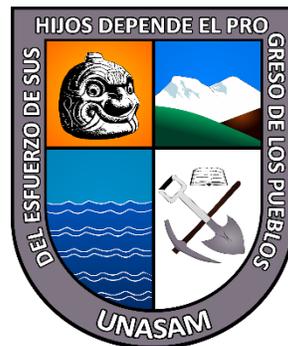


**UNIVERSIDAD NACIONAL  
“SANTIAGO ANTÚNEZ DE MAYOLO”  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE  
INGENIERÍA AGRONÓMICA**



**“ETIOLOGÍA DE LA MUERTE REGRESIVA DEL PALTO (*Persea americana* Mill.) EN EL DISTRITO DE QUILLO, PROVINCIA DE YUNGAY”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
INGENIERO AGRÓNOMO**

**PRESENTADO POR**

**Bach. JOVINO RAMIRO CASHPA GUERRERO**

**ASESOR**

**Mag. EUSEBIO REYES HUAMÁN**

**HUARAZ - PERÚ**

**2023**





### ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los miembros del Jurado de Tesis que suscriben, reunidos para escuchar y evaluar la sustentación de la Tesis presentado por el Bachiller en Ciencias Agronomía **JOVINO RAMIRO CASHPA GUERRERO**, denominada: "ETIOLOGÍA DE LA MUERTE REGRESIVA DEL PALTO (*Persea americana* Mill) EN EL DISTRITO DE QUILLO, PROVINCIA DE YUNGAY", asesorado por el Mag. EUSEBIO REYES HUAMAN, Escuchada la sustentación, las respuestas a las preguntas y observaciones formuladas, la declaramos:

APROBADO

CON EL CALIFICATIVO (\*)

DIECISIETE

En consecuencia, queda en condición de ser calificada APTO por el Consejo de Facultad de Ciencias Agrarias y por el Consejo Universitario de la Universidad Nacional "Santiago Antúnez de Mayolo" y recibir el Título de **INGENIERO AGRÓNOMO**, de conformidad con la Ley Universitaria y el Estatuto de la Universidad.

Huaraz, 31 de Octubre del 2023.

Dr. ALEJANDRO ZOROBABEL TOSCANO LEYVA

PRESIDENTE

Dra. KARINA SOLEDAD VILCA MALLQUI

SECRETARIO

Mg.Sc. CLAY EUSTERIO PAJUELO ROLDAN

VOCAL

Mag. EUSEBIO REYES HUAMAN

ASESOR

(\*) De acuerdo con el Reglamento de Tesis, éstas deben ser calificadas con términos de: APROBADO CON EXCELENCIA (19 - 20), APROBADO CON DISTINCIÓN (17 - 18), APROBADO (14 - 16), DESAPROBADO (00 - 13).





### ACTA DE CONFORMIDAD DE TESIS

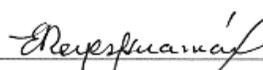
Los miembros del jurado, luego de evaluar la tesis denominada "ETIOLOGÍA DE LA MUERTE REGRESIVA DEL PALTO (*Persea americana* Mill) EN EL DISTRITO DE QUILLO, PROVINCIA DE YUNGAY", presentado por el Bachiller en Ciencias Agronomía JOVINO RAMIRO CASHPA GUERRERO, sustentado el día 31 de octubre del 2023, con Resolución Decanatural N° 473-2023-UNASAM-FCA, la declaramos CONFORME.

Huaraz, 31 de Octubre del 2023.

  
Dr. ALEJANDRO ZOROBABEL TOSCANO LEYVA  
PRESIDENTE

  
Dra. KARINA SOLEDAD VILCA MALLQUI  
SECRETARIO

  
Mg.Sc. CLAY EUSTERIO PAJUELO ROLDAN  
VOCAL

  
Mag. EUSEBIO REYES HUAMAN  
ASESOR



Anexo de la R.C.U N° 126 -2022 -UNASAM  
**ANEXO 1**  
**INFORME DE SIMILITUD.**

El que suscribe (asesor) del trabajo de investigación titulado:

“ETIOLOGÍA DE LA MUERTE REGRESIVA DEL PALTO (Persea americana Mill.) EN EL DISTRITO DE QUILLO, PROVINCIA DE YUNGAY”

Presentado por: Cashpa Guerrero Jovino Ramiro

con DNI N°: 70855700

para optar el Título Profesional de:

Ingeniero Agrónomo

Informo que el documento del trabajo anteriormente indicado ha sido sometido a revisión, mediante la plataforma de evaluación de similitud, conforme al Artículo 11° del presente reglamento y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de : 16% de similitud.

**Evaluación y acciones del reporte de similitud de los trabajos de los estudiantes/ tesis de pre grado (Art. 11, inc. 1).**

Porcentaje			
Trabajos de estudiantes	Tesis de pregrado	Evaluación y acciones	Marque con una x
Del 1 al 30%	Del 1 al 25%	Esta dentro del rango aceptable de similitud y podrá pasar al siguiente paso según sea el caso.	<input checked="" type="checkbox"/>
Del 31 al 50%	Del 26 al 50%	Se debe devolver al estudiante o egresado para las correcciones con las sugerencias que amerita y que se presente nuevamente el trabajo.	<input type="checkbox"/>
Mayores a 51%	Mayores a 51%	El docente o asesor que es el responsable de la revisión del documento emite un informe y el autor recibe una observación en un primer momento y si persistiese el trabajo es invalidado.	<input type="checkbox"/>

Por tanto, en mi condición de Asesor/ Jefe de Grados y Títulos de la EPG UNASAM/ Director o Editor responsable, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto la primera hoja del reporte del software anti-plagio.

Huaraz, 16/11/2023

  
FIRMA  
Apellidos y Nombres: Eusebio Reyes Huamán  
DNI N°: 09002072

Se adjunta:

*1. Reporte completo Generado por la plataforma de evaluación de similitud*

NOMBRE DEL TRABAJO

**TESIS -CASHPA GUERRERO JOVINO RAMIRO.docx**

AUTOR

**JOVINO RAMIRO CASHPA GUERRERO**

RECUENTO DE PALABRAS

**10384 Words**

RECUENTO DE CARACTERES

**53340 Characters**

RECUENTO DE PÁGINAS

**71 Pages**

TAMAÑO DEL ARCHIVO

**61.7MB**

FECHA DE ENTREGA

**Nov 10, 2023 11:36 AM GMT-5**

FECHA DEL INFORME

**Nov 10, 2023 11:37 AM GMT-5****● 16% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos

- 16% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 7% Base de datos de trabajos entregados
- 3% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

**● Excluir del Reporte de Similitud**

- Material bibliográfico
- Material citado

## DEDICATORIA

La presente investigación es realizada con mucho esmero y esfuerzo le dedico a mis amados padres: Maxima Guerrero Martinez y Roberto Cashpa Arteaga.

A todos mis hermanos: Rolando, Lucio, Elva, Gloria, Graciela y Efraín. Quienes me han guiado y acompañado durante mi formación académica profesional.

## **AGRADECIMIENTO**

En primer lugar, a Dios por haberme cedido la vida y a mis padres por depositar su confianza y apoyarme durante toda mi formación académica profesional y así haber podido lograr mi objetivo anhelado.

Al Mag. Eusebio Reyes Huamán por su gran apoyo y paciencia durante la ejecución y desarrollo de la presente Tesis.

# ÍNDICE

	Pág.
DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTO.....	ii
ÍNDICE .....	iii
ÍNDICE DE TABLAS .....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT .....	x
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1. Formulación del problema.....	2
1.2. Objetivos.....	3
1.2.1. Objetivo general.....	3
1.2.2. Objetivos específicos .....	3
<b>II. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>4</b>
2.1. Antecedentes.....	4
2.2. Origen del palto .....	5
2.3. Clasificación taxonómica del palto .....	5
2.3.1. Taxonomía del palto .....	5
2.4. Descripción botánica .....	6
2.5. Composición química e importancia nutricional del palto.....	6
2.6. Usos y beneficios de la palta .....	7

2.7.	Enfermedades causadas por hongos en palto .....	7
2.7.1.	Putridión radicular del palto.....	8
2.7.2.	Antracnosis del palto .....	8
2.7.3.	Muerte descendente .....	8
2.7.4.	Marchitez del palto .....	9
2.8.	La pudrición negra de las raíces del palto causado por <i>Cylindrocarpon destructans</i> .....	9
2.8.1.	Sintomatología y signos.....	9
2.9.	Postulados de KOCH.....	16
2.10.	Aislamiento de fitopatógenos .....	16
<b>III.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>19</b>
3.1.	UBICACIÓN.....	19
3.1.1.	Ubicación política - fase campo .....	19
3.1.2.	Ubicación geográfica - fase campo.....	19
3.1.3.	Ubicación política - fase laboratorio.....	19
3.1.4.	Ubicación geográfica - fase laboratorio.....	19
3.2.	MATERIALES Y EQUIPOS .....	20
3.2.1.	Materiales e insumos .....	20
3.2.2.	Equipos .....	21
3.3.	METODOLOGÍA.....	22

3.3.1. Elaboración del medio de cultivo PDA (papa, dextrosa y agar).....	22
3.3.2. Esterilización .....	23
3.3.3. Plaqueado.....	23
3.3.4. Fase campo, recolección de muestras .....	23
3.3.5. Fase laboratorio .....	25
3.3.6. Aislamiento del patógeno .....	26
3.3.7. Caracterización de los hongos causales .....	27
3.3.8. Estandarización de inóculo y pruebas de patogenicidad .....	28
3.3.9. Re aislamiento del patógeno .....	31
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>32</b>
4.1. RESULTADOS .....	32
4.1.1. Desarrollo y aislamiento de patógenos en medio de PDA. ....	32
4.1.2. Características morfológicas microscópicas.....	33
4.1.3. Resultados de la inoculación del patógeno en plantas sanas de palto y desarrollo de síntomas .....	40
4.1.4. Re aislamiento del microorganismo inoculado.....	42
4.2. DISCUSIÓN.....	44
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>46</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>47</b>
<b>VII. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>48</b>
<b>VIII. ANEXOS.....</b>	<b>51</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
<b>Tabla 1</b> Composición de la palta en 100 g de pulpa.....	6
<b>Tabla 2</b> Minerales contenidos en 100 g de pulpa de palta.....	7
<b>Tabla 3</b> Medición de las macroconidias del patógeno encontrado.....	34
<b>Tabla 4</b> Medición de las microconidias del patógeno encontrado. ....	36
<b>Tabla 5</b> Medición de las clamidosporas del patógeno encontrado.....	38

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1</b> Características de las colonias de <i>Cylindrocarpon destructans</i> en el medio de cultivo Papa Dextrosa Agar Acidificado (APAD). Fuente: Ramirez y Morales (2013). .....	11
<b>Figura 2</b> Estructuras microscópicas del aislamiento de <i>Cylindrocarpon destructans</i> procedente de las plantas enfermas del palto. Ramirez y Morales (2013). .....	12
<b>Figura 3</b> Ensayos de patogenicidad de <i>Cylindrocarpon destructans</i> en plantas de palto ( $1 \times 10^6$ propágulos / ml). Las plántulas fotografiadas a los 80 días después de la inoculación. Fuente: Ramirez y Morales (2013).....	15
<b>Figura 4</b> Recolección de muestras de palto en la localidad de Pariacolca, distrito de Quillo.....	24
<b>Figura 5</b> Muestra de raíz del palto para la siembra en el medio del cultivo papa dextrosa agar (PDA). .....	25
<b>Figura 6</b> Instalación de semillas de palto en bandejas para su germinación. ....	28
<b>Figura 7</b> Muestra de semillas de variedad mexicana a inocular.....	30
<b>Figura 8</b> Inoculación del patógeno aislado sobre las raíces de la plántula de palto, usando medio de cultivo, agua destilada estéril. ....	30
<b>Figura 9</b> Re aislamiento, ubicación en forma triangular de las muestras, en el medio de cultivo (3 submuestras por placa de Petri). .....	31
<b>Figura 10. A:</b> Desarrollo del patógeno en las muestras de raíces, <b>B:</b> desarrollo del patógeno purificado. ....	32
<b>Figura 11</b> Comportamiento y coloración del micelio después de 13 días de siembra: <b>A:</b> Cara superior de la placa, <b>B:</b> Cara inferior de la placa. ....	33

**Figura 12. A:** Macro y micronidias obtenidas del aislamiento en aumento 400X, **B:**  
Clamidosporas del aislamiento..... 39

**Figura 13** Resultados de la prueba de patogenicidad del microorganismo encontrado. .... 41

**Figura 14** Sintomatología observada en raíces, de plántulas inoculados cultivar mexicana. .... 42



## RESUMEN

En las plantaciones de palto (*Persea americana* Mill) en el distrito de Quillo, provincia de Yungay, departamento de Ancash se viene observando plantas raquíticas, amarillamiento y defoliación de las hojas, muerte regresiva de las ramillas y pudrición de las raíces (jóvenes). El objetivo de esta investigación fue: determinar el agente o los agentes causales de la muerte regresiva del palto en el distrito de Quillo, provincia de Yungay. La caracterización e identificación se realizó aplicando los postulados planteados por Koch (Agrios, 2005); para lo cual primero se realizaron muestreos colectando raíces y ramillas con los síntomas mencionados anteriormente, después en el laboratorio de Fitopatología se procesaron las muestras para su siembra in vitro en placas de Petri en medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA), al que se le denominó aislamiento, luego se procedió a la caracterización morfológica llegándose a identificar que cuyas características del microorganismo corresponden al género *Cylindrocarpon* según Barnett y Hunter (1972) y la especie se identificó con la ayuda de los trabajos Besoain y Piontelli (1999), Ramirez y Morales (2013) y corresponde a *Cylindrocarpon destructans* (Zinss) y el cual fue purificado y multiplicado; posteriormente se inoculó el aislamiento en plántulas sanas de palto del cultivar mexicana, en condiciones de Laboratorio de Fitopatología – UNASAM. Entre los 25 a 35 días se apreciaron los síntomas, luego se recolectaron las raíces inoculadas y se realizó el aislamiento del patógeno en medio de PDA, para poder confirmar si el microorganismo encontrado es la causa de la enfermedad. Finalmente, se hizo la caracterización morfológica del microorganismo re aislado y se determinó que la característica morfométrica del re aislamiento concierne a *Cylindrocarpon destructans* (Zinss).

