

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE AGROSILVO PASTORIL
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



TESIS

**“DIAGNÓSTICO DEL AGENTE CAUSAL DE LA
PODREDUMBRE DE RAÍCES DE LA VID (*Vitis labrusca* L.)
Y SU CONTROL”**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AGRÓNOMO

PRESENTADO POR EL BACHILLER:

WILLIAMS URIARTE VÁSQUEZ

TARAPOTO - PERÚ

2015

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN – TARAPOTO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE AGROSILVO PASTORIL
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



TESIS

**“DIAGNÓSTICO DEL AGENTE CAUSAL DE LA
PODREDUMBRE DE RAÍCES DE LA VID (*Vitis labrusca L.*)
Y SU CONTROL”**

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

**PRESENTADO POR EL BACHILLER:
WILLIAMS URIARTE VÁSQUEZ**

TARAPOTO – PERÚ

2015

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN-TARAPOTO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE AGROSILVO PASTORIL
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

TESIS

**“DIAGNÓSTICO DEL AGENTE CAUSAL DE LA
PODREDUMBRE DE RAÍCES DE LA VID (*Vitis labrusca* L.)
Y SU CONTROL”**

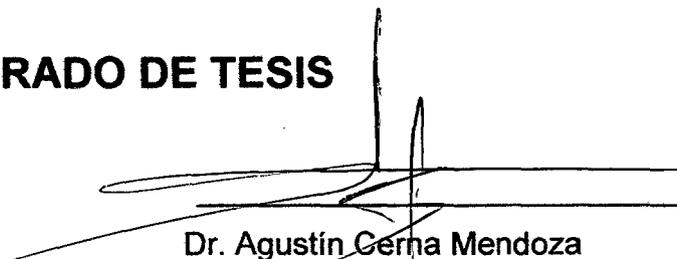
**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERO AGRÓNOMO**

JURADO DE TESIS



Dr. Winston Franz Ríos Ruiz

Presidente



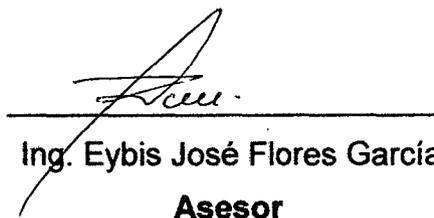
Dr. Agustín Cerna Mendoza

Secretario



Ing. María Emilia Ruíz Sánchez

Miembro



Ing. Eybis José Flores García

Asesor

TARAPOTO – PERÚ

2015

DEDICATORIA:

*“A Dios por darme la libertad de vivir
y permitirme culminar una meta
propuesta en mi vida”*

*“A mi madre Edita Vásquez Pérez quien
con su hermoso ejemplo de honestidad y
fortaleza alienta siempre mi corazón, por
su amor de madre y comprensión infinita,
A mi padre Eduar Uriarte Julón , por su
incondicional apoyo, por sus invaluable
consejos que fortalecen mi alma y
encaminan mi vida”.*

*“A Yeleni Uriarte Vásquez por el
apoyo incondicional que me brinda día
a día, por su aliento de hermana y por
el hermoso regalo de existir en mi
vida”.*

AGRADECIMIENTO:

A la Universidad Nacional de San Martín-T, alma mater que contribuyó a mi formación profesional.

Al Ing. Eybis José Flores García, por dedicar su tiempo, dedicación y sus conocimientos para guiarme, y el excelente asesoramiento recibido, además de ser una gran amigo, por darme respuestas a muchas interrogantes.

A mis maravillosos amigos y compañeros Kerlin Javier Tello Pérez, Alberto Gomer Chota Guerra, Kike Chávez Bermeo, Jhon Charles Villa Olivares, Orison Rubio Apagüeño, Gustavo Alarcón Rojas, Harry Lob Llacsahuanga Cárdenas, Wilter Córdova Salazar, Carlos Saboya Chávez y Alex Salinas López, gracias por el apoyo en el proceso de desarrollo de la tesis.

Muchísimas gracias a todos mis familiares que me ayudaron y me brindaron su colaboración, su sabiduría, su apoyo desinteresado y por sobre todo su gran amistad durante la realización de este trabajo de investigación; gracias tío Shato.

ÍNDICE

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	2
III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
3.1 Aspecto del cultivo	3
3.1.1 Origen y evolución histórica	3
3.1.2 Taxonomía	4
3.1.3 Morfología	4
3.2 Patógenos que causan pudrición de raíces en la Vid	9
3.2.1 <i>Roselinia spp.</i> "Pudrición negra de la raíz"	9
3.2.2 <i>Armillaria mellea</i> "Podredumbre blanca de la raíz"	10
3.2.3 <i>Lasiodiplodia spp.</i>	11
3.2.4 <i>Pythium sp.</i>	14
3.3 Hongos endófitos	15
3.3.1 <i>Trichoderma spp.</i>	16
3.3.2 Mecanismos de acción de <i>Trichoderma sp.</i>	18
3.4 Tipos de fungicidas	21
3.4.1 Fungicidas de contacto o protectores	21
3.4.2 Fungicidas sistémicos	22
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	23
4.1 Ubicación de la investigación	23
4.2 Metodología	23
4.2.1 Diagnóstico de la enfermedad	23
4.2.1.1 Descripción de los síntomas de la enfermedad	23
4.2.1.2 Recolección de muestras	24
4.2.1.3 Cámara húmeda	24
4.2.1.4 Preparación del medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA)	25
4.2.1.5 Siembra en medio de cultivo	26
4.2.1.6 Prueba de patogenicidad	27
4.2.1.7 Reaislamiento	27
4.2.2 Manejo integrado de las enfermedades	28
4.2.2.1 Control químico con fungicidas	28
4.2.2.2 Métodos culturales	32
4.2.2.3 Métodos biológicos	34
4.3. Variables evaluadas	35

4.3.1 Descripción de los síntomas de la enfermedad	35
4.3.2 Caracterización de los aislamientos del agente causal	35
4.3.3 Evaluación de la prueba de patogenicidad	36
4.3.4 Evaluación de los reaislamientos	37
4.3.5 Control químico	37
4.3.8 Método biológicos	38
4.3.9 Métodos culturales	38
V. RESULTADOS	39
5.1 Descripción de los síntomas de la enfermedad	39
5.1.1 Pudrición seca y carbonosa del tallo	39
5.2 Caracterización de los aislamientos del agente causal	40
5.3 Evaluación de la prueba de patogenicidad	41
5.4 Evaluación de la prueba de fungicidas <i>in vitro</i>	42
5.5 Evaluación de la prueba de fungicidas en invernadero	43
5.5.1 Medición de la altura de la planta	43
5.5.2 Medición de longitud de la nervadura central de la hoja	44
5.5.3 Medición del ancho de la hoja	45
5.6 Control biológico <i>in vitro</i> de <i>Lasiodiplodia parva</i> con cepas de <i>Trichoderma spp</i>	47
5.7 Descripción de los síntomas de la enfermedad	48
5.7.1 Pudrición húmeda de raíces	48
5.8 Caracterización de los aislamientos del agente causal	48
5.9 Evaluación de la prueba de patogenicidad	50
5.10 Evaluación de la prueba de fungicidas <i>in vitro</i>	51
5.11 Evaluación de la prueba de fungicidas en invernadero	52
5.11.1 Medición de altura de planta	52
5.11.2 Medición de nervadura central de la hoja	53
5.11.3 Medición del ancho de la hoja	54
5.12 Control biológico <i>in vitro</i> de <i>Pythium oligandrum</i> con cepas de <i>Trichoderma spp.</i>	56
5.13 Determinación de la pérdida económica causado por pudrición de raíces y tallo	57
VI. DISCUSIONES	58
VII. CONCLUSIONES	75
VIII. RECOMENDACIONES	76
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77

RESUMEN	88
SUMARY	89
ANEXOS	90

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Título	Página
1	Prueba de Fungicidas y dosis en 100 ml de PDA al 2 %.	29
2	Control Químico de <i>Lasiodiplodia parva</i> en vivero.	31
3	Control Químico de <i>Pythium oligandum</i> en vivero.	31
4	Control cultural en campo	33
5	Características biométricas y morfológicas del hongo aislado de la Pudrición seca y carbonosa del tallo	40
6	Prueba de patogenicidad del hongo aislado <i>Lasiodipladia parva</i> en el invernadero.	41
7	Análisis de varianza para el crecimiento lineal de la colonia del hongo <i>Lasiodiplodia parva</i> en la prueba <i>in vitro</i> de fungicidas.	42
8	Análisis de varianza para la medición de la altura de planta (cm) de la prueba de fungicidas del hongo <i>Lasiodiplodia parva</i> en vivero.	43
9	Análisis de varianza para la medición de longitud de nervadura central de la hoja (cm) en la prueba de control químico del hongo <i>Lasiodiplodia parva</i> en vivero.	44

