

UNIVERSIDAD JOSÉ CARLOS MARIÁTEGUI

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



TESIS

**“EFECTO DE LOS FACTORES FISICOQUÍMICOS Y BIOLÓGICOS
SOBRE *Phytophthora cinnamomi* Rands AISLADA DE
CULTIVOS DE PALTO (*Persea americana* Mill.)
DEL DISTRITO DE MOQUEGUA”**

PRESENTADO POR:

Bach. KAREM MARILÚ LUIS CUAYLA

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO
AGROINDUSTRIAL**

MOQUEGUA-PERÚ

2015

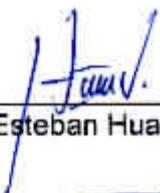
UNIVERSIDAD JOSÉ CARLOS MARIÁTEGUI

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**"EFECTO DE LOS FACTORES FISICOQUÍMICOS Y BIOLÓGICOS SOBRE
Phytophthora cinnamomi Rands AISLADA DE CULTIVOS DE PALTO (*Persea
americana* Mill.) DEL DISTRITO DE MOQUEGUA"**

**Tesis sustentada y aprobada el 05 de agosto del año 2015, estando el
jurado calificador integrado por:**

Presidente:



Mgr. Rodolfo Esteban Huacán Ventura

Secretario:



Ing. Erik Edwin Alicca Alca

Miembro:



Mgr. Nils Leander Huamán Castilla

Asesor:



Mgr. José Antonio Valeriano Zapana

DEDICATORIA

A Dios como ser supremo y creador nuestro y de todo lo que nos rodea y por haberme dado la inteligencia, persistencia y paciencia; y ser nuestro guía en nuestras vidas.

A mi madre, que con su demostración de una madre ejemplar me ha enseñado a no desfallecer ni rendirme ante nada y siempre perseverar a través de sus sabios consejos.

A mi familia en general, porque me han brindado sus enseñanzas y apoyo incondicional, por compartir buenos y malos momentos.

A cada uno de mis profesores por brindarme sus sabios conocimientos durante mi vida universitaria, y por su valiosa tutoría en todo el proceso de la realización de esta tesis.

CONTENIDO

DEDICATORIA.....	iii
CONTENIDO.....	iv
ÍNDICE DE ANEXOS	x
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
RESUMEN	xiii
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Descripción del problema.....	2
1.1.1. Antecedentes del problema	2
1.1.2. Problemática de la investigación	5
1.2. Formulación del problema.....	6
1.3. Justificación	6
1.4. Alcances y limitaciones	7
1.4.1. Alcances	7
1.4.2. Limitaciones.....	8
1.5. Objetivos.....	8
1.5.1. Objetivo General	8
1.5.2. Objetivos Específicos	9

1.6.	Hipótesis	9
1.6.1.	Hipótesis global	9
1.6.2.	Subhipótesis	9
1.7.	Variables.....	10
1.7.1.	Identificación de variables.....	10
1.7.2.	Definición de la variables	11
1.7.3.	Operacionalización de variables	12
1.8.	Diseño de la investigación	12
1.8.1.	Diseño experimental.....	12
1.8.1.1.	Diseño de los factores fisicoquímicos	12
1.8.1.2.	Diseño de los factores biológicos	14
1.8.2.	Población y muestra.....	16
1.8.3.	Análisis de datos	17

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1.	Generalidades del cultivo de palto.....	18
2.1.1.	Origen.....	18
2.1.2.	Taxonomía.....	18
2.1.3.	Variedades de palta	19
2.1.4.	Composición nutricional	21
2.1.5.	Producción de palta.....	23
2.1.6.	Rentabilidad de la palta en Moquegua	25
2.2.	Género <i>Phytophthora</i>	28

2.2.1. Estructuras principales de <i>Phytophthora cinnamomi</i>	29
2.2.1.1. Micelio	29
2.2.1.2. Esporangios	30
2.2.1.3. Zoosporas	32
2.2.1.4. Clamidósporas	32
2.2.2. Reproducción	33
2.2.2.1. Reproducción asexual	34
2.2.2.2. Reproducción sexual	35
2.2.3. Ciclo de la enfermedad	38
2.2.4. Sintomatología	39
2.3. Relación de factores fisicoquímicos y biológicos con el patógeno	41

CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales	44
3.1.1 Materiales de campo	44
3.1.2 Materiales y equipos de laboratorio	44
3.1.2.1. Equipos	44
3.1.2.2. Materiales de laboratorio	45
3.1.2.3. Reactivos	46
3.2 Metodología de estudio	47
3.2.1 Fase de campo	47
3.2.1.1. Localización de sectores muestreados	47
3.2.1.2. Recolección de muestras	48

3.2.2 Fase de laboratorio	48
3.2.2.1. Método de aislamiento a partir de raíces	48
3.2.2.2. Método de identificación <i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands.....	49
3.2.2.3. Preparación de medios de pH y temperatura	50
3.2.2.4. Aislamiento de bacterias de la rizósfera.....	51
3.2.2.5. Preparación de medio para el efecto de las bacterias en <i>P. cinnamomi</i> Rands.....	53

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1. Aislamiento de <i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands de raíces de palto.....	55
4.1.1. Morfología de las colonias	55
4.2. Identificación de tipos de bacterias por Tinción Gram	56
4.3. Efecto de los factores fisicoquímicos sobre el halo de <i>Phytophthora</i> <i>cinnamomi</i> Rands.....	57
4.3.1. Efecto del pH (6,5; 8,0 y 9,5) sobre el halo de <i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands	58
4.3.2. Efecto de la temperatura (10, 20, 30 °C) sobre el halo de <i>P. cinnamomi</i> Rands	60
4.3.3. Efecto del periodo de evaluación (10 días) sobre el halo de <i>Phytophthora</i> <i>cinnamomi</i> Rands.....	63
4.4. Efecto de los factores biológicos en el % inhibición de <i>Phytophthora</i> <i>cinnamomi</i> Rands.....	64

4.4.1. Efecto de cepas bacterianas (A, B, C) en el % inhibición de <i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands.....	66
4.4.2. Efecto de las diluciones de bacterias en el % inhibición de <i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands.....	68
4.4.3. Efecto del periodo de evaluación (10 días) en la inhibición de <i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands.....	70

CAPÍTULO V: DISCUSIONES

5.1. Aislamiento de <i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands de raíces de palto.....	72
5.1.1. Morfología de las colonias	72
5.2. Identificación de tipos de bacterias por Tinción Gram	73
5.3. Efecto de los factores fisicoquímicos sobre el halo de <i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands.....	73
5.3.1. Efecto del pH (6,5; 8,0 y 9,5) sobre el halo de <i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands	74
5.3.2. Efecto de la temperatura (10 °C, 20 °C, 30 °C) sobre el halo de <i>P. cinnamomi</i> Rands.....	75
5.4. Efecto de la actividad bacteriana sobre el % inhibición del halo de <i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands.....	77
5.4.1. Efecto de cepas bacterianas (A, B, C) en el % inhibición de <i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands.....	77
5.4.2. Efecto de las diluciones de bacterias en el % inhibición de <i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands.....	78

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. Conclusiones 80

6.2. Recomendaciones..... 81

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA..... 83

ANEXOS 92

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Bacterias aisladas para % inhibición <i>P. cinnamomi</i> Rands.....	93
Anexo 2: Resultados del efecto del pH, °T y días	94
Anexo 3: Resultados de los efectos de bacterias, diluciones y días	98
Anexo 4: ANVA de los factores fisicoquímicos (pH, °T y días).....	103
Anexo 5: ANVA de los factores biológicos (Cepa, dilución y días).....	106
Anexo 6: Galería fotográfica	109

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Operacionalización de variables	12
Tabla 2: Esquema de diseño experimental para factores fisicoquímicos.....	14
Tabla 3: Esquema del diseño experimental para factores biológicos	15
Tabla 4: Composición nutricional de la palta cruda	22
Tabla 5: Superficie cosechada, producción y rendimiento de palta	23
Tabla 6: Superficie cosechada, rendimiento y producción de palta	24
Tabla 7: Rentabilidad agrícola de Moquegua en el año 2013	26
Tabla 8: Producción promedio de principales cultivos a nivel regional y nacional 2011-2013.....	27
Tabla 9: Temperaturas cardinales de crecimiento de algunas especies de <i>Phytophthora</i>	41
Tabla 10: Coordenadas y altitud de los sectores muestreados.....	47
Tabla 11: Tipos de bacterias aisladas de la rizósfera de paltos	57
Tabla 12: Promedios de radio del halo de <i>P. cinnamomi</i> por día.....	58
Tabla 13: Resultados promedio de inhibición de <i>P. cinnamomi</i> Rands	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Imagen del micelio de <i>P. cinnamomi</i> Rands.....	30
Figura 2: Imagen de ramificación simpodial de los esporangios de <i>P. cinnamomi</i> Rands.....	31
Figura 3: Imagen del Oogonio de <i>P. cinnamomi</i>	36
Figura 4: Imagen del anteridio de <i>P. cinnamomi</i>	37
Figura 5: Imagen de Oósporas en la raíz.....	38
Figura 6: Imagen de crecimiento de colonias de <i>P. cinnamomi</i>	55
Figura 7: Imagen estructuras de <i>Phytophthora cinnamomi</i>	56
Figura 8: Gráfico de medias de pH sobre radio del halo de <i>P. cinnamomi</i>	59
Figura 9: Gráfico de interacción entre pH y días.....	60
Figura 10: Gráfico de medias de temperatura.....	61
Figura 11: Gráfico de interacción entre temperatura y días.....	62
Figura 12: Gráfico de interacción de pH y °T sobre el crecimiento del halo	63
Figura 13: Gráfico de medias de los días.....	64
Figura 14: Gráfico de medias de cepa de bacterias	66
Figura 15: Gráfico de interacción entre cepa y % inhibición.....	67
Figura 16: Gráfico de medias de dilución de bacterias	68
Figura 17: Gráfico de interacción entre dilución de bacterias y % inhibición	69
Figura 18: Gráfico de medias de los días.....	70

RESUMEN

El objetivo principal de esta investigación fue evaluar el efecto de los factores fisicoquímicos y biológicos sobre *Phytophthora cinnamomi* Rands, que fue aislada de las raíces cultivos de palto (*Persea americana* Mill.) del distrito de Moquegua. El diseño experimental empleado en este trabajo de investigación fue un Diseño Completamente Aleatorio (DCA), con un arreglo factorial de 3 x 3 x 10 con tres repeticiones. Se cortaron discos del micelio de *Phytophthora cinnamomi* Rands y se evaluó el efecto de las temperaturas (10 °C, 20 °C y 30 °C) y pH (6,5; 8,0 y 9,5) sobre su desarrollo durante 10 días. Para evaluar el efecto de la actividad bacteriana, se aisló y purificó bacterias de la rizósfera del palto y se colocaron alrededor de un disco conteniendo micelio de *Phytophthora cinnamomi* Rands, y se evaluó el % inhibición del halo del hongo durante 10 días. Los resultados finales demostraron que los factores fisicoquímicos de pH 8,00 y temperatura de 30 °C fueron los que acrecentaron el halo de *Phytophthora cinnamomi* Rands con más rapidez. Por lo contrario en los medios de cultivo a pH 9,5 y 10 °C; el desarrollo del halo de *P. cinnamomi* Rands fue menor. Entre los efectos biológicos la Cepa A en una dilución de 10^{-1} efectuaron los mayores % inhibición en el séptimo día de evaluación; y la Cepa B a una dilución de 10^{-3} provocó el menor % inhibición del halo de *Phytophthora cinnamomi* Rands.

INTRODUCCIÓN

La producción de palta en el Perú se incrementa en aproximadamente un 12 % al año y con ello se incorporan nuevas áreas de cultivo, debido a la creciente demanda en el mercado internacional. Actualmente, el país sobrepasa las 18 mil hectáreas, de las cuales aproximadamente el 95 % se destina para la exportación (Sierra Exportadora, 2015).

Dentro de los problemas que afectan la producción de palta destacan las enfermedades radicales más importante a nivel mundial, como “la tristeza del palto” causado por *Phytophthora cinnamomi* Rands, el hongo, que se localiza en el sistema radicular provocando su podredumbre. Su acción se intensifica en terrenos húmedos, escasos en oxígeno y con temperaturas de 25° a 30 °C.

El limitado conocimiento del patógeno causante del daño radicular en el cultivo del palto, ocasiona que actualmente los productores del distrito de Moquegua no puedan dar el tratamiento adecuado para combatir este tipo de enfermedad, ocasionando que los niveles de exportación descendan y opten por nuevas alternativas de cultivos como es el caso de la alfalfa.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Descripción del problema

1.1.1. Antecedentes del problema

Cadenas (2007) con la finalidad de realizar una identificación preliminar de las enfermedades que afectan los cultivos de palto variedad 'Fuerte' y 'Hass', en los campos de cultivos ubicados en Huanta y Lauricocha (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 todas las zonas muestreadas. Los demás fitopatógenos aislados (*Pythium sp.*, *Phomopsis sp.*, *Cylindrocarpon sp.*, *Fusarium sp.*, *Rhizoctonia solani* y *Macrophomina sp.*) en raíces con pudriciones se encuentran como secundarios acelerando el proceso de muerte de raíces.

Ramírez (2013) estudió la incidencia, comportamiento y los microorganismos asociados a la marchitez del aguacate, planteando estrategias de manejo con énfasis en *Phytophthora cinnamomi* Rands. Los objetivos específicos desarrollados fueron: Identificar los agentes causales del complejo marchitez del aguacate, modelar la dinámica espacio-temporal del complejo marchitez del aguacate en un lote determinado y evaluar estrategias de manejo de la marchitez del aguacate causada por *Phytophthora 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.

Vidales (2002) estudió "la tristeza del palto" ocasionada por *Phytophthora cinnamomi* Rands es una de las principales enfermedades radicales del cultivo de palto. El objetivo del trabajo fue determinar el efecto de los factores físico químicos (FFQ) de descope, aplicación de estiércol de bovino, corteza de pino, harina de alfalfa, sobre la producción de raíces y densidad de raíces enfermas por *Phytophthora cinnamomi* Rands, actividad microbiana de bacterias, actinomicetos, hongos saprobias de la rizósfera y la acción de la solarización en la mineralización de la materia orgánica en la rizósfera del palto. Se encontró que los FFQ estimularon el aumento en la densidad de las poblaciones microbianas nativas de la rizósfera de los paltos y redujeron la densidad de la población *Phytophthora cinnamomi* Rands en la raíces de los árboles.

Guzmán (2011) se realizaron aislamientos selectivos con la utilización de un medio específico para estas bacterias, se realizó la purificación, almacenamiento, evaluación del índice de solubilización de las bacterias y posterior caracterización microscópica. Dando como resultado el aislamiento de 100 bacterias solubilizadoras de fósforo a partir de 4 muestras compuestas las que fueron purificadas y almacenadas en frío preservación en la colección de microorganismos, se obtuvo también 6 niveles de significancia para los índices de solubilización de las bacterias estudiadas, la de mayor índice fue la bacteria DCB 1661 con 5,05. En la caracterización microscópica se pudo constatar la presencia mayoritaria de bacterias de forma bacilar Gram positiva.

De La Cruz (2014) en esta investigación se seleccionaron y caracterizaron 11 bacterias con características antagonistas, aisladas de muestras de suelos. Con la prueba cuantitativa se ajustó soluciones de 5 bacterias seleccionadas y una mezcla de ellas en 1×10^6 UFC/mL y 1×10^8 UFC/mL, posteriormente basándose en la técnica de medio de envenenado se vertieron en medio nutritivo PDA, donde se inocularon explantes de hongos de 7 días de crecimiento. La toma de datos consistió en base al % inhibición mostrado por las bacterias sobre los hongos. Los resultados obtenidos ubican a la mezcla (MIX) como la mejor con porcentajes de inhibición del 88 % en la concentración de 1×10^6 UFC/mL.

Ramírez (2013) estudió la incidencia, comportamiento y los microorganismos asociados a la marchitez del aguacate, 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 Antioquía; 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 *Phytophthora cinnamomi* en invernadero y campo. Los resultados encontrados en esta investigación indican que la enfermedad es ocasionada por múltiples agentes bióticos y abióticos, que es favorecida por la menor pendiente del terreno y por condiciones de alto contenido de arcilla, baja infiltración, alta retención de humedad y en general poco flujo de agua en el perfil superficial del suelo.

1.1.2. Problemática de la investigación

Según el reporte de Sierra Exportadora (2015) la producción de palta en el Perú se incrementó en aproximadamente un 12 % al año, y con ello se incorporan nuevos terrenos de cultivo, debido a la creciente demanda en el mercado internacional. Actualmente, el país sobrepasa las 18 mil hectáreas de palta, de las cuales aproximadamente el 95 % se destina para la exportación.

Dentro de los problemas que afectan la producción de palta destacan las enfermedades radicales más importante a nivel mundial, como “la tristeza del

palto” causado por *Phytophthora cinnamomi* Rands, que es un hongo que se dispersa a través del suelo, del agua y durante la comercialización de plantas. Se localiza en el aparato radical provocando su podredumbre, su acción se intensifica en terrenos húmedos, escasos en oxígeno y con temperaturas de 25° a 30 °C.

El limitado conocimiento del tipo de patógeno en el cultivo del palto, ocasiona que actualmente los productores del distrito de Moquegua no puedan dar el tratamiento adecuado para combatir este tipo de enfermedad, ocasionando pérdidas cuantiosas; por el decaimiento y muerte de los árboles en meses o pocos años después de la siembra; provocando que los niveles de producción sean menores comparados con otros departamentos (MINAG, 2007).

1.2. Formulación del problema

¿Cuál es el efecto de los factores fisicoquímicos y biológicos sobre *Phytophthora cinnamomi* Rands aislada de cultivos de palto (*Persea americana* Mill.) del distrito de Moquegua?

1.3. Justificación

La justificación se basa en que la información obtenida de la evaluación del efecto causado por factores fisicoquímicos y biológicos sobre este patógeno,

servirá como base para aplicar prácticas adecuadas de manejo, encaminando el control de *Phytophthora cinnamomi* Rands en el distrito de Moquegua.