**PALABRAS CLAVE:** Palto, microorganismos, microconidias, macroconidias, clamidosporas, *Cylindrocarpon destructans*, pudrición negra de raíces del palto.

## ABSTRACT

In the avocado plantations (*Persea americana* Mill) in the district of Quillo, province of Yungay, department of Ancash, stunted plants, yellowing and defoliation of the leaves, dieback of the twigs and rot of the roots (young) have been observed. The objective of this research was to determine the causative agent or agents of the regressive death of the avocado in the district of Quillo, province of Yungay. The characterization and identification was carried out by applying the postulates proposed by Koch (Agrios, 2005); for which first sampling was carried out by collecting roots and twigs with the symptoms mentioned above, then in the Phytopathology laboratory the samples were processed for in vitro planting in petri dishes in potato dextrose agar (PDA) culture medium, which was called isolation, then the morphological characterization was carried out, identifying that whose characteristics of the microorganism correspond to the genus *Cylindrocarpon* according to Barnett and Hunter (1972) and the species was identified with the help of the works Besoain and Piontelli (1999), Ramirez and Morales (2013) and corresponds to *Cylindrocarpon destructans* (Zinss) and which was purified and multiplied; Subsequently, the isolation was inoculated in healthy seedlings of avocado of the Mexican cultivar, under conditions of Phytopathology Laboratory – UNASAM. Between 25 and 35 days, the symptoms were appreciated, then the inoculated roots were collected and the pathogen was re-isolated in PDA medium, in order to confirm if the microorganism found is the cause of the disease. Finally, the morphological characterization of the re-isolated microorganism was made and it was determined that the morphometric characteristic of the re-isolation concerns *Cylindrocarpon destructans* (Zinss).

**KEY WORDS:** Avocado, microorganisms, microconidia, macroconidia, chlamydospores, *Cylindrocarpon destructans*, black rot of avocado roots.

## I. INTRODUCCIÓN

El palto (*Persea americana* Mill.), es una especie frutícola tropical y subtropical siempre verde, en el Perú se encuentra con una tendencia progresiva en el área cultivada debido al aumento de la demanda en los principales mercados de venta a ni nivel nacional y mundial. Por su valioso contenido de nutrientes, es uno de las frutas más completas para la alimentación humana, contiene vitaminas A, B6, B3, B2, C, D, E y K; minerales como potasio y proteína. En humanos, la vitamina E, interfiere en la fertilidad de las células y las vitaminas hidrosolubles ayudan al buen funcionamiento del sistema nervioso ADEX (2012).

El fruto del palto contiene una gran cantidad de aceite que oscila entre 8% y 30% según el cultivar, así mismo contiene una gran cantidad de luteína, proteínas, vitaminas A, C, E y vitaminas esenciales del complejo B y por último minerales como: hierro, magnesio y potasio. Por su alto contenido de nutrientes su consumo per cápita anual de la palta, en países industrializados es de 1 a 11 kg; los cultivares más aptos para el mercado local y exportación son: Fuerte, Hass y Nabal Maza (2008).

Dada la gran importancia en la alimentación en los últimos años, en Perú se viene incrementando las áreas sembradas a nivel nacional, Según el censo 2007, el área sembrada fue de 6,368 has en 1994, incrementándose a 13, 603 has en 2007; 15,092 has en el 2012 Maza (2008).

Así mismo en el distrito de Quillo se viene incrementando las áreas cultivadas llegando a cultivar hasta los 3200 m.s.n.m, por su gran importancia y por ser muy rentable en la agricultura familiar de la zona, el cultivo de palto es considerado como el oro verde.

El palto como toda especie vegetal, en la naturaleza está expuesta a una serie de factores adversos, tanto abióticos como bióticos. Entre los factores bióticos se tienen a las enfermedades causadas por los diferentes grupos de patógenos: Hongos, viroides y nematodos. otros seres

vivientes que trasladan a estos microorganismos y entre los abióticos que transportan a las bióticas maquinarias agrícolas, herramientas de trabajo y equipos de transporte a comercialización como cubetas entre otros.

En el distrito de Quillo, provincia de Yungay, región Ancash, en la mayoría de las plantaciones de palto se viene observando plantas raquílicas, las hojas se tornan cloróticas, marchitamiento y defoliación y muerte descendente de las ramillas. En la parte radicular se observa pudrición de las raíces siendo las más afectadas las raicillas terminales. Esta sintomatología se manifiesta en plantaciones adultas a partir de los 6 años de edad, aproximadamente.

En general el control o manejo de una enfermedad en cualquier cultivo, en primer lugar, es necesario identificar el agente causante; en tal sentido la presente investigación consistió en identificar correctamente el o los agentes causales de esta sintomatología que causa la muerte regresiva del palto; en base al cual se implementarán medidas de prevención y/o control más adecuado que se tenga disponible.

### **1.1. Formulación del problema**

¿Cuál o cuáles serán los agentes causales de la muerte regresiva del aguacate *Persea americana* Mill en el distrito de Quillo, provincia de Yungay, Región Ancash? En tal sentido en el presente trabajo de investigación se plantearon los siguientes objetivos.

## 1.2. Objetivos

### 1.2.1. Objetivo general

Determinar el agente o los agentes causales de la muerte regresiva del palto en el distrito de Quillo, provincia de Yungay, Región Ancash.

### 1.2.2. Objetivos específicos

- Aislar en cultivo *in vitro* el o los agentes causantes de la muerte regresiva del palto.
- Caracterizar e identificar el o los agentes aislados de las muestras de raíces de palto con síntomas de la muerte regresiva.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

En los últimos años, en las plantaciones del palto en el distrito de Quillo se viene manifestando menor tasa de crecimiento de las plantas, hojas cloróticas, amarillamiento y marchitamiento de las hojas acompañado con la defoliación y muerte regresiva de las ramillas de palto. Así mismo, pudrición de las raíces siendo las más afectadas las raicillas jóvenes terminales; causando preocupación a los productores del palto de la zona.

Besoain y Piontelli (1999), en Chile identificaron a una enfermedad con síntomas similares, a las observadas en las plantas de palto del distrito de Quillo, encontrando que el agente causal es *Cylindrocarpon destructans*.

Rodriguez Gálvez (2010), en el departamento de Piura, reporta una enfermedad en mango y palto con síntomas similares a las observadas en las plantas de palto del distrito de Quillo, encontrando que el agente causal es *Lasiodiplodia theobromae* (Patouillard) Griffon & Maublanc (= *Botryodiplodia theobromae*).

Ramirez y Morales (2013), en Colombia encuentran a una enfermedad con síntomas casi idénticos en palto, apreciadas en las plantas de palto del distrito de Quillo, encontrando que el agente causal es *Cylindrocarpon destructans* (Zinss).

Pocoy Ramirez (2014), en el departamento de Ancash, identifica una enfermedad con síntomas algo similar en palto, observados en las plantas de palto del distrito de Quillo, encontrando que el agente causal es *Verticilium dahliae* kleb. Con estas referencias se desarrolló este trabajo de investigación que tuvo como objetivo, describir sus características y determinar la incidencia de la enfermedad e identificar el agente causal.

## 2.2. Origen del palto

Franciosi (1992), “Menciona que a partir de pruebas arqueológicas localizadas en Tehuacán (Puebla), con una antigüedad aproximada de 12 000 años, se ha definido que el palto es procedente de México” (p.15). Así mismo, Pérez et al (2015) describen que “*Persea americana* es procedente de las regiones tropicales y subtropicales de Centroamérica y México”.

## 2.3. Clasificación taxonómica del palto

Según Williams (1977), “El género *Persea* es de origen africano-laurasiano, con su subgénero *Eriodaphne* originado en África y el subgénero *Persea* posiblemente también procedente de África, ingresando por el Sur oeste laurasia y por navegación llegar a Norteamérica tropical”. (p.114).

### 2.3.1. Taxonomía del palto

La clasificación taxonómica del palto es la siguiente (Pérez et al., 2015):

<b>Reino</b>	: Plantae
<b>División</b>	: Magnoliophyta
<b>Clase</b>	: Magnoliopsida
<b>Orden</b>	: Laurales
<b>Familia</b>	: Lauraceae
<b>Género</b>	: <i>Persea</i>
<b>Especie</b>	: <i>Persea americana</i> Mill.

## 2.4. Descripción botánica

La planta de palto puede llegar a medir un aproximado de 20 metros de altura; pero cuando se cultiva para el mercadeo sólo se deja crecer máximo 5 metros de altura, para poder proporcionar las prácticas de intervención fitosanitaria cosecha, poda y fertilización foliar. Esta planta presenta tallo grueso y con hojas alargadas, con varias ramificaciones que forman una copa densa. Se dice que es una planta perenne debido a que se cultiva más de 10 años. El fruto tiene forma de pera de color verde y negro, cáscara rugosa con una pulpa verde amarillenta y una semilla redondeada de color pardo y 2 a 5 cm, que aparece revestida de una delgada capa leñosa (Pérez et al., 2015, p.112).

## 2.5. Composición química e importancia nutricional del palto

IDMA (2016); Conafrut (1997) mencionan que aparte de su valor de consumo directo, la palta contiene una calidad nutritiva para el ser humano, se aprecia en la siguiente tabla.

**Tabla 1**

*Composición de la palta en 100 g de pulpa*

Componente	VARIEDAD	
	Fuerte	Hass
Agua %	71,20	74,40
Grasa %	23,40	20,60
Proteínas %	2,00	1,80
Fibra %	19,00	1,40
Ceniza %	1,20	1,20
Ácido ascórbico (mg)	6,00	11,00
Niacina (mg)	1,50	1,90
Vitamina B6 (mg)	0,61	0,62
Potasio (mg)	460,00	480,00
Fósforo (mg)	29,00	14,00
Magnesio (mg)	23,00	23,00

*Fuente: Solid Perú, 2007.*

**Tabla 2**

*Minerales contenidos en 100 g de pulpa de palta*

<b>Minerales</b>	<b>Contenido en 100 g. De palta</b>
Calcio	10,00 mg
Hierro	1,06 mg
Fósforo	40,00 mg
Cobre	0,35 mg
Magnesio	41,0 mg
Manganeso	2,30 mg
Sodio	4,00 mg
Potasio	463,0 mg

*Fuente: Ortega T, 2003.*

## **2.6. Usos y beneficios de la palta**

Solid Perú (2007) indica que la palta por su calidad nutritiva es complemento de toda clase de alimento humano, es de gran importancia a nivel de la industria cosmética y farmacéutica ya que se utiliza en diversos casos, así como en la elaboración de jabones y cremas, como tinte y en tratamiento del problema del cuero cabelludo y del intestino.

## **2.7. Enfermedades causadas por hongos en palto**

Entre las enfermedades causados por hongo en palto que causan síntomas similares a los observados en el distrito de Quillo se mencionan a: “pudrición radicular”, causado por *Phytophthora cinnamomi* Rands; “La pudrición negra de raicillas del palto” causado por *Cylindrocarpon destructans* (Zinss); “Antracnosis del palto” causada por *Physalospora perseae* Doige, cuya fase asexual es *Colletotrichum gloesporoides*; “muerte descendente” de las ramas causados por *Lasiodiplodia theobromae* Pat Griffon & Maublanc; “Nudosidades en ramas de palto” causado por *Inonotus sp.* Estas enfermedades causan serios daños al cultivo de palto en diferentes zonas del país y del mundo; causando disminución en cantidad y calidad de la producción.

### **2.7.1. Pudrición radicular del palto**

La enfermedad de la pudrición radicular del palto es causada por *Phytophthora cinnamomi* Rands, produciendo los siguientes síntomas: Decaimiento lento y paulatino, presencia de hojas chicas, marchitas, cloróticas y parcial o completamente necrosada. Pudrición radicular especialmente las raíces secundarias y terciarias. Los árboles rígidamente afectados estancan el crecimiento y producen menos. Muerte parcial de ramas, ramillas y eventualmente causa la muerte del árbol en forma descendente Latorre (2004).

### **2.7.2. Antracnosis del palto**

La enfermedad de la antracnosis del palto es causada por *Colletotrichum gloesporoides*, generando los siguientes síntomas: las flores del palto se tornan color marrón, se marchitan y se caen; las ramas y los troncos afectados presentan zonas hundidas de tamaño variable produciendo un cancro que puede llegar a dañar todo el contorno, que va acompañado de una exudación que al secar se torna en una sustancia pulverulenta blanquecina. En frutos se observa como pequeñas lesiones localizadas alrededor de las lenticelas de la cascara Mont (1999).