10	Análisis de varianza para medición del ancho de la hoja (cm) en la prueba de fungicidas del hongo <i>Lasiodiplodia parva</i> en vivero.	45
11	Características biométricas y morfológicas.	48
12	Prueba de patogenicidad del stramenopila aislado <i>Pythium oligandrum</i> en vivero.	50
13	Análisis de varianza para el crecimiento lineal de la colonia del stramenopila <i>Pythium oligandrum</i> en la prueba <i>in vitro</i> de fungicidas.	51
14	Análisis de varianza para altura de planta (cm) en la prueba del control químico del stramenopila <i>Pythium oligandrum</i> en vivero.	52
15	Análisis de varianza para la longitud de nervadura central de la hoja (cm) en la prueba del control químico del stramenopila <i>Pythium oligandrum</i> en vivero.	53
16	Análisis de varianza para el ancho de la hoja (cm) en la prueba de control químico del stramenopila <i>Pythium oligandrum</i> en vivero.	54
17	Incidencia causado por las pudriciones de raíces y tallo.	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1	Cámara húmeda en placas de Petri.	24
2	Preparación de pedio de cultivo.	26
3	Plaqueo y siembra del hongo en placas de Petri con el medio PDA 2%.	26
4	a) Secado de muestras, b) Cámara húmeda, c) Examen microscópico.	27
5	Plaqueo y siembra del hongo con dosis de fungicida.	28
6	Cámara de Neubauer vista al microscopio. (40X).	29
7	Establecimiento del ensayo a) Inoculación con el hongo; b y c) Aplicación de fungicidas.	32
8	a) Cavado de los hoyos; b y c) pesado y agregado de sustratos; d) sembrado de estacas; e y f) circulación de los tratamientos por cada bloque.	34
9	Medición de la colonia.	35
10	a) Marchitez, b) Hojas secas, c) Cancros o lesiones, d) Raíces con pudrición seca, e) Planta erradicada y f) Aclareo de parra.	39
11	a) Colonia, b) Picnidio con masa de conidios en la base y el ostiolo, c) Conidias maduras.	40
12	Plantas 1, 2, 3 inoculadas con el hongo <i>Lasiodiplodia parva</i> y 4 testigos.	41
13	Comparativos de los Testigo inoculado con <i>L. parva</i> T4 y el Testigo absoluto T5 con cada uno de los tratamientos con fungicidas T1, T2, T3.	46
14	Prueba dual entre <i>Trichoderma</i> cepa AC3 (Aucaloma) con <i>Lasiodiplodia parva</i> .	47
15	Prueba dual entre <i>Trichoderma virens</i> (aislado de suelos de Ucayali) con <i>Lasiodiplodia parva</i> .	47

16	a) pudrición húmeda de raíces, b) Marchitez, c) Secado y caída de hojas, d) planta erradicada y e) aclareo de parra. W. Uriarte, 2015	48
17	Estructuras a) Colonia, b) Hifa no septada, c) Esporangióforo y esporangio, d) Fecundación (unión del oogonio y anteridio), e) Oospora inmadura y f) Oospora madura.	50
18	a) Planta 1,2 inoculada con <i>Pythium oligandrum</i> y 3 testigos.	51
19	Comparativos de los Testigo inoculado con <i>P. oligandrum</i> T3 y el Testigo absoluto T4 con cada uno de los tratamientos con fungicidas T1 y T2.	56
20	Prueba dual entre <i>Trichoderma</i> cepa AC3 (<i>Aucaloma</i>) con <i>Pythium oligandrum</i> .	57
21	Prueba dual entre <i>Trichoderma virens</i> (aislado de suelos de Ucayali) con <i>Pythium oligandrum</i> .	57

I. INTRODUCCIÓN

La uva es una fruta que presenta alta concentración de vitamina C, que mantiene los tejidos sanos a través del tiempo; hoy en día esta fruta es protagonista de las dietas saludables. En la Costa peruana se siembra la *Vitis vinifera*, mientras que en San Martín la que predomina es la *Vitis labrusca* con vida productiva más 30 años.

En la región San Martín, se cultiva más de 210 hectáreas de uva y se produce en promedio 1350 toneladas por año (Oficina de Información Agraria de la Dirección Regional Agraria San Martín 2012). La fruta de la vid es el producto emblemático de San Antonio, San Roque de Cumbaza y San Martín, del cual se elaboran varios productos como el uvachado, vino seco, semi seco y refrescos.

Trabajos de investigación realizados hasta el 2014, en la región San Martín, mencionan que las enfermedades de mayor importancia son el Mildiu (*Plasmopara vitícola*) y la roya (*Phackopsora euvitis*).

En estos últimos años se ha venido observando la muerte de plantas por pudriciones radiculares, causando bajas en el ingreso económico del viticultor. Por estas razones realizamos nuestro trabajo de investigación con la finalidad de hacer el diagnóstico y el control *in vitro* del agente causal y dar alternativas de manejo integrado a los viticultores de la región.

II. OBJETIVOS

1. Objetivo general.

Diagnosticar al agente causal de la podredumbre de raíces de la uva Isabela (*Vitis labrusca*) e iniciar trabajos de manejo de la enfermedad.

2. Objetivos Específicos

- 2.1. Aislar y describir las características morfológicas y biométricas para identificar la especie o especies de hongos que están causando la enfermedad de la "Putridión de las raíces" del cultivo de la uva.
- 2.2. Realizar y evaluar métodos de control cultural, químico y biológico para establecer los lineamientos más importantes en el manejo integrado de la enfermedad.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Aspecto del cultivo

3.1.1. Origen y evolución histórica

La uva Isabella es una uva híbrida que se originó en el sur de Estados Unidos (Carolina del Sur) antes de 1800, derivada de la cepa nativa *Vitis labrusca* y una variedad vinífera desconocida. Probablemente fue creada por polinización aleatoria como resultado de los intentos realizados en el siglo XVIII para implantar vides Europeas en los Estados Unidos (Durán y Hernández, 2007).

En la década de 1850, despertó el interés de los viticultores europeos debido a su resistencia a la enfermedad del oídio (Hernández *et al.*, 2011). El cultivo de la uva Isabella es de fácil expansión, por su buena adaptación a condiciones edafoclimáticas variables, elevada productividad, longevidad y relativa rusticidad (Grigoletti y Sônego, 1993 y Zanuz, 1991). Cabe destacar que a partir de finales del siglo XIX, la *Vitis labrusca* fue la solución más usada para la erradicación de la plaga de la filoxera de las plantaciones de *Vitis vinifera*, debido a que sus raíces son tolerantes a este insecto. La solución consistía en hacer porta injertos en base a *labrusca* e injertar *Vitis vinifera* y de esta forma conseguir que la planta fuera prácticamente inmune a la plaga. De todos los cultivares de *labrusca*, la vid "Isabella" es la más difundida fuera de Estados Unidos.

En América Latina, además de Argentina, la vid Isabella es cultivada en Brasil (Río Grande do Sul, Santa Catarina), Colombia (Valle del Cauca), Uruguay y Perú (Valle de Cañete en Lima); en este último país se le utiliza para elaborar el popular, pero mal llamado vino Borgoña (Durán y Hernández, 2007). Así mismo se cultiva en la región San Martín y se consume en jugos de fruta, uvachado (Etanol 45 %, azúcar, canela y uvas), cóctel, vino y como fruta fresca y se presume que su ingreso a esta región fue entre los años 1950 a 1960, por vía fluvial por la ciudad de Yurimaguas.

3.1.2. Taxonomía

La clasificación de la vid reportada por Salazar y Melgarejo (2005), es la siguiente: división: espermatofita, subdivisión: angiosperma, clase: dicotiledóneas, subclase: archiclamideas, orden: ramnales, familia: vitaceae, género: *Vitis*, especie *labrusca*.

3.1.3. Morfología

La *Vitis labrusca* es una planta leñosa de vida muy larga, tiene periodo juvenil (3 – 5 años), durante el cual no es capaz de producir flores; en general, las yemas que se forman durante un año no se abren hasta el año siguiente; puede producir alrededor de 5 kilogramos por cosecha cuando el cultivo no está en plena producción. Después de los 5 años comienza la producción en pleno; del momento de la poda al tiempo de cosecha transcurren cuatro meses, serían seis meses con el descanso que es un tiempo que se le da a la planta para que se

fortalezca (Lozano *et al.*, 2007). En San Martín se puede cosechar entre 110 a 130 días con descanso de 28 a 35 días (Chota y Tello 2015)

La vid tiene sistema radicular que se hace imponente con los años, pero se desarrolla y explora el terreno con menos minuciosidad que el de una hierba es denso, de crecimiento rápido y que se hace importante con los años, de allí que la raíz tiene un periodo inicial de extensión o colonización del suelo (7 a 10 años), luego sigue periodo de explotación del suelo (10 a 40 años), y finalmente el periodo de decadencia a partir de los 50 años; asimismo cumple las funciones básicas de anclaje, absorción de agua y elementos minerales y por ser un órgano de acumulación de reservas en sus tejidos se depositan numerosas sustancias de reserva, principalmente almidón, que sirve para asegurar la brotación después del reposo (Martínez de Toda, 1991).

El tallo, en estado espontáneo es una liana, gracias a sus tallos sarmentosos y a sus zarcillos que cuando encuentran un soporte o tutor se enroscan en él y trepan en busca de la luz, es de aspecto retorcido, sinuoso y agrietado, recubierto exteriormente por una corteza que se desprende en tiras longitudinales llamado ritidomas; junto con las hojas, flores, zarcillos y frutos conforman la parte aérea de la vid. (Martínez de Toda, 1991).