Usar las técnicas adecuadas para la evaluación de los efectos causados por factores fisicoquímicos y biológicos sobre este patógeno, facilitará información del comportamiento de *Phytophthora cinnamomi* Rands frente a diferentes temperaturas y pH, que permitirán entender cuáles son sus condiciones óptimas de crecimiento que provocan la infección de las raicillas del cultivo de palto; los cuales serán base para posteriores trabajos de investigación en el control de *Phytophthora cinnamomi* Rands en el distrito de Moquegua.

Se identificarían los microorganismos residentes en la rizósfera del palto para utilizarlos en un futuro (trabajo de investigación) en su control biológico de esporas de *Phytophthora cinnamomi* Rands y abrir nuevos canales de exportación, y así mejorar la rentabilidad del cultivo con la demanda internacional.

1.4. Alcances y limitaciones

1.4.1. Alcances

- Con la ejecución de este trabajo de investigación se pretende obtener información mediante la evaluación de los efectos fisicoquímicos y

biológicos sobre *Phytophthora cinnamomi* Rands, para una base de investigación para el control del patógeno en el distrito de Moquegua.

- Usar técnicas adecuadas de aislamiento, permitirá datos verídicos del distrito de Moquegua, logrando así una buena identificación del patógeno.
- Los agricultores incrementan su interés por el cultivo del palto al tener conocimientos para afrontar los problemas ocasionados por la *Phytophthora cinnamomi* Rands.

1.4.2. Limitaciones

- Insuficientes recursos económicos para muestrear más sectores de cultivo de palto en el distrito de Moquegua.

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de los factores fisicoquímicos y biológicos sobre *Phytophthora cinnamomi* Rands aislada de cultivos de palto (*Persea americana* Mill.) del distrito de Moquegua.

1.5.2. Objetivos Específicos

- Aislar *Phytophthora cinnamomi* Rands de las raíces en los cultivos de palto (*Persea americana* Mill.) del distrito de Moquegua.
- Evaluar el efecto de las temperaturas (10 °C, 20 °C, 30 °C) y pH (6,5; 8,0 y 9,5) sobre *Phytophthora cinnamomi* Rands aislada de cultivos de palto (*Persea americana* Mill.).
- Evaluar el efecto inhibitorio de las bacterias sobre *P. cinnamomi* Rands.

1.6. Hipótesis

1.6.1. Hipótesis global

Los factores fisicoquímicos y biológicos influyen sobre el desarrollo de *Phytophthora cinnamomi* Rands aislada de cultivos de palto (*Persea americana* Mill.) del distrito de Moquegua.

1.6.2. Subhipótesis

- Se aísla *Phytophthora cinnamomi* Rands de raíces en los cultivos de palto (*Persea americana* Mill.) del distrito de Moquegua.

- Las temperaturas (10 °C, 20 °C y 30 °C) y pH (6,5; 8,0 y 9,5) influyen sobre el desarrollo de *Phytophthora cinnamomi* Rands aislada de cultivos de palto (*Persea americana* Mill.).
- El efecto inhibitorio de las bacterias influye sobre la *Phytophthora cinnamomi* Rands aislada de cultivos de palto (*Persea americana* Mill.).

1.7. Variables

1.7.1. Identificación de variables

1.7.1.1. Variables independientes

- pH
- Temperatura
- Cepas de Bacterias
- Diluciones de cepas de bacterias
- Días

1.7.1.2. Variables dependientes

- Radio del halo de *Phytophthora cinnamomi* Rands
- % inhibición del halo de *Phytophthora cinnamomi* Rands

1.7.2. Definición de la variables

- **Temperatura:** es una magnitud física que refleja la cantidad de calor, ya sea de un cuerpo, de un objeto o del ambiente.
- **pH:** el potencial de hidrógeno indica el grado de acidez o basicidad de una solución acuosa.
- **Cepas de bacterias:** Cepas de bacterias aisladas de la rizósfera del cultivo de palto, que permitieron conocer el % inhibición del halo de *Phytophthora cinnamomi* Rands.
- **Diluciones de cepas de bacterias:** Diluciones seriadas de las cepas de bacterias aisladas y purificadas de la rizósfera de los paltos.
- **Halo de *Phytophthora cinnamomi* Rands:** El desarrollo del halo de *Phytophthora cinnamomi* Rands influenciado por las condiciones de pH y temperatura y el % inhibición causado por las cepas de bacterias sobre el desarrollo del halo.

1.7.3. Operacionalización de variables

Tabla 1: Operacionalización de Variables

Factor					Variable respuesta	Indicador	Instrumento
pH	°T (°C)	Cepa	Dilución	Días			
6,5	10	A	10 ⁻¹	Periodo de 10 días	Radio del halo de <i>P. cinnamomi</i> Rands.	cm	Vernier
8,0	20	B	10 ⁻²		Inhibición del halo de <i>P. cinnamomi</i> Rands.	%	Ecuación
9,5	30	C	10 ⁻³				

Fuente: Elaboración propia.

1.8. Diseño de la investigación

1.8.1. Diseño experimental

En el presente trabajo de investigación se empleó un arreglo factorial de 3 x 3 x 10 con tres repeticiones, el cual fue llevado a un Diseño Completamente Aleatorio (DCA), que se detalla a continuación:

1.8.1.1. Diseño de los factores fisicoquímicos

En el presente estudio se utilizó un arreglo factorial el cual fue llevado a un DCA, para ver si existe relación o no entre dos variables que forman una

población de datos. En base a esta relación se pudo comparar varias muestras y determinar factores limitativos (Ver tabla 2).

El modelo aditivo lineal para un DCA es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha\beta\gamma)_{ijk} + \varepsilon_{ijk}$$

$$i = 1, 2, 3 \quad j = 1, 2, 3 \quad k = 1, 2, 3 \dots 10$$

Donde:

- Y_{ijk} : Es el valor o rendimiento observado en el i-ésimo factor A, j-ésimo factor B y k-ésimo factor C
- μ : Es el efecto de la media general
- α_i : Es el efecto del i-ésimo nivel de pH
- β_j : Es el efecto del j-ésimo nivel de temperatura
- γ_k : Es el efecto de los k-ésimo días
- ε_{ijk} : Es el efecto del error experimental en el i-ésimo factor A, j-ésimo factor B y k-ésimo factor C.

Después del DCA se evaluó los resultados mediante el análisis de la Prueba de Tukey. El diseño del ANVA fue con un nivel de confianza del 95 %, mediante un software estadístico.

Tabla 2: Esquema de diseño experimental para factores fisicoquímicos

FACTOR pH	FACTOR Temperatura (°C)	FACTOR Días	Variable respuesta
6,5	10	Periodo de evaluación 10 días	Radio del halo de <i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands
	20		
	30		
8,0	10		
	20		
	30		
9,5	10		
	20		
	30		

Fuente: Elaboración propia.

1.8.1.2. Diseño de los factores biológicos

En el presente estudio se utilizó un arreglo factorial 3 x 3 x 10 con 3 repeticiones; el cual fue llevado a un DCA, para ver si existe relación o no entre dos variables que forman una población de datos. En base a esta relación se pueden comparar varias muestras y determinar factores limitativos (Ver tabla 3).

Tabla 3: Esquema del diseño experimental para factores biológicos

FACTOR (Cepa)	FACTOR (Dilución)	FACTOR (Días)	Variable respuesta
A	10^{-1}	Periodo de evaluación 10 días.	% inhibición del halo de <i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands
	10^{-2}		
	10^{-3}		
B	10^{-1}		
	10^{-2}		
	10^{-3}		
C	10^{-1}		
	10^{-2}		
	10^{-3}		

Fuente: Elaboración propia.

El modelo aditivo lineal para un DCA es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha\beta\gamma)_{ijk} + \varepsilon_{ijk}$$

$$i = 1, 2, 3 \quad j = 1, 2, 3 \quad k = 1, 2, 3 \dots 10$$

Donde:

- Y_{ijk} : Es el valor o rendimiento observado en el i-ésimo factor A, j-ésimo factor B y k-ésimo factor C
- μ : Es el efecto de la media general
- α_i : Es el efecto del i-ésimo cepas
- β_j : Es el efecto del j-ésimo nivel de diluciones

- γ_k : Es el efecto del k-ésimo día
- ε_{ijk} : Es el efecto del error experimental en el i-ésimo factor A, j-ésimo factor B y k-ésimo factor C.

Después del DCA se evaluó los resultados mediante el análisis de la Prueba de Tukey. El diseño del ANVA fue con un nivel de confianza del 95 %, mediante un software estadístico.

1.8.2. Población y muestra

1.8.2.1. Población

La población del presente trabajo de investigación son todos los sectores de cultivos de palto del distrito de Moquegua que presenten sintomatología de *Phytophthora cinnamomi* Rands.

1.8.2.2. Muestra

La muestra está conformada por los siguientes sectores: Charsagua, Escapalque, El Rayo, Asociación Cambrune y la Asociación de Agricultores Siglo XXI donde hay productores que se dedican al cultivo de palto. De cada sector se extrajo muestras de raicillas (por triplicado) de tres paltos representativos con sintomatología de *Phytophthora cinnamomi* Rands.

1.8.3. Análisis de datos

Durante la ejecución y a lo largo del proceso de cada metodología y tratamiento se registrarán los datos en el programa Excel.

Finalmente se evaluará los resultados mediante el análisis de la Prueba de Tukey. El diseño del ANVA será con un nivel de confianza del 95 %, mediante un software estadístico Statgraphics Centurion versión 16.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Generalidades del cultivo de palto

2.1.1. Origen

Los estudios arqueológicos indican la presencia del aguacate 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).

2.1.2. Taxonomía

El género *Phytophthora* 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

2.1.3. 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

Cultivar híbrido de las razas mexicana y guatemalteca, fue en su momento 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 otros cultivares.

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. En la actualidad 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. Sin embargo, 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 madurez; 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.

La fruta es de excelente 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.

2.1.4. Composición nutricional

La importancia alimenticia de la palta se debe a que posee hasta 1,8 % 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 4) 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 4: 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	Glutación	27,7 mg
Cobre	0,26 mg	Luteína	284 µg

Fuente: Tablas Peruanas de Composición de Alimentos (MINSA, 2009).

2.1.5. Producción de palta

2.1.5.1. Producción nacional

De un total de 121 721 toneladas de palta producidas en el Perú en el año 2007 (Ver tabla 5), la región con mayor participación es La Libertad 24 326 toneladas, seguida por Ancash con 3 966 toneladas (MINAG, 2007).

Tabla 5: Superficie cosechada, producción y rendimiento de palta

Regiones	Producción	Rendimiento	Regiones	Producción	Rendimiento
	(t)	(kg/ha)		(t)	(kg/ha)
La Libertad	24 326	13 196	Madre de Dios	444	8 141
Ancash	3 966	13 025	Ayacucho	2 085	7 751
San Martín	825	11 460	Cajamarca	3 172	7 138
Lima	37 791	10 907	Tacna	56	7 000
Amazonas	1 274	10 754	Moquegua	2 005	6 841
Arequipa	2 665	10 577	Apurímac	1 156	6 776
Huánuco	1 971	9 980	Lambayeque	594	5 824
Cuzco	3 677	9 858	Junín	17 656	5 264
Puno	1 319	8 973	Piura	1,194	5 214
Ucayali	618	8 886	Huancavelica	285	5 089
Ica	12 386	8 822	Pasco	1 147	4 589
Loreto	1 109	8 802	Total	121 721	8 948

Fuente: Anuario Estadístico Agropecuario (MINAG, 2007).

2.1.5.2. Producción regional y distrital

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 (Ver tabla 6) (DRAM, 2014).

Tabla 6: Superficie cosechada, rendimiento y producción de palta

Región/ Provincia/ Distrito	Superficie	Rendimiento	Producción
	ha	kg/ha	t
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: Anuario Estadístico Agropecuario (DRAM, 2014).

Respecto a la cantidad de hectáreas destinadas a este fruto, la provincia de Mariscal Nieto presenta 376 hectáreas, mientras que el distrito con mayor número de hectáreas es Omate (372 has) en la provincia Gral. Sánchez Cerro (DRAM, 2014).

Según el Informe técnico N° 12: Panorama Económico Departamental (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.

2.1.6. Rentabilidad de la palta en Moquegua

Según DRAM (2013) el principal producto cultivado en Moquegua es la alfalfa que representó más del 70 % del área cultivada 2010 – 2012. No obstante, también produce papa, palta, vid, cebolla, tuna, orégano, entre otros. En términos de ingresos por hectárea hay una marcada heterogeneidad entre la alfalfa y estos últimos productos. 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 7).

Tabla 7: Rentabilidad agrícola de Moquegua en el año 2013

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: Anuario Estadístico Agropecuario (DRAM, 2013).

Considerando a los productos con mayor rentabilidad, la participación es significativamente menor, (Ver tabla 8) así la cebolla representó sólo el 0,38 % del total nacional, la uva el 1,1 %, y la palta el 1,76 %.

Tabla 8: Producción promedio de principales cultivos a nivel regional y nacional
2011-2013

Producto	Moquegua (miles de T.M)	Nacional (miles de T.M)	Participación %
Orégano	1,3	13	9,99
Alfalfa	610,3	6682,6	9,13
Lima	0,6	10,8	5,73
Membrillo	0,2	5,3	3,42
Tuna	2,4	84,1	2,81
Palta	4,5	257	1,76
Chirimoya	0,3	18,5	1,44
Uva	4,0	365,5	1,10
Haba Grano Verde	0,5	66	0,75
Aceituna	0,6	74,5	0,74
Sandía	0,6	91	0,61
Manzana	0,6	150,9	0,39
Zanahoria	0,7	181	0,39
Cebolla	2,9	758	0,38
Lechuga	0,2	54	0,34
Haba Grano Seco	0,2	72,4	0,32
Frijol Grano seco	0,3	92	0,30
Maíz Amiláceo	0,8	281,4	0,30
Maíz Choclo	0,9	375,9	0,25
Papa	8,6	4372,6	0,20
Ajo	0,1	84,0	0,16

Fuente: Anuario Estadístico Agropecuario (DRAM, 2013).

Esto se debería principalmente a que la producción de palta, uva y cebolla se encuentra concentrada en la costa norte y centro del país donde los ingenios agrícolas tienen extensiones mayores y tecnología de punta lo que hace que la productividad y rendimiento por hectárea sea mayor al que presenta en Moquegua.

2.2. Género *Phytophthora*

El género *Phytophthora* (del griego *Phyton*: planta; *phthora*: destructor) fue descubierto por De Bary en 1876 con *P. 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 muchos tipos distintos de 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).

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 (Agris, 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 *Phytophthora cinnamomi* Rands, hongo que pertenece a la clase 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).

Según el Boletín Técnico Regional Moquegua – Tacna (Abril) (SENAMHI, 2006) *Phytophthora cinnamomi* la causó daños en un 70 % en paltos con maduración plena.

2.2.1. Estructuras principales de *Phytophthora cinnamomi*

2.2.1.1. Micelio

No presenta septos y su principal característica que sirve para diferenciarla de otras especies de *Phytophthora* la constituyen sus hifas con 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).

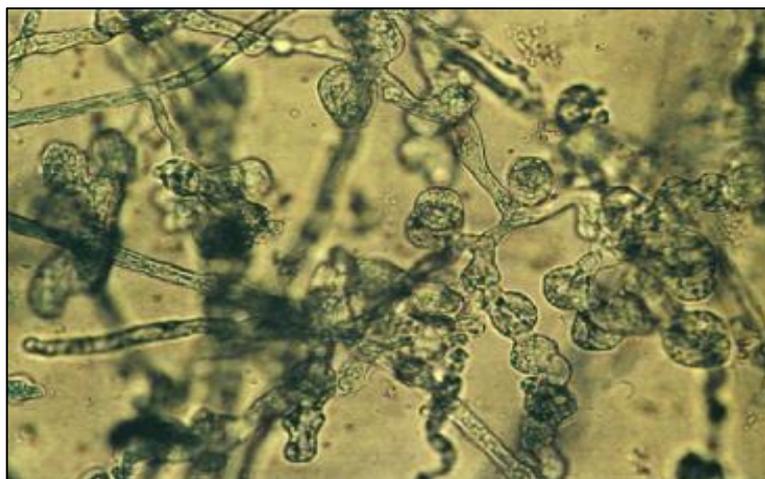


Figura 1: Imagen del micelio de *P. cinnamomi* Rands

Fuente: Zentmyer (1984).

2.2.1.2. 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).



Figura 2: Imagen de ramificación simpodial de los esporangios de *P. cinnamomi* Rands

Fuente: M. Sánchez *et al.* (2004).

Miden en promedio 75 μm de largo y 40 μm de ancho (Ver figura 2), 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 éstas 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).

2.2.1.3. 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 aguacate 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 de *Phytophthora* pueden dispersarse en la naturaleza por el aire o siendo transportadas por la actividad de los humanos y algunos invertebrados (Ristaino y Gumpertz, 2000).

2.2.1.4. 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 3-10 clamidosporas (Erwin y Ribeiro, 1996). Son globosas y de paredes delgadas (Zentmyer, 1980).

Estas estructuras son eventualmente liberadas en el suelo donde persisten en períodos prolongados. 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 °C es óptimo para que ocurra la germinación de las clamidosporas, aunque también se ha producido germinación entre 9 - 12 °C y a 33 °C. El pH óptimo para que ocurra este proceso está comprendido entre 5 y 7, aunque a valores de pH de 3 y 9 también se ha producido germinación de las clamidosporas (Zamora y Casín, 1986).

2.2.2. Reproducción

Zamora y Casín (1986) mencionan que las especies del género *Phytophthora*, presentan dos tipos de reproducción: asexual (con la formación de

clamidosporas y esporangios, que contienen las zoosporas) y sexual (mediante la formación de oosporas), las cuales se detallan a continuación:

2.2.2.1. Reproducción asexual

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

La presencia de esporangios es común para todas las especies del género, son incoloros o de color amarillo tenue y de manera general se insertan terminalmente en el esporangióforo, aunque también pueden estar intercalados.

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.

2.2.2.2. Reproducción sexual

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

- **Oogonio (Órgano sexual femenino)**

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

En cultivos jóvenes es hialino pero posteriormente, con el envejecimiento, se torna amarillo o ligeramente marrón (Ver figura 3).



Figura 3: Imagen del Oogonio de *P. cinnamomi*

Fuente: Zentmyer (1983).

En la mayoría de las especies es suave y puede presentar ligeras protuberancias en algunos casos.

- **Anteridio (Órgano sexual masculino)**

Presenta una forma variable, puede ser esférico, oval, en forma de clavo o cilíndrico. Observándose de manera habitual solitaria, hialino y con una pared externa delgada (Ver figura 4).