### **2.7.3. Muerte descendente**

La enfermedad de la muerte descendente del palto es causada por *Lasiodiplodia theobromae*, originando los siguientes síntomas: en la planta de palto es la presencia de cancos, los mismos que están escoltados de exudados blancuzcos y coagulados, los cancos son de tamaños variables y están situados en ramas, ramillas y tronco de la planta afectada. También se aprecia al iniciar la enfermedad la presencia de exudados blanquecinos sin la presencia de cancos, sin embargo, al realizar los

cortes de la corteza, en la zona afectada, se observa la necrosis del tejido interno Rodríguez (2010); Hernández (2021).

#### **2.7.4. Marchitez del palto**

La enfermedad de la marchitez del palto es causada por *Verticillium dahliae*, que genera síntomas de tipo traqueomicosis (micosis vascular), al inicio se manifiesta como un marchitamiento que afecta generalmente a los árboles de manera desigual. Las hojas ubicadas en la base de la rama son las primeras en desecar, permaneciendo un lapso de tiempo en el árbol, para caer después. Las hojas jóvenes (apicales) son las últimas en hacerlo, estos síntomas exteriores pueden aparecer en pocos días en forma rápida, generalmente los meses de junio y julio, letalmente en los meses de agosto, setiembre y octubre, produciendo un amarillamiento seguido de la defoliación Camera et al (2000); Pocoy (2014).

### **2.8. La pudrición negra de las raíces del palto causado por *Cylindrocarpon destructans***

Según Ramirez y Morales (2013), “El género *Cylindrocarpon* fue definido en el año 1913; este género está catalogado dentro del grupo de los hongos mitospóricos, según su forma sexual taxonómicamente pertenece a la: Clase: Ascomycetes, Orden: Hypocreales, Familia: Nectriaceae, Género: *Cylindrocarpon*”.

#### **2.8.1. Sintomatología y signos**

##### **La pudrición negra de las raíces del palto**

La enfermedad de la pudrición negra de las raíces del palto es causada por *Cylindrocarpon destructans* (Zinss) causa los siguientes síntomas: retardo de crecimiento de las plantas, hojas cloróticas, amarillamiento y marchitez de las hojas superiores acompañado de la defoliación y muerte regresiva de las ramillas de palto.

Pudrición de raíces siendo afectadas principalmente las raíces secundarias y terciarias y posteriormente todo el sistema radicular Besoain y Piontelli (1999).

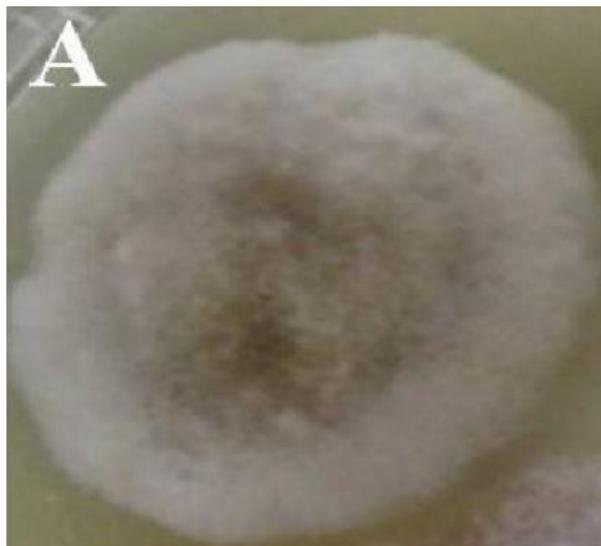
La plántula de palto afectada por *Cylindrocarpon destructans* (Zinss), muestra amarillamiento foliar, flacidez foliar y retardo en el crecimiento a comparación de la planta sin infectar. Luego ya inicia un proceso de defoliación con muerte regresiva de las ramas y ramillas. En las raíces secundarias y terciarias se observa necrosis iniciando por la parte apical de raíces jóvenes Ramirez y Morales (2013). Según Ramirez y Morales (2013), “El retardo del crecimiento de las plantas de *Persea americana* en presencia de *Cylindrocarpon destructans*, se debe a que el hongo ingresa por las raíces más delgadas (jóvenes) y las necrosa, causando marchitez y muerte de plantas generalmente a plantas jóvenes” (p.32). En ese sentido, algunas especies de *Cylindrocarpon* causan enfermedades a plantas en el semillero, plantas jóvenes de vid, en viveros forestales, fundamentalmente a coníferas (*Panax quinquefolius* L.), entre otras especies.

### **Características de la colonia**

Según Besoain y Piontelli (1999), “Las características del hongo *Cylindrocarpon destructans* es que el micelio presenta textura flocoso de aspecto aterciopelado inicialmente de color beige y posteriormente adquiere una coloración café rojiza. El reverso de las colonias toma tonalidades desde el beige al café oscuro” (p.46).

## Figura 1

*Características de las colonias de *Cylindrocarpon destructans* en el medio de cultivo Papa Dextrosa Agar Acidificado (APAD). Fuente: Ramirez y Morales (2013).*



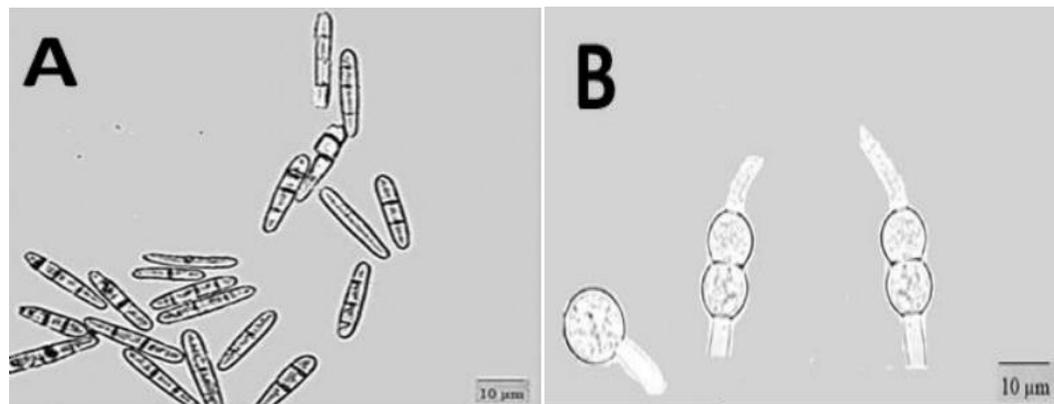
En la **Figura 1**, Según Ramirez y Morales (2013): De acuerdo a las características observadas de *Cylindrocarpon destructans* se caracteriza por el rápido crecimiento del micelio, que alcanza entre 30-60 mm de diámetro en la Placa de Petri a 28°C, a los diez días después de la siembra. El micelio aéreo presenta textura aterciopelada o lanoso y en la parte frontal exhibe coloración hialina de tonalidad beige. Después de 7-9 días de incubación, esta coloración se torna a color café crema; mientras que el reverso de la placa de Petri toma diferentes tonos de amarillo, naranja y marrón. (p.31)

## Morfología

Por lo general el hongo *Cylindrocarpon destructans*, presenta las macroconidias en esporodocios lisos, de forma recta a ligeramente curvadas, cilíndricas, con ápices obtusos y una base de inserción levemente protuberante entre 28 y 36 x 5- 6  $\mu\text{m}$ . con 1-3 septos. Las microconidias son lisas, de forma elipsoide a cilíndrica de 0-1 septo, de 4 - 9 x 3-4  $\mu\text{m}$ . Por ultimo las clamidosporas son globosas, lisas, pigmentadas en el tiempo, solitarias, en cadenas o racimos, terminales o intercalares de 10 -12  $\mu\text{m}$ , determinado en Chile por Besoain y Piontelli (1999).

## Figura 2

*Estructuras microscópicas del aislamiento de Cylindrocarpon destructans procedente de las plantas enfermas del palto. Ramirez y Morales (2013).*



**Leyenda:** **A:** Macroconidias del aislamiento, observaciones microscópicas de luz (1000X). **B:** Clamidosporas del aislamiento, observación microscopio. Fuente: Ramirez y Morales (2013).

### **Estructuras microscópicas de *Cylindrocarpon destructans***

Ramirez y Morales (2013) detallan que la estructura microscópica del aislamiento de *Cylindrocarpon destructans* provenientes de matas enfermas de palto comprenden las siguientes estructuras: Macroconidias, microconidias y clamidosporas.

En la **Figura 2**, Según Ramirez y Morales (2013): De acuerdo a las características apreciadas del hongo fitopatógeno *Cylindrocarpon destructans*, las macroconidias son lisas de forma levemente curvada, cilíndricas a fusoides, con los extremos semi redondeados, base de inserción ligeramente protuberante, con presencia de 1 a 3 septas, usualmente 3. La longitud media para las macroconidias es de  $30.22 \pm 3.81$   $\mu\text{m}$  y  $5.80 \pm 1.2$   $\mu\text{m}$  de ancho y una relación L/A de  $5.22$   $\mu\text{m}$ . Las microconidias físicamente son lisas, elipsoides a cilíndricas, forma levemente curvada, con extremos redondeados y presencia de 0 o 1 septa. La longitud media de las microconidias es de  $9.87 \pm 3.3$   $\mu\text{m}$  de largo,  $2.30 \pm 0.4$   $\mu\text{m}$  de ancho y relación L/A de  $4.24$   $\mu\text{m}$ . En el medio de cultivo se identifica clamidosporas de coloración hialina y marrón, globosas, lisas, individuales o en cadenas o agrupadas de forma intercalar o terminal, con diámetro promedio de  $9.80 \pm 2.0$   $\mu\text{m}$ . (p.31)

## **Prueba de patogenicidad**

Una vez extraído el micelio, macro y microconidias, se homogeniza con agua destilada estéril hasta lograr una concentración de  $1 \times 10^6$  propágulos/ml. Posteriormente se incorporaron 100 ml de esta solución al sustrato de cada planta a inocular Besoain y Piontelli (1999).

“A una vez conseguido el hongo *Cylindrocarpon destructans* en los medios de cultivo y utilizando el método de” (Besoain y Piontelli, 1999, p.44). “Con un nivel de inóculo de  $1 \times 10^6$  propágulos/ml con agua destilada estéril, inocularon con 300 ml de solución con el hongo, directamente a cada bolsa con sustrato y a las pepas sumergieron en esta solución con el hongo por 15 minutos” (Ramirez y Morales, 2013, p.29).

## **Sintomatología en prueba de patogenicidad en *Persea americana***

Las plantas inoculadas mostraron síntoma de clorosis y menor tasa de crecimiento, amarillamiento y marchitamiento de las hojas superiores acompañado con la defoliación y muerte descendente en la parte área de las plantas a comparación del testigo. A los 62 días se observa mayor daño notorio a nivel radicular a comparación de testigo o planta sin inocular Besoain y Piontelli (1999).

### Figura 3

*Ensayos de patogenicidad de *Cylindrocarpon destructans* en plantas de palto (1 x 10<sup>6</sup> propágulos / ml). Las plántulas fotografiadas a los 80 días después de la inoculación. Fuente: Ramirez y Morales (2013)*



**Leyenda:** *D: muerte regresiva en plántulas inoculadas. E: diferencias de crecimiento del sistema radicular en los distintos tratamientos. F: pudrición negra de raicillas de plantas contagiadas con *Cylindrocarpon destructans*. Fuente: Ramirez y Morales (2013).*

En la **Figura 3**, Ramirez y Morales (2013) muestran los síntomas de las plántulas inoculadas con *Cylindrocarpon destructans*, las cuales presentan amarillamiento de las hojas a los 30 días; a los 50 días se observa flacidez foliar y retraso en el crecimiento a comparación de la planta testigo sin contaminar. A los 70 días, las plantas inician un proceso de defoliación con muerte regresiva.

Estos mismos autores mencionan que, durante la observación visual, las raíces de las plantas infectadas se llegan a observar necrosis, sólo que requiere de mayor tiempo (45 días). Mientras que en las plantas sin inocular no se observa síntoma alguno.

## 2.9. Postulados de KOCH

Los pasos a considerarse para demostrar la hipótesis de que un microorganismo es la causa de una enfermedad (Agrios. citado por Soriano, 2019):

1. El patógeno debe encontrarse asociado con la enfermedad en todas las plantas enfermas que se examinen.
2. El patógeno debe aislarse y desarrollarse en un cultivo puro en medios nutritivos y se deben describir sus características (parásito no obligado) o bien puede permitirse que se desarrolle sobre una planta hospedante susceptible (parásito obligado) y registrar su presencia y los efectos que produzca (Agrios. citado por Soriano, 2019).
3. El patógeno que se desarrolló en un cultivo puro debe ser inoculado en plantas sanas de la misma variedad y reproducir los mismos síntomas como en el primer postulado (Agrios. citado por Soriano, 2019).
4. El patógeno debe aislarse una vez más de las plantas inoculadas en un cultivo puro y sus características deben corresponder a las anotadas en el segundo postulado.

## 2.10. Aislamiento de fitopatógenos

La posibilidad de poder aislar un fitopatógeno no obligado depende inicialmente de sus requerimientos ambientales. nutrición, temperatura, luz, pH, etc. En el caso de patógeno obligado no se han determinado las condiciones de cultivo para mantenerlos. Un factor primordial para el aislamiento de un patógeno es dar condiciones más favorables posibles a este y al mismo tiempo las más posibles a sus competidores (French y Hebert, 1980, p.154).