Las hojas son simples, alternas, dísticas con ángulo de 180°, con borde dentado, color verde más intenso en el haz que en el envés, presenta también vellosidad más intensa aunque hay variedades con hojas glabras y divergencia normal de media compuestas por peciolo y limbo. El peciolo, está inserto en el pámpano, envainado o ensanchado en la base, con dos estípulas que caen

prematuramente y el limbo, generalmente lobulado (cinco nervaduras que parten del peciolo y se ramifican), formando lóbulos más o menos marcados dependiendo de la variedad; pueden tener varias formas: cuneiformes, cordiformes, pentagonal, orbicular, reniforme (Mullins *et al.*, 1992).

Los zarcillos y las inflorescencias son estructuras comparables a los tallos y disponen sobre los nudos en el lado opuesto al punto de inserción de las hojas; pero no todos los nudos llevan zarcillos o inflorescencias (Martínez de Toda, 1991), tienen un origen semejante por lo que es frecuente encontrar estados intermedios (zarcillos con algunos frutos) y pueden ser bifurcados, trifurcados o polifurcados (Mullins *et al.*, 1992).

La inflorescencia de la vid se conoce con el nombre de racimo que es de tipo compuesto (Martínez de Toda, 1991). Las flores son hermafroditas, pentámeras, pequeñas (2 mm), de color verde y poco llamativas, se agrupan como inflorescencias en racimos, conformadas desde yemas fértiles en el pámpano (Ryugo, 1993).

El racimo es un órgano opositifolio, es decir, se sitúa opuesto a la hoja y está formado por un tallo principal llamado pedúnculo hasta la primera ramificación; la vid cultivada lleva de uno a tres racimos por pámpano fértil, lo normal son dos racimos y rara vez salen cuatro (Martínez de Toda, 1991).

La fructibilidad de las yemas está condicionado por varios factores en los que podemos señalar algunos: Climáticos, como luz, demostrando que existe una correlación de 0,77 entre la cantidad de horas luz durante el periodo de

diferentes yemas fructíferas, además se encontró mayor efecto sobre la fructificación de yemas de la cantidad de horas luz sobre la intensidad de ésta; otro factor importante de gran influencia es la temperatura óptima, para diferenciación se encuentra entre 30 y 35 °C y temperaturas mayores reducen la diferenciación (Almanza, 2008).

El fruto, es una baya carnosa de forma y tamaño variable, más o menos esférico u ovalado, de sabor. De acuerdo con la variedad, contiene de una a cuatro semillas, aunque hay variedades sin semilla. La cáscara está cubierta de una capa de células cerosas llamada pruina que protege el fruto de daños de insectos, pérdida de agua y le da buena apariencia. La cáscara contiene la mayor parte de los constituyentes del color, aroma y sabor de las uvas y es más rica en vitamina C que la pulpa (Morales y Morales, 1995).

La poda equilibra el reparto de los frutos sobre las diferentes partes de la planta, provocando una mejor alimentación de estos y limitando los excesos de cosecha (Bretaudeau, 1978). La definición de carga que trata del conjunto de yemas dejadas en la poda, es decir, que si dejamos 10 yemas, la carga será 10; y si dejamos 25 la carga será 25 y que el hombre puede hacer infinitas variaciones con la carga, desde dejar todas las yemas en un solo sarmiento hasta dejar una yema en cada pulgar que queda después de hecha la poda (Larrea, 1981).

La época de poda y sus consecuencias, están en una serie de datos, suficientemente contrastados por diferentes zonas vitícolas que permiten extraer

conclusiones generales a cualquier región y variedad (Martínez, 1999); sin embargo, dentro del periodo de reposo comprendido entre la caída de la hoja y el desborre, las distintas experiencias de época de poda, ha dado resultados contradictorios, dependiendo, fundamentalmente de la región y de la vinífera estudiada, pero, con bastante frecuencia se observa que la poda tardía tiende a aumentar la fertilidad de las yemas. Las podas menores de dos semanas después de la cosecha reduce la fertilidad de las yemas de la *Vitis labrusca*, mientras que las podas después de los 28 días de la cosecha incrementan la fertilidad de las yemas.

El número de pulgares y/o yemas que se deje, debe guardar relación con la capacidad productiva de la Vid, y al tamaño de los sarmientos de los cuales ellos son las partes basales, los pulgares deben estar distribuidos de tal manera que la planta mejore su forma y los frutos estén expuestos uniformemente. La poda constituye el medio principal para regular la cosecha, significa la remoción de ciertas partes de la planta para modificar y utilizar sus hábitos naturales, con miras a lograr una mayor producción y mejor calidad de fruta; a menor costo y por un largo periodo. El espesor de la rama de la *Vitis labrusca*, para la poda está entre 5 a 7 mm de diámetro y no tiene similitud con las ramas de la *Vitis vinifera* que sostienen el grosor de un dedo (Rodríguez, 1996).

3.2. Patógenos que causan pudrición de raíces en la vid.

3.2.1. *Rosellinia* spp.

La pudrición negra de la raíz causada por el hongo del género *Rosellinia*, es una enfermedad fungosa importante porque produce daños severos en el cultivo de la Vid (Wellman, 1953). Esta enfermedad es muy frecuente en zonas tropicales y subtropicales. Afecta a la vid y otros cultivos como el café, té, lima, ají, cacao, palto (Bazán, 1965).

La enfermedad en el mundo está distribuida geográficamente en regiones con alta temperatura y humedad como Israel, España, Estados Unidos (California), Europa, Norte y Sud América, África, Australia, New Zeland, India, La Unión Soviética y Japón (Fresa, 1975).

Rosellinia spp presenta ascomata, simple o agregada, libre o sobre un subículo hifal o inmerso en el tejido del hospedante y cubierto por un Clipius (Müller, 1973), los peritecios son ostiolados, globosos, ensanchados a piriforme, glabros y frecuentemente sentado sobre un hipostroma de compuestos por células de pared gruesa. Cuello ostiolar papilado o cónico compuesto por capas de células lisas y células de pared gruesa marrón oscuro, internamente las células son sub hialinas o hialinas. Ascas unitunicadas, cilíndricas, pie alargado, con estructura apical amiloide y en el interior se encuentran 8 ascosporas. Las Ascosporas son unicelulares, marrón oscuro, elipsoide, con una hendidura longitudinalmente y ceptada (Hanlen 1989). Existen más de 100 especies de *Rosellinia* causantes de pudriciones radiculares en diversos hospedantes leñosos y sub leñosos (Fernández, 1978).

3.2.2. *Armillaria mellea*

Es un hongo Basidiomicete que pertenece al orden Agaricales y a la familia Tricholomataceae. El micelio, los rizomorfos, los cuerpos fructíferos y las basidiosporas característicos del género *Armillaria*, lo diferencian de otros géneros incluidos dentro del mismo orden (Pegler, 2000). Este hongo es causante de la podredumbre o mal blanco de la raíz en especies leñosas.

El micelio de *A. mellea* generalmente crece entre la corteza y el cilindro vascular de las plantas infectadas, aunque también puede crecer sobre la misma corteza y dispersarse hasta el sistema radicular, en un principio son de color blanco, y después pasan a ser de color miel.

Este hongo es capaz de producir rizomorfos, que son agregaciones miceliales filamentosas de 1 a 3 mm de diámetro con una capa externa negra y melanizada (Garraway, 1991). Pueden ser de dos tipos: subterráneos, que son los que están en el suelo y extienden la infección por el terreno, subcorticales, que aparecen debajo de la corteza inmersos en las placas del micelio. Cuando el ápice de crecimiento del rizomorfo entra en contacto con una raíz susceptible cercana, se adhiere y penetra a través de la corteza a la zona del cambium. Ahí se desarrolla el típico micelio en abanico de *A. mellea*, quedando así invadida y parasitada la raíz. (O'Reilly 1963).

Los síntomas específicos que permiten diagnosticar la podredumbre blanca de raíz se sitúan en el sistema radical y en el cuello de la planta, ya que la infección de *A. mellea* afecta sobre todo a las partes subterráneas de las plantas susceptibles, y a menudo se extiende a más de un metro de profundidad. El

patógeno produce zonas necróticas en las raíces gruesas y en la base del tronco, por debajo de la corteza. Las enzimas hidrolíticas que produce el patógeno destruyen el cambium y el floema, y como consecuencia de la infección se observa un flujo de resina o goma en las plantas (Agrios, 2005).

La infección de este hongo causa marchitez, clorosis y pérdida de turgencia en las hojas, que se desarrollan tarde y caen pronto. Los síntomas aéreos pueden aparecer en un periodo que varía de varios meses a años, pero una vez que se observan los primeros síntomas de marchitez, la muerte de la planta ocurre en pocas semanas (Agrios, 2005).

Hasta el momento no se ha encontrado ningún método para combatir *A. mellea*, y no existen variedades o porta injertos de vid resistentes. Por lo tanto el mejor método de control frente a *A. mellea*, es la prevención haciendo eliminación de los restos vegetales infectados del área de cultivo para reducir el inóculo del patógeno (Mwenje, 1998).