Su disposición respecto al oogonio puede ser anfígeno o parágino, o ambas a la vez, siendo importante tener en cuenta esta disposición para realizar la clasificación taxonómica de las especies.

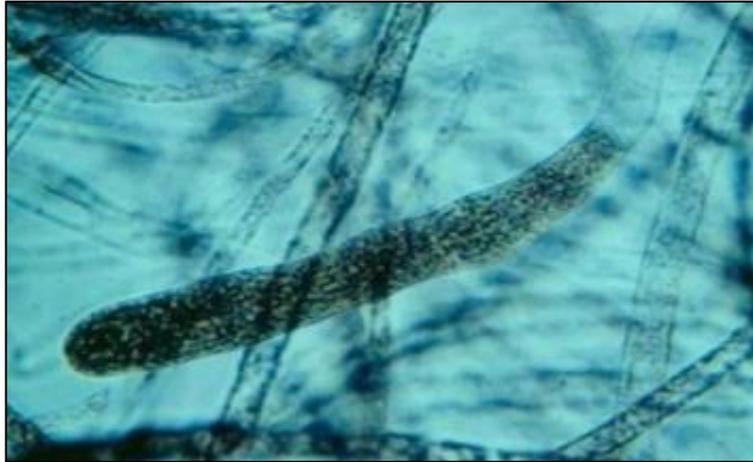


Figura 4: Imagen del anteridio de *P. cinnamomi*

Fuente: Zentmyer (1983).

- **Oospora**

Siempre 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 (Ver figura 5).

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



Figura 5: Imagen de Oosporas en la raíz

Fuente: Lamour (2013).

Entre otros factores que también influyen en la formación de la oosporas podemos citar la tensión de oxígeno y CO_2 , la presencia de luz, la temperatura cuyo óptimo está entre 20- 22 °C, así como también los cultivos asociados de diferentes especies.

2.2.3. Ciclo de la enfermedad

Mora *et al.* (1994) el patógeno sobrevive en el suelo por varios años en forma abundante como clamidosporas u oosporas 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.

2.2.4. Sintomatología

Phytophthora cinnamomi 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. 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 canchales 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 *Phytophthora cinnamomi* produciendo una pudrición firme, de un color café; sin embargo, este síntoma no es muy común bajo condiciones de campo (Zentmyer, 1980).

2.3. Relación de factores fisicoquímicos y biológicos con el patógeno

En los factores ambientales se incluyen factores físicos (temperatura, humedad textura del suelo entre otras), químicos (pH e intercambio iónico) y biológicos (bacterias, hongos y el crecimiento radical entre otras). Cada uno de estos factores y sus componentes varían en el tiempo y espacio, y cada interacción lleva consigo una secuela de interacciones, por lo que se conoce al ambiente como dinámico, heterogéneo y de gradiente complejo (Cook y Baker, 1983).

Tabla 9: Temperaturas cardinales de crecimiento de algunas especies de *Phytophthora*

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

Fuente: Boccas y Laville (1976).

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 (Ver tabla 9) va desde 1 °C de temperatura mínima hasta los 37 °C como máxima temperatura de crecimiento activo, situándose entre los 20 – 28 °C la temperatura óptima para la mayoría de las especies, teniendo en cuenta que este valor es específico para cada una de ellas (Boccas y Laville, 1976).

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 el hospedero se 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).

La supervivencia de especies de *Phytophthora* puede ser en forma de micelio, esporangios, quistes, clamidosporas y oosporas. 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 oosporas estructuras de latencia, pueden permanecer viables más de 365 días (Weste, 1994).

Vidales (2002) encontró el efecto de las temperaturas máximas alcanzadas en el suelo de la rizósfera de los paltos, que fueron letales a *P. cinnamomi* 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 de *Phytophthora cinnamomi* 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.

En el caso del pH el rango permisible para el cultivo *in vitro* de estas especies se encuentra entre 3,5 y 10; siendo el crecimiento óptimo específico para la mayoría de las especies, encontrándose en un rango entre 4,5 y 5,5.

Generalmente, los valores de pH que permiten el mejor desarrollo del micelio, también son favorables para la producción de esporangios, clamidosporas y oosporas (Boccas y Laville, 1976).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

3.1.1 Materiales de campo

- Bolsa hermética
- Cooler
- GPS
- Guantes
- Hielo
- Lampa jardinera
- Mapa cartográfico
- Marcadores indelebles

3.1.2 Materiales y Equipos de laboratorio

3.1.2.1. 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
- Estufa: marca BTM, modelo EC 55
- Incubadora: marca BTM, modelo IC 55
- Microscopio: marca Motic, modelo G502
- Potenciómetro: marca BOECO, modelo PT-370
- Vernier Mitutoyo

3.1.2.2. Materiales de laboratorio

- Asa de Kolle
- Bisturí
- Cámara de sembrado
- Cámara Neubauer
- Cubreobjetos
- Eppendorf 1 mL
- Matraz Erlenmeyer 250 mL
- Mecheros
- Micropipeta 100 μ L
- Pinzas
- Pipetas de Pasteur

- Pizeta
- Placas Petri
- Portaobjetos
- Probeta de 250 mL
- Punteras amarillas
- Algodón, gasa, cinta adhesiva
- Papel filtro y papel aluminio

3.1.2.3. Reactivos

- Aceite de inmersión
- Ácido Acético 100 %
- Ácido Tartárico
- Agar Patata Dextrosa
- Alcohol 96°
- Colorante vegetal azul brillante N° 1
- Cristal violeta
- Decolorante Gram
- Glicerina
- Hidróxido de sodio 1N
- Hipoclorito de sodio 0,05 %
- Lugol bacteriológico
- Safranina

3.2 Metodología de estudio

3.2.1 Fase de campo

3.2.1.1. Localización de sectores muestreados

Se seleccionaron seis sectores con 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 el sector El Rayo (1), Charsagua (2), Escapalaque (1), Asociación Siglo XXI (1) y Asociación Cambrune (1), en los que se seleccionaron paltos con síntomas característicos de ataque de *Phytophthora cinnamomi* Rands (Ver tabla 10).

Tabla 10: Coordenadas y altitud de los sectores muestreados

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 70° 55'32.09"	1430
Asoc. Siglo XXI	17° 13'37.87" S 70° 55'27.82"	1472
Asoc. Cambrune	17° 14'07.67" S 70° 55'46.50"	1480

Fuente: Elaboración propia (2015).

3.2.1.2. Recolección de muestras

En cada campo se realizó un recorrido y se efectuó un muestreo de 3 palto con síntomas evidentes de enfermedad, tales como: declinación del follaje, amarillamiento de hojas, defoliaciones y muerte regresiva, se extrajo muestras por triplicado de cada palto seleccionado a nivel radicular hasta una profundidad aproximada de 20 cm o hasta llegar a las raíces absorbentes.

Las muestras fueron correctamente envasadas y codificadas, las cuales fueron llevadas inmediatamente al laboratorio de la carrera de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad José Carlos Mariátegui (UJCM).

3.2.2 Fase de laboratorio

3.2.2.1. Método de aislamiento a partir de raíces

Las muestras de raíces colectadas se lavan con agua, se secan al aire y se seccionaron en trozos. Luego se introducen en cabina de siembra estéril, se desinfectan superficialmente con alcohol (70 %) por 30 segundos, después se sumergen en hipoclorito de sodio (0,05 %) y por último se lavaron en agua destilada estéril por triplicado durante 3 minutos cada uno.

De las muestras desinfectadas se cortaron trozos pequeños (0,5 cm³) y se sembró en medio selectivo para *Phytophthora* sp., Agar Potato Dextrose (PDA) acidificado con ácido tartárico al 14 % (14 mL / L).

Las cajas de Petri sembradas se incubaron a 28 °C por 15 días (Hardham, 2005; Madigan *et al.*, 2004).

3.2.2.2. Método de identificación *Phytophthora cinnamomi* Rands

Para la identificación de *Phytophthora cinnamomi* Rands 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.

CMI (1985) se utilizaron los colorantes vegetales como el rojo N° 40 (16035) y azul brillante N° 1 (42090). 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.

Se tomó una capa fina del borde del halo de *Phytophthora cinnamomi* Rands con un bisturí y se colocó en un portaobjetos, seguidamente se le agregó dos gotas de la solución de colorante azul y encima se colocó un cubreobjetos.

Para la identificación de los aislamientos de *Phytophthora cinnamomi* Rands contenidos en los portaobjetos, se observaron en microscopio de luz y se identificaron siguiendo las claves descritas en el manual de Barnett & Hunter (1972), y de Erwin & Ribeiro (1996) para las especies de *Phytophthora*.

3.2.2.3. Preparación de medios de pH y temperatura

Para la preparación de los medios de cultivo para *Phytophthora spp.* se siguieron las indicaciones del envase de Medio Agar Potato Dextrose:

Como se indica en el esquema del diseño experimental para los factores fisicoquímicos (Ver tabla 02), se prepararon tres pH diferentes (6,5; 8,0 y 9,5) y cada uno se llevó a tres temperaturas (10 °C, 20 °C y 30 °C) por ello se preparó nueve placas Petri más uno para cada pH.

Cada placa Petri contiene aproximadamente 25 mL, entonces para 10 placas Petri se prepararon 250 mL de medio, se pesó 9,75 gramos como indica el envase del Agar PDA 39 gramos/ litro.

Se disuelve los 9,75 gramos de PDA en 250 mL de agua destilada tibia en un matraz y se agita hasta que se disuelva completamente, y se ajustó con Hidróxido de sodio 1N hasta obtener una lectura de pH 6,5 con el potenciómetro, posteriormente se esterilizó en la autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

De igual manera se preparó y ajusto con Hidróxido de sodio 1N para los pH de 8,0 y 9,5.

Transcurrido el tiempo se sacaron de la autoclave los 3 matraces conteniendo el medio PDA ajustado a pH 6,5; 8,0 y 9,5 y se vertieron en las placas Petri dentro de la Cámara de siembra, se tomaron en cuenta los cuidados asépticos para evitar una contaminación.

Se dejó enfriar el medio PDA en las placas Petri hasta que se solidifique.

Luego se cortaron con un bisturí discos del borde del halo de *Phytophthora cinnamomi* Rands y se colocaron en centro de cada placa Petri conteniendo el PDA a diferentes pH.

Se sellaron cada placa con cinta adhesiva y se llevaron a 10° (congelador), 20° (incubadora) y 30 °C (incubadora) durante 10 días, cada día se tomaron medidas del desarrollo del halo de la *Phytophthora cinnamomi* Rands con un vernier.

3.2.2.4. Aislamiento de bacterias de la rizósfera

Para el aislamiento de bacterias se tomaron muestras de suelo de tres

sectores de cultivo de palto: Charsagua, Escapalaque y Asociación Siglo XXI.

Se utilizó 10 gramos de cada suelo de la rizósfera obtenidos al sacudir la raíz y se diluyó con 100 mL de agua destilada en un matraz por separado, agitándose vigorosamente.

Luego se hizo diluciones de 10^{-1} a 10^{-3} en eppendorf de 1 mL, se diluyó 100 μ l de la solución madre del suelo con 900 μ l de agua destilada estéril (ADE).

Posteriormente, con una micropipeta se tomaron 50 μ l de cada dilución de cada suelo y sembraron por estrías en placas Petri que contenían Agar Nutritivo (AN), medio de cultivo óptimo para el crecimiento de bacterias (23 g/L). Las placas Petri se colocaron en la incubadora a 28 °C y se observaron a los 4 días (Vidales, 2002).

Con un asa de Kolle se hizo un raspado y se diluyó en un eppendorf (1 mL) y se volvió a sembrar por estrías cada bacteria diferenciada, en medio AN hasta purificar la cepa de la bacteria.

Una vez purificadas las cepas se les realizó la Tinción Gram para diferenciar el tipo de bacteria.

Posteriormente se hizo un raspado de cada cepa identificada (A, B y C) y se diluyó en eppendorf conteniendo agua destilada como soluciones madre,

para realizar posteriormente diluciones de 10^{-1} ; 10^{-2} y 10^{-3} de cada cepa de bacterias para su siembra y efecto sobre la *Phytophthora cinnamomi* Rands.

3.2.2.5. Preparación de medio para el efecto de las bacterias en *P. cinnamomi* Rands

Para evaluar el efecto de cada cepa de bacterias, sobre *Phytophthora cinnamomi* Rands se prepararon medios de PDA, como se indica en el esquema del diseño experimental para los factores biológicos (Ver tabla 03) donde cada cepa tiene tres diluciones que efectuaron por triplicado.

Entonces se preparó 9 placas Petri con PDA, más una placa Petri como testigo la cual estará en las mismas condiciones pero sin la influencia de alguna cepa de bacteria. Por lo tanto, se pesaron 9,75 gramos en 250 mL de agua destilada, así para cada cepa de bacterias (A, B y C).

Con todos los medios asépticos en la cámara de siembra se cortaron discos de 1 cm de los bordes del halo de *Phytophthora cinnamomi* Rands y se sembraron en el centro de cada placa Petri.

Se utilizó papel filtro para hacer disco de 0,5 cm y se esterilizaron en una placa Petri forrada con papel aluminio y se llevaron a estufa a 60 °C por 3 horas.

Posteriormente, en la cámara de siembra con una pinza se tomaron discos de papel filtro estéril y se sumergieron en cada dilución (10^{-1} ; 10^{-2} y 10^{-3}) de cepas bacterianas (A, B y C) realizadas anteriormente, colocados cada uno en posición de los puntos cardinales, a una distancia de 1,5 cm del centro de la placa donde se encuentra el disco de *Phytophthora cinnamomi* Rands de 1cm.

Las placas que se tomaron como testigo, sólo conteniendo un disco de *Phytophthora cinnamomi* Rands de 1cm, mas no discos de papel filtro con bacterias.

Todas las placas fueron selladas con cinta adhesiva y se llevaron a la incubadora a 30 °C durante 10 días, y cada día se evaluó el radio del halo de *Phytophthora cinnamomi* Rands de cada tratamiento y de los testigos, aplicando la siguiente fórmula para tener conocimiento del % inhibición (De La Cruz, 2014).

$$\% \text{ inhibición} = \frac{\text{C. Test.} - \text{C. Trat.}}{\text{C. Test.}} * 100$$

Donde:

C, Test = Crecimiento del radio del halo del testigo

C. Trat. = Crecimiento del radio del halo del tratamiento

% Inhibición = Inhibición del halo de *P. cinnamomi* Rands

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. Aislamiento de *Phytophthora cinnamomi* Rands de raíces de palto

4.1.1. Morfología de las colonias

Las colonias de los aislados presentaron formaciones miceliales blanquecinas a modo de pétalos, dando lugar a una colonia tipo "roseta", con micelio aéreo escaso (Ver figura 06). En las observaciones realizadas con el microscopio, todos los aislados presentaron un micelio cenocítico muy ramificado (Figura 07).

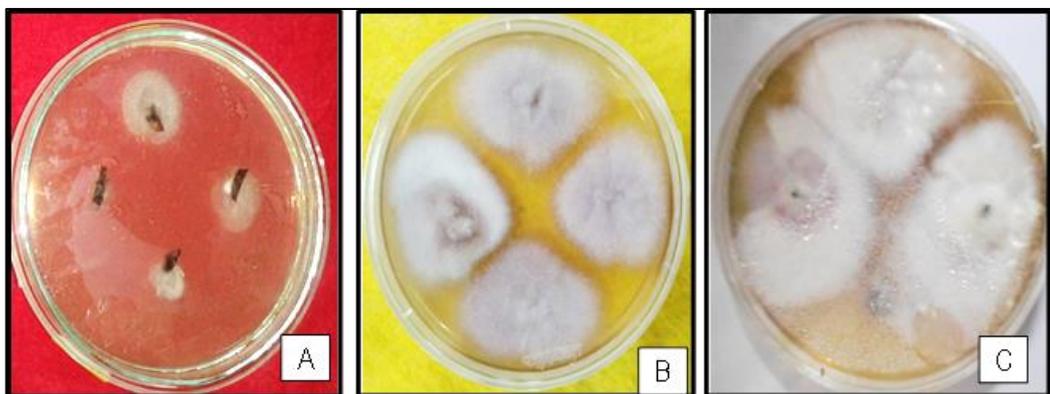


Figura 06: Imagen de crecimiento de colonias de *P. cinnamomi*

Fuente: Elaboración propia.

Morfología de crecimiento de las colonias de *Phytophthora cinnamomi* a 30 °C en el medio PDA: A) Colonia a los 2 días, B) Colonia a los 6 días, C) Colonia a los 10 días.

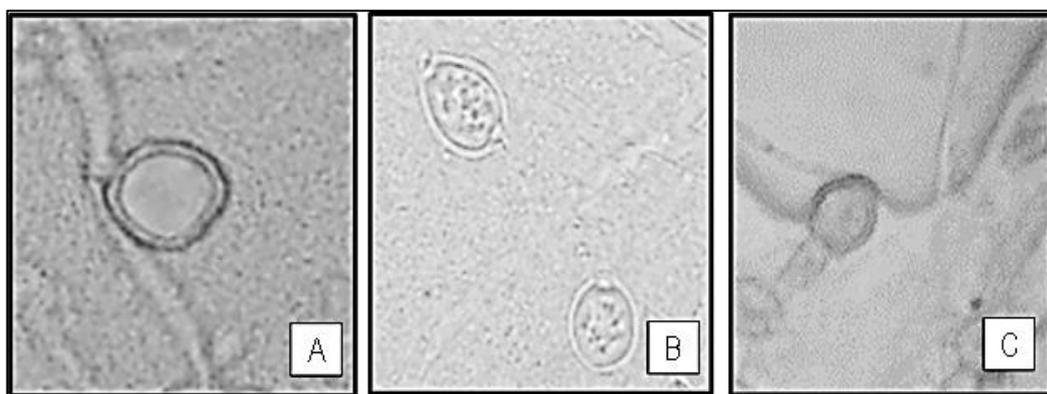


Figura 07: Imagen estructuras de *Phytophthora cinnamomi*

Fuente: Elaboración propia.

Phytophthora cinnamomi: A) Oospora, B) Esporangio ovoide a elipsoide con presencia de zoosporas internamente desarrolladas y, C) anteridio anfígeno.