El peor enemigo del hongo y de la investigación en el proceso de aislar hongos fitopatológicos es la contaminación bacteriana y de otros hongos secundarios más prolíficos. Por esta razón se utilizan varias técnicas de limpieza, desinfección y antagonismo a los contaminantes, algunas de las cuales se mencionan a continuación (French y Hebert, 1980, p.158).

#### ❖ **Lavado de tejidos dañados**

**a. Partes subterráneas**, se lava con agua normal apoyándose con un cepillo suave.

Luego se ubican fracciones de las raíces lavadas en un recipiente tapado con una malla o gasa y se deja caer los chorros de agua por un tiempo prudencial French y Hebert (1980).

**b. Partes aéreas**, bañado rápido en alcohol etílico 70% antes de ingresar las muestras en agua, o el uso de un detergente líquido como “Tween” (unas 2-3 gotas por litro) French y Hebert (1980).

#### ❖ **Desinfección**

El alcohol etílico 70% es de útil para la desinfección superficial de órganos leñosos como ramas, troncos, raíces gruesas u otros órganos gruesos y difíciles de mojar, se debe usar Hipoclorito de sodio de 0,5 - 1% French y Hebert (1980).

#### ❖ **Siembras**

Una vez que el material del cual se desea aislar esté lo suficientemente higiénico y aséptico se corta en trozos de tamaño apropiado para el sembrado. El hongo está más activo cerca del borde de avance de las lesiones, por lo que se sugiere cortar fracciones de tejido enfermo de esas zonas French y Hebert (1980).

Cuando se trata de hojas, se cortan partes de 0.5 cm o menos en cuadrados. En el caso de tallos y raíces delgadas se hacen fragmentos de 0.5 cm de largo. De partes más grandes, se sacan asépticamente trozos internos del sitio más conveniente (del sistema vascular en caso de marchitez) y se siembra sin desinfectarlos en un medio bacteriostático French y Hebert (1980).

#### ❖ **Incubación**

Casi todos los hongos crecen a temperatura entre 20 y 25°C, y un gran porcentaje esporula antes o mejor, con luz. Por estos conocimientos es preferible conservar un laboratorio a unos 22°C e incubar las placas sembradas en ese lugar con la luz disponible Medina (2010).

#### ❖ **Purificación de hongos**

Según Gonzales (1981): En algunos casos es difícil separar a un hongo de ciertas bacterias contaminantes (aun usando bacteriostática) o separar dos hongos que se desarrollan juntos en las siembras realizadas, en otros casos de hongos muy variables. Por más que los patógenos esporulen o no, estos tipos de purificación se pueden trabajar con las técnicas de cultivos de punta de hifas o cultivos monospóricos. (p.148)

#### ❖ **Identificación de hongos fitopatógenos**

Primero se ha de preparar el montaje realizado en un estereoscopio, una lámina portaobjeto donde en medio de su superficie se agrega una gota de lacto fenol, para sobre encimar allí las estructuras de los microorganismos extraídos con el auxilio de un estilete y un microscopio estereoscopio seguidamente se coloca el cubre objeto con mucho cuidado para evitar burbujas. Ya una vez obtenido el montaje, se observa las estructuras del patógeno y se procede a describir las características de sus estructuras y así ser identificado correctamente el agente causal de la enfermedad Medina (2010).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. UBICACIÓN

##### 3.1.1. *Ubicación política - fase campo*

Las actividades del campo de esta investigación se realizaron en la:

**Localidad** : Pariacolca.

**Distrito** : Quillo.

**Provincia** : Yungay.

**Región** : Ancash.

##### 3.1.2. *Ubicación geográfica - fase campo*

**Latitud** : 9° 18'57.66"

**Longitud** : 77° 59'59.43"

**Altitud** : 1965 m.s.n.m.

##### 3.1.3. *Ubicación política - fase laboratorio*

La presente investigación se desarrolló en:

**Lugar** : Ciudad Universitaria – Shancayan.

**Distrito** : Independencia.

**Provincia** : Huaraz.

**Departamento** : Ancash.

##### 3.1.4. *Ubicación geográfica - fase laboratorio*

**Latitud** : 09° 31' 04"

**Longitud** : 77° 31' 33"

**Altitud** : 3151 m.s.n.m.

## 3.2. MATERIALES Y EQUIPOS

### 3.2.1. *Materiales e insumos*

- Muestras de las raíces de palto de variedad fuerte.
- Semillas de palto de variedad mexicana para inocular al microorganismo.
- Bolsas de polietileno.
- Cutter.
- Etiquetas de cartulina.
- Plumón indeleble.
- Cinta de embalaje.
- Medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA).
- Placas de Petri.
- Estiletes.
- Espátula triangular de laboratorio.
- Probetas.
- Erlenmeyer de 500ml.
- Pipetas (10ml).
- Piszetas.
- Alcohol de 70 y 90°C.
- Mechero de alcohol.
- Lejía (hipoclorito de sodio).
- Lactofenol.
- Gasa.
- Baguetas.

- Algodón.
- Papel toalla.
- Lámina porta objeto y cubre objeto.
- Pinzas.
- Bisturís.
- Tween 20.
- Vaso de precipitado (50 y 1000ml).
- Mascarilla.
- Guantes.
- Detergente.
- Jabón líquido.
- Tijera de podar.
- Parafilm.
- Guardapolvo.

### 3.2.2. *Equipos*

- ✓ Microscopio estereoscopio.
- ✓ Microscopio compuesto.
- ✓ Hematocitómetro.
- ✓ Cámara de aislamiento.
- ✓ Estufa.
- ✓ Refrigeradora.
- ✓ Agitador magnético.
- ✓ Balanza analítica.

- ✓ Destilador de agua.
- ✓ Purificador de agua.
- ✓ Autoclave.
- ✓ Cocinilla eléctrica.
- ✓ Micrómetro de platina.
- ✓ Micrómetro ocular.
- ✓ Balanza analítica.
- ✓ Cámara del teléfono.

### 3.3. METODOLOGÍA

La metodología de esta investigación se basó en los Postulados de Koch (Agrios. citado por Soriano, 2019).

#### 3.3.1. *Elaboración del medio de cultivo PDA (papa, dextrosa y agar)*

Se guio con los procedimientos planteados por Soriano (como se citó en Agrios, 2005):

Se pesaron 250 g de papa previamente lavada y se picó en pequeños trozos. Se puso a hervir los 250 gr de papa en 500 ml de agua destilada por 30 minutos.

Se pesó 18 gr de agar y se disolvió en un vaso con agua destilada.

Se pesaron 18 gr de dextrosa por separado y se disolvió en otro recipiente con una porción de agua destilada.

Luego se filtró el caldo de la papa en un vaso de 1000 ml, en el que se añadió los otros dos componentes (agar y dextrosa) y se enrazó a un litro con agua destilada.

Toda la solución se vertió en una probeta de (1000 ml), se homogenizó removiendo o agitando con una bagueta.

Luego se vertió en cuatro matraces de 500 ml, cada uno conteniendo así 250 ml de medio.

Los matraces se taparon con algodón, luego se cubrió con la mitad de una hoja de papel bond (A4), el cual se cubrió sosteniendo de manera rígida y dándole vueltas y presionando, así quedando en la parte superior enrollada.

### **3.3.2. Esterilización**

Primeramente, se envolvieron a los materiales como: Las placas de Petri, los vasos y los frascos con hojas bond, luego fueron ubicados dentro del autoclave a una temperatura aproximada de 121°C y una presión de 15 atmósferas por 20 min. De igual manera los Erlenmeyers conteniendo el medio de cultivo PDA. Finalmente, todos los materiales una vez esterilizados fueron oreados en una estufa graduable a una temperatura de 40°C por 48 horas.

### **3.3.3. Plaqueado**

El plaqueado se ejecutó en la cámara de flujo laminar proporcionando el medio de cultivo alrededor de 20 mililitros aproximadamente en cada una de las placas de Petri, conservando las condiciones de higiene con la ayuda de un mechero en el flujo laminar, previamente desinfectado con alcohol a 96° grados. Una vez solidificado el medio de cultivo en las placas de Petri, se pusieron en refrigeración a 4°C para su mantenimiento en condiciones óptimas para luego ser utilizados.

### **3.3.4. Fase campo, recolección de muestras**

Las actividades del campo de esta investigación se realizaron en plantas de palto del cultivar “Fuerte”, ubicadas en la Localidad de Pariacolca, distrito de Quillo, provincia de Yungay de árboles aproximado de 6 años de edad.

#### Figura 4

*Recolección de muestras de palto en la localidad de Pariacolca, distrito de Quillo*



Se recolectaron muestras de raíces de plantas afectadas por la enfermedad, las muestras se colocaron en bolsas de polietileno y fue rotulado (lugar, fecha y variedad de palto). Luego se llevaron al Laboratorio para su procesamiento respectivo. Las muestras que no fueron procesadas, inmediatamente se guardaron en refrigeración para evitar su deterioro y su contaminación.

### 3.3.5. Fase laboratorio

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias - UNASAM.

#### ❖ **Procesamiento de las muestras.**

Las raíces seleccionadas se lavaron previamente con agua del caño y con la ayuda de un cepillo suave. Se tendieron porciones de las raíces lavadas sobre un papel toalla para la eliminación del exceso de agua durante un tiempo prudencial.

#### **Figura 5**

*Muestra de raíz del palto para la siembra en el medio del cultivo papa dextrosa agar (PDA)*



- ❖ Los tejidos afectados se desinfectaron con Hipoclorito de sodio de concentración 1%. por un tiempo de cinco minutos.

### 3.3.6. Aislamiento del patógeno

Para aislar el patógeno o los patógenos causantes de las enfermedades se utilizó la metodología sugerida por (French y Hebert. citado por Soriano, 2019):

**Primero:** Se procedió a la esterilización de la cámara de aislamiento o flujo laminar haciendo uso de alcohol de 96 grados y el flameado con la ayuda del mechero de alcohol.

**Segundo:** Para la desinfección de las muestras, primero se lavaron con agua de caño, y se utilizaron frascos esterilizados a los que se añadió agua destilada. Con un bisturí se seccionaron las partes infectadas de las raíces en pequeños trozos (0,5 cm) que se colocaron en los frascos. Posteriormente se agregó a cada frasco una solución de hipoclorito de sodio al 5% por 3 a 5 minutos para desinfectar las muestras: Pasado este tiempo se eliminó la solución de hipoclorito y finalmente se enjuagaron de 4 a 6 veces con agua destilada, para eliminar el desinfectante absorbido por las muestras.

**Tercero:** se procedió al cultivo de las submuestras, alistando doce placas de Petri con medio PDA, una pinza, mechero de alcohol al 96°. Encendido el mechero, se cogió la pinza y una placa, se flameó la pinza y el borde de la placa de Petri girándola alrededor de la flama, se abrió la placa y se fueron ubicando las muestras en el medio de cultivo en sentido circular (3 a 4 submuestras por placa). En seguida se sellaron con Parafilm y se rotuló con plumón indeleble (raíz, N° de muestra y fecha), repitiendo el proceso con las siguientes placas de Petri. Posteriormente, las placas se incubaron dentro de la cámara de aislamiento, a una temperatura entre 18°C a 25°C. con una iluminación permanente, utilizando un fluorescente de luz

blanca en la cámara de incubación y se fue observando diario e inter diario para observar el desarrollo del patógeno y la esporulación.

**Cuarto:** Purificación del agente causal. Al observar el desarrollo de contaminantes, se realizó un repique o resiembra, trasladando una porción de las colonias (clamidosporas, microconidias y macroconidias) del patógeno sospechoso a otra placa con medio de cultivo varias veces. De esta manera se obtuvieron cultivos purificados empleados para registrar las características macroscópicas de las colonias y características microscópicas del microorganismo.

### ***3.3.7. Caracterización de los hongos causales***

Para la caracterización microscópica de los hongos, primeramente, se obtuvieron pequeñas estructuras del hongo con la ayuda de los estiletes y enseguida fueron ubicadas en una gota de lactofenol con Cotton blue sobre una lámina porta objetos. Luego se cubrió cuidadosamente con una lámina cubre objetos a las estructuras de las sextas con el apoyo de un estilete, evitando la formación de burbujas de aire, labor que se repitió hasta asegurar el traslado de las estructuras del hongo. Luego se procedió con el colocado de las muestras en el microscopio y se observó hasta a una magnificación 400X, seguidamente se describieron las características morfológicas, así como el color, forma, número de septas y las mediciones micrométricas del macro y microconidias. Por último, se describieron color y forma de las clamidosporas; así mismo se midieron el diámetro de las clamidosporas. Se basó en un mínimo de 50 mediciones al azar por cada estructura analizada, basando en los trabajos de investigación de (Besoain y Piontelli ,1999; Ramirez y Morales, 2013; Soriano, 2019).

### 3.3.8. Estandarización de inóculo y pruebas de patogenicidad

#### a. Preparación de sustrato

Se utilizó como sustrato “aserrín” y para su desinfección, primero se hizo hervir agua de caño en cocina eléctrica hasta que llegue al punto de ebullición, luego se sumergió al sustrato por un tiempo de 30 minutos y se esperó a que baje la temperatura un tiempo de 20 minutos, pasado este tiempo se eliminó el agua caliente, lavaron con agua de caño y posteriormente se tendió encima del papel toalla hasta que llegue a capacidad de campo.