3.2.3. *Lasiodiplodia* spp.

Lasiodiplodia theobromae (Pat.) Griff. & Maubl., Bull. Soc Mycol. Fr. 25: 57. 1909 citado por Phillips *et al* (2013), es un hongo fitopatógeno inespecífico, habitante común del suelo, cosmopolita y causante de enfermedades en varias especies vegetales, que incluyen a mango (Khanzada *et al.*, 2004; Tavares y Meneses, 1991), palto (Alama *et al.*, 2006), vid (Kuhn, 1981; Ribeiro *et al.*, 1992), cítricos (Fischer *et al.*, 2009), manzano (Covey, 1967) y eucalipto (Sharma *et al.*, 1984), entre otras. Debido al amplio rango de hospedantes, los síntomas que causa en

ellos son diversos como, muerte regresiva, pudrición del pedúnculo del fruto, gomosis, muerte súbita de ramas y ramillas, pudrición del cuello, pudrición de raíces, marchitez y defoliación. En el Perú se ha reportado a este patógeno afectando manzano, mango y palto (Alama *et al.*, 2006; Rodríguez y Mattos, 1988), bananos (Llontop, 2011).

Lasiodiplodia theobromae, está actualmente ubicado en la división ascomycota, clase deuteromycetes y orden sphaeropsidales, los miembros de este orden se caracterizan por formar conidios en un cuerpo fructífero llamado picnidio. Este puede ser redondeado o piriforme de paredes claras o marrón oscuro y con una abertura apical llamado ostiolo. Los conidios se forman sobre conidióforos cortos y se agrupan en masas mucilaginosas que, en condiciones de alta humedad relativa o en presencia de lluvia, pueden salir al exterior a través del ostiolo, unidas unas a otras formando cadenas. Dentro de la morfología en sí, las hifas son septadas y de color marrón oscuro al madurar y forman estructuras de fructificación llamadas Picnidios, estos piriformes con paredes de color marrón oscuro y presentan una cavidad u ostiolo ubicado en la parte apical, por donde son expulsadas los conidios, éstas, son de color claro, hialinas aceptadas cuando son inmaduras, en cambio cuando maduran son de color marrón oscuras, uniseptadas y con estrías longitudinales en la superficie (Börner, 2009).

Lasiodiplodia parva según Phillips, Alves y Crous (2007) citado Phillips *et al* 2013, No forma ascomas. conidioma estromático, de color marrón oscuro a negro. Parafisas hialinas, cilíndrica, extremos redondeados, hasta 105 micras

de largo, 3.4 micras de ancho que surja entre las células conidiógenas. Conidióforos ausente. Células conidiógenas hialina, liso, cilíndrico, hinchado ligeramente en la base, o la proliferación en el mismo nivel que da lugar a periclinal engrosamientos. Los conidios ovoide, el ápice ampliamente redondeado, base redondeada, más ancho en el tercio medio o superior, de paredes gruesas, en un principio hialina y permanece así por mucho tiempo, convirtiéndose en 1 - septa y sólo paredes oscuras, después de la liberación de la conidiomas, con depósitos de melanina en la superficie interior de la pared dispuestas longitudinalmente dando una apariencia estriada de los conidios, (15.5-) 16-23.5 (-24,5) × (10) 10,5-13 (-14,5) micras, de confianza del 95 % límites = 19,8-20,5 × 11.04 a 11.07 m (av . ± SD = 20,2 ± 1,9 × 11,5 ± 0,8 m, L / W ratio = 1,8). Esta especie se pueden separar de su más cercano parientes, *L. citricola*, *L. egypticae*, *L. hormozganensis* y *L. pseudotheobromae* basado en las dimensiones de conidios y Parafisas. En términos de morfología es similar a *L. iraniensis* y los dos especies pueden ser separados sólo en la anchura media de conidios, pero filogenéticamente son claramente distintas.

Lasiodiplodia viticola según Úrbez-Torres, Peduto & Gubler, Fungal Divers. 52: 183. 2011, citado por Phillips *et al* (2013). No forma ascomas, conidiomas estromáticos, solitario, formada en PDA dentro de 3-4 semanas, negro, cubierto moderadamente con micelio, hasta 900 m de ancho, globoso a ovoide, de paredes gruesas, unilocular, con un ostiolo central. Parafisas hialina, cilíndrica, aseptados, no ramificado, redondo en el ápice, 60 micras de largo, 2-3 micras de ancho. Conidióforos ausente. Células conidiógenas, hialina, liso,

cilíndrico. Los conidios producidos en la medio de cultivo inicialmente hialinas, unicelulares, elipsoidal, base redondeada, de paredes gruesas (1-2 micras), contenido granular, convirtiéndose marrón oscuro, 1 - septa, con estrías longitudinales mientras que aún dentro de la conidiomas, (16.5–) 18–20.5 (–23) × (8–)9–10.1 (–10.5) μm (av. de 60 conidia = 19.5 × 9.5 μm , L/A ratio = 2.05). Las colonias en PDA con micelio denso aéreo, micelio inicialmente blanco se vuelve pálida aficionado en 7 d y girando hierro gris a negro verdoso internamente 28 d, revertir azul pizarra oscura después de 28 d, alcanzando 90 mmen PDA a las 48 h en la oscuridad a 25 ° C. Temperaturas cardinales para el crecimiento: mínimo 10 ° C, máximo 35 ° C, optima 25-30 ° C.

3.2.4. *Pythium* sp.

Pythium sp., llega a ocasionar marchitamiento en la planta, pudrición de las raíces, lo conlleva a la pérdida de vigor, retraso en el crecimiento, clorosis, caída de hojas y además, se inhibe el crecimiento de raíces y estas se ennegrecen, comenzando así la pudrición de la raíz central (Bruehl, 1987). Distintas especies de *Pythium*, tienden a ser muy inespecíficos y generalistas en su gama de huéspedes. Cada especie puede infectar a una amplia gama de huéspedes. Por esta razón, las especies de *Pythium*, son más devastadores en las cosechas, puesto que la rotación de cultivos por si sola a menudo no puede erradicar al agente patógeno.

El barbecho tampoco erradica al patógeno puesto es un saprófito facultativo y sobrevive mucho tiempo en materia vegetal en descomposición

(Owen-Going, 2002). Sin embargo, los daños ocasionados por *Pythium sp.*, se limitan a una área de los cultivos. Esto se debe a la poca movilidad de las zoosporas, que necesitan una superficie de agua para trasladarse y la capilaridad de las partículas del suelo, que tienden a actuar como un filtro natural (Hodges y Coleman, 1985).

En los sistemas hidropónicos en invernaderos, donde las plantas de extensos monocultivos se mantienen en solución nutritiva (que contienen nitrógeno, potasio, fosfato y micronutrientes) que se recircula continuamente en los cultivos, donde *Pythium sp.* causa una extensa y devastadora podredumbre de las raíces (Brito, 2001). *Pythium sp.*, produce enfermedad en todo el mundo, especialmente en regiones cálidas y los invernaderos, prefiere temperaturas entre 27 y 34 °C y condiciones de humedad (potencial hídrico 0 a -0,01 bares) (Martín, 1992).

3.3. Hongos endófitos.

Son organismos que viven dentro de los tejidos de las plantas, sin causar síntomas o daños aparentes (Carroll y Petrini 1983; Carroll, 1988; Bandara *et al.*, 2006; Shi *et al.*, 2009). Ellos colonizan la mayoría de plantas sanas; considerados como simbiontes y mutualistas omnipresentes (Hata *et al.*, 2002), se pueden encontrar en varios tejidos, semillas, raíces, tallos y hojas (Bandara *et al.*, 2006; Shi *et al.*, 2009). Pueden ser extraídos del interior de las plantas o aislados desde la superficie estéril de los tejidos de las plantas (Bandara *et al.*, 2006; Shi *et al.*, 2009).

Las plantas se benefician ampliamente por la protección de estos organismos endofíticos, promoviendo el crecimiento de la planta (Compant *et al.*, 2005) y otorgando un incremento en la resistencia a varios patógenos, por la producción de varios antibióticos y metabolitos secundarios. Esto sugiere que hay presencia de hongos endofíticos mutualistas que actúan como detonantes biológicos para activar los sistemas de defensa ante condiciones adversas bióticas y/o abióticas (Bandara *et al.*, 2006; Shi *et al.*, 2009). La mayoría de los hongos endofíticos son ascomicetos y están presentes en gran parte de su ciclo de vida dentro del tejido de la planta, generando un beneficio de protección y promoción de crecimiento (Sikora, 1992; Pocasangre, 2000).

3.3.1 *Trichoderma spp.*

El género *Trichoderma* generalmente se aísla del suelo y se reproduce asexualmente, es filamentoso, anamórfico, heterótrofo, aerobio, con pared celular compuesta de quitina, de rápido crecimiento que puede utilizar gran variedad de sustratos complejos como celulosa, quitina, pectina y almidón como fuente de carbono. Muchas cepas crecen eficientemente en medios sólidos o líquidos, en suelos ácidos y en amplio rango de temperaturas, además son relativamente tolerantes a humedades bajas; crece en los medios de cultivo con desarrollo difuso que cubre toda la superficie del agar como un césped amarillo o amarillo verdoso, la superficie de la colonia es granular o plumosa. (Samuels, 2004).