4.2. Identificación de tipos de bacterias por Tinción Gram

La identificación de tipo de bacterias se realizó mediante la Tinción Gram (Anexo 1) y observación en el microscopio óptico (ver tabla 11).

Tabla 11: Tipos de bacterias aisladas de la rizósfera de paltos

Cepa de bacteria	Coloración	Morfología	Tinción Gram
A	Crema	Bacilos	(-)
B	Amarilla	Cocos	(-)
C	Amarilla	Bacilos	(-)

Fuente: Elaboración propia.

4.3. Efecto de los factores fisicoquímicos sobre el halo de *Phytophthora cinnamomi* Rands

Después de haber acondicionado pH (6,5; 8,0; 9,5) y temperaturas (10 °C, 20 °C, 30 °C) para *Phytophthora cinnamomi* Rands, se presenta a continuación el promedio de las medidas del radio del halo por día (10 días) (ver tabla 12); los resultados detallados de los tratamientos y repeticiones se aprecian en el Anexo 2.

Tabla 12: Promedios de radio del halo de *P. cinnamomi* por día

DÍAS	pH / Temperatura (°C) / Radio del halo (cm)								
	6,5			8,0			9,5		
	10	20	30	10	20	30	10	20	30
1	0,00	0,21	0,37	0,00	0,14	0,27	0,00	0,06	0,23
2	0,03	0,70	0,78	0,01	0,60	0,60	0,00	0,38	0,57
3	0,21	1,11	1,32	0,17	1,06	1,11	0,13	0,68	1,01
4	0,38	1,43	1,67	0,23	1,48	1,60	0,21	0,93	1,52
5	0,63	1,98	2,10	0,44	2,02	2,12	0,36	1,24	1,98
6	0,89	2,34	2,41	0,69	2,42	2,53	0,56	1,48	2,41
7	1,18	2,65	2,70	0,83	2,88	3,00	0,73	1,78	2,75
8	1,26	2,81	3,18	0,93	3,30	3,41	0,87	2,02	3,25
9	1,41	3,08	3,43	1,08	3,71	3,78	0,97	2,33	3,49
10	1,57	3,30	3,60	1,23	3,87	3,92	1,12	2,57	3,68

Fuente: Elaboración propia.

4.3.1. Efecto del pH (6,5; 8,0 y 9,5) sobre el halo de *Phytophthora cinnamomi*

Rands

El ANVA (Anexo 4) muestra que existe diferencia estadísticamente significativa a un nivel de confiabilidad (α) del 5 %, es decir que al menos un valor de pH influye en el crecimiento del halo de *Phytophthora cinnamomi* Rands.

Para establecer diferencia entre los tratamientos se realizó la Prueba de comparación de Tukey (Anexo 4), la cual indica que el menor promedio en pH

para inhibición del halo es 9,5 (ver Figura 8), manteniéndose así durante el periodo de evaluación (ver Figura 9).

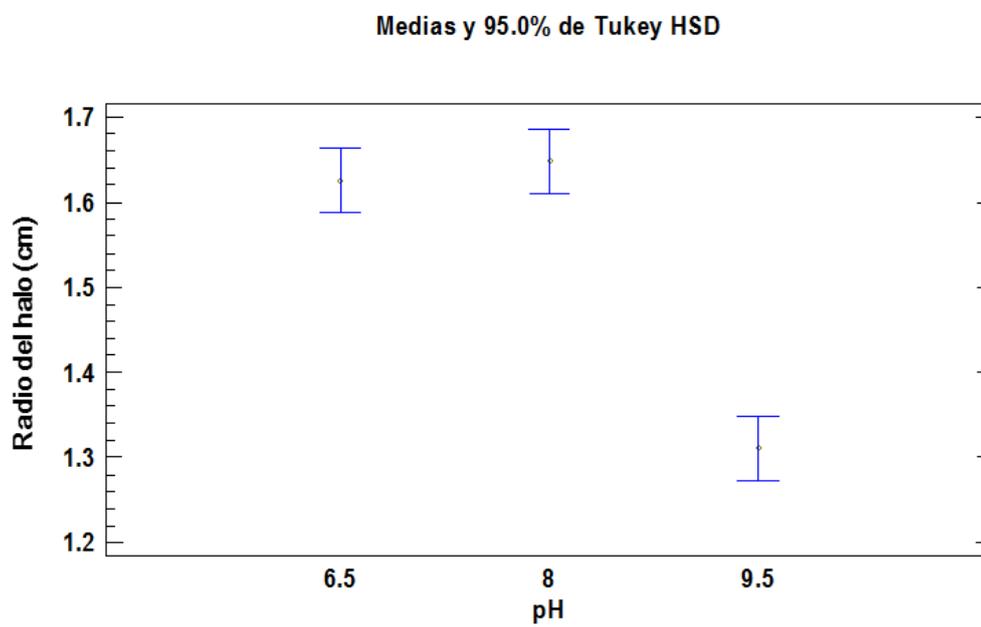


Figura 8: Gráfico de medias de pH sobre radio del halo de *P. cinnamomi*

Fuente: Elaboración propia.

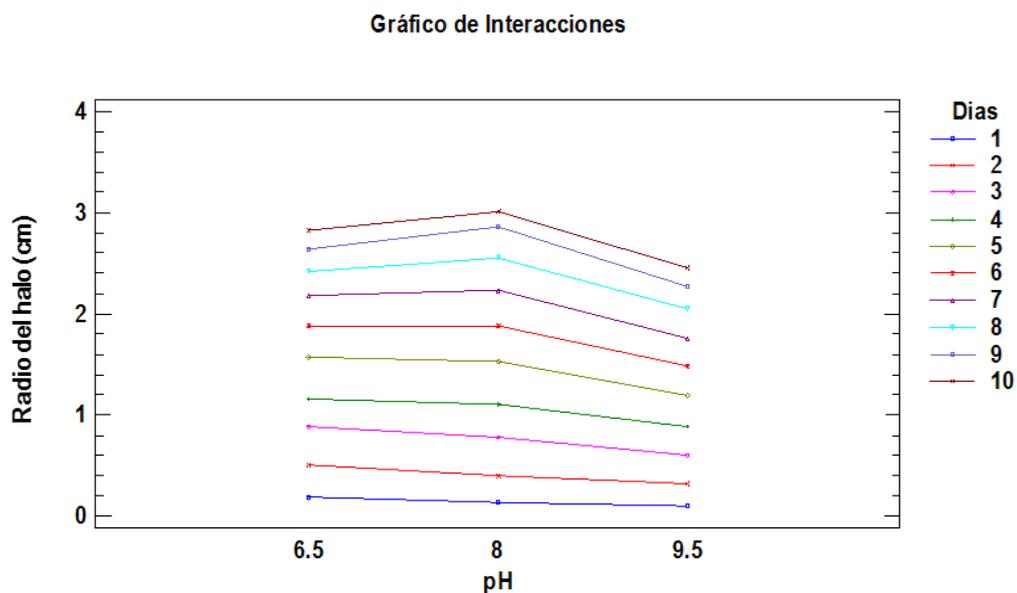


Figura 9: Gráfico de interacción entre pH y días

Fuente: Elaboración propia.

En la figura 9 se observa que el pH 9,5 es el que inhibe más el crecimiento de *Phytophthora cinnamomi* Rands, por el contrario, el pH 8,0 induce a su mayor crecimiento.

4.3.2. Efecto de la temperatura (10, 20, 30 °C) sobre el halo de *P. cinnamomi* Rands

En el ANVA (Anexo 4) se puede apreciar que existe diferencia estadísticamente significativa a un nivel de confiabilidad (α) del 5 %, es decir que al menos un valor de temperatura influye en el crecimiento del halo de *P. cinnamomi* Rands. Para establecer diferencia entre los tratamientos se realizó la

Prueba de comparación de Tukey (Anexo 4), la cual indica que el menor promedio en temperatura para la inhibición del halo es 10 °C (ver Figura 11), manteniéndose así durante el periodo de evaluación (ver Figura 10).

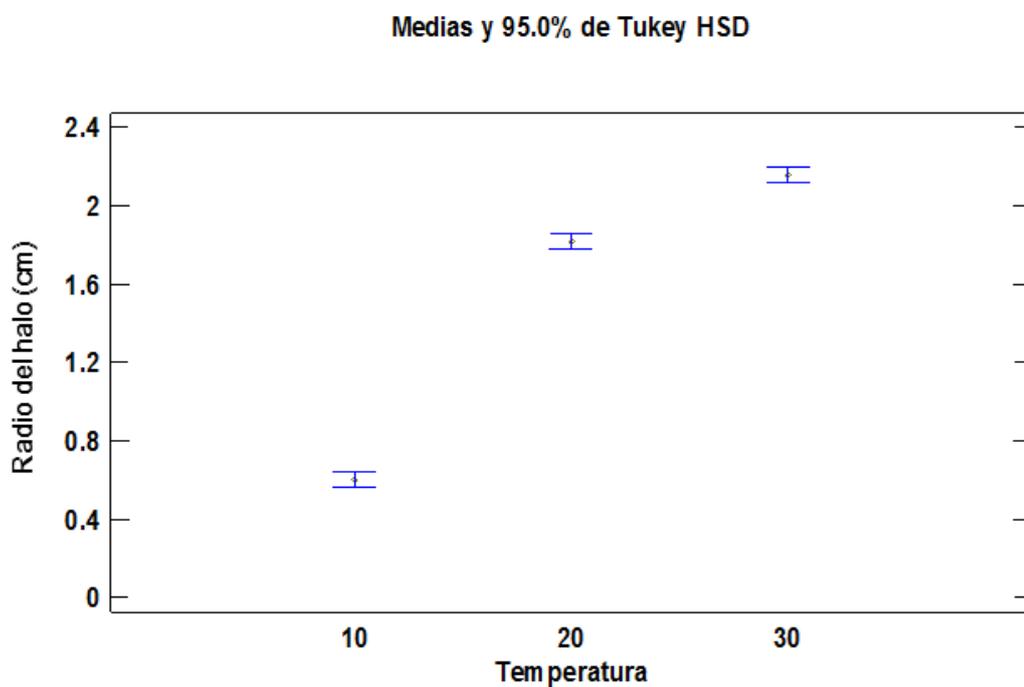


Figura 10: Gráfico de medias de temperatura

Fuente: Elaboración propia.

En la figura 11 se observa el gráfico de Interacción entre Temperatura y días, donde se muestra el crecimiento progresivo del radio del halo *P. cinnamomi* Rands durante 10 días, la temperatura que redujo el crecimiento fue 10 °C y la que provocó el mayor desarrollo fue los 30 °C.

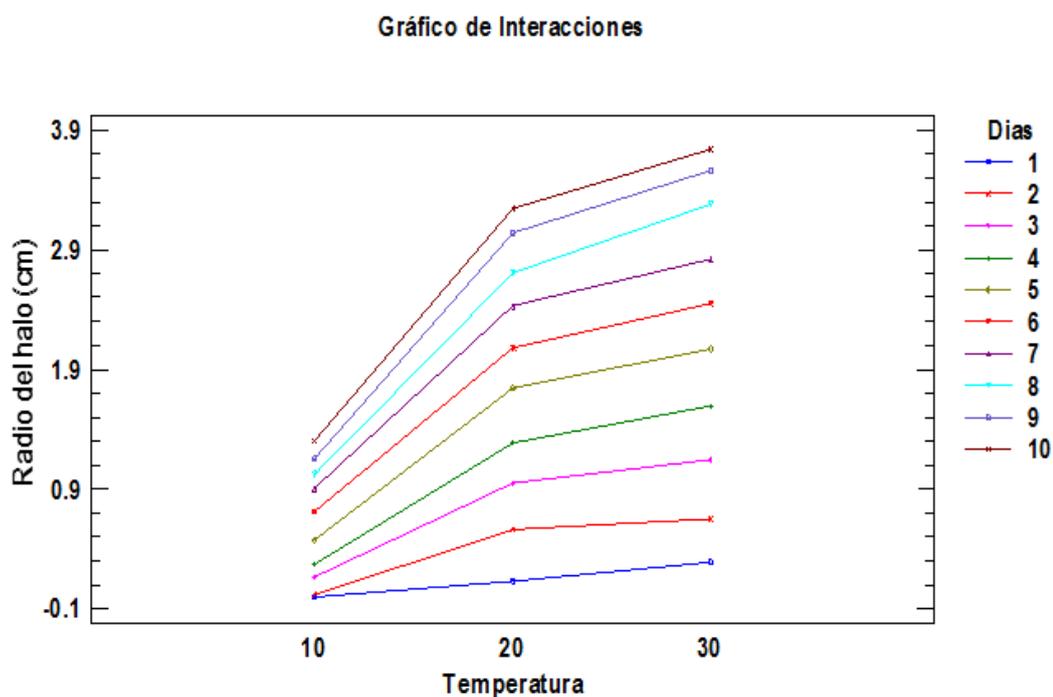


Figura 11: Gráfico de interacción entre temperatura y días

Fuente: Elaboración propia.

- **Interacción de temperatura (10 °C, 20 °C, 30 °C) y pH (6,5; 8,0; 9,5)**

La interacción entre los factores fisicoquímicos se muestra en la Figura 12, se observa que los valores que tuvieron más incidencia en la inhibición del halo, son el pH 9,5 a una temperatura de 10 °C.

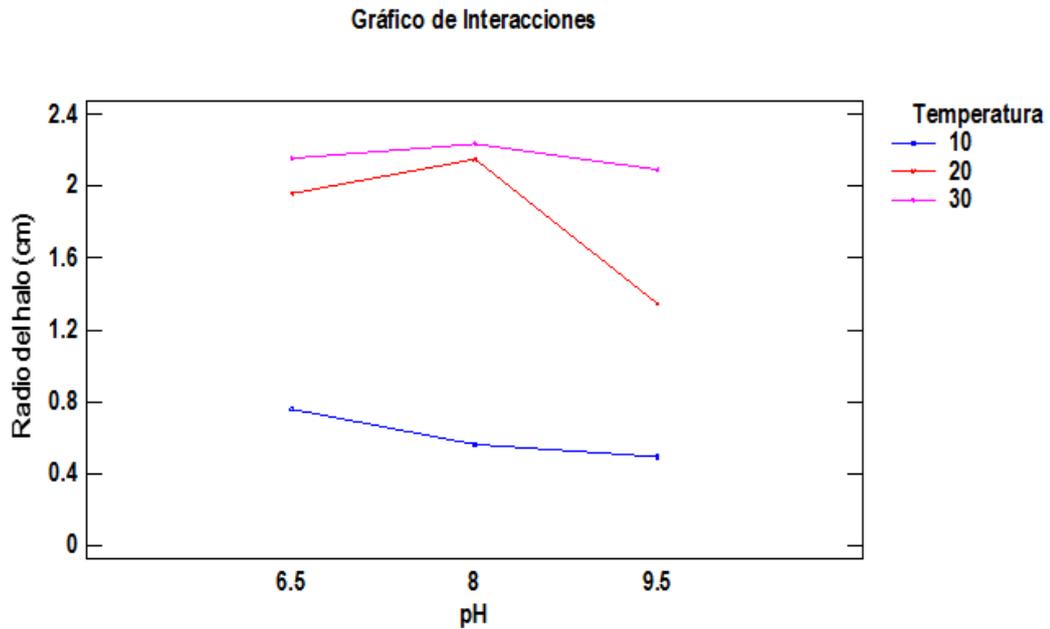


Figura 12: Gráfico de interacción de pH y °T sobre el crecimiento del halo

Fuente: Elaboración propia.

4.3.3. Efecto del periodo de evaluación (10 días) sobre el halo de *Phytophthora cinnamomi* Rands

En el gráfico de Medias de los días (ver Figura 13) se muestra el desarrollo del radio del halo de *P. cinnamomi* Rands durante 10 días, cada día fue aumentando el radio del halo hasta invadir todo el área de la placa Petri.

En el ANVA (Anexo 4) se puede apreciar que existe diferencia estadísticamente significativa a un nivel de confiabilidad (α) del 5 %, es decir que al menos un día influye en el crecimiento del halo de *Phytophthora cinnamomi* Rands.

Para establecer diferencia entre los tratamientos se realizó la Prueba de comparación de Tukey (Anexo 4), la cual indica que todos los días son diferentes.

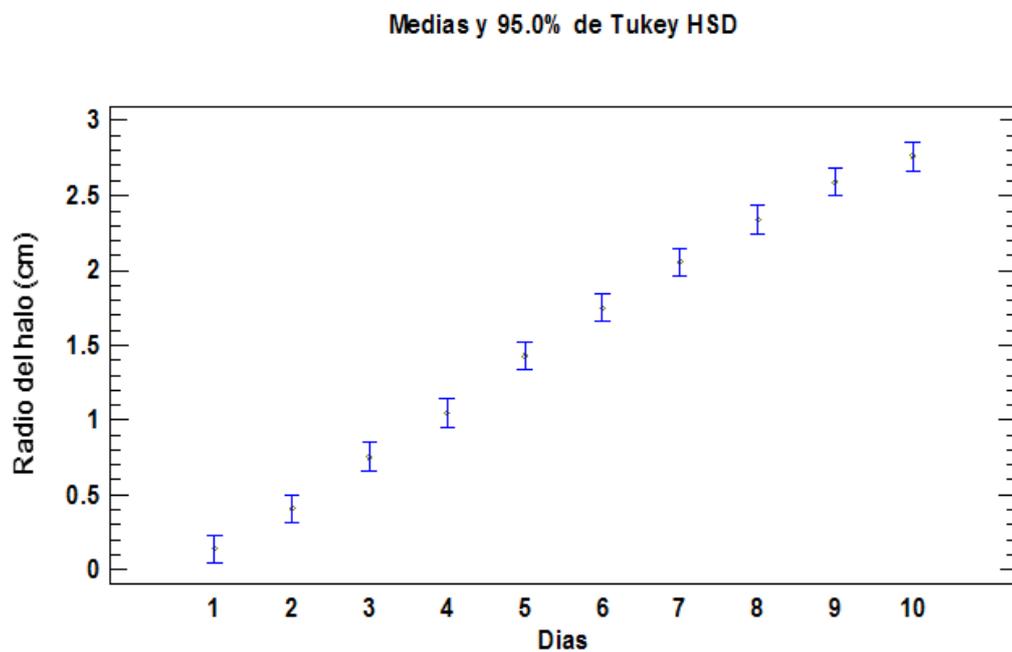


Figura 13: Gráfico de medias de los días

Fuente: Elaboración propia.