#### b. Siembra de las semillas de palto en bandejas

Para la siembra de las semillas, primero se escogió semillas aparentemente sanas de variedad mexicana, luego se realizó corte apical de 8 a 18 milímetros a la semilla para apresurar la germinación. Las semillas se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 5 % por 4 a 6 minutos, pasado este lapso de tiempo se excluyó al desinfectante y posteriormente se lavaron de 5 veces a 6 veces con agua destilada, para excluir al hipoclorito absorbido por las semillas. Finalmente se instalaron las semillas de palto en medio del sustrato dentro de una bandeja.

#### Figura 6

*Instalación de semillas de palto en bandejas para su germinación*



### **c. Trasplante de las semillas de palto**

Viendo la viabilidad y formación de raíces adecuadas para el trasplante de las semillas se hizo trasplante de ellas a un vaso transparente con sustrato de aserrín desinfectado para facilitar a ver el crecimiento de la raíz y a la vez poder observar los síntomas del hongo fitopatógeno inoculado.

### **d. Inoculado de hongo a la planta sana**

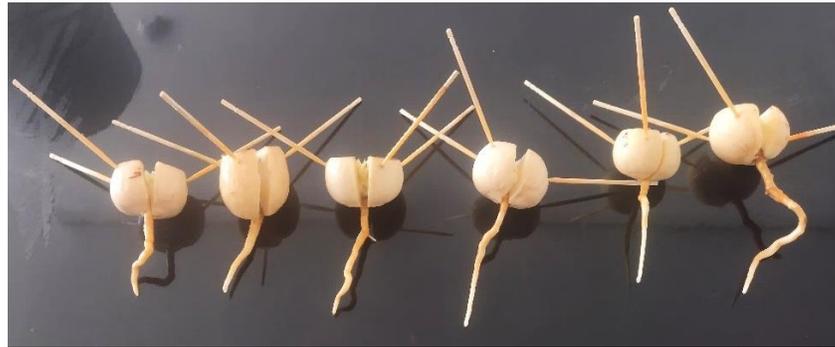
La inoculación se hizo a partir del hongo aislado en el medio de (PDA), se utilizaron las metodologías de Besoain y Piontelli (1999); Ramirez y Morales (2013), se basó en la preparación de propágulos de macro y microconidias en agua destilada estéril (80 ml), adquiriendo el hongo a partir de las placas de Petri con el microorganismo puro. Se realizaron dos tratamientos: La concentración del agente a inocular de los patógenos aislados fue de  $1 \times 10^6$  macro y microconidias / mililitro, ajustada con el apoyo de un hematocitómetro o cámara de conteo con agua destilada estéril. Una vez seleccionado las semillas con formación de raíces adecuadas se sumergieron a ellas en una solución de propágulos por 20 minutos, una vez pasado este lapso de tiempo se traspasaron a las semillas del palto de cultivar variedad mexicana a vasos transparentes con sustrato aserrín, con 5 repeticiones (T1) y solo agua destilada estéril al Testigo, con 3 repeticiones (T0).

La prueba de patogenicidad se realizó bajo condiciones del Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias – UNASAM, ubicado en Shancayan – Huaraz en plántulas sanas de palto, a una temperatura entre  $18^{\circ}\text{C}$  a  $22^{\circ}\text{C}$ . El experimento se terminó a los 100 días después haber sido inoculado a

las semillas, durante el período se anotaron semanal a todos los síntomas que surgieron.

### **Figura 7**

*Muestra de semillas de variedad mexicana a inocular*



### **Figura 8**

*Inoculación del patógeno aislado sobre las raíces de la plántula de palto, usando medio de cultivo, agua destilada estéril*



### 3.3.9. *Re aislamiento del patógeno*

En las raíces inoculadas de (palto), una vez apreciado los síntomas tanto en la parte radicular, así como en el área foliar, se realizó el mismo procedimiento detallado en el paso **3.3.6.** (aislamiento del patógeno). En el Laboratorio de Fitopatología – Facultad de Ciencias Agrarias - UNASAM.

#### **Figura 9**

*Re aislamiento, ubicación en forma triangular de las muestras, en el medio de cultivo (3 submuestras por placa de Petri)*



## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. RESULTADOS

#### 4.1.1. Desarrollo y aislamiento de patógenos en medio de PDA.

El inicio del crecimiento de las colonias de las muestras de raíces en medio PDA, se observaron al cuarto día después de la siembra, con rápido crecimiento radial, completando el llenado de la placa de Petri entre 10 a 13 días después de la siembra, las que fueron transferidas a nuevo medio PDA. Durante su desarrollo se observó abundante micelio aéreo con textura aterciopelada o lanosa de tonalidad beige. Después de 9-11 días de incubación, esta coloración se volvió crema semi hialina; mientras que en el reverso de la placa tomaron una coloración amarillo y marrón. El micelio se desarrolló en forma superficial y parcialmente sumergido en el medio de cultivo (**Fig. 10 y 11**).

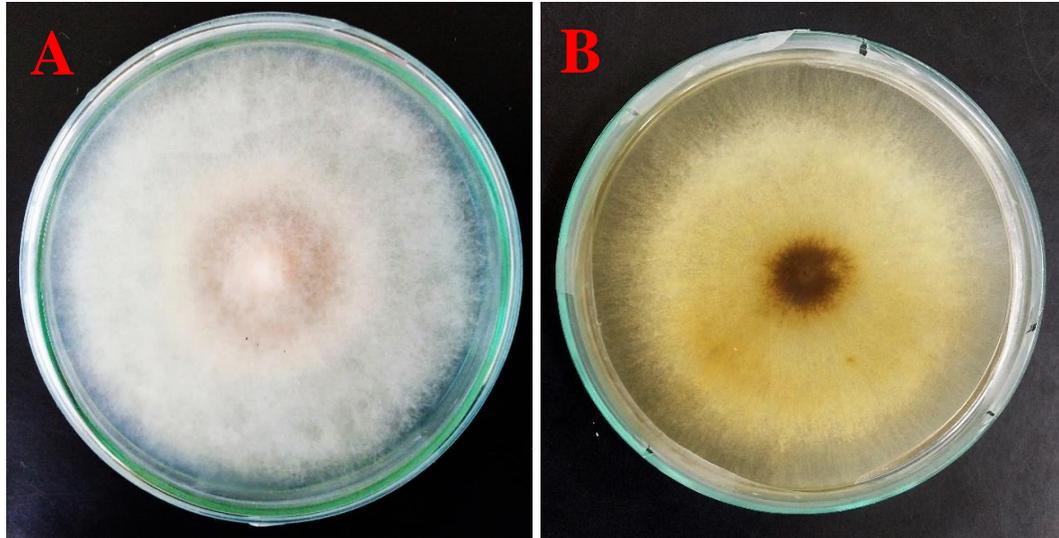
#### Figura 10

*A: Desarrollo del patógeno en las muestras de raíces, B: desarrollo del patógeno purificado*



## Figura 11

*Comportamiento y coloración del micelio después de 13 días de siembra: A: Cara superior de la placa, B: Cara inferior de la placa*



### 4.1.2. Características morfológicas microscópicas

En las características microscópicas se observa; el micelio septado, hialino, abundante macro y microconidias, así mismo la presencia la gran cantidad de clamidosporas.

## Macroconidias

Las macroconidias son lisas, de forma recta y levemente curvadas, cilíndricas a fusoides, extremos semi curvadas, base con la de inserción levemente protuberante, con presencia de 1 a 3 septas, usualmente 3 (**Fig. 12A**). Las dimensiones promedio para las macroconidias fueron de  $26.28 \pm 3.80 \mu\text{m}$  de largo y  $5.05 \pm 1.24 \mu\text{m}$  de ancho y una relación L/A de  $5.20 \mu\text{m}$  (**Tabla. 3**).

**Tabla 3**

*Medición de las macroconidias del patógeno encontrado*

Nº	Largo	Factor	<b>Macroconidias Longitud (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	Ancho	Factor	<b>Macroconidias Ancho (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
1	12.50	2.5	<b>31.25</b>	2.5	2.5	<b>6.25</b>
2	15.00	2.5	<b>37.5</b>	3.5	2.5	<b>8.75</b>
3	13.00	2.5	<b>32.5</b>	3.0	2.5	<b>7.5</b>
4	10.00	2.5	<b>25</b>	2.0	2.5	<b>5</b>
5	11.50	2.5	<b>28.75</b>	2.5	2.5	<b>6.25</b>
6	10.50	2.5	<b>26.25</b>	2.0	2.5	<b>5</b>
7	10.00	2.5	<b>25</b>	2.0	2.5	<b>5</b>
8	11.00	2.5	<b>27.5</b>	2.0	2.5	<b>5</b>
9	9.00	2.5	<b>22.5</b>	1.5	2.5	<b>3.75</b>
10	12.00	2.5	<b>30</b>	2.5	2.5	<b>6.25</b>
11	9.50	2.5	<b>23.75</b>	1.5	2.5	<b>3.75</b>
12	8.50	2.5	<b>21.25</b>	1.5	2.5	<b>3.75</b>
13	9.00	2.5	<b>22.5</b>	1.5	2.5	<b>3.75</b>
14	10.00	2.5	<b>25</b>	2.0	2.5	<b>5</b>
15	9.50	2.5	<b>23.75</b>	1.5	2.5	<b>3.75</b>
16	8.50	2.5	<b>21.25</b>	1.5	2.5	<b>3.75</b>
17	10.50	2.5	<b>26.25</b>	2.0	2.5	<b>5</b>
18	10.00	2.5	<b>25</b>	2.0	2.5	<b>5</b>
19	9.50	2.5	<b>23.75</b>	1.5	2.5	<b>3.75</b>
20	10.00	2.5	<b>25</b>	2.0	2.5	<b>5</b>
21	11.50	2.5	<b>28.75</b>	2.5	2.5	<b>6.25</b>
22	10.00	2.5	<b>25</b>	2.0	2.5	<b>5</b>
23	8.00	2.5	<b>20</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
24	10.00	2.5	<b>25</b>	2.0	2.5	<b>5</b>
25	10.50	2.5	<b>26.25</b>	2.0	2.5	<b>5</b>

26	9.00	2.5	<b>22.5</b>	1.5	2.5	<b>3.75</b>
27	10.00	2.5	<b>25</b>	2.0	2.5	<b>5</b>
28	10.50	2.5	<b>26.25</b>	2.0	2.5	<b>5</b>
29	14.50	2.5	<b>36.25</b>	3.0	2.5	<b>7.5</b>
30	10.00	2.5	<b>25</b>	2.0	2.5	<b>5</b>
31	10.50	2.5	<b>26.25</b>	2.0	2.5	<b>5</b>
32	12.50	2.5	<b>31.25</b>	2.5	2.5	<b>6.25</b>
33	14.00	2.5	<b>35</b>	3.0	2.5	<b>7.5</b>
34	9.50	2.5	<b>23.75</b>	1.5	2.5	<b>3.75</b>
35	10.00	2.5	<b>25</b>	2.0	2.5	<b>5</b>
36	10.50	2.5	<b>26.25</b>	2.0	2.5	<b>5</b>
37	10.00	2.5	<b>25</b>	2.0	2.5	<b>5</b>
38	9.00	2.5	<b>22.5</b>	1.5	2.5	<b>3.75</b>
39	11.50	2.5	<b>28.75</b>	2.0	2.5	<b>5</b>
40	11.50	2.5	<b>28.75</b>	2.5	2.5	<b>6.25</b>
41	11.50	2.5	<b>28.75</b>	2.0	2.5	<b>5</b>
42	10.00	2.5	<b>25</b>	2.0	2.5	<b>5</b>
43	10.50	2.5	<b>26.25</b>	2.0	2.5	<b>5</b>
44	9.50	2.5	<b>23.75</b>	1.5	2.5	<b>3.75</b>
45	10.50	2.5	<b>26.25</b>	2.0	2.5	<b>5</b>
46	8.50	2.5	<b>21.25</b>	1.5	2.5	<b>3.75</b>
47	10.00	2.5	<b>25</b>	2.0	2.5	<b>5</b>
48	9.50	2.5	<b>23.75</b>	1.5	2.5	<b>3.75</b>
49	13.00	2.5	<b>32.5</b>	3.0	2.5	<b>7.5</b>
50	10.00	2.5	<b>25</b>	2.0	2.5	<b>5</b>
<b>Media de Ma./L</b>			<b>26.28</b>	<b>Media de Ma./A</b>		<b>5.05</b>
<b>DESV.EST - Ma./L</b>			<b>3.80</b>	<b>DESV.EST - Ma./A</b>		<b>1.24</b>
<b>Relación de L/A de Macroconidias</b>				<b>5.20</b>		

## Microconidias

Las microconidias también poseen superficie lisa, de forma elipsoide a cilíndrica, con extremos semi curvadas y presencia de 0 o 1 septa (**Fig. 12A**). Las dimensiones promedio de las microconidias fueron de  $9.78 \pm 3.29 \mu\text{m}$  de largo,  $2.32 \pm 0.44 \mu\text{m}$  de ancho y relación L/A de  $4.22 \mu\text{m}$  (**Tabla 4**).