En las características microscópicas sobresalen las hifas hialinas y septadas, conidióforos generalmente cortos que dan origen a esterigmas romos con puntas. Las conidias son esféricas y mantenidas en racimos compactos mediante una ligera secreción mucilaginoso (Samuels, 2004; Trigozo y Flores 2012). En la selva Peruana existen varias especies (Rodríguez y Flores 2011).

La población de *Trichoderma* decrece especialmente cuando la humedad del ambiente desciende por largos periodos. Otros estudios han determinado que el pH, la concentración de CO₂, HCO₃, sales y el contenido de materia orgánica son factores físicos y químicos determinantes para la variación poblacional de *Trichoderma*, además de la presencia o ausencia de otros microorganismos en el ambiente (Fonseca, 1998). Es un hongo saprofito y exigente en su crecimiento, utilizando fuentes de carbono, nitrógeno (purinas, pirimidinas y aminoácidos), azúcares (monosacáridos, polisacáridos), taninos, aldehídos, ácidos grasos de cadena larga, metanol, etc. Este hongo es fotosensible que germina rápidamente, produce clamidosporas, las cuales juegan un papel importante en el biocontrol y sobreviven en el suelo mejor que las conidias. *Trichoderma* produce algunos metabolitos que son importantes en el biocontrol. Dentro de las especies más importantes de *Trichoderma* están: *T. koningii*, *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. viride*, *T. lignarum*, *T. virens* y *T. polysporum* (Papavizas, 1985).

Se ha encontrado que cepas específicas del hongo del género *Trichoderma* pueden colonizar y penetrar los tejidos de las raíces de las plantas, e inician una serie de cambios morfológicos y bioquímicos en las plantas, lo cual

conlleva a la resistencia sistemática inducida de la planta (ISR), (Fonseca, 1998). La clasificación taxonómica del género *Trichoderma* es la siguiente (Papavizas, 1985): súper reino: eucariota, reino: fungi, filum: ascomycota, subfilum: pezizomycotina, clase: sordariomycetes, subclase: hypocreomycetidae, orden: hipocreales, familia: hypocreaceae, género: *Trichoderma*

3.3.2 Mecanismos de acción de *Trichoderma* sp.

a) Competencia

La competencia constituye un mecanismo de antagonismo muy importante. Se define como el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento (sustrato, nutrientes), siempre y cuando la utilización de este por uno de los organismos reduzca la cantidad o espacio disponible para los demás. Este tipo de antagonismo se ve favorecido por las características del agente control biológico como plasticidad ecológica, velocidad de crecimiento y desarrollo, y por otro lado por factores externos como tipo de suelo, pH, temperatura, humedad, entre otros (Ahmad y Baker, 1987).

La competencia por nutrientes puede ser por nitrógeno, carbohidratos no estructurales (azúcares y polisacáridos como almidón, celulosa, quitina, laminarina, y pectinas, entre otros) (Stefanova y Leiva, 1999).

La competencia por sustrato o espacio depende de si el mismo está libre de patógenos (sustrato estéril) o si hay una microbiota natural. En el primer caso, la velocidad de crecimiento del antagonista no determina la colonización efectiva de los nichos, sino la aplicación uniforme del mismo en todo el

sustrato. Un ejemplo fehaciente de estas interacciones es el notificado por (Durman *et al.* 2003) quienes encontraron una disminución del crecimiento de *R. solani* y de la viabilidad de los esclerocios por la acción de diferentes aislamientos de *Trichoderma* spp.

b) Micoparasitismo

Es definido como una simbiosis antagónica entre organismos, en el que generalmente están implicadas enzimas extracelulares tales como quitinasas, celulasas, y que se corresponden con la composición y estructura de las paredes celulares de los hongos parasitados (Díaz, 1994).

Las especies de *Trichoderma* durante el proceso de micoparasitismo crecen quimiotrópicamente hacia el hospedante, se adhieren a las hifas del mismo, se enrollan en ellas frecuentemente y las penetran en ocasiones. La degradación de las paredes celulares del hospedante se observa en los estados tardíos del proceso parasítico (Carsolio. *et al.* 1999), que conlleva al debilitamiento casi total del fitopatógeno. El micoparasitismo como mecanismo de acción antagónica en *Trichoderma* spp. Ha sido ampliamente estudiado (Chet y Benhamou, 1998). Diferentes autores han informado para *Trichoderma* diferentes tipos de interacción hifal como parasitismo, considerándolos una potencialidad para su uso como biorreguladores de hongos del suelo, encontró enrollamiento y penetración de hifas de *Trichoderma* en hifas de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (Bernal, *et al.* 2007), encontró penetración en hifas de *Pythium* sp. y *R. solani*. (Rivero. *et al.* 2008)

C) Antibiosis

La antibiosis es la acción directa de antibióticos o metabolitos tóxicos producidos por un microorganismo sobre otro sensible a estos. Algunos autores opinan que la antibiosis no debe ser el principal mecanismo de acción de un antagonista, ya que existe el riesgo de aparición de cepas del patógeno resistentes al antibiótico (Vero y Mondino, 1999).

Muchas cepas de *Trichoderma* producen metabolitos secundarios volátiles y no volátiles, algunos de los cuales inhiben el desarrollo de otros microorganismos con los que no hacen contacto físico. Tales sustancias inhibidoras son consideradas "antibióticos" (Tronsmo, 1998).

Posteriormente (Dennis y Webster, 1971), detectaron que la actividad antibiótica de algunos aislamientos se debía también a la producción de compuestos volátiles, y notaron que los aislamientos más activos poseían un fuerte olor a coco, posiblemente relacionado con la actividad antagonista. Los antibióticos volátiles tienen un efecto esencialmente fungistático, debilitando al patógeno y lo hacen más sensible a los antibióticos no volátiles, lo que se conoce como un "hiperparasitismo" de origen enzimático (Martínez. *et al.* 1994).

La producción metabólica de los aislamientos de *Trichoderma* presenta, al igual que el micoparasitismo, determinada especificidad. (Samuels, 1996),

informa sobre un grupo de cepas de *Trichoderma* que produjeron gliotoxina y fueron efectivas frente a *R. solani*, pero no frente a *Pythium sp.*

3.4. Tipos de Fungicidas.

3.4.1. Fungicidas de contacto o protectores.

Los fungicidas de protección no controlan los patógenos que están dentro de las semillas (Adrianzen, 1996), solo protegen la parte externa de la semilla y las plántulas contra una amplia variedad de enfermedades causadas por hongos presentes dentro de la semilla y provenientes del suelo tales como: *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Penicillium* (FAO, 2000). Es esencial que los fungicidas protectantes estén sobre las hojas de plántulas o impregnados en la semilla, antes de la siembra, este fungicida no es fácilmente lavado después de terminado de secar (Adrianzen, 1996). Algunos ejemplos de fungicidas de contacto que se encuentran en el mercado son Captan, Thiram, Quintozene y Tolyfluanid (Adrianzen, 1996 y FAO, 2000). Estos fungicidas afectan el metabolismo de las proteínas, bloquean la oxidación de ácidos grasos, afectan la producción de energía / ATP y bloquean la enzima deshidrogenasa (Yaringaño, 1985). El modo de acción de estos productos es de multisitio, tiene control multigénico, es decir, que actúan en diferentes procesos metabólicos vitales para la vida del hongo, por lo que la probabilidad de obtener resistencia del hongo a estos fungicidas es bastante baja (Mont, 2002).

3.4.2. Fungicidas sistémicos.

Estos productos son específicos, tienen propiedades terapéuticas y efecto prolongado ya que penetran en las hojas y pueden movilizarse a otros tejidos, dentro de la misma hoja o hacia otras partes de la planta (Apablaza, 1997), los ingredientes activos penetran en la planta, trasladándose desde el sistema radicular hasta las hojas, proporcionando una protección a la planta (FAO, 2000), generalmente actúa en un solo sitio en la fisiología del patógeno (monositio), lo que incrementa la posibilidad de generar resistencia del hongo a estos productos y en la actualidad se cuenta con 4 familias químicas: Benzimidazoles, Triazoles, Pirimidinas y recientemente las Estrobirulinas (Apablaza, 1997).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Ubicación de la investigación

El trabajo de investigación tiene dos fases: laboratorio y campo. La primera fase lo realizamos en Laboratorio de Sanidad Vegetal – Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de San Martín; ubicado en la Ciudad Universitaria, distrito de Morales, provincia y departamento de San Martín, tiene la siguiente ubicación geográfica Latitud Sur 06° 29' 40", Longitud Oeste 76° 27' 55" y Altitud 295 m.s.n.m.m y la segunda fase lo realizamos en campo en el Distrito San Roque de Cumbaza, provincia de Lamas ubicado en la Latitud Sur 06° 20' 53,5, Longitud Oeste 76° 21' 21,3" y Altitud 850 m.s.n.m.m. del departamento de San Martín.