4.4. Efecto de los factores biológicos en el % inhibición de *Phytophthora cinnamomi* Rands

Después de haber sometido a la *Phytophthora cinnamomi* Rands con cepas de bacterias (A, B, C) a diferentes diluciones (10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3}), se realizaron mediciones del radio del halo por día (10 días) a los tratamientos y sus

respectivas replicas para calcular el % Inhibición de *P. cinnamomi* Rands (Anexo 3).

A continuación (ver tabla 13) se presenta los resultados promedio de % Inhibición de *P. cinnamomi* Rands por día.

Tabla 13: Resultados promedio de inhibición de *P. cinnamomi* Rands

DÍAS	Cepa de bacteria / Dilución / Inhibición (%)								
	A			B			C		
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3	0,00	1,52	0,00	0,00	0,00	6,06	3,03	0,00	4,55
4	4,24	5,88	10,71	0,82	0,00	6,68	9,36	4,02	4,91
5	27,13	32,52	37,04	29,42	16,27	22,46	37,18	33,30	24,46
6	26,18	42,12	39,17	38,82	21,53	21,93	43,54	38,53	24,85
7	30,81	44,59	38,99	40,94	24,83	22,92	42,38	41,78	29,92
8	38,48	43,90	33,57	32,60	19,60	13,46	29,72	38,98	20,73
9	39,27	31,54	24,82	20,38	10,29	9,37	16,47	27,50	10,08
10	35,42	28,58	25,42	12,08	8,75	9,58	15,42	26,25	8,33

Fuente: Elaboración propia.

4.4.1.Efecto de cepas bacterianas (A, B, C) en el % inhibición de *Phytophthora cinnamomi* Rands

En el ANVA (Anexo 5) se puede apreciar que existe diferencia estadísticamente significativa a un nivel de confiabilidad (α) del 5 %, es decir que al menos una cepa de bacterias influye en la inhibición de *Phytophthora cinnamomi* Rands.

Para establecer diferencia entre los tratamientos se realizó la Prueba de Comparación de Tukey (Anexo 5), la cual indica que el mayor promedio en las Cepas de bacterias para la inhibición de *P. cinnamomi* es la A (ver Figura 14), manteniéndose así durante el periodo de evaluación (ver Figura 15).

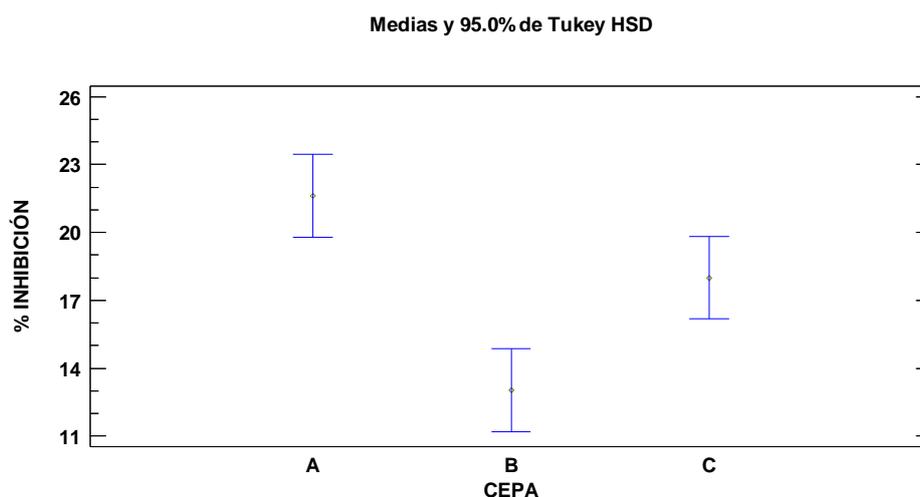


Figura 14: Gráfico de medias de cepa de bacterias

Fuente: Elaboración propia.

En la figura 15 se observa el gráfico de interacción entre las cepas y la inhibición de *P. cinnamomi* Rands durante los 10 días de evaluación.

Los dos primeros días no hubo inhibición debido a que recién se desarrollaba el halo de *P. cinnamomi* Rands, a partir del tercer día aumentaba progresivamente, siendo de mayor efecto la cepa A hasta el día 8, pero B y C empiezan a descender.

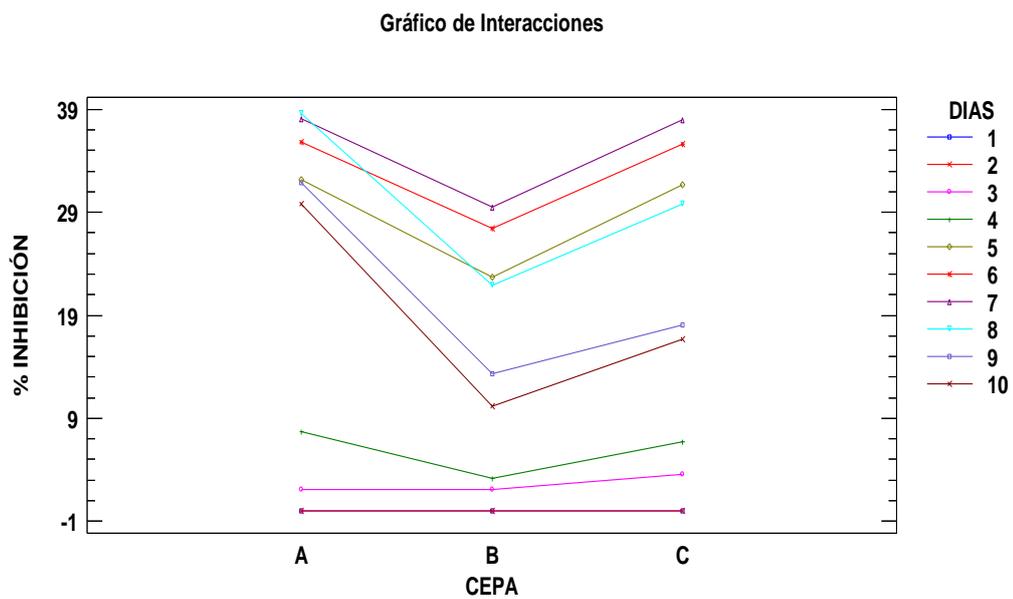


Figura 15: Gráfico de interacción entre cepa y % inhibición

Fuente: Elaboración propia.

4.4.2. Efecto de las diluciones de bacterias en el % inhibición de *Phytophthora cinnamomi* Rands

En el ANVA (Anexo 5) se puede apreciar que existe diferencia significativa a un nivel de confiabilidad (α) del 5 %, es decir que al menos una dilución de bacterias influye en la inhibición de *Phytophthora cinnamomi* Rands.

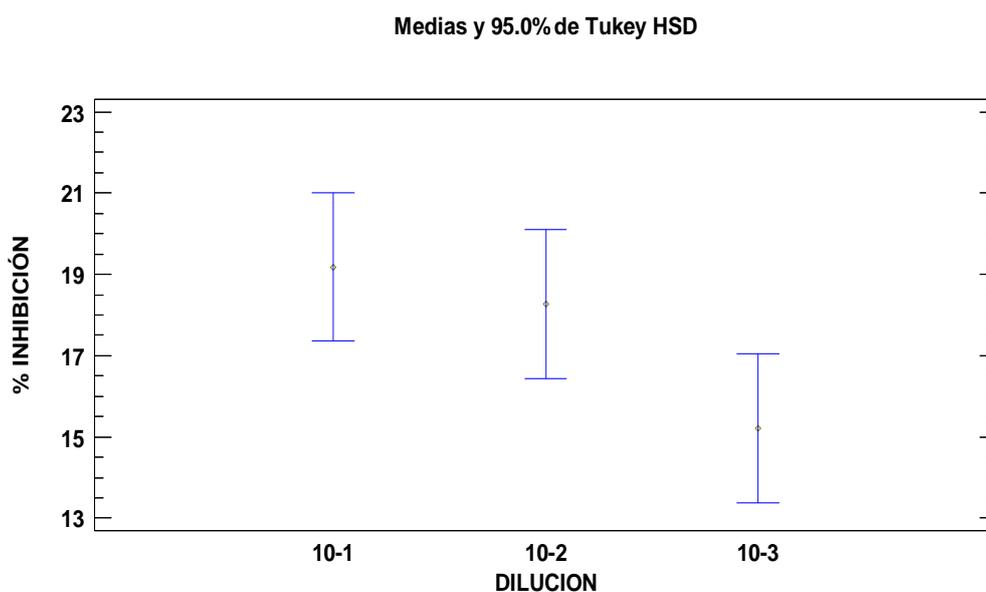


Figura 16: Gráfico de medias de dilución de bacterias

Fuente: Elaboración propia.

Para establecer diferencia entre los tratamientos se realizó la Prueba de Comparación de Tukey (Anexo 5), la cual indica que el mayor promedio en las diluciones de bacterias para el % inhibición de *Phytophthora cinnamomi* Rands

es 10^{-1} (ver Figura 16), manteniéndose así durante el periodo de evaluación (ver Figura 17).

En la figura 17 se observa el gráfico de Interacción entre las diluciones de las bacterias e inhibición del halo de *P. cinnamomi* Rands durante los 10 días de evaluación. Los dos primeros días aún se encontraba desarrollándose el halo de *P. cinnamomi*, y a partir del tercer día aumentó progresivamente la inhibición del halo de *P. cinnamomi* Rands, siendo la dilución de mayor efecto la 10^{-1} hasta el séptimo día.

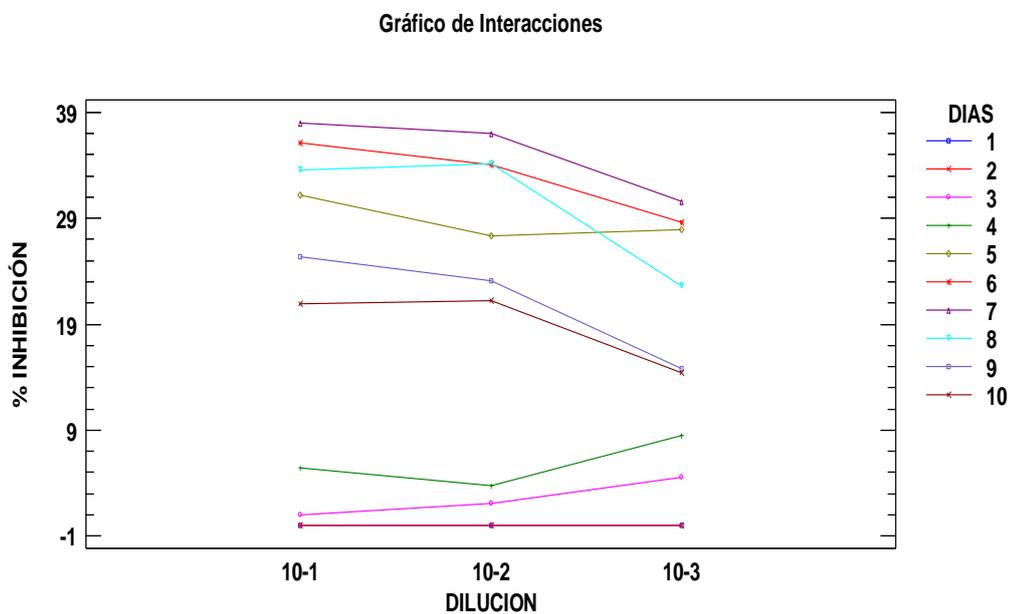


Figura 17: Gráfico de interacción entre dilución de bacterias y % inhibición

Fuente: Elaboración propia.

4.4.3.Efecto del periodo de evaluación (10 días) en la inhibición de *Phytophthora cinnamomi* Rands

En el gráfico de medias de los días donde se muestra el % inhibición del halo de *P. cinnamomi* Rands durante 10 días de evaluación (ver Figura 18).

En los dos primeros días no hubo % inhibición, debido a que recién se desarrollaba el radio del halo, hasta el tercer día, alcanzando el % inhibición más alto en el séptimo día, comenzando a descender al día siguiente.

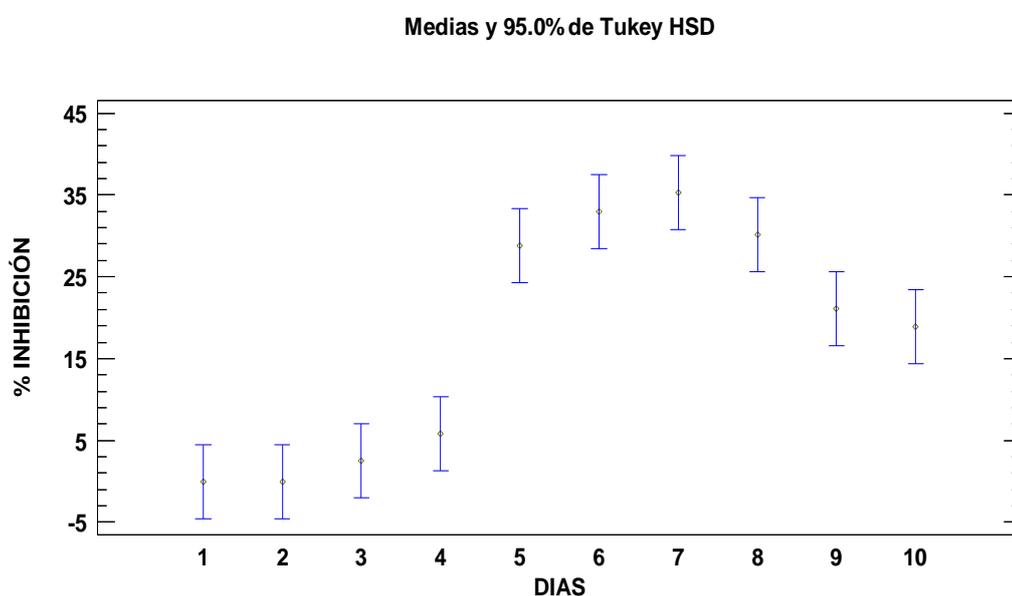


Figura 18: Gráfico de medias de los días

Fuente: Elaboración propia.

En el ANVA (Anexo 5) se puede apreciar que existe diferencia estadísticamente significativa a un nivel de confiabilidad (α) del 5 %, es decir que al menos un día influye en la inhibición de *Phytophthora cinnamomi* Rands.

La Prueba de rango Múltiple de Tukey (0,05) (Anexo 5) para los días, indica que los días 5, 8, 6, y 7 son iguales y donde se tuvieron los mayores porcentajes de inhibición del halo de *P. cinnamomi* Rands.

CAPÍTULO V

DISCUSIONES

5.1. Aislamiento de *Phytophthora cinnamomi* Rands de raíces de palto

5.1.1. Morfología de las colonias

En la figura 6 se puede apreciar las colonias de *Phytophthora cinnamomi* Rands en diferentes períodos de crecimiento con características propias del hongo, como especifica Erwin y Ribeiro (1996) y Zentmyer (1980) la colonia producida en PDA es en forma de rosa color blanco debido al crecimiento deprimido y algodonoso del micelio, tal y como fueron identificadas las colonias de *Phytophthora cinnamomi* Rands aisladas de los cultivos de palto.

En la figura 7 se muestran estructuras de *Phytophthora cinnamomi* Rands, como la Oospora, esporangio con presencia de zoosporas internamente desarrolladas. Y anteridio anfígeno, descritos anteriormente, concordando con las características descritas Erwin y Ribeiro (1996), Zamora y Casín (1986), y Zentmyer (1980).

5.2. Identificación de tipos de bacterias por Tinción Gram

Según la Tabla 11, las bacterias aisladas se clasificaron según su Tinción Gram (Anexo 1) y forma, al microscopio se observó la presencia de bacilos, en cepas A y C, además de cocos en la cepa B; coincidiendo con De La Cruz (2014) que aisló bacilos largos en suelos agrícolas de género *Bacillus spp.* como predominante; y con Guzmán (2011) que del aislamiento de 100 bacterias de suelos, el 80 % presentaron forma bacilar.

Coincidiendo también con Flores *et al.* (2007) que del aislamiento de bacterias de la rizósfera de palto sin síntomas de *Phytophthora cinnamomi*, encontró *Pseudomonas* que produjeron vacuolización y desintegración de hifas y otras inhibieron el crecimiento de *Phytophthora cinnamomi* Rands, como ocurrió en nuestro trabajo de investigación.

5.3. Efecto de los factores fisicoquímicos sobre el halo de *Phytophthora cinnamomi* Rands

Según la Tabla 12 se puede apreciar el efecto de los factores fisicoquímicos (pH y °T) sobre el halo de *Phytophthora cinnamomi* en medio PDA.

5.3.1. Efecto del pH (6,5; 8,0 y 9,5) sobre el halo de *Phytophthora cinnamomi*

Rands

En la Figura 8 se muestra que los tres pH (6,5; 8,0 y 9,5) provocaron el crecimiento del halo de *Phytophthora cinnamomi* a diferentes medidas, siendo el pH 9,5 que inhibió mejor su crecimiento y el pH 8,0 aceleró su desarrollo.

Al respecto Boccas y Laville (1976) señala que el rango permisible para el cultivo *in vitro* de *Phytophthora cinnamomi* se encuentra entre 3,5 y 10, siendo el crecimiento óptimo específico entre 4,5 y 5,5 a temperaturas de 25°C. Concordando con nuestros resultados, al estar dentro del rango especificado (3,5 -10), sin embargo no se asemeja al pH óptimo, que podría haber sido influenciado por la temperatura de incubación a 30°C que acelera la velocidad de crecimiento.

Según Zamora y Casín (1986) indica que el pH óptimo está comprendido entre 5 y 7, aunque a valores de pH de 3 y 9 también se ha producido germinación de las clamidosporas, siendo mayor el pH 9,5 de nuestro trabajo de investigación más alcalino, redujo el crecimiento de *Phytophthora cinnamomi* debido a la poca presencia de iones de hidrógeno que influyan en solubilidad de nutrientes (Holt *et al.*, 1994).

Ezziyani *et al.* (2004) los microorganismos crecen a pH entre 5 y 8, puesto que la acidificación del interior celular conduce a la pérdida del transporte de nutrientes, los microorganismos no pueden generar más energía de mantenimiento y, a una velocidad variable, se produce la muerte celular, de esta manera concuerda con nuestros resultados obtenidos que tiene como valor óptimo a pH 8,0 durante todo el periodo de evaluación (Ver figura 9); por lo contrario el pH 9,5 redujo el crecimiento del halo de *Phytophthora cinnamomi*.