**Tabla 4**

*Medición de las microconidias del patógeno encontrado*

Nº	Largo	Factor	<b>Microconidias Longitud (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	Ancho	Factor	<b>Microconidias Ancho (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
1	5.0	2.5	<b>12.5</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
2	2.5	2.5	<b>6.25</b>	0.5	2.5	<b>1.25</b>
3	3.0	2.5	<b>7.5</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
4	4.0	2.5	<b>10</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
5	4.0	2.5	<b>10</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
6	3.0	2.5	<b>7.5</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
7	3.5	2.5	<b>8.75</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
8	4.5	2.5	<b>11.25</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
9	4.5	2.5	<b>11.25</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
10	2.5	2.5	<b>6.25</b>	0.5	2.5	<b>1.25</b>
11	1.5	2.5	<b>3.75</b>	0.5	2.5	<b>1.25</b>
12	4.5	2.5	<b>11.25</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
13	3.0	2.5	<b>7.5</b>	0.8	2.5	<b>2</b>
14	5.0	2.5	<b>12.5</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
15	5.0	2.5	<b>12.5</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
16	5.0	2.5	<b>12.5</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
17	4.5	2.5	<b>11.25</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
18	3.5	2.5	<b>8.75</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
19	5.5	2.5	<b>13.75</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
20	4.0	2.5	<b>10</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
21	3.0	2.5	<b>7.5</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
22	3.5	2.5	<b>8.75</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
23	4.0	2.5	<b>10</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
24	4.5	2.5	<b>11.25</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
25	3.5	2.5	<b>8.75</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
26	3.0	2.5	<b>7.5</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>

27	4.5	2.5	<b>11.25</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
28	1.0	2.5	<b>2.5</b>	0.5	2.5	<b>1.25</b>
29	4.5	2.5	<b>11.25</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
30	2.5	2.5	<b>6.25</b>	0.5	2.5	<b>1.25</b>
31	3.0	2.5	<b>7.5</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
32	3.5	2.5	<b>8.75</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
33	0.5	2.5	<b>1.25</b>	0.5	2.5	<b>1.25</b>
34	3.5	2.5	<b>8.75</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
35	5.5	2.5	<b>13.75</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
36	4.5	2.5	<b>11.25</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
37	3.0	2.5	<b>7.5</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
38	3.5	2.5	<b>8.75</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
39	4.5	2.5	<b>11.25</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
40	4.0	2.5	<b>10</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
41	3.5	2.5	<b>8.75</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
42	6.5	2.5	<b>16.25</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
43	5.5	2.5	<b>13.75</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
44	4.5	2.5	<b>11.25</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
45	1.0	2.5	<b>2.5</b>	0.5	2.5	<b>1.25</b>
46	6.5	2.5	<b>16.25</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
47	5.5	2.5	<b>13.75</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
48	5.0	2.5	<b>12.5</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
49	4.0	2.5	<b>10</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
50	6.0	2.5	<b>15</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
<b>Media de Mi./L</b>			<b>9.78</b>	<b>Media de Mi./A</b>		<b>2.32</b>
<b>DESV.EST - Mi./L</b>			<b>3.29</b>	<b>DESV.EST - Mi./A</b>		<b>0.44</b>
<b>Relación de L/A de Microconidias</b>				<b>4.22</b>		

## Clamidosporas

Las clamidosporas poseen una tonalidad hialina, son de forma globosa, lisas, aisladas en cadenas o agrupadas de forma entrecortado (**Fig. 12B**), con diámetro promedio de  $9.70 \pm 1.95 \mu\text{m}$  (**Tabla 5**).

**Tabla 5**

*Medición de las clamidosporas del patógeno encontrado*

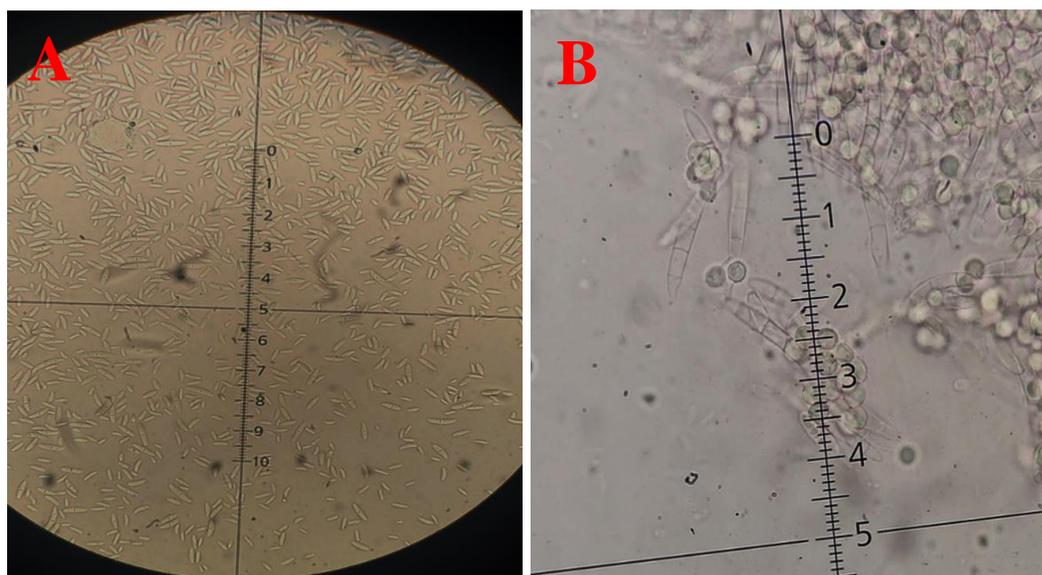
Nº	Largo	Factor	<b>Clamidosporas Longitud (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	Ancho	Factor	<b>Clamidosporas Ancho (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
1	5.0	2.5	<b>12.5</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
2	2.5	2.5	<b>6.25</b>	0.5	2.5	<b>1.25</b>
3	3.0	2.5	<b>7.5</b>	0.5	2.5	<b>1.25</b>
4	4.0	2.5	<b>10</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
5	4.0	2.5	<b>10</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
6	3.0	2.5	<b>7.5</b>	0.5	2.5	<b>1.25</b>
7	3.5	2.5	<b>8.75</b>	0.5	2.5	<b>1.25</b>
8	4.5	2.5	<b>11.25</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
9	4.5	2.5	<b>11.25</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
10	2.5	2.5	<b>6.25</b>	0.5	2.5	<b>1.25</b>
11	1.5	2.5	<b>3.75</b>	0.5	2.5	<b>1.25</b>
12	4.5	2.5	<b>11.25</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
13	3.0	2.5	<b>7.5</b>	0.5	2.5	<b>1.25</b>
14	5.0	2.5	<b>12.5</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
15	5.0	2.5	<b>12.5</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
16	5.0	2.5	<b>12.5</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
17	4.5	2.5	<b>11.25</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
18	3.5	2.5	<b>8.75</b>	0.5	2.5	<b>1.25</b>
19	5.5	2.5	<b>13.75</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
20	4.0	2.5	<b>10</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
21	3.0	2.5	<b>7.5</b>	0.5	2.5	<b>1.25</b>
22	3.5	2.5	<b>8.75</b>	0.5	2.5	<b>1.25</b>
23	4.0	2.5	<b>10</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
24	4.5	2.5	<b>11.25</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
25	3.5	2.5	<b>8.75</b>	0.5	2.5	<b>1.25</b>
26	3.0	2.5	<b>7.5</b>	0.5	2.5	<b>1.25</b>
27	4.5	2.5	<b>11.25</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
28	1.0	2.5	<b>2.5</b>	0.5	2.5	<b>1.25</b>
29	4.5	2.5	<b>11.25</b>	1.0	2.5	<b>2.5</b>
30	2.5	2.5	<b>6.25</b>	0.5	2.5	<b>1.25</b>

31	3.0	2.5	7.5	0.5	2.5	1.25
32	3.5	2.5	8.75	0.5	2.5	1.25
33	0.5	2.5	1.25	0.5	2.5	1.25
34	3.5	2.5	8.75	0.5	2.5	1.25
35	5.5	2.5	13.75	1.0	2.5	2.5
36	4.5	2.5	11.25	1.0	2.5	2.5
37	3.0	2.5	7.5	0.5	2.5	1.25
38	3.5	2.5	8.75	0.5	2.5	1.25
39	4.5	2.5	11.25	1.0	2.5	2.5
40	4.0	2.5	10	1.0	2.5	2.5
41	3.5	2.5	8.75	0.5	2.5	1.25
42	6.5	2.5	16.25	1.0	2.5	2.5
43	5.5	2.5	13.75	1.0	2.5	2.5
44	4.5	2.5	11.25	1.0	2.5	2.5
45	1.0	2.5	2.5	0.5	2.5	1.25
46	6.0	2.5	15	1.0	2.5	2.5
47	5.5	2.5	13.75	1.0	2.5	2.5
48	5.0	2.5	12.5	1.0	2.5	2.5
49	4.0	2.5	10	1.0	2.5	2.5
50	5.0	2.5	12.5	1.0	2.5	2.5
D.P de Cla. /L			9.70	D.P de Cla. /A		1.95

**Figura 12**

*A: Macro y microneidias obtenidas del aislamiento en aumento 400X, B:*

*Clamidosporas del aislamiento*



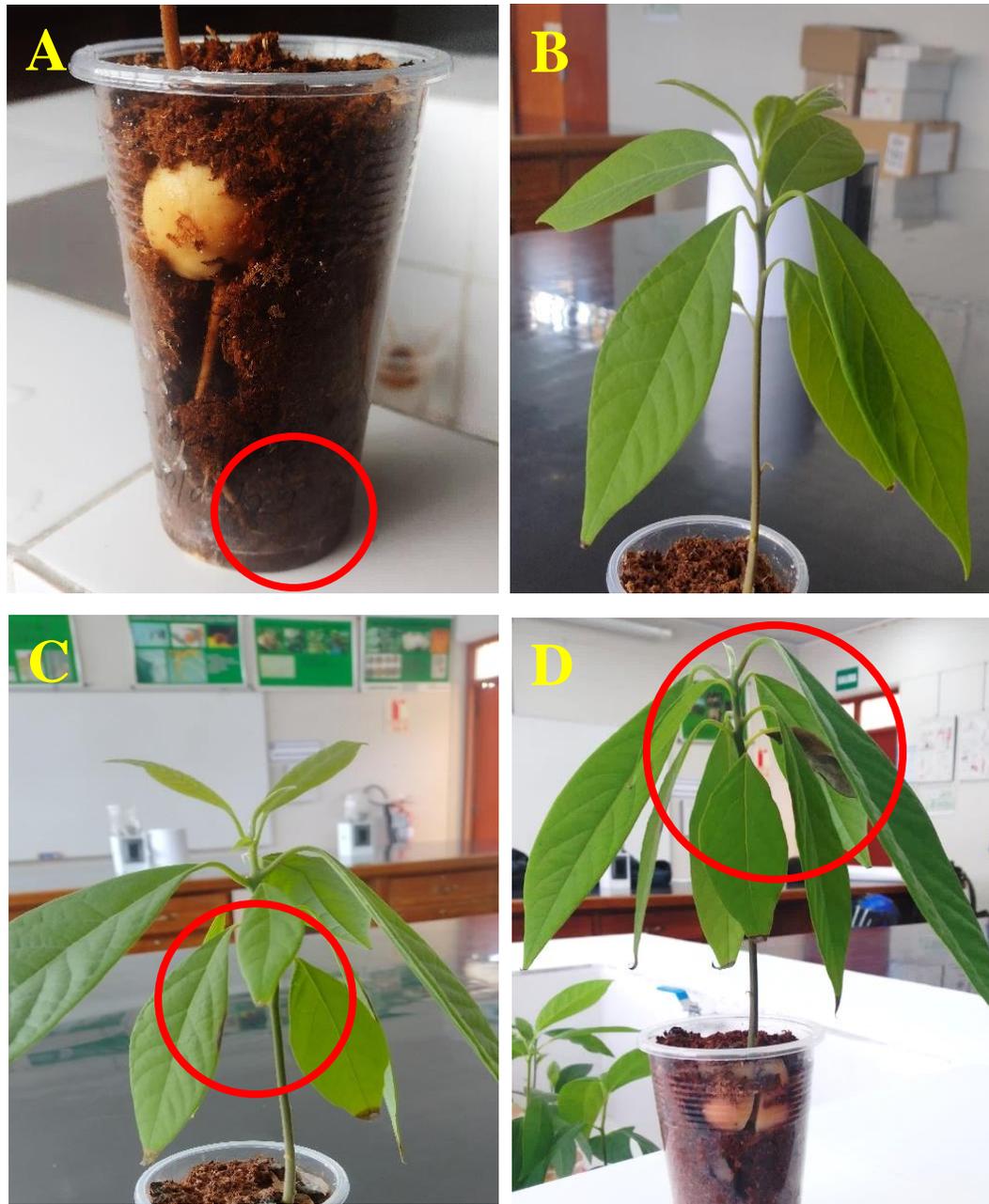
Según las características macroscópicas del desarrollo de las colonias del aislamiento y las características microscópicas del patógeno, coinciden con las reportadas para *Cylindrocarpon destructans*, según Besoain y Piontelli (1999) en Chile; Ramirez y Morales (2013) en Colombia, siendo el primer reporte de este patógeno que se ha encontrado infectando plantaciones de palto en el departamento de Ancash.

#### **4.1.3. Resultados de la inoculación del patógeno en plantas sanas de palto y desarrollo de síntomas**

Los primeros síntomas en las raíces aparecieron a los 25 días después de la inoculación con una coloración marrón claro en las partes apicales, luego con el pasar de los días mostraron una coloración marrón a color café y posteriormente tomaron un color negro y se produjo una pudrición de las mismas. En las hojas se presentó el amarillamiento a los 35 días; a los 56 días flacidez foliar y retardo en el crecimiento y de 80 a 90 días muerte descendente manifestada por la muerte de hojas que avanza en forma regresiva, acompañado con defoliación (**Fig. 13**).