4.2 Metodología

4.2.1 Diagnóstico de la enfermedad.

Evaluamos plantaciones de la vid en San Roque de Cumbaza (Localidad de Aocaloma).

4.2.1.1 Descripción de los síntomas de la enfermedad

El diagnóstico de los síntomas de la enfermedad de la planta de vid se realizó de acuerdo a French & Hebert, 1980.

4.2.1.2 Recolección de las muestras.

Se recolectaron las muestras de la vid variedad borgoña la "Isabela", con síntomas visibles de la "pudrición de la raíz", luego se colocó en bolsa de papel, se etiquetó y transportó al laboratorio de Sanidad Vegetal - Fitopatología de la UNSM - Tarapoto, para su procesamiento. Se lavó a cada muestra con abundante agua de caño, luego seleccionamos la parte basal a fin de ponerlo en cámara húmeda y simultáneamente en medio de cultivo.

4.2.1.3 Cámara húmeda.

Las cámaras húmedas se prepararon utilizando placas de Petri, previamente lavados y desinfectados con hipoclorito de sodio al 1% y luego con alcohol al 96°, en cuya parte interna colocamos papel toalla de color blanco, sobre este se colocó una lámina portaobjetos y encima de ello la muestra enferma, finalmente

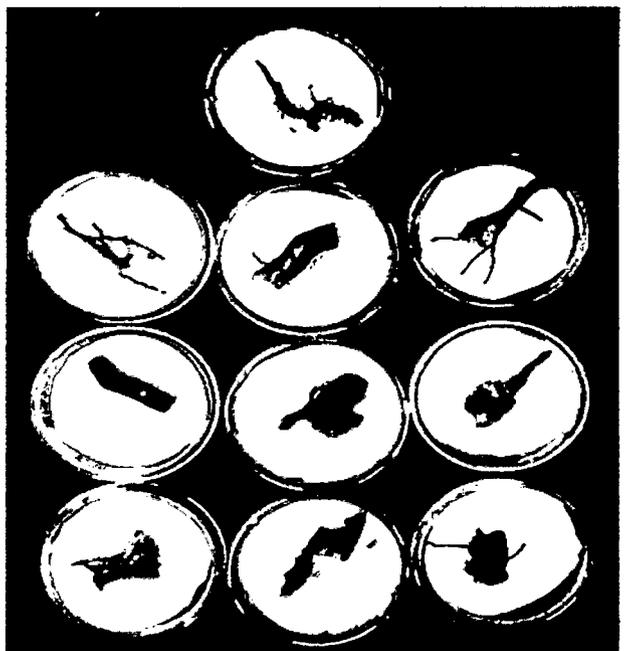


Figura 1: cámara húmeda en placas de Petri. W. Uriarte, 2015.

humedecemos el papel toalla con agua destilada esterilizada con la finalidad de dar condiciones ambientales favorables en el proceso de incubación de los hongos para que eflorzcan y poder aislarlas. Después de 8 días se observó

las características morfológicas de los hongos que efloreían en cada muestra y se pasó a realizar el aislamiento respectivo.

4.2.1.4 Preparación del medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA).

Para la preparación del medio de cultivo se pesó 200 g de papa sin pelar y se cortó en pequeños cubitos 1 cm³, colocamos en un vaso de policarbonato de capacidad 1000 ml, se adicionó 600 ml de agua, luego se colocó en la cocina microondas donde cocinamos la papa durante 15 minutos; para obtener el caldo de papa, tamizamos en tamiz de 60 mesh/pulg². En otro vaso se colocó 18 g de agar agar y adicionamos 500 ml de agua potable, se disolvió en 10 minutos.

El caldo de la papa con el agar fundido se mezcló y adicionó 20 g de glucosa (dextrosa), para completar a 1000 ml adicionamos agua, obteniéndose el medio de cultivo PDA al 2 % glucosado. Utilizando un embudo de plástico, se distribuyó 100 ml del medio de cultivo en botellas de vidrio de capacidad de 295 ml se selló con tapa de algodón y luego con tapa de papel periódico; obteniéndose 10 botellas por litro.

Las botellas conteniendo el medio de cultivo PDA al 2 %, se colocaron en el autoclave, sellamos la tapa y esterilizamos a calor húmedo a 121 °C, 15 lb/cm³ de presión equivalente a 1 atm durante 20 minutos; luego se dejó a enfriar hasta que la aguja del manómetro marque cero; abrimos la tapa del autoclave, retiramos las botellas con el PDA al 2 % esterilizadas y almacenamos bajo condiciones ambientales del laboratorio (20 a 32 °C).

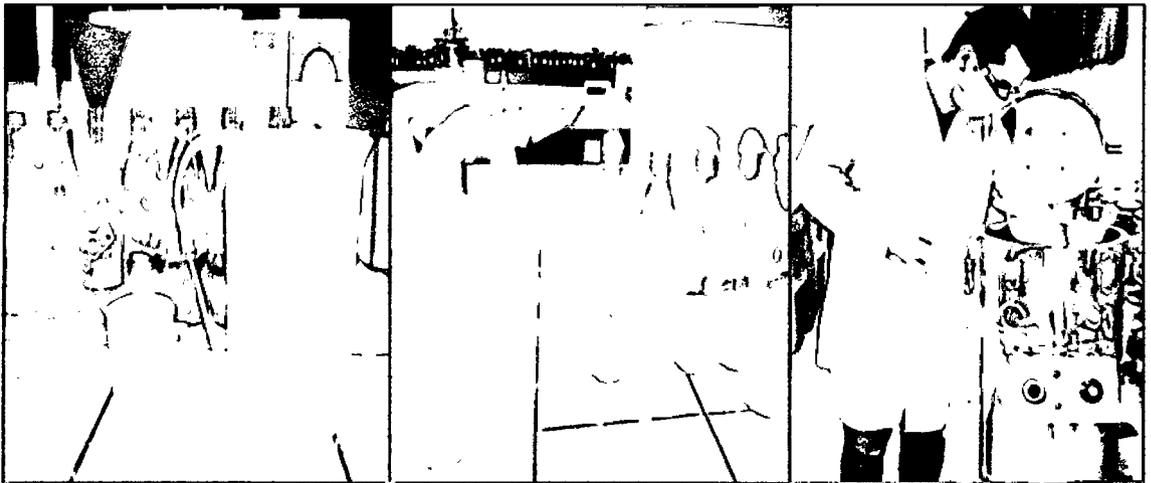


Figura 2: preparación de medio de cultivo Fuente: LSV-UNSM 2015.

4.2.1.5 Siembra en medio de cultivo.

Con la ayuda de una pinza esterilizada, pequeñas secciones (2 - 3 mm) de tejido enfermo se sembró en placas de Petri conteniendo medio de cultivo PDA al 2%, luego estas placas se incubaron a 25 °C. Una vez desarrollada las colonias del hongo se examinaron al microscopio, estereoscopio para determinar el agente causal de la enfermedad. Las colonias que correspondieron al género en estudio fueron transferidas a placas conteniendo el mismo agar a fin

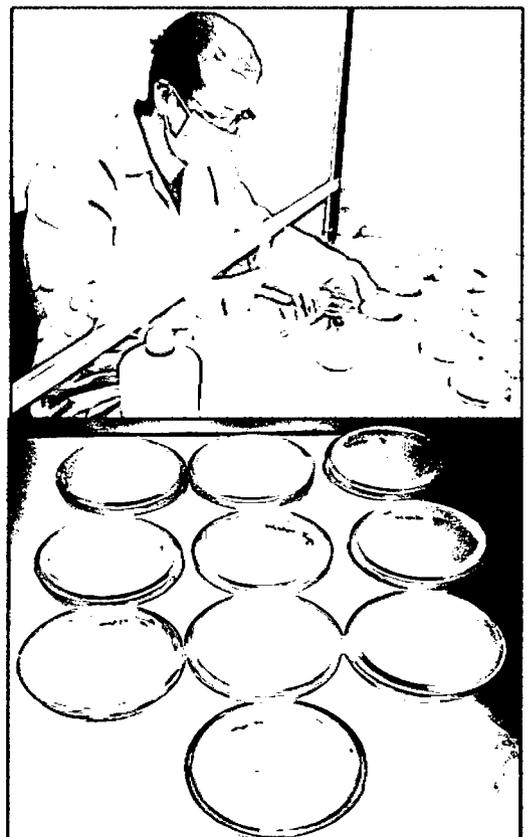


Figura 3: Plaqueo y siembra del hongo en placas de Petri con el medio PDA 2%. W. Uriarte. 2015.

de obtener aislamientos puros mediante técnica de punta de chifa (French, & Hebert, 1980). El cultivo puro fue almacenado a 4°C para su posterior uso en las diferentes pruebas por realizarse.

4.2.1.6 Prueba de patogenicidad.

Se realizó inoculaciones en 20 estacas de uva para cada patógeno, 10 días después de la siembra para su enraizamiento y formación de hojas; otras 20 estacas de uva colocamos suelos desinfestados, en donde sembramos estacas de uva previamente desinfestadas.