5.3.2. Efecto de la temperatura (10 °C, 20 °C, 30 °C) sobre el halo de *P. cinnamomi* Rands

La influencia del factor Temperatura (10 °C, 20 °C y 30 °C) se muestra en la figura 10 que estimularon el crecimiento del halo de *Phytophthora cinnamomi* a diferentes medidas, siendo el de mayor influencia la temperatura de 30 °C y la de menor de 10 °C, concordando así con Mora *et al.* (1994) cuando la temperatura se eleva y existe humedad excesiva, las clamidosporas germinan y dan origen al micelio. El micelio origina los esporangios donde se formarán posteriormente las zoosporas.

Y con Boccas y Laville (1976) la temperatura para el crecimiento del micelio va desde 1 °C como mínima hasta los 37 °C como máxima temperatura de crecimiento activo, incluyendo a Hardham *et al.* (1991) que indica que el micelio se desarrolla entre 7,5 y 28 °C con un óptimo entre 17,5 y 19,5 °C. De acuerdo

con este trabajo de investigación se observa el desarrollo del micelio de *P. cinnamomi* desde 10 °C, temperatura que si bien ralentizó su crecimiento, observamos su pequeño crecimiento desde el segundo día de evaluación en algunos tratamientos (ver figura 11).

Zamora y Casín (1986) plantea un rango de temperatura óptima de 18 – 30 °C para la germinación de las clamidosporas, coincidiendo con Zentmyer (1985) que indica temperaturas fuera del rango óptimo, probablemente sean inhibitorias a la producción de zoosporas y esporangios, sumándose así Hardham *et al.* (1991) que indica que los esporangios se producen a temperaturas de 12 a 30 °C, las zoosporas se producen a temperaturas mayores de 18 °C. Concordando así con los resultados de nuestro trabajo de investigación donde identificamos clamidosporas y esporangios a una temperatura óptima de crecimiento de 30 °C.

Zentmyer (1985) cita que al elevar la temperatura del suelo superior a 34 °C se elimina el hongo *P. cinnamomi*, coincide con Vidales F. J. (2002) que señala mediante la solarización con el plástico cristalino la temperatura rebasa el punto crítico de 34 °C, lo cual causa la reducción de la densidad de la población *P. cinnamomi* en el suelo de rizósfera, nuestro trabajo de investigación tubo como temperatura máxima a 30 °C, no presentando alguna dificultad de desarrollo por lo contrario fue la temperatura óptima que desarrolló el micelio de *P. cinnamomi* rápidamente en 10 días a comparación de las otras temperaturas (10, 20 °C).

5.4. Efecto de la actividad bacteriana sobre el % inhibición del halo de *Phytophthora cinnamomi* Rands

Según la Tabla 13 se puede apreciar el efecto de los factores biológicos (bacteria-dilución) en el % inhibición de *Phytophthora cinnamomi* en medio PDA, que influyen en el crecimiento del halo del patógeno.

5.4.1. Efecto de Cepas Bacterianas (A, B, C) en el % inhibición de *Phytophthora cinnamomi* Rands

Para el factor de Cepas de Bacterias se observa en la Figura 14 que las tres cepas (A, B, C) inhibieron el crecimiento del halo de *Phytophthora cinnamomi* a diferentes porcentajes, siendo el de mayor % inhibición la cepa A, y la de menor % inhibición la cepa B, siendo así Eveleigh *et al.* (1986) explica que las bacterias excretan metabolitos en la rizósfera, como enzimas que participan en la lisis de la pared celular de las hifas de microorganismos fitopatógenos.

De La Cruz (2014) aisló bacterias con características antagónicas en suelos agrícolas, bacilos largos de género *Bacillus spp.* como predominante, concordando con la identificación de forma de las bacterias predominantes de nuestro trabajo de investigación; coincidiendo también con Guzmán (2011) que realizó el aislamiento de 100 bacterias de suelos y el 80 % presentaron forma bacilar y relativamente altas solubilizadoras de fósforo en los suelos agrícolas.

Asimismo nuestros resultados indicaron que la cepa de bacteria A, de forma bacilar y Gram negativa, tuvo un mayor % inhibición hasta el día 7 de la evaluación (Ver figura 15), que podría ser por tres razones, según Ezziyyani *et al.* (2003) las bacterias desplazan los fitopatógenos por: competición directa de espacio o por los nutrientes, producción de metabolitos antibióticos y parasitismo directo sobre los hongos fitopatógenos.

5.4.2.Efecto de las diluciones de bacterias en el % inhibición de *Phytophthora cinnamomi* Rands

La influencia del factor Dilución (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) se muestra en la figura 16 que inhibieron el crecimiento del halo de *Phytophthora cinnamomi* a diferentes medidas, siendo la de mayor % inhibición la dilución 10^{-1} y la de menor inhibición 10^{-3} .

De La Cruz (2014) realizó una mezcla de bacterias (MIX) con porcentajes de inhibición del 88 % en la concentración 1×10^6 UFC/ML, ya que a una concentración 1×10^8 todas tuvieron similar actividad. Comparando con nuestros resultados, el mayor % inhibición se dio a una dilución de 10^{-1} durante todo el periodo de evaluación (Ver figura 17), la más concentrada, es decir, a mayor concentración de bacterias el efecto sobre los hongos es más visible, esto se debe a la competencia por espacio y la mayor rapidez de crecimiento de las bacterias. Esta es una de las ventajas de estos organismos en el control

biológico, entre otras cualidades que presentan es la rapidez en el aprovechamiento de nutrientes, producción de sustancias inhibitoras (bacteriocinas), producción de endosporas que le permiten persistir en condiciones adversas, etc.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. Conclusiones

- Se aisló un total de 54 colonias donde todas fueron *P. Cinnamomi* provenientes de sectores agrícolas del distrito de Moquegua: Charsagua, El Rayo, Escapalaque, Asociación Siglo XXI y la Asociación Cambrune.
- La evaluación de los factores fisicoquímicos, concluyeron que la temperatura y pH que evidenciaron mayor crecimiento sobre el halo de *P. cinnamomi* fue pH 8,00 a 30 °C. Sin embargo los factores de pH 9,5 a 10 °C retardaron el crecimiento del halo de *P. cinnamomi*.
- La evaluación de los factores biológicos demostró que la cepa A (bacilo, Gram negativa) y una dilución de 10^{-1} provocó un mayor % inhibición sobre el halo de *P. cinnamomi*; y contrariamente, la cepa B (Cocos, Gram negativa) y una dilución de 10^{-3} produjo el menor % inhibición sobre el halo de *P. cinnamomi*.

6.2. Recomendaciones

- Se recomienda ampliar el área de muestreo para conocer la problemática de *cinnamomi* en los cultivos de palto de toda la región Moquegua.
- Aislar *P. cinnamomi* de otras partes del palto, como hojas, tallos y/o frutos.
- Aislar bacterias y hongos de la rizósfera de cultivos de paltos sanos, para identificar microorganismos que mantienen al cultivo sin la presencia de *P. cinnamomi*.
- Realizar la identificación molecular de cada bacteria antagónica aislada de los suelos.
- Realizar un control biológico in vitro, con las bacterias antagónicas identificadas, para comprobar su efectividad.
- Trabajar en una Cámara de flujo Laminar para evitar toda contaminación durante el proceso del trabajo de investigación.
- Realizar una mezcla adicional de todas las bacterias benéficas, cuando se decide realizar una formulación biológica, por las diferentes características

ambientales de donde fueron aisladas lo que brindaría una mejor acción por su buena adaptación.

- Brindar mayor acceso a tesistas y alumnos con trabajos de investigación a los laboratorios de la escuela profesional de Ingeniería Agroindustrial.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Agrios, G. N. (1985). Fitopatología. México D. F., Ed. Limusa. (p. 756).
- Barnett, H. & Hunter, B. (1972). Illustrated genera of imperfect fungi. (Ed. 3). Burgess Publishing Company. Minnesota E.U. (p. 241).
- Bartnicki-Garcia, S. and Wang, M. C. (1983). Biochemical aspects and morphogenesis in *Phytophthora* Jin: Erwin, D.; Bartnicki-Garcia, S. y Tsao. *Phytophthora: Its biology, taxonomy ecology and pathology*. Minnesota, (pp. 121-137).
- Boccas, B., & Laville, E. (1976). Les maladies a *Phytophthora* desagrumes. IRFA. Francia. Editions SETCO. (p. 162).
- Cadenas C. (2007). Fitopatógenos que afectan palta Hass y Fuerte en Lauricocha y Huanta. UNALM.
- CMI (Common wealth Mycological Institute) (1985). Manual para patólogos vegetales. Common wealth Agricultural Bureaux. London. (p. 438).
- Coffey, M. D. (1991). Strategies for integrated control of soil borne *Phytophthora* species. Cambridge University. Cambridge. (p. 447).

Cook R. J. y Baker K. F. (1983). The nature and a practice of biological control of pathogens, American Psychopathological Society. (p. 539).

De La Cruz, A. (2014). Caracterización de bacterias antagonistas para el control de hongos fitopatógenos in vitro. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, México. (pp.30 - 33).

DRAM (Dirección Regional Agraria de Moquegua), (2013). Anuario Estadístico Agropecuario de la región Moquegua, Cultivo de palto. (24-46).

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

Erwin, D. C. and Ribeiro, O. K. (1996). *Phytophthora* Diseases Worldwide. Minnesota, APS Press. (p. 562).

Eveleigh D., Demain A., Solomon N. (1986). *Trichoderma*. Biology of industrial microorganisms. (pp. 489-500).

Ezziyyani M., Requena M., Pérez-S. C. & Candela, M. (2004). Anales de Biología. Universidad de Murcia. España. (pp. 35-45).

Ezziyyani M, Requena M., Pérez S. C, Egea C & Candela M. (2003). Mecanismos de biocontrol de la «tristeza» del pimiento (*Capsicum annuum* L.) por microorganismos antagonistas. Actas de la XV Reunión de la Sociedad Española & VIII Congreso Hispano Luso de Fisiología Vegetal.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), (1998).

Disponible:

[http://www.fas.usda.gov/htp/horticulture/Avocados/Avocado%20Presentacion%202004%20\(short\).pdf](http://www.fas.usda.gov/htp/horticulture/Avocados/Avocado%20Presentacion%202004%20(short).pdf).

Flores C., Fernández B., Aguirre C. y Ridao A. (2007). Supresión de la podredumbre radical del palto en un suelo de Jujuy, Argentina. Actas VI Congreso Mundial del Aguacate. Viña Del Mar, Chile. (pp. 978-956).

Gisi, U., Zentmyer, G. and Klure, L. (1983). Production of sporangia by *Phytophthora cinnamomi* and *P. palmivora* in soils at different matric potentials. Phytopathology. (pp. 301-306).

Grant, B. R. y Byrt P. N., (1984). Root temperature effects on the growth of *Phytophthora cinnamomi* in the roots of *Eucalyptus marginata* y *E. calophylla*. Phytopathology. (pp. 179-184)

Grente, J. (1961). Lá maladie de l'encre du chataignier. *Annles Epiphyt* (pp.1 – 59).

Guzmán E. (2011). Aislamiento y caracterización de bacterias solubilizadoras de fósforo a partir de cuatro suelos de la provincia de Chimborazo, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. (pp. 36-40).

Hardham, A.R. (2005). *Phytophthora cinnamomi*. *Molecular Plant Pathology*. (pp. 589-604).

Hardham, A. R., Gubler F., Duniec J. (1991). A review of methods for the production and use of monoclonal antibodies to study zoospores plant pathogens. (pp. 305-318).

Hernández, 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 (1985).

Ho – Hing, H. (1990). *Phytophthora*. *Bot Bull Academia Sinica. Taiwan* (pp. 89 – 106).

Ho, H. and Zentmyer, G. (1977). Morphology of *Phytophthora cinnamomi*. *Mycology* (pp. 701-713).

- Ho, H. (1992). Key to the species of *Phytophthora* in Taiwan. Plant Pathol. INIFAP. 1996. Programa nacional de investigación en aguacate. Documento de circulación interna. Editorial SAGAR. México D. F. (pp. 104- 109).
- Holt, J. G., Krieg N.R., Sneath P., Staley J.R. and S.T. W. (1994). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, (Edition 9th), Editorial The Williams and Wilkins. Baltimore, USA.
- INEI (2014). Panorama Económico Departamental – Informe Técnico N°11, (p. 19).
- Lamour K. (2013). *Phytophthora* a Global perspective, University of Tennessee. Knoxville, USA. (p. 197).
- Latorre B. (1988). Problemas atribuidos a *Phytophthora* en uva de mesa. (pp. 15 -17).
- Madigan M., Martinko, J., Parker, J. (2004). Brock. Biología de los microorganismos. (Ed. 10a.). Rev. Pearson Education, S. A. Madrid. (p. 1096).

MINAG (2007). Direcciones Regionales de Agricultura, Anuario Estadístico Agropecuario 2007.

MINSA (2009). Tablas Peruanas de Composición de Alimentos. (Ed. 8ª). Lima. (pp. 26 – 27).

Mora, A, Téliz D., Etchevers J.D, 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. (pp. 51 - 62).

Oudemans, P., y Coffey. M. (1991). Isozyme comparison within and among worldwide sources of three morphologically distinct species of *Phytophthora*. Mycol. Res. (pp. 19-309).

Pérez R.M. (2008). Significant Avocado diseases caused by fungi and Oomycetes. The European Journal of Plant Science and Biotechnology. (pp.1, 24).

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

Ristaino, J. B. and Gumpertz, M.L. (2000). New frontiers in the study of dispersal and spatial analysis of epidemics caused by species in the genus *Phytophthora*. *Ann. Rev. Phytopathol.* (pp. 541-576).

Sánchez A. K., 2004. Perfil de Mercado de la Palta – Cajamarca. (pp. 10 -12).

Sánchez, M. E., Andicoberry S., Trapero A. (2004). Patogenicidad de *Phytophthora* sp. causantes de podredumbre radical de *Quercus ilex* ssp. *ballota* en viveros forestales, Bol. San. Veg. Plagas. (pp. 391, 385-401).

SENAMHI, (2006). Boletín Técnico Regional Moquegua – Tacna (Abril) (2009).

Sierra Exportadora (2015), disponible en: <http://www.sierraexportadora.gob.pe/peru-debe-apuntar-por-el-aseguramiento-de-la-calidad-de-la-palta-hass-para-entrar-mas-mercados-internacionales/>

Stamps, D. J., Waterhouse, G. M., New hook, F. J., and Hall, G. S. (1990). Revised tabular key to the species of *Phytophthora*. England (p. 162).

Tamayo P. J. (2007). Enfermedades del aguacate. Revista Politécnica, (pp. 52-71).

Vidales F. J., (2002), Efecto de factores físico químicos sobre la actividad microbiana de la rizósfera del aguacatero (*Persea americana* Mili) para el control de *Phytophthora cinnamomi* (Rands), Universidad de Colima. Colima, México. (pp. 76-78).

Weste, G. (1994). Impact of *Phytophthora* species on native vegetation of Australia and Papua, New Guinea. Australia. Plant Pathol. (pp. 190-209).

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

Zentmyer, G. A. (1985). Origen and distribution of *Phytophthora cinnamomi* Cal. Avocado Soc. (pp. 89-94).

Zentmyer G. A. (1984). Avocado diseases. Tropical Pest Management, (pp. 388-400).

Zentmyer, G. A. (1983). The world of *Phytophthora* in: Erwin, D.; Bartnicki-Garcia, S. y Tsao, P. Eds. *Phytophthora: Its biology, taxonomy ecology and pathology*. Minnesota, APS Press. (pp. 1-7).

Zentmyer, G. A. (1980). *Phytophthora Cinnamomi* and the disease it causes.
Minnesota, APS Press. (p. 96).

Zentmyer, G. A. Paulus, A. O.; Burns, R. M. (1967). Avocado root rot Calif. Agric.
(p. 16).

ANEXOS

Anexo 1

Bacterias aisladas para % inhibición *P. cinnamomi* Rands

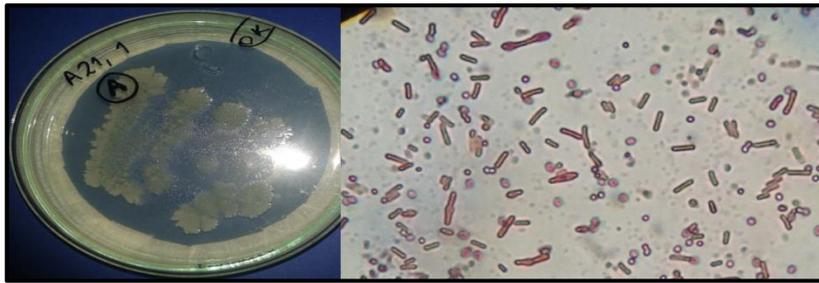


Foto 01: Cepa de bacteria A, bacilo Gram negativo

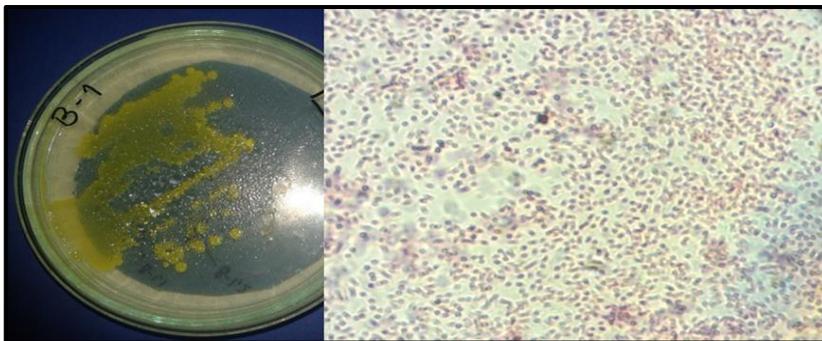


Foto 02: Cepa de bacteria B, cocos Gram negativo



Foto 03: Cepa de bacteria C, bacilo Gram negativo

Anexo 2

Resultados del efecto del pH, °T y días

Tabla 1A: Efecto del pH y °T en el desarrollo del halo de la *Phytophthora cinnamomi* Rands durante 10 días, aislada de cultivo de palto del distrito de Moquegua.