### Figura 13

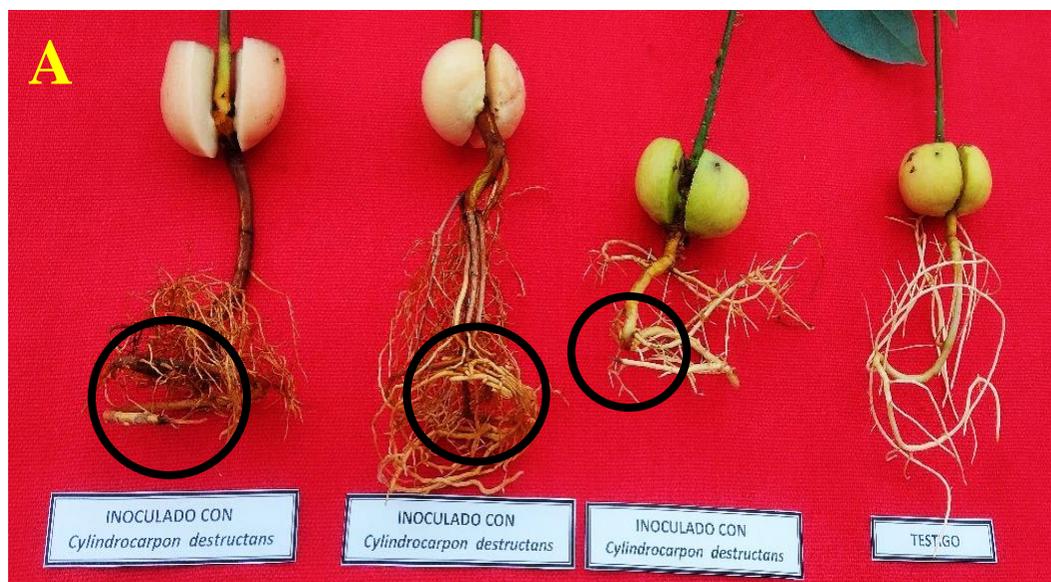
*Resultados de la prueba de patogenicidad del microorganismo encontrado*



**Legenda:** *A: necrosamiento de las raíces a los 25 días B: amarillamiento de las hojas a los 35 días C: flacidez foliar a los 56 días D: muerte regresiva, acompañado con la defoliación a los 80 a 90 días de inoculado.*

## Figura 14

*Sintomatología observada en raíces, de plántulas inoculados cultivar mexicana*



**Leyenda:** A: pudrición negra de las raicillas de plántulas infectadas con *Cylindrocarpon destructans* a los 100 días de inoculado.

### 4.1.4. Re aislamiento del microorganismo inoculado

En esta fase el patógeno re aislado y cultivado en PDA tuvo las mismas características que en el punto 4.1.1. En cuanto al inicio del crecimiento de las colonias de las muestras de raíces en medio PDA, se observaron al cuarto día después de la siembra, con rápido crecimiento radial, completando el llenado de la placa de Petri entre 10 a 13 días después de la siembra las que fueron transferidas a nuevo medio PDA. Durante su desarrollo se observó abundante micelio aéreo con textura aterciopelada o lanosa de tonalidad beige. Después de 9-11 días de incubación, esta coloración se volvió crema semi hialina; mientras que en el reverso de la placa tomaron una coloración amarillo y marrón.

### **Características morfológicas**

Las características del desarrollo de las colonias y las características morfológicas microscópicas coinciden con el primer aislamiento, en las características microscópicas se observa el micelio septado, hialino, abundante macro y microconidias, así mismo la presencia la gran cantidad de clamidosporas Micelio.

### **Macroconidias**

Las macroconidias son más grandes y lisas, de forma recta y levemente curvadas, cilíndricas a fusoides, extremos semi curvadas, base con la de inserción levemente protuberante, con presencia de 1 a 3 septas, usualmente 3 (**Fig. 12A**). Las dimensiones promedio para las macroconidias fueron de  $26.28 \pm 3.80 \mu\text{m}$  de largo y  $5.05 \pm 1.24 \mu\text{m}$  de ancho y una relación L/A de  $5.20 \mu\text{m}$  (**Tabla 3**).

### **Microconidias**

Las microconidias poseen superficie, de forma elipsoide a cilíndrica, con extremos semi curvadas y presencia de 0 o 1 septa (**Fig. 12A**). Las dimensiones promedio de las microconidias fueron de  $9.78 \pm 3.29 \mu\text{m}$  de largo,  $2.32 \pm 0.44 \mu\text{m}$  de ancho y relación L/A de  $4.22 \mu\text{m}$  (**Tabla 4**).

### **Clamidosporas**

Las clamidosporas presentan un diámetro variado y poseen una tonalidad hialina, son de forma globosa, lisas, aisladas, en cadenas o agrupadas de forma entrecortado (**Fig. 12B**), con diámetro promedio que fue de  $9.70 \pm 1.95 \mu\text{m}$  (**Tabla 5**).

## 4.2. DISCUSIÓN

Con relación al aislamiento desarrollado en el medio del PDA, incubado en flujo laminar a una temperatura que osciló entre 18 – 22 °C, el inicio del crecimiento de las colonias de las muestras de raíces en medio PDA, se observaron al cuarto día después de la siembra, con rápido crecimiento radial, completando el llenado de la placa de Petri entre 10 a 13 días después de la siembra, las que fueron transferidas a nuevo medio PDA. Durante su desarrollo se observó abundante micelio aéreo con textura aterciopelada o lanosa de tonalidad beige. Después de 9-11 días de incubación, esta coloración se volvió crema semi hialina; mientras que en el reverso de la placa tomaron una coloración amarillo y marrón. El micelio se desarrolló en forma superficial y parcialmente sumergido en el medio de cultivo, estas características son similares a la **Fig. 1**, reportado por Besoain y Piontelli (1999). Así mismo las características de crecimiento y desarrollo de la colonia y el comportamiento del micelio, según Ramirez y Morales (2013) corresponden a la especie de hongo *Cylindrocarpon destructans*.

Las macroconidias en este aislamiento fueron lisas, de forma recta y levemente curvadas, cilíndricas a fusoides, extremos semi curvadas, base con la de inserción levemente protuberante, con presencia de 1 a 3 septas, en la mayoría 3 septas (**Fig. 12A**). Las dimensiones promedio para las macroconidias fueron de  $26.28 \pm 3.80 \mu\text{m}$  de largo y  $5.05 \pm 1.24 \mu\text{m}$  de ancho y una relación L/A de  $5.20 \mu\text{m}$ . El resultado de las mediciones realizadas a las macroconidias del aislado está dentro del rango detallado para *Cylindrocarpon destructans*, tal y como lo mencionan Ramirez y Morales (2013).

Las microconidias poseen superficie, de forma elipsoide a cilíndrica, con extremos semi curvadas y presencia de 0 o 1 septa (**Fig. 12A**). Las dimensiones promedio de las microconidias fueron de  $9.78 \pm 3.29 \mu\text{m}$  de largo,  $2.32 \pm 0.44 \mu\text{m}$  de ancho y relación L/A de  $4.22 \mu\text{m}$ . El resultado de las mediciones realizadas a las microconidias del aislado también está dentro del rango definido para *Cylindrocarpon destructans*, tal y como lo reportado por Ramirez y Morales (2013).

Las clamidosporas presentan un diámetro variado y poseen una tonalidad hialina, son de forma globosa, lisas, aisladas en cadenas o agrupadas de forma entrecortado (**Fig. 12B**), con diámetro promedio que fue de  $9.70 \pm 1.95 \mu\text{m}$ . Las características morfológicas observadas en este aislamiento, son similares a las observadas para el hongo *Cylindrocarpon destructans* aislados en plántulas de *Persea americana* por Besoain y Piontelli (1999); Ramirez y Morales (2013).

Los síntomas en la parte foliar se manifestaron un poco diferenciados a comparación con los autores Ramirez y Morales (2013); esto debido a que estos autores realizaron la prueba de patogenicidad en un vivero, donde la planta está expuesta a otros microorganismos existentes en el suelo que podrían haber acelerado la infección. Además la temperatura es más elevada durante el día en vivero la cual acelera la infección, en cambio este trabajo se hizo en condiciones de laboratorio en que la temperatura fue más estable sin cambios bruscos entre  $18^{\circ}\text{C} - 22^{\circ}\text{C}$ . por otro lado se utilizó el cultivar mexicana que es tolerante a pudriciones radiculares.

## V. CONCLUSIONES

1. Realizado el aislamiento, purificación y caracterización del agente causal de la muerte regresiva del palto en el distrito de Quillo, provincia de Yungay, departamento de Ancash se determinó que la enfermedad es causada por *Cylindrocarpon destructans*.
2. Se reporta por primera vez a *Cylindrocarpon destructans* el cultivo del palto la región Ancash.
3. Los síntomas macroscópicas radiculares y aéreas de esta enfermedad son fácilmente confundibles con los causados por, *Phytophthora cinnamomi*.

## VI. RECOMENDACIONES

Habiéndose definido la causa de una enfermedad en palto (*Persea americana*) se recomienda seguir con los siguientes trabajos de investigación:

1. Evaluar metodologías de control para combatir *Cylindrocarpon destructans*, en las plantaciones de palto tanto en viveros como en el campo definitivo.
2. Seguir evaluando las plantaciones de palto en el distrito de Quillo y en otras áreas de producción ya que están apareciendo nuevas enfermedades como es el caso de la muerte regresiva, causada por *Cylindrocarpon destructans*.
3. Difundir los resultados de esta investigación a través de diferentes medios de difusión, para alertar a los productores de palto.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

Asociación de exportadores, ADEX, (2012).

Agrios, G.N. (2002). *Fitopatología*. Segunda edición. México. Editorial Limusa, S. A. 838.

Agrios, G.N. (2005). *Plant Pathology*. Fifth edition. Editorial Elsevier Academic Press. 992 p.

Barnett H.L and B.B. Hunter (1972). *Illustrated genera of imperfect fungi*. Third edition.

Besoain X & Piontelli E; (1999). *Pudrición negra en raicillas de palto (Persea americana) por *Cylindrocarpon destructans*: patogenicidad y aspectos epidemiológicos*. Boletín Micológico;14(1-2):41-47.

Camera, M.A; C. Palazon (2000). *Verticilium de los frutales de hueso (*Verticilium dahliae*) en Montesinos, Etol. Enfermedades de los frutales de hueso pi 83-84 sociedad española e Fitopatología*.

CONAFRUT. 1997. *Cultivo de Palto*. INIA, Lima. 47p.

Franciosi, T.R. (1992). *El cultivo de palto*. Funeagro. Lima.

French, E. y T. Hebert (1980). *Métodos de la investigación fitopatológica*. Editorial IICA, San José, Costa Rica. 289.

Gonzales, L. (1981). *Introducción a la Fitopatología*. Tercera edición. Costa Rica.148.

Hernández Chávarry, K.Y; (2021). *Caracterización morfológica y patogénica de *Lasiodiplodia theobromae* en *Vaccinium corymbosum* L., Trujillo, La Libertad*. Tesis para Ingeniero Agrónomo Universidad Nacional de Trujillo. 58p.

Instituto de Desarrollo y Medio Ambiente IDMA. *Prácticas Agroecológicas para el cultivo de Palto*, Lima: 2016. 42p.

Latorre, G.B. (2004). *Enfermedades de las plantas cultivadas*. Universidad Católica de Chile. Sexta edición, edición 638p.

Maza S. (2008) *Estudio de palto en el Perú y el mundo*. Consultado 12 de octubre 2020. Disponible en <http://www.ovocadosource.com>

Medina. C. V. (2010). *Diagnóstico de enfermedades de plantas*. CONCYTEC. 227 p.

Mont K. R. (1999). *El palto y sus enfermedades*. Revista Agro enfoque. Edición 103. Lima - Perú. p (23 – 33).

Ortega Tovar, M.A. (2003) *Valor nutrimental de la pulpa fresca de aguacate Hass*. V Congreso Mundial del Aguacate. Michoacán - México. pp. 741-748.

Pérez Álvarez, S; Ávila Quezada, G y Coto Arbelo, O (2015) EL AGUACATERO (*Persea americana* Mill) Cultivos Tropicales, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas; La Habana, Cuba pp. 111-123.

Pocoy Ramirez, R.P; (2014). Caracterización e identificación del agente causal de la marchitez del Palto (*Persea americana* Mill), en el Callejón de Huaylas. Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero Agrónomo Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo. 42p.

Ramirez Gil. G & Morales Osorio, J. G;(2013) Primer informe de *Cylindrocarpon destructans* (Zinss) Scholten afectando plántulas de aguacate (*Persea americana* Mill) en Colombia. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín. Rev. Protección Veg. Vol. 28 N° 1 (2013): 27-35. 10p.

Rodriguez - Gálvez. E. (2010). Fitopatígeno de mango y palto. *Lasiodiplodia theobromae*. Editorial Manufacturas Grafic Sac - lima. 29p.

SOLID PERÚ, 2007. “Conociendo la cadena productiva de palta en Ayacucho”

Soriano Minaya, J. L.;(2019). Etiología de la caída de flores, pudrición de frutos y muerte regresiva del Capulí (*Prunus capuli* Cav.), en el callejón de Huaylas, 2017. Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero Agrónomo Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo. 36p.

Streets, R B. (1992). *Introducción a la Fitopatología*. 1° edición. Argentina Editorial hemisferio sur S.A.

WILLIAMS, L.O. 1977b. The avocados, asynopsis of the genus *Persea*, subgen. *Persea*. Economic Botany 31:315.

## VIII. ANEXOS

### **Anexo 1.** *Plantas de palto con síntomas de muerte descendente*



### **Anexo 2.** *Materiales para la preparación del medio de cultivo (PDA)*



### Anexo 3. Enfriamiento del medio de cultivo (PDA) para su posterior plaqueado



### Anexo 4. Esterilización del flujo laminar



**Anexo 5.** *Plaqueado del medio de cultivo (PDA)*



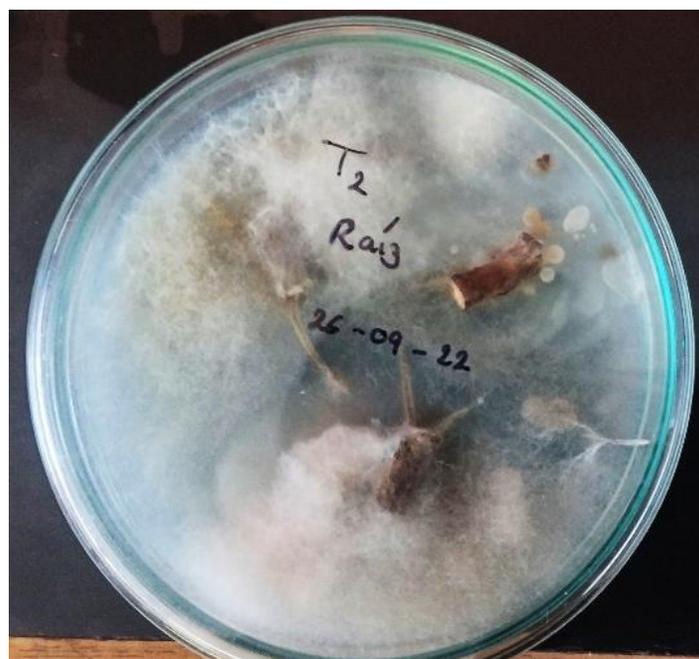
**Anexo 6.** *Recolección de muestras de palto en la localidad de Pariacolca, distrito de Quillo*



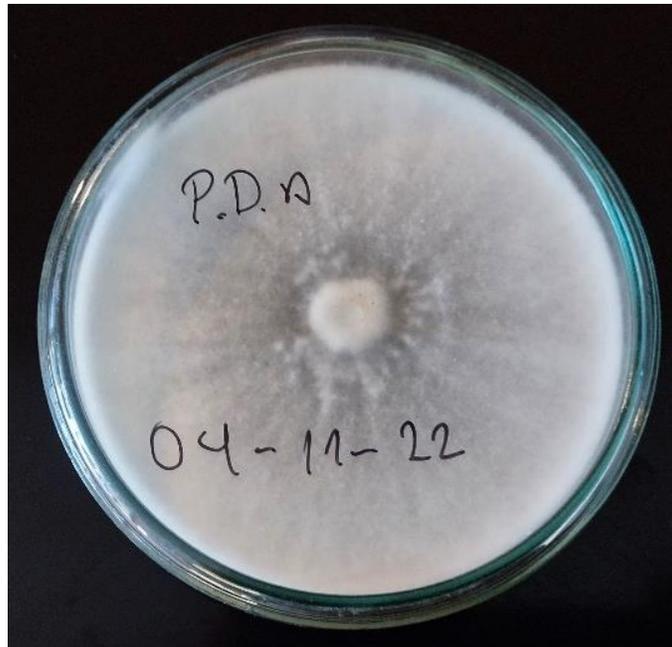
**Anexo 7.** Ubicado de las muestras en el medio de cultivo, en sentido triangular (3 a 4 submuestras por placa Petri)



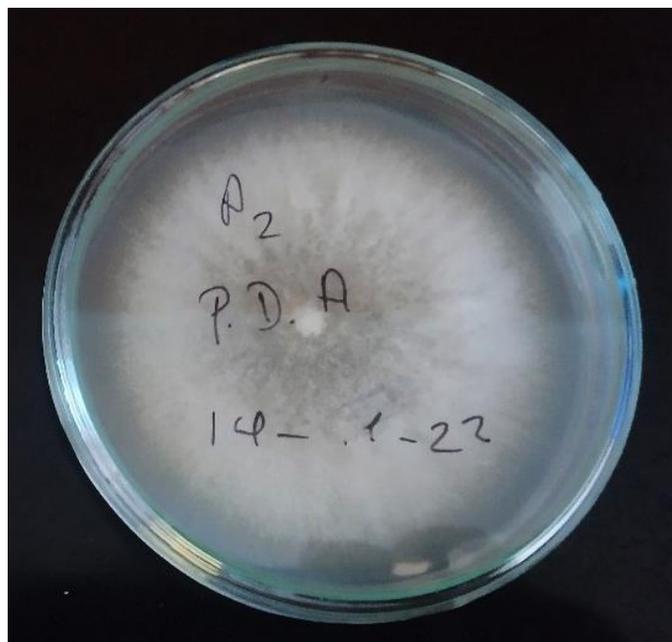
**Anexo 8.** Cultivo del hongo encontrado en la raíz, en medio PDA dentro del flujo laminar



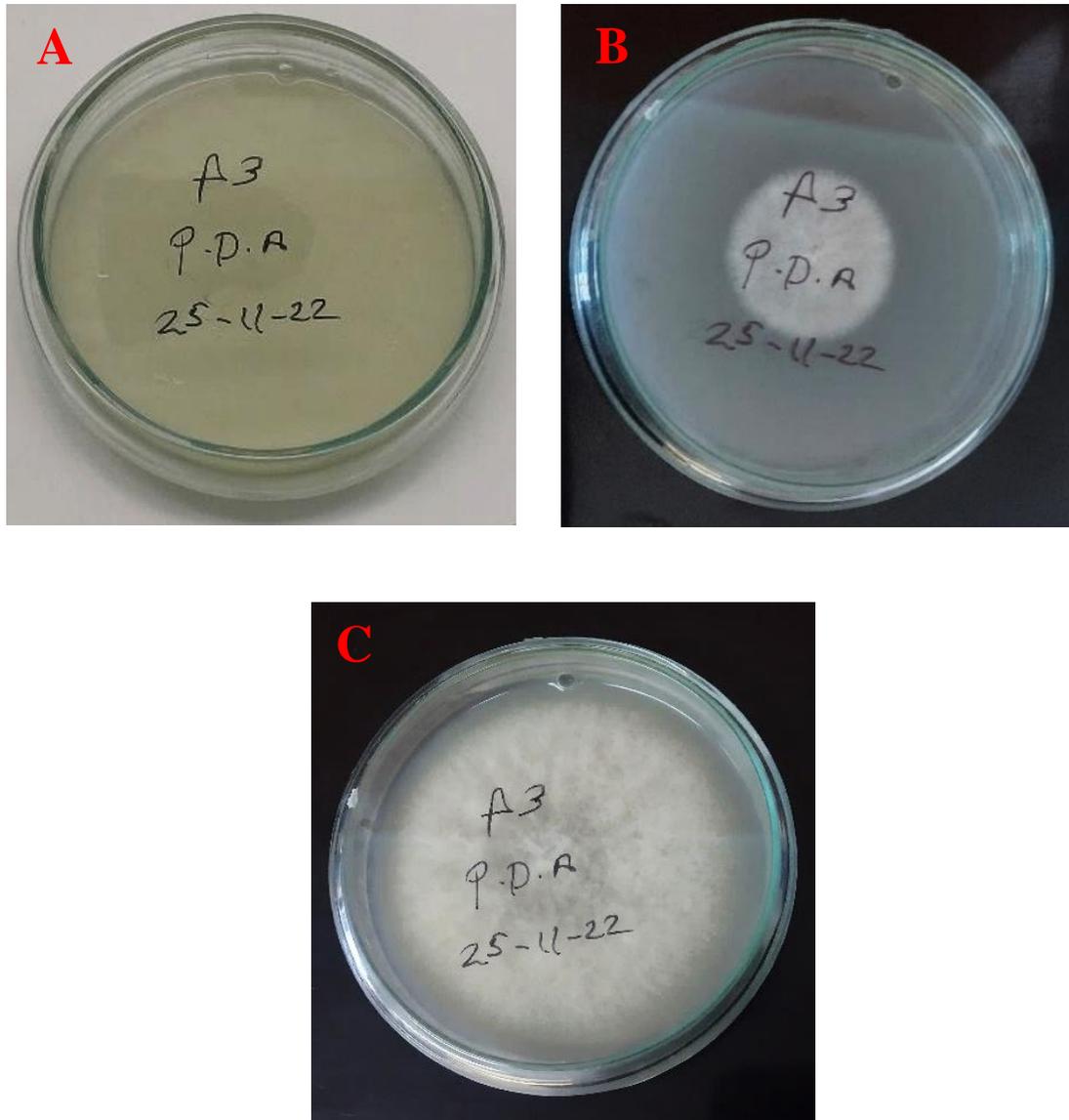
**Anexo 9.** *Desarrollo de las Colonias de *Cylindrocarpon destructans*. Después de 10 días de incubado “Purificado 1”*



**Anexo 10.** *Desarrollo de las Colonias de las Colonias de *Cylindrocarpon destructans*. “Purificado 2”*

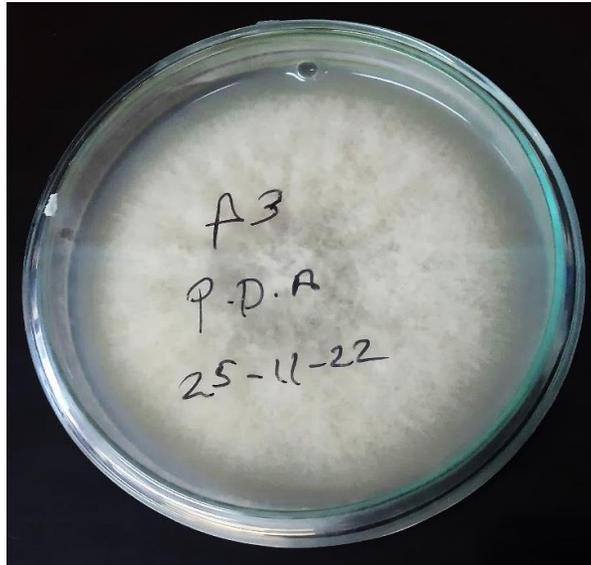


**Anexo 11.** Seguimiento del comportamiento y desarrollo de las Colonias de *Cylindrocarpon destructans*



**Leyenda A:** Incubado inicial **B:** Después de cinco días de incubado **C:** Después de diez días de incubado

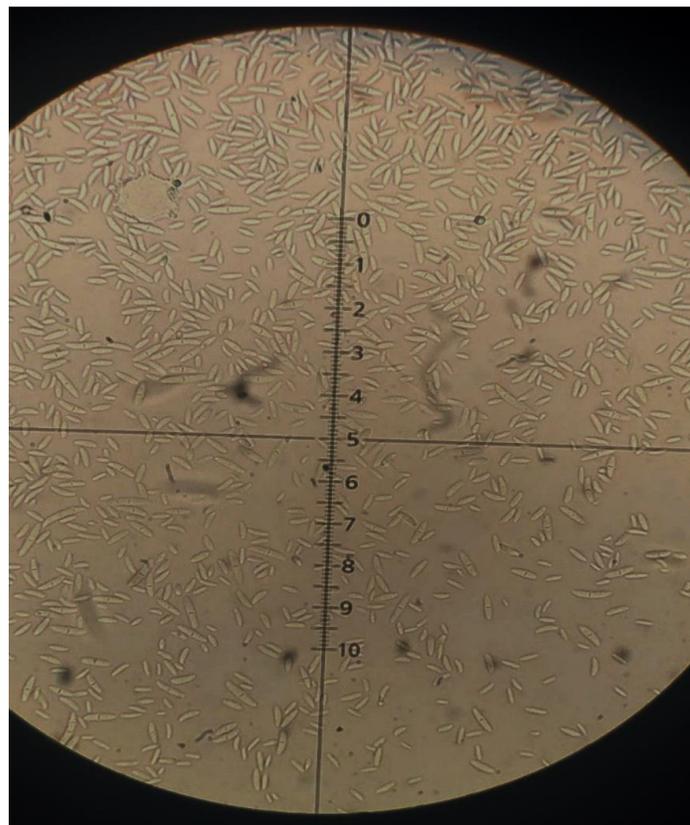
**Anexo 12.** *Desarrollo de las colonias después del aislamiento. “Purificado 3”. Después de 10 días de incubado*



**Anexo 13.** *Identificación de las características morfológicas como el color, forma, número de septas, mediciones micrométricas del macro y microconidias. Descripción del color y forma de las clamidosporas, como su medición*



**Anexo 14.** *Medida del macro y micronidias obtenidas del aislamiento en aumento 400X*



**Anexo 15.** *Desinfección de semilla*



**Anexo 16.** *Instalación de semillas de palto en bandejas para su germinación*



**Anexo 17.** *Muestra de semillas de variedad mexicana a inocular*



**Anexo 18.** *Inoculado del patógeno aislado sobre las raíces de la planta sana de palto*



**Anexo 19.** *Ensayos de patogenicidad de *Cylindrocarpon destructans* en plantas de palto ( $1 \times 10^6$  macro y microconidias / ml). La fotografía tomada después de 100 días de inoculación*



**Anexo 20.** *Re aislamiento del patógeno en medio PDA*