4.2.1.7 Reaislamiento.

Las plántulas, que presentaban los síntomas de infección causados por el patógeno inoculado en las estacas de vid, fueron lavadas, cortadas en pequeños trozos de 2 a 3 cm, esterilizadas en hipoclorito de sodio al 1 %, secada y se hicieron cámaras húmedas y posteriormente con esto procedimos de nuevo al examen microscópico de las características morfológicas y luego se comparó con las descripciones de los aislamientos iniciales.

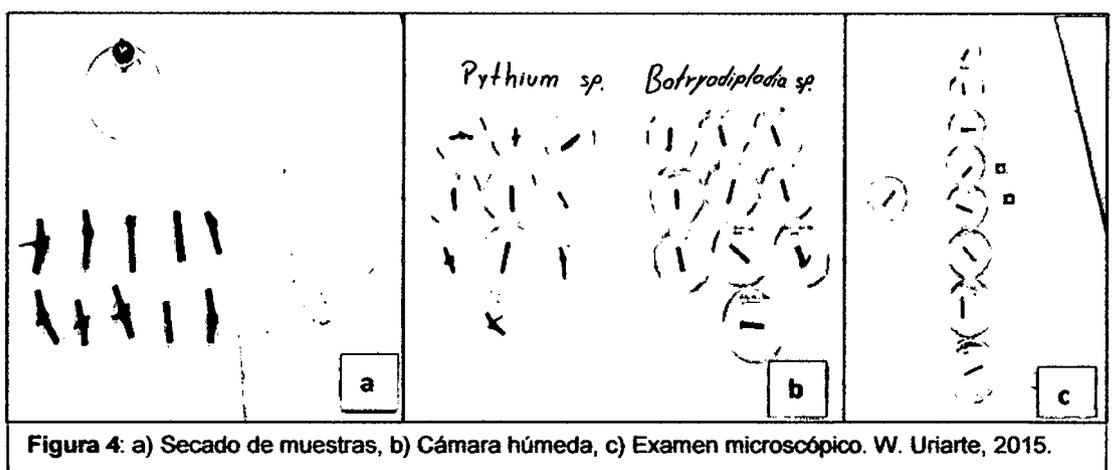


Figura 4: a) Secado de muestras, b) Cámara húmeda, c) Examen microscópico. W. Uriarte, 2015.

4.2.2. Manejo integrado de las enfermedades. Control químico con fungicidas.

Una vez obtenido los patógenos puros sobre el medio de cultivo (PDA) se procedió a realizar las siguientes pruebas:

Prueba de fungicidas *in vitro* en el laboratorio:

En 100 ml de PDA al 2 % previamente disuelta en el horno microondas y a temperatura 50 °C +/- 2 °C (punto plaqueo) se adicionó el fungicida, según el tratamiento y la dosis en estudios, luego se homogenizó y procedimos a distribuirlo 20ml por cada placa de Petri y una vez que el medio ha solidificado, se realizó la siembra colocando discos de 0,8 cm de diámetro contenido PDA al 2 % y micelios de los agentes causales de la enfermedad en el centro de la placa Petri. Por dosis de fungicida y testigo (con alimento envenenado) se hizo 5 repeticiones. Todos los tratamientos y testigos lo incubamos a 25°C.

La figura 5 muestra el desarrollo de la prueba de fungicidas *in vitro*:



Figura 5: Plaqueo y siembra del hongo con dosis de fungicida. W. Uriarte, 2015.

Cuadro 1: Prueba de Fungicidas y dosis en 100 ml de PDA al 2 %.

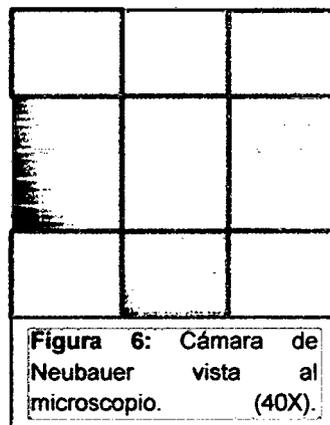
El cuadro 1 muestra los fungicidas con sus respectivas dosis en 100 ml de PDA al 2%.

Fungicidas		Dosis en P.C	Tipo
N. comercial	N. técnico	(g/l de agua)	(*)
Amistar 50 WG	Azoxystrobin (50%)	0,35	S
Benlate 50 WP	Benomyl (50%)	1,00	S
Hieloxil Mix 72	Metalaxil (8%) + Mancoceb (64%)	3,00	CS
Rizolex	Tolclofos- Methyl (30%) + Thiram (30%)	3,00	CS
Cupravit OB 21	Oxicloruro de cobre (85%)	3,00	CS
Homai 50W.P.	Thiophanate methyl (50%) + Thiram (30%)	2,00	CS
Testigo	-	-	-

(*) C: Fungicida de contacto, S: Fungicida Sistémico, CS: Fungicida compuesto

Prueba de fungicidas en invernadero:

Los fungicidas que tuvieron control a los agentes causales de la enfermedad *in vitro* fueron seleccionados para la prueba de invernadero. Luego en el vivero se seleccionó plántulas de vid variedad borgoña la isabella de 45 días de haber emergido el brote. Procedimientos (French y Hebert, 1980)



- a. A una colonia del hongo *Lasiodiplodia parva* multiplicado en 20 g PDA al 2 %, agregamos 1000 ml de agua, luego licuamos por 2 minutos y agregamos 5 gotas de Tween 20 %.
- b. Con una pipeta Pasteur llenar la cámara con la suspensión de conidias y cubrimos con el cubre objeto.

- c. Observar al microscopio utilizando el aumento conveniente de acuerdo al tamaño de la estructura (40x es el aumento adecuado)
- d. Contamos las conidias presentes en 5 campos principales como se muestra en la figura 6.
- e. Determinar el número de conidias por ml y el número total de conidias utilizando la siguiente fórmula: Conidias / ml = suma de esporas 5 CP x 2 000 = conidias / ml.

Por cada tratamiento se tuvo tres pruebas y a cada prueba se inoculo 80 ml de la solución que contenía 4.2×10^4 conidias/ml de *Lasiodiplodia parva*, y para el caso del stramenopila *Pythium oligandrum* se siguió la misma metodología, luego de 48 horas de inoculado se aplicaron los fungicidas que fueron seleccionadas para los ensayos respectivos.

Se establecieron dos ensayos: el primero para control químico de *Lasiodiplodia parva* con cinco tratamientos y segundo con para el control químico de *Pythium oligandrum* con cuatro tratamientos, ambos bajo el diseño completamente al azar – DCA y los resultados fueron analizados con statistical analysis system - SAS; a continuación se presenta los cuadros de cada ensayo.

El cuadro 2 muestra los tratamientos y dosis que se aplicó para el control químico del hongo *Lasiodiplodia parva* en vivero.

Cuadro 2: Control Químico de *Lasiodiplodia parva* en vivero.

N°	Tratamientos		Dosis g/l P.C.	Pruebas		
	N. comercial	N. técnico		1	2	3
1	Hieloxil Mix 72	Metalaxil 8% + Mancozeb 64%	3,00	11	12	13
2	Benlate 50WP	Benomyl 50%	1,00	21	22	23
3	Homai 50 WP	Thiophanate methyl 50% + Thiram 30%	2,00	31	32	33
4	Testigo inoculado con conidios del hongo		-	41	42	43
5	Testigo absoluto		-	51	52	53

Los tratamientos uno, dos, tres y cuatro fueron inoculados con la suspensión de conidios del hongo *Lasiodiplodia parva* a la concentración de 4.2×10^4 conidias/ml, después de 48 horas se aplicaron los fungicidas. Los tratamientos uno dos y tres fueron aplicados los fungicidas a la dosis establecidas (cuadro 2) en drench (empapado de raíces) a razón 80 ml/planta, el tratamiento cuatro quedo como testigo inoculado sin aplicación de fungicidas y el tratamiento cinco no se inoculo con el hongo, por lo tanto es el testigo absoluto.

El cuadro 2 muestra los tratamientos y dosis que se aplicó para el control químico del stramenophyla *Pythium oligandum* en vivero.

Cuadro 3: Control Químico de *Pythium oligandum* en vivero.

N°	Tratamientos		Dosis g/l P.C.	Pruebas		
	N. comercial	N. técnico		1	2	3
1	Hieloxil Mix 72	Metalaxil 8% + Mancozeb 64%	3,00	11	12	13
2	Homai 50 WP	Thiophanate methyl 50% + Thiram 30%	2,00	21	22	23
3	Testigo inoculado con conidios del hongo		-	31	32	33
4	Testigo absoluto		-	41	42	43

Los tratamientos uno, dos y tres fueron inoculados con la suspensión de zoosporas del estramenopila *Pythium oligandum* a la concentración de 3.2×10^5 esporas/ml, 48 horas antes de la aplicación los fungicidas. Los tratamientos uno y dos fueron aplicados los fungicidas a la dosis establecidas (cuadro 3) en drench (empapado de raíces) a razón 80 ml/planta, el tratamiento tres quedo como testigo inoculado sin aplicación de fungicidas y el tratamiento cuatro no se inoculo con el hongo, por lo tanto es el testigo absoluto.