Día	pH	°T (°C)	Radio del halo (cm)	Día	pH	°T (°C)	Radio del halo (cm)
1	6.5	10	0,00	2	6,5	10	0,05
1	6,5	10	0,00	2	6,5	10	0,03
1	6,5	10	0,00	2	6,5	10	0,03
1	6,5	20	0,12	2	6,5	20	0,70
1	6,5	20	0,25	2	6,5	20	0,70
1	6,5	20	0,25	2	6,5	20	0,70
1	6,5	30	0,35	2	6,5	30	0,78
1	6,5	30	0,40	2	6,5	30	0,80
1	6,5	30	0,35	2	6,5	30	0,78
1	8,0	10	0,00	2	8,0	10	0,03
1	8,0	10	0,00	2	8,0	10	0,00
1	8,0	10	0,00	2	8,0	10	0,00
1	8,0	20	0,12	2	8,0	20	0,58
1	8,0	20	0,20	2	8,0	20	0,63
1	8,0	20	0,10	2	8,0	20	0,60
1	8,0	30	0,25	2	8,0	30	0,45
1	8,0	30	0,30	2	8,0	30	0,65
1	8,0	30	0,25	2	8,0	30	0,70
1	9,5	10	0,00	2	9,5	10	0,00
1	9,5	10	0,00	2	9,5	10	0,00
1	9,5	10	0,00	2	9,5	10	0,00
1	9,5	20	0,05	2	9,5	20	0,35
1	9,5	20	0,02	2	9,5	20	0,35
1	9,5	20	0,10	2	9,5	20	0,45
1	9,5	30	0,20	2	9,5	30	0,53
1	9,5	30	0,30	2	9,5	30	0,73
1	9,5	30	0,20	2	9,5	30	0,45

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 1B: Efecto del pH y °T en el desarrollo del halo de la *Phytophthora cinnamomi* Rands durante 10 días, aislada de cultivo de palto del distrito de Moquegua.

Día	pH	°T (°C)	Radio del halo (cm)	Día	pH	°T (°C)	Radio del halo (cm)
3	6,5	10	0,28	4	6,5	10	0,50
3	6,5	10	0,20	4	6,5	10	0,35
3	6,5	10	0,16	4	6,5	10	0,30
3	6,5	20	1,15	4	6,5	20	1,40
3	6,5	20	1,10	4	6,5	20	1,40
3	6,5	20	1,08	4	6,5	20	1,50
3	6,5	30	1,28	4	6,5	30	1,65
3	6,5	30	1,33	4	6,5	30	1,65
3	6,5	30	1,35	4	6,5	30	1,70
3	8,0	10	0,25	4	8,0	10	0,35
3	8,0	10	0,13	4	8,0	10	0,15
3	8,0	10	0,13	4	8,0	10	0,20
3	8,0	20	1,05	4	8,0	20	1,40
3	8,0	20	1,10	4	8,0	20	1,45
3	8,0	20	1,03	4	8,0	20	1,60
3	8,0	30	1,05	4	8,0	30	1,50
3	8,0	30	1,10	4	8,0	30	1,60
3	8,0	30	1,18	4	8,0	30	1,70
3	9,5	10	0,15	4	9,5	10	0,22
3	9,5	10	0,13	4	9,5	10	0,20
3	9,5	10	0,10	4	9,5	10	0,20
3	9,5	20	0,68	4	9,5	20	0,90
3	9,5	20	0,55	4	9,5	20	0,80
3	9,5	20	0,80	4	9,5	20	1,10
3	9,5	30	0,95	4	9,5	30	1,40
3	9,5	30	1,28	4	9,5	30	1,75
3	9,5	30	0,80	4	9,5	30	1,40

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 1C: Efecto del pH y °T en el desarrollo del halo de la *Phytophthora cinnamomi* Rands durante 10 días, aislada de cultivo de palto del distrito de Moquegua.

Día	pH	°T (°C)	Radio del halo (cm)	Día	pH	°T (°C)	Radio del halo (cm)	Día	pH	°T (°C)	Radio del halo (cm)
5	6,5	10	0,80	6	6,5	10	1,05	7	6,5	10	1,28
5	6,5	10	0,63	6	6,5	10	0,85	7	6,5	10	1,28
5	6,5	10	0,46	6	6,5	10	0,78	7	6,5	10	0,98
5	6,5	20	2,08	6	6,5	20	2,43	7	6,5	20	2,63
5	6,5	20	1,85	6	6,5	20	2,20	7	6,5	20	2,55
5	6,5	20	2,00	6	6,5	20	2,40	7	6,5	20	2,76
5	6,5	30	2,05	6	6,5	30	2,28	7	6,5	30	2,58
5	6,5	30	2,05	6	6,5	30	2,44	7	6,5	30	2,83
5	6,5	30	2,20	6	6,5	30	2,53	7	6,5	30	2,70
5	8,0	10	0,64	6	8,0	10	0,85	7	8,0	10	1,03
5	8,0	10	0,38	6	8,0	10	0,63	7	8,0	10	0,75
5	8,0	10	0,30	6	8,0	10	0,59	7	8,0	10	0,70
5	8,0	20	2,03	6	8,0	20	2,50	7	8,0	20	3,00
5	8,0	20	1,88	6	8,0	20	2,29	7	8,0	20	2,71
5	8,0	20	2,15	6	8,0	20	2,48	7	8,0	20	2,93
5	8,0	30	2,05	6	8,0	30	2,45	7	8,0	30	2,98
5	8,0	30	2,09	6	8,0	30	2,53	7	8,0	30	2,95
5	8,0	30	2,23	6	8,0	30	2,63	7	8,0	30	3,08
5	9,5	10	0,38	6	9,5	10	0,65	7	9,5	10	0,84
5	9,5	10	0,36	6	9,5	10	0,58	7	9,5	10	0,75
5	9,5	10	0,33	6	9,5	10	0,45	7	9,5	10	0,60
5	9,5	20	1,10	6	9,5	20	1,30	7	9,5	20	1,55
5	9,5	20	1,05	6	9,5	20	1,23	7	9,5	20	1,45
5	9,5	20	1,58	6	9,5	20	1,90	7	9,5	20	2,35
5	9,5	30	1,90	6	9,5	30	2,38	7	9,5	30	2,83
5	9,5	30	2,28	6	9,5	30	2,75	7	9,5	30	3,10
5	9,5	30	1,78	6	9,5	30	2,10	7	9,5	30	2,33

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 1D: Efecto del pH y °T en el desarrollo del halo de la *Phytophthora cinnamomi* Rands durante 10 días, aislada de cultivo de palto del distrito de Moquegua.

Día	pH	°T (°C)	Radio del halo (cm)	Día	pH	°T (°C)	Radio del halo (cm)	Día	pH	°T (°C)	Radio del halo (cm)
8	6,5	10	1,41	9	6,5	10	1,60	10	6,5	10	1,72
8	6,5	10	1,21	9	6,5	10	1,38	10	6,5	10	1,50
8	6,5	10	1,15	9	6,5	10	1,25	10	6,5	10	1,50
8	6,5	20	2,70	9	6,5	20	3,00	10	6,5	20	3,00
8	6,5	20	2,70	9	6,5	20	2,95	10	6,5	20	3,30
8	6,5	20	3,03	9	6,5	20	3,30	10	6,5	20	3,60
8	6,5	30	2,95	9	6,5	30	3,00	10	6,5	30	3,00
8	6,5	30	3,25	9	6,5	30	3,58	10	6,5	30	3,90
8	6,5	30	3,35	9	6,5	30	3,70	10	6,5	30	3,90
8	8,0	10	1,21	9	8,0	10	1,38	10	8,0	10	1,50
8	8,0	10	0,78	9	8,0	10	0,95	10	8,0	10	1,10
8	8,0	10	0,80	9	8,0	10	0,93	10	8,0	10	1,10
8	8,0	20	3,35	9	8,0	20	3,90	10	8,0	20	4,05
8	8,0	20	3,29	9	8,0	20	3,68	10	8,0	20	4,00
8	8,0	20	3,25	9	8,0	20	3,55	10	8,0	20	3,55
8	8,0	30	3,40	9	8,0	30	3,70	10	8,0	30	3,75
8	8,0	30	3,38	9	8,0	30	3,80	10	8,0	30	4,00
8	8,0	30	3,46	9	8,0	30	3,83	10	8,0	30	4,00
8	9,5	10	1,00	9	9,5	10	1,13	10	9,5	10	1,20
8	9,5	10	0,93	9	9,5	10	1,05	10	9,5	10	1,15
8	9,5	10	0,68	9	9,5	10	0,73	10	9,5	10	1,00
8	9,5	20	1,73	9	9,5	20	1,95	10	9,5	20	2,15
8	9,5	20	1,66	9	9,5	20	1,93	10	9,5	20	2,15
8	9,5	20	2,68	9	9,5	20	3,13	10	9,5	20	3,40
8	9,5	30	3,45	9	9,5	30	3,75	10	9,5	30	3,95
8	9,5	30	3,53	9	9,5	30	3,60	10	9,5	30	3,60
8	9,5	30	2,78	9	9,5	30	3,13	10	9,5	30	3,50

Fuente: Elaboración propia (2015).

Anexo 3

Resultados de los efectos de bacterias, diluciones y días

Tabla 2A: Efecto de bacterias y diluciones en el desarrollo del halo de la *Phytophthora cinnamomi* Rands durante 10 días.

DÍAS	CEPA	DILUCIÓN	% INHIBICIÓN	DÍAS	CEPA	DILUCIÓN	% INHIBICIÓN
1	A	10 ⁻¹	0	2	A	10 ⁻¹	0
1	A	10 ⁻¹	0	2	A	10 ⁻¹	0
1	A	10 ⁻¹	0	2	A	10 ⁻¹	0
1	A	10 ⁻²	0	2	A	10 ⁻²	0
1	A	10 ⁻²	0	2	A	10 ⁻²	0
1	A	10 ⁻²	0	2	A	10 ⁻²	0
1	A	10 ⁻³	0	2	A	10 ⁻³	0
1	A	10 ⁻³	0	2	A	10 ⁻³	0
1	A	10 ⁻³	0	2	A	10 ⁻³	0
1	B	10 ⁻¹	0	2	B	10 ⁻¹	0
1	B	10 ⁻¹	0	2	B	10 ⁻¹	0
1	B	10 ⁻¹	0	2	B	10 ⁻¹	0
1	B	10 ⁻²	0	2	B	10 ⁻²	0
1	B	10 ⁻²	0	2	B	10 ⁻²	0
1	B	10 ⁻²	0	2	B	10 ⁻²	0
1	B	10 ⁻³	0	2	B	10 ⁻³	0
1	B	10 ⁻³	0	2	B	10 ⁻³	0
1	B	10 ⁻³	0	2	B	10 ⁻³	0
1	C	10 ⁻¹	0	2	C	10 ⁻¹	0
1	C	10 ⁻¹	0	2	C	10 ⁻¹	0
1	C	10 ⁻¹	0	2	C	10 ⁻¹	0
1	C	10 ⁻²	0	2	C	10 ⁻²	0
1	C	10 ⁻²	0	2	C	10 ⁻²	0
1	C	10 ⁻²	0	2	C	10 ⁻²	0
1	C	10 ⁻³	0	2	C	10 ⁻³	0
1	C	10 ⁻³	0	2	C	10 ⁻³	0
1	C	10 ⁻³	0	2	C	10 ⁻³	0

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 2B: Efecto de bacterias y diluciones en el desarrollo del halo de la *Phytophthora cinnamomi* Rands durante 10 días.

DÍAS	CEPA	DILUCIÓN	% INHIBICIÓN	DÍAS	CEPA	DILUCIÓN	% INHIBICIÓN
3	A	10 ⁻¹	0,00	4	A	10 ⁻¹	1,56
3	A	10 ⁻¹	0,00	4	A	10 ⁻¹	9,60
3	A	10 ⁻¹	0,00	4	A	10 ⁻¹	1,56
3	A	10 ⁻²	0,00	4	A	10 ⁻²	8,04
3	A	10 ⁻²	9,09	4	A	10 ⁻²	6,47
3	A	10 ⁻²	0,00	4	A	10 ⁻²	3,13
3	A	10 ⁻³	0,00	4	A	10 ⁻³	0,00
3	A	10 ⁻³	9,09	4	A	10 ⁻³	22,99
3	A	10 ⁻³	0,00	4	A	10 ⁻³	16,29
3	B	10 ⁻¹	0,00	4	B	10 ⁻¹	4,69
3	B	10 ⁻¹	0,00	4	B	10 ⁻¹	0,00
3	B	10 ⁻¹	0,00	4	B	10 ⁻¹	3,13
3	B	10 ⁻²	0,00	4	B	10 ⁻²	0,00
3	B	10 ⁻²	0,00	4	B	10 ⁻²	0,00
3	B	10 ⁻²	0,00	4	B	10 ⁻²	0,00
3	B	10 ⁻³	9,09	4	B	10 ⁻³	4,91
3	B	10 ⁻³	9,09	4	B	10 ⁻³	15,85
3	B	10 ⁻³	0,00	4	B	10 ⁻³	0,00
3	C	10 ⁻¹	0,00	4	C	10 ⁻¹	6,25
3	C	10 ⁻¹	0,00	4	C	10 ⁻¹	9,60
3	C	10 ⁻¹	9,09	4	C	10 ⁻¹	12,23
3	C	10 ⁻²	0,00	4	C	10 ⁻²	3,13
3	C	10 ⁻²	9,09	4	C	10 ⁻²	6,25
3	C	10 ⁻²	0,00	4	C	10 ⁻²	6,25
3	C	10 ⁻³	0,00	4	C	10 ⁻³	12,95
3	C	10 ⁻³	9,09	4	C	10 ⁻³	3,57
3	C	10 ⁻³	4,55	4	C	10 ⁻³	0,00

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 2C: Efecto de bacterias y diluciones en el desarrollo del halo de la *Phytophthora cinnamomi* Rands durante 10 días.

DÍAS	CEPA	DILUCIÓN	% INHIBICIÓN	DÍAS	CEPA	DILUCIÓN	% INHIBICIÓN
5	A	10 ⁻¹	27,87	6	A	10 ⁻¹	38,13
5	A	10 ⁻¹	25,65	6	A	10 ⁻¹	2,29
5	A	10 ⁻¹	27,87	6	A	10 ⁻¹	38,13
5	A	10 ⁻²	34,85	6	A	10 ⁻²	44,12
5	A	10 ⁻²	32,52	6	A	10 ⁻²	42,12
5	A	10 ⁻²	30,19	6	A	10 ⁻²	40,12
5	A	10 ⁻³	22,81	6	A	10 ⁻³	25,20
5	A	10 ⁻³	46,48	6	A	10 ⁻³	54,10
5	A	10 ⁻³	41,83	6	A	10 ⁻³	38,22
5	B	10 ⁻¹	32,52	6	B	10 ⁻¹	40,21
5	B	10 ⁻¹	25,54	6	B	10 ⁻¹	36,13
5	B	10 ⁻¹	30,19	6	B	10 ⁻¹	40,12
5	B	10 ⁻²	23,27	6	B	10 ⁻²	22,25
5	B	10 ⁻²	16,23	6	B	10 ⁻²	28,15
5	B	10 ⁻²	9,31	6	B	10 ⁻²	14,18
5	B	10 ⁻³	20,89	6	B	10 ⁻³	28,24
5	B	10 ⁻³	25,54	6	B	10 ⁻³	26,24
5	B	10 ⁻³	20,94	6	B	10 ⁻³	11,32
5	C	10 ⁻¹	34,85	6	C	10 ⁻¹	42,21
5	C	10 ⁻¹	37,18	6	C	10 ⁻¹	45,16
5	C	10 ⁻¹	39,50	6	C	10 ⁻¹	43,25
5	C	10 ⁻²	30,19	6	C	10 ⁻²	40,12
5	C	10 ⁻²	34,85	6	C	10 ⁻²	35,18
5	C	10 ⁻²	34,85	6	C	10 ⁻²	40,30
5	C	10 ⁻³	30,41	6	C	10 ⁻³	22,16
5	C	10 ⁻³	23,21	6	C	10 ⁻³	30,14
5	C	10 ⁻³	19,75	6	C	10 ⁻³	22,25

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 2D: Efecto de bacterias y diluciones en el desarrollo del halo de la *Phytophthora cinnamomi* Rands durante 10 días.

DÍAS	CEPA	DILUCIÓN	% INHIBICIÓN	DÍAS	CEPA	DILUCIÓN	% INHIBICIÓN
7	A	10 ⁻¹	47,40	8	A	10 ⁻¹	57,36
7	A	10 ⁻¹	2,66	8	A	10 ⁻¹	11,73
7	A	10 ⁻¹	42,36	8	A	10 ⁻¹	46,34
7	A	10 ⁻²	52,49	8	A	10 ⁻²	49,29
7	A	10 ⁻²	37,27	8	A	10 ⁻²	41,21
7	A	10 ⁻²	44,00	8	A	10 ⁻²	41,21
7	A	10 ⁻³	22,12	8	A	10 ⁻³	12,49
7	A	10 ⁻³	60,97	8	A	10 ⁻³	61,73
7	A	10 ⁻³	33,88	8	A	10 ⁻³	26,49
7	B	10 ⁻¹	40,67	8	B	10 ⁻¹	27,25
7	B	10 ⁻¹	33,06	8	B	10 ⁻¹	20,61
7	B	10 ⁻¹	49,09	8	B	10 ⁻¹	49,96
7	B	10 ⁻²	30,43	8	B	10 ⁻²	19,81
7	B	10 ⁻²	30,49	8	B	10 ⁻²	25,02
7	B	10 ⁻²	13,57	8	B	10 ⁻²	13,96
7	B	10 ⁻³	31,36	8	B	10 ⁻³	13,96
7	B	10 ⁻³	23,64	8	B	10 ⁻³	13,20
7	B	10 ⁻³	13,75	8	B	10 ⁻³	13,20
7	C	10 ⁻¹	41,49	8	C	10 ⁻¹	27,29
7	C	10 ⁻¹	41,60	8	C	10 ⁻¹	30,19
7	C	10 ⁻¹	44,06	8	C	10 ⁻¹	31,67
7	C	10 ⁻²	49,09	8	C	10 ⁻²	55,84
7	C	10 ⁻²	37,27	8	C	10 ⁻²	26,54
7	C	10 ⁻²	38,97	8	C	10 ⁻²	34,57
7	C	10 ⁻³	32,18	8	C	10 ⁻³	25,74
7	C	10 ⁻³	31,36	8	C	10 ⁻³	16,62
7	C	10 ⁻³	26,22	8	C	10 ⁻³	19,85

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 2E: Efecto de bacterias y diluciones en el desarrollo del halo de la *Phytophthora cinnamomi* Rands durante 10 días.

DÍAS	CEPA	DILUCIÓN	% INHIBICIÓN	DÍAS	CEPA	DILUCIÓN	% INHIBICIÓN
9	A	10 ⁻¹	58,90	10	A	10 ⁻¹	62,50
9	A	10 ⁻¹	15,03	10	A	10 ⁻¹	18,75
9	A	10 ⁻¹	43,88	10	A	10 ⁻¹	25,00
9	A	10 ⁻²	46,58	10	A	10 ⁻²	47,50
9	A	10 ⁻²	30,14	10	A	10 ⁻²	31,25
9	A	10 ⁻²	17,91	10	A	10 ⁻²	7,00
9	A	10 ⁻³	1,11	10	A	10 ⁻³	2,50
9	A	10 ⁻³	63,01	10	A	10 ⁻³	61,25
9	A	10 ⁻³	10,34	10	A	10 ⁻³	12,50
9	B	10 ⁻¹	14,43	10	B	10 ⁻¹	11,25
9	B	10 ⁻¹	17,81	10	B	10 ⁻¹	16,25
9	B	10 ⁻¹	28,89	10	B	10 ⁻¹	8,75
9	B	10 ⁻²	4,13	10	B	10 ⁻²	7,50
9	B	10 ⁻²	15,09	10	B	10 ⁻²	8,75
9	B	10 ⁻²	11,64	10	B	10 ⁻²	10,00
9	B	10 ⁻³	8,24	10	B	10 ⁻³	8,75
9	B	10 ⁻³	7,55	10	B	10 ⁻³	7,50
9	B	10 ⁻³	12,33	10	B	10 ⁻³	12,50
9	C	10 ⁻¹	17,85	10	C	10 ⁻¹	17,50
9	C	10 ⁻¹	13,70	10	C	10 ⁻¹	10,00
9	C	10 ⁻¹	17,85	10	C	10 ⁻¹	18,75
9	C	10 ⁻²	45,38	10	C	10 ⁻²	58,75
9	C	10 ⁻²	17,15	10	C	10 ⁻²	7,50
9	C	10 ⁻²	19,95	10	C	10 ⁻²	12,50
9	C	10 ⁻³	17,83	10	C	10 ⁻³	15,00
9	C	10 ⁻³	5,52	10	C	10 ⁻³	6,25
9	C	10 ⁻³	6,89	10	C	10 ⁻³	3,75

Fuente: Elaboración propia.

Anexo 4

- **ANVA de los factores fisicoquímicos (pH, °T y días)**

Con los datos del radio de halo de *P. cinnamomi* Rands evaluados durante 10 días (Anexo 2) se realizó el análisis de varianza que se muestra a continuación, que indica una diferencia estadística significativa entre los valores de pH, Temperaturas y días con un 95 % de confiabilidad.

Tabla 3A: ANVA para los Factores Fisicoquímicos (pH, °T y días)

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:pH	6,39625	2	3,19812	69,80	*0,0000
B:Temperatura	120,442	2	60,2212	1314,31	*0,0000
C:Días	206,218	9	22,9131	500,07	*0,0000
INTERACCIONES					
AB	5,5545	4	1,38863	30,31	*0,0000
AC	1,72436	18	0,0957977	2,09	*0,0078
BC	25,1655	18	1,39808	30,51	*0,0000
ABC	2,63676	36	0,0732432	1,60	*0,0249
RESIDUOS	8,24753	180	0,0458196		
TOTAL (CORREGIDO)	376,385	269			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual.

* Significativo

Y la interacción entre la temperatura – pH, días – pH, temperatura – días y pH, temperatura y días son significativamente diferentes, es decir cada una de ellas sí influye en el desarrollo (radio) del halo de *P. cinnamomi* Rands, con un 95 % de confiabilidad.

- **Pruebas de Múltiple Rango de Tukey para el pH**

La Prueba de rango Múltiple de Tukey (0,05) para la evaluación de pH (6,5; 8,0 y 9,5), el cual indica que el pH 6,5 y 8,0 son estadísticamente iguales, pero significativamente diferentes del pH 9,5.

Tabla 3B: Prueba de rango Múltiple de Tukey para pH

pH	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
9,5	90	1,31089	0,0225634	a
6,5	90	1,62522	0,0225634	b
8,0	90	1,64833	0,0225634	b

Fuente: Elaboración propia.

- **Pruebas de Múltiple Rangos Tukey para temperatura**

La Prueba de rango Múltiple de Tukey (0,05) para la evaluación de temperatura (10 °C, 20 °C y 30 °C) el cual indica que las tres temperaturas son estadísticamente diferentes entre sí.

Tabla 3C: Prueba de rango Múltiple de Tukey para temperatura

Temperatura (°C)	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
10	90	0,604444	0,0225634	a
20	90	1,81911	0,0225634	b
30	90	2,16089	0,0225634	c

Fuente: Elaboración propia.

- **Pruebas de Múltiple Rangos para los días**

La Prueba de rango Múltiple de Tukey (0,05) para la evaluación de los días el cual indica que los días 9 y 10 son iguales.

Tabla 3D: Prueba de rango Múltiple de Tukey para los días

Días	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	27	0,141111	0,0411949	a
2	27	0,41	0,0411949	b
3	27	0,755185	0,0411949	c
4	27	1,05074	0,0411949	d
5	27	1,43074	0,0411949	e
6	27	1,75	0,0411949	f
7	27	2,0563	0,0411949	g
8	27	2,33741	0,0411949	h
9	27	2,58815	0,0411949	i
10	27	2,76185	0,0411949	i

Fuente: Elaboración propia.

Anexo 5

- ANVA de los factores biológicos (Cepa, dilución y días)**

Con los datos del % inhibición de halo de *P. cinnamomi* Rands evaluados durante 10 días (Ver Anexo 3) se realizó el análisis de varianza que se muestra a continuación, que indica una diferencia estadísticamente significativa en todos los factores, con un 95 % de confiabilidad.

Tabla 4A: ANVA para los factores biológicos (cepas, dilución y días)

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:CEPA	3356,04	2	1678,02	15,58	*0,0000
B:DILUCIÓN	779,33	2	389,665	3,62	*0,0288
C:DÍAS	49377,1	9	5486,35	50,93	*0,0000
INTERACCIONES					
AB	1602,19	4	400,548	3,72	*0,0062
AC	2866,02	18	159,223	1,48	0,1022
BC	1624,39	18	90,2437	0,84	0,6540
ABC	2641,13	36	73,3648	0,68	0,9135
RESIDUOS	19389,1	180	107,717		
TOTAL (CORREGIDO)	81635,4	269			

Fuente: Elaboración propia.

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

* Significativo

La interacción Cepa- Dilución tiene estadísticamente una diferencia significativa, es decir, esta interacción influye más sobre el % inhibición de *P. cinnamomi* Rands.

- **Pruebas de Múltiple Rangos de Tukey para cepa de bacterias**

La Prueba de rango Múltiple Tukey (0,05) para la evaluación de % inhibición del halo por Cepa de Bacterias (A, B y C) el cual indica que las cepas C y A de bacterias son estadísticamente iguales, pero a la vez son diferentes de la Cepa B.

Tabla 4B: Prueba de rango Múltiple de Tukey para cepas

CEPA	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
B	90	13,0269	1,09401	a
C	90	18,0031	1,09401	b
A	90	21,6274	1,09401	b

Fuente: Elaboración propia.

- **Pruebas de Múltiple Rangos de Tukey para las diluciones**

La Prueba de rango Múltiple de Tukey (0,05) para las Diluciones de Cepa de las Bacterias indica que las Diluciones 10^{-3} y 10^{-2} son estadísticamente iguales, asimismo las diluciones 10^{-2} y 10^{-1} son iguales, pero la dilución 10^{-1} es diferente de 10^{-3} .

Tabla 4C: Prueba de rango Múltiple de Tukey para las diluciones

DILUCIÓN	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
10^{-3}	90	15,2087	1,09401	a
10^{-2}	90	18,2667	1,09401	a b
10^{-1}	90	19,1821	1,09401	b

Fuente: Elaboración propia.

- **Pruebas de Múltiple Rangos Tukey para los días**

La Prueba de rango Múltiple de Tukey (0,05) para los días indica que los días 5, 8, 6, y 7 son iguales y donde se tuvieron los mayores porcentajes de inhibición del halo de *P. cinnamomi* Rands.

Tabla 4D: Prueba de rango Múltiple de Tukey para los días

DÍAS	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
2	27	0	1,99738	a
1	27	0	1,99738	a
3	27	2,52519	1,99738	a
4	27	5,86852	1,99738	a
10	27	18,8704	1,99738	b
9	27	21,0789	1,99738	b c
5	27	28,8626	1,99738	c d
8	27	30,1159	1,99738	c d
6	27	32,9644	1,99738	d
7	27	35,2389	1,99738	d

Fuente: Elaboración propia.

Anexo 6
Galería fotográfica



Foto 04: Muestreo de raicillas en seis sectores de cultivo de palto (Charsagua, El Rayo, Escapalaque, Asoc. Cambrune, Asoc. Siglo XXI) que presentaban sintomatología de *Phytophthora cinnamomi*.



Foto 05: Se tomaron muestras de raicillas por triplicado de 3 paltos representativos de cada sector de cultivo, colocándolas en un envase para evitar la contaminación o variación de resultados.



Foto 06: Raíces necróticas muestreadas de los paltos se cogieron con guantes para preservar todas las características y con una porción de suelo para su conservación.



Foto 07: Para la siembra de raíces muestreadas en PDA, se desinfectaron con alcohol (70 %), luego con NaClO (0,05 %) y se enjuagaron con ADE durante 3 minutos por triplicado.



Foto **08**: Las raíces desinfectadas se cortaron y se sembraron en placas Petri con PDA en cuatro puntos, luego se incubaron.

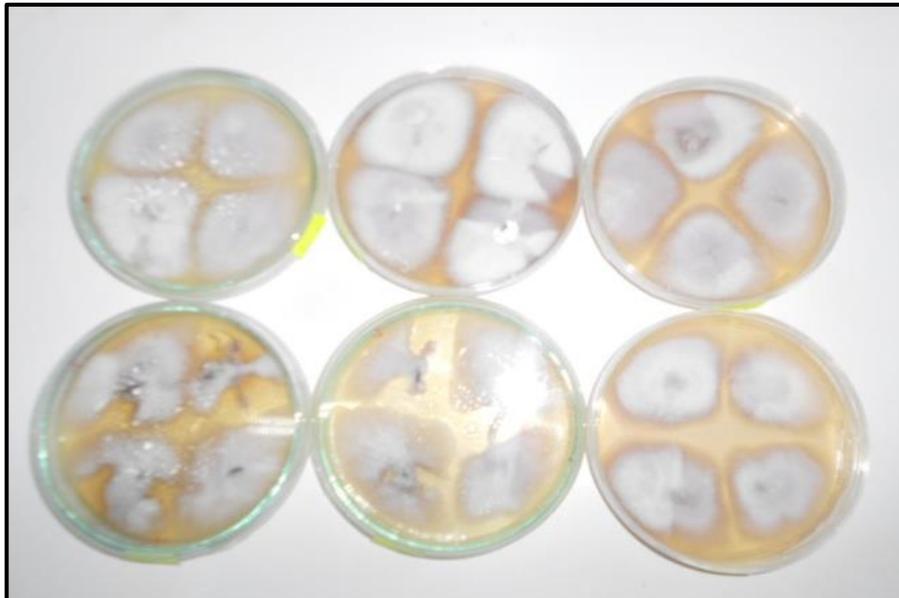


Foto **09**: Los aislamientos de *P. cinnamomi* mostrados tiene 7 días de crecimiento y presentaron color blanquecino característico.

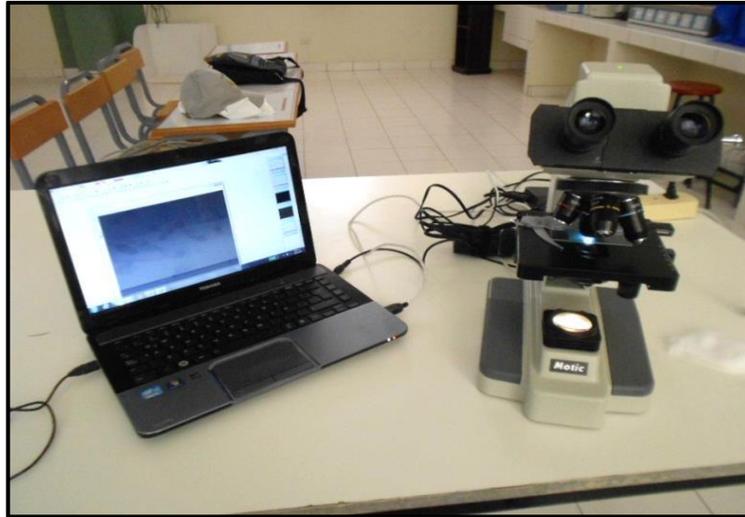


Foto 10: Para la identificación de *P. cinnamomi* se utilizó un Microscopio y Software (Motic Images Plush 2.0).



Foto 11: Para la obtención de bacterias, se diluyó muestra de suelo con AD y se agitaron vigorosamente, que se trató como muestra madre.



Foto 12: Las diluciones de bacterias fueron sembradas en AN, y dieron **resultado** a las siguientes cepas, que se identificaron por su forma y tinción Gram.



Foto 13: Se acondicionaron los medios de PDA a tres pH (6,5; 8,0; 9,5) con Hidróxido de sodio 1N, luego se llevaron a la autoclave.



Foto 14: La siembra de *P. cinnamomi* se realizó con el borde de un tubo de ensayo para obtener un disco perfecto de 1 cm que luego se sembró en los medios de PDA acondicionados a diferentes pH.

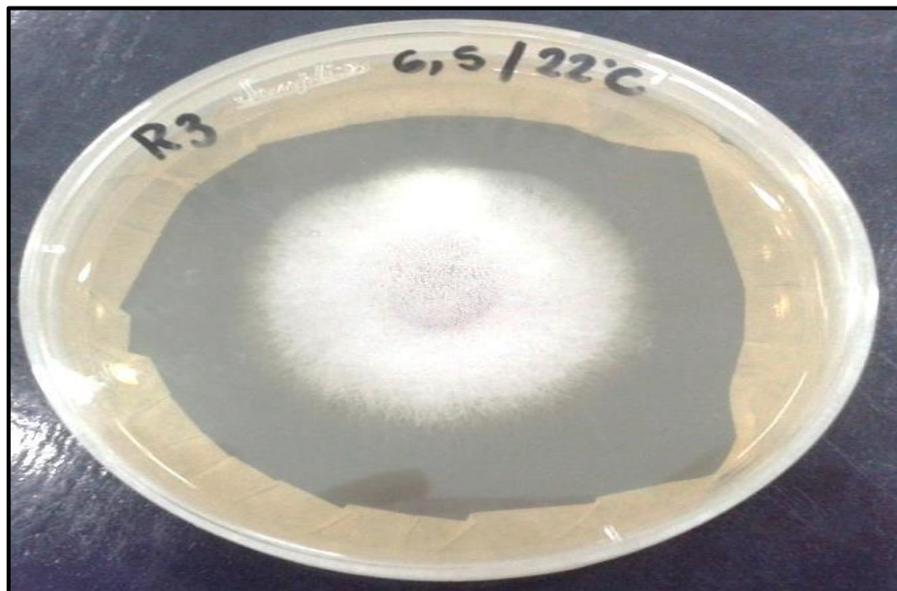


Foto 15: El crecimiento del halo de *Phytophthora cinnamomi* en pH 6,5 a 20 °C se fue midiendo durante un periodo de 10 días.



Foto 16: Se sumergió papel filtro esterilizado en las diluciones de las cepas de bacteria y luego se sembraron al contorno del disco de *P. cinnamomi* para inhibir su crecimiento.



Foto 17: La inhibición del halo de *P. cinnamomi* con la Cepa de bacteriana B a una dilución de 10^{-1} en el sexto día, vista del reverso.

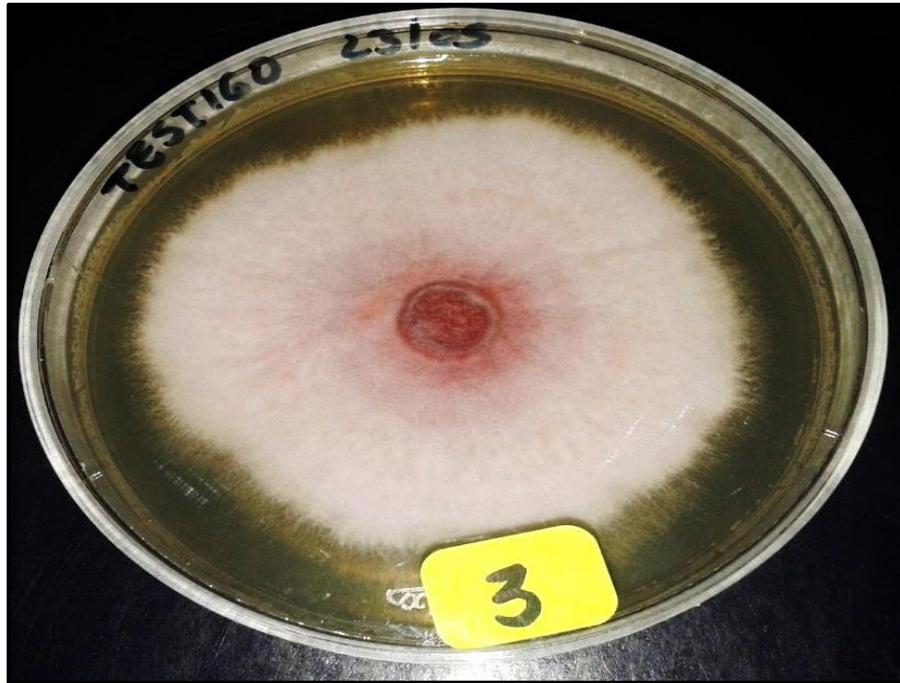


Foto 18: Crecimiento del halo de *Phytophthora cinnamomi* al séptimo día del tratamiento testigo, que no tuvo la intervención o inhibición de ningún factor.