyphal swellings	Coralloid, with abundant hyphal swellings and vesicles	Smooth or coarse; hyphal swellings present in some isolates	Hyphal swellings are not produced
Distinguishing characters	Long pedicels on caducous sporangia, compared with round, non-caducous sporangia in *P. nicotianae* and ovoid, caducous sporangia on short pedicels in *P. palmivora*	Mycelial morphology	None reported	None reported

Species	*Phytophthora capsici*	*Phytophthora cinnamomi*	*Phytophthora citrophthora*	*Phytophthora colocasiae*
Morphological characteristics	 Papillate sporangia, caducous with long pedicels. Note bipapillate sporangia (top right). Extensive hyphal swellings on mycelium	 Non-papillate sporangia. Note the internal proliferation of sporangia. Globose oogonium with paragynous antheridium (bottom left). Note the globose chlamydospores (bottom middle)	 Papillate sporangia, some with two papillae. Note the variation in sporangial shapes. Antheridium is amphigynous (bottom left)	 Semi-papillate sporangia with short pedicels
ADDITIONAL FIGURES AND NOTES	 Torulose hyphae with hyphal swellings	 Coralloid hyphae with hyphal swellings	In the tropics and sub-tropics, *P. nicotianae, P. cinnamomi* and *P. palmivora* are also pathogens of citrus. *P. citrophthora* is active at moderate temps (30°C) and *P. nicotianae* at higher temps (>30°C)	

ANEXO 5

TABLAS DE DATOS DE LA TOMA DE MEDIDAS DEL CRECIMIENTO DEL HONGO A 10, 24 Y 30 °C

Tabla 1

Datos obtenidos del crecimiento de la colonia del hongo a 10 °C

Crecimiento diario (mm) de la colonia de *Phytophthora cinnamomi* Rands a 10 °C			
Día	**Muestras**		
	A 1	**B 1**	**C 1**
1	2.70	2.50	2.60
2	2.50	2.70	2.60
3	2.60	2.80	2.70
4	2.40	2.70	2.80
5	2.70	2.60	2.60
6	2.80	2.80	2.60
7	2.50	2.60	2.90
8	2.80	2.70	2.50
9	2.60	2.80	2.80
10	2.80	2.80	2.70

Tabla 2

Datos obtenidos del crecimiento de la colonia del hongo a 24 °C

Crecimiento diario (mm) de la colonia de *Phytophthora cinnamomi* Rands a 24 °C			
Día	**Muestras**		
	A 2	**B 2**	**C 2**
1	6.80	7.40	7.30
2	6.70	7.20	7.10
3	6.90	7.10	7.00
4	7.00	7.30	6.80
5	7.10	7.40	7.20
6	7.30	6.90	7.00
7	7.20	6.80	6.90
8	7.30	7.30	6.80
9	7.10	7.00	7.20
10	7.20	7.30	7.00

Tabla 3

Datos obtenidos del crecimiento de la colonia del hongo a 30 °C

Crecimiento diario (mm) de la colonia de *Phytophthora cinnamomi* Rands a 30 °C			
Día	**Muestras**		
	A 3	**B 3**	**C 3**
1	9.50	9.90	10.10
2	9.60	10.00	9.60
3	8.90	9.90	9.90
4	9.40	9.40	9.80
5	9.90	9.90	10.00
6	9.90	9.70	9.50
7	9.80	9.80	10.00
8	9.70	9.90	9.50
9	9.80	9.60	9.70
10	9.70	9.50	9.80

ANEXO 6

Formulas y Tablas Estadísticas

(**Se utilizó el software estadístico SPSS versión 24**)

1. **Sobre la presencia del patógeno en paltos con síntomas característicos de la enfermedad de la tristeza del palto:**

Fórmulas

$$Z_c = \frac{p - P}{\sigma_p} \sim N(0,1)$$

$$\sigma_p = \sqrt{\frac{P(1-P)}{n}}, \text{ población infinita o selección con remplazo.}$$

p: Proporción muestral, P: Proporción poblacional

Tabla 1
Datos estadísticos para una muestra

	N	Media	Desviación Std.	Error típ. de la media
Presencia de *P. cinnamomi*	50	,9000	,30305	,04286

Tabla 2
Prueba para una muestra

	Valor de prueba = 0.80					
					95% Intervalo de confianza para la diferencia	
	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Inferior	Superior
Presencia de *P. cinnamomi*	2,333	49	,024	,10000	,0139	,1861

2. Sobre la influencia de la temperatura en el crecimiento de la colonia del patógeno

Tabla 3

Matriz de los datos en un diseño en bloques completos al azar

TRATAMIENTO	BLOQUE				
	1	**2**	**3**	**…**	***b***
1	y_{11}	y_{12}	y_{13}	…	y_{1b}
2	y_{21}	y_{22}	y_{23}	…	y_{2b}
3	y_{31}	y_{32}	y_{33}	…	y_{3b}
.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.
k	y_{k1}	y_{k2}	y_{k3}	…	y_{kb}

Las hipótesis a probar son:

$$H_0\colon \tau_1 = \tau_2 = \tau_3 = \ \ldots \tau_k = 0$$

$$H_a\colon \tau_i \neq \tau_j \ para \ alg\acute{u}n \ i$$

$$H_0\colon \gamma_1 = \gamma_2 = \gamma_3 = \ \ldots \gamma_b = 0$$

$$H_a\colon \gamma_i \neq \gamma_j \ para \ alg\acute{u}n \ bloque \ j$$

C. Fórmulas

$$SC_T = \sum_{j=1}^{b} \sum_{i=1}^{k} Y_{ij}^2 - \frac{Y_{\bullet\bullet}^2}{N}$$

$$SC_{TRAT} = \sum_{i=1}^{k} \frac{Y_{i\bullet}^2}{b} - \frac{Y_{\bullet\bullet}^2}{N}$$

$$SC_B = \sum_{j=1}^{b} \frac{Y_{\bullet j}^2}{k} - \frac{Y_{\bullet\bullet}^2}{N}$$

Tabla 4

Datos estadísticos sobre la influencia de la temperatura en el crecimiento del hongo

Variable dependiente: Crecimiento del hongo (mm)					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Temperaturas	761,320	2	380,660	9682,709	,000
Días	,281	9	,031	,793	,624
Error	3,066	78	,039		
Total corregido	764,667	89			

Tabla 5

Datos estadísticos sobre la influencia de la temperatura, comparación de medias del crecimiento del hongo

Variable dependiente: Crecimiento del hongo (mm)

			Intervalo de confianza al 95%	
Temperaturas ºC	Media	Error estándar	Límite inferior	Límite superior
10 °C	2,673	,036	2,601	2,745
24 °C	7,087	,036	7,015	7,159
30 °C	9,723	,036	9,651	9,795

Tabla 6

Datos estadísticos sobre la influencia de la temperatura en el crecimiento del hongo comparación de medias de los días

Variable dependiente: Crecimiento del hongo (mm)

			Intervalo de confianza al 95%	
Días	Media	Error estándar	Límite inferior	Límite superior
1	6,533	,066	6,402	6,665
2	6,444	,066	6,313	6,576
3	6,422	,066	6,291	6,554
4	6,400	,066	6,268	6,532
5	6,600	,066	6,468	6,732
6	6,500	,066	6,368	6,632
7	6,500	,066	6,368	6,632
8	6,500	,066	6,368	6,632
9	6,511	,066	6,380	6,643
10	6,533	,066	6,402	6,665

Tabla 7

Pruebas Post Hoc Temperaturas ºC

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Crecimiento del hongo (mm)

DMS

(I) Temperaturas ºC	(J) Temperaturas ºC	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95% Límite inferior
10 °C	24 °C	-4,4133*	,05119	,000	-45,153
	30 °C	-7,0500*	,05119	,000	-71,519
24 °C	10 °C	4,4133*	,05119	,000	43,114
	30 °C	-2,6367*	,05119	,000	-27,386
30 °C	10 °C	7,0500*	,05119	,000	69,481
	24 °C	2,6367*	,05119	,000	25,347

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,039.

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

ANEXO 7

Tabla 1

Relación de productores según los Sectores agrícolas y cantidad de aislamientos por variedad

Relación de productores de palta				
Nombre	**Sector**	**Variedad Hass**	**Variedad Fuerte**	**Total**
Pacifico Gutiérrez Fernández	Charsagua	6	4	10
Alina Mercedes Cuayla Fernández	El Rayo	2	8	10
Pedro Olazabal Quispe	Escapalaque	0	10	10
Alfonso Gerardo Catari Maquera	Siglo 21	10	0	10
Virginia Catari Vizcarra	Asociación Cambrune	10	0	10

ANEXO 8

PERÚ | UNAM Universidad Nacional de Moquegua | VIPAC Vicepresidencia Académica | EPIA Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial

"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE, DIRECTOR DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA,

A solicitud del Tesista **ESTEBAN REMBERTO GRANADOS CUAYLA**, esta dirección hace constar que desde el 09 de enero al 24 de enero del año 2017, realizo pruebas en los Laboratorios de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, las mismas que fueron necesarias para realización de su Proyecto de Tesis denominado: **CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE Phytophthora cinnamomi Rands COMO PATÓGENO CAUSANTE DE ENFERMEDAD DE LA TRISTEZA DEL PALTO VARIEDAD HASS Y FUERTE EN EL DISTRITO DE MOQUEGUA".**

Por lo que, se expide la presente Constancia, para los fines que estime por conveniente.

Moquegua, 22 de noviembre del 2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA
Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial
Ing. M. Sc. MARIO ROGER COTACALLAPA SUCAPUCA
DIRECTOR

c.c/Archivo