La figura 7 muestra la aplicación de fungicidas en drench:



Figura 7: Establecimiento del ensayo a) Inoculación con el hongo; b y c) Aplicación de fungicidas. W. Uriarte, 2015.

4.2.2.1 Métodos culturales.

La instalación del experimento se realizó en el Sector Sanango propiedad del señor Julio Vásquez en una plantación de tres años de edad que fue afectado por la enfermedad. El ensayo se ha instalado en tres bloques en sentido contrario de la pendiente del terreno, con cinco tratamientos cada uno. En cada

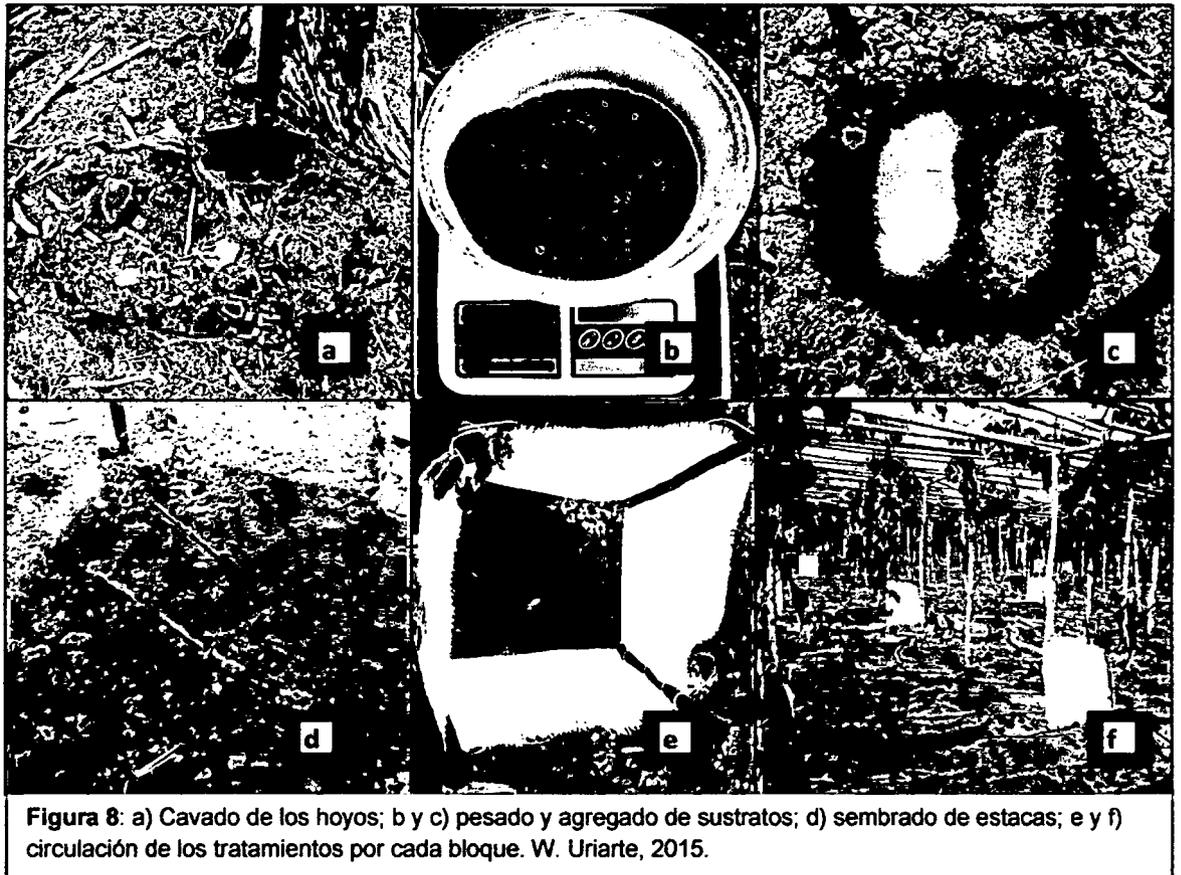
tratamiento se hicieron hoyos de 50 x 40 x 30 cm y luego de conformidad con los tratamientos se llenaron los sustratos y fertilizantes más el suelo infestado en forma natural, se humedeció y se sembró con un ángulo de inserción de 30° y finalmente se circuló cada hoyo con un plástico para evitar la invasión de animales domésticos, el riego se aplicó tres veces por semana durante dos meses.

El cuadro 4 muestra los tratamientos y dosis que se aplicó para el control cultural en campo:

Cuadro 4: control cultural en campo

N. o	Tratamientos	Bloques		
		1	2	3
1	Suelo sin restos vegetales (limpio)	11	12	13
2	Con maleza + materia orgánica	21	22	23
3	Roca fosfórica 284 g + humus de lombriz 500 g/hoyo	31	32	33
4	Suelo de bosque	41	42	43
5	Cloruro de potasio 100 g + humus de lombriz 500 g+ roca fosfórica 284 g/ hoyo	51	52	53

La figura 8 muestra cómo se realizó el control cultural en la Localidad de Aucasaloma:



4.2.2.2 Métodos bilógicos.

Después de la identificación de los hongos, se realizó la prueba de antagonismo de cepas de *Trichoderma sp* la cual consistió en sembrar en los medios de cultivo de PDA al 2 % el micelio desarrollado del agente causante en el extremo de una placa de Petri y en el otro extremo con micelio del hongo *Trichoderma sp* de tal forma que sean equidistantes. Todas las siembras se realizó dentro de la cámara de aislamiento, y luego las placas sembradas fueron incubadas en condiciones del ambiente.

4.3 Variables evaluadas

4.3.1. Descripción de los síntomas de la enfermedad.

En el campo se observó detenidamente toda la plantación y se describió los síntomas de las plantas enfermas.

4.3.2 Caracterización de los aislamientos del agente causal.

Se observó el crecimiento lineal, color, apariencia y borde de la colonia. También se observó en el microscopio, estereoscopio para identificar sus características morfológicas y determinar la especie a la cual corresponde, para esto hicimos uso de claves y descriptores (Phillips *et al*, 2013). Así mismo se contó con la presencia del Ing. Eybis José Flores García, asesor de mi tesis y especialista en fitopatología de la UNSM-T para la identificación de los hongos.

a. Características biométricas.

Medición lineal de la colonia (French & Hebert, 1980) y tiempo de colonización.

Teniendo como punto de intersección el centro de la base de la placa de Petri, se procedió a medir el crecimiento del hongo cada 24 horas utilizando una regla graduada de 20 cm, en las dos dimensiones d1 y d2 y luego

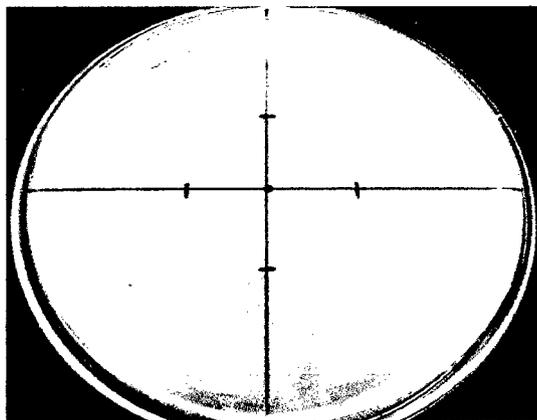


Figura 9: Medición de la colonia.W. Uriarte,

dividimos para obtener el promedio de cada día, cesamos las mediciones cuando la colonia del hongo llenaba la placa de Petri.

Respecto al tiempo de colonización, se contó los días desde la siembra del micelio, hasta que el hongo haya cubierto por completo la placa de Petri con la colonia, momento en que cesamos la evaluación.

Medición de la estructura del patógeno.

Con la ayuda de un estilete, se sacó una pequeña muestra del medio conteniendo el patógeno puro para luego ubicarlo en lámina porta objeto conteniendo una gota de lactofenol o azul de algodón (cotton blue) y luego cubierto por lamina cubre objeto, inmediatamente se calentó en la llama del mechero de alcohol para fijar la muestra. Luego de analizar en el microscopio compuesto y con la ayuda de la escala micrométrica medimos las estructuras de los microorganismos en estudio con un objetivo de 40x y ocular de 16x.

b. Características morfológicas del patógeno.

Se realizó macroscópica y microscópica determinando la forma y color de la estructura del hongo. Para el color de colonias de determinó en forma directa en la placa Petri.

4.3.3 Evaluación de la prueba de patogenicidad

Después de 45 días se extrajo las estacas, lavamos con agua de caño posteriormente cortamos en trozos la parte enferma se desinfectó con lejía al 1% y se preparó cámaras húmedas a cada uno de las muestras para el crecimiento

de los hongos. Posteriormente se observó al microscopio estereoscópico para ver si hubo infección.

4.3.4 Evaluación de los reaislamientos

Cada reaislamiento fue comparada con los resultados de los alineamientos iniciales y las referencias bibliográficas.

4.3.5 Control Químico

a. Evaluación de la prueba de fungicidas in vitro

Se evaluó el crecimiento de colonia del hongo cada 24 horas, mediante el método de medición lineal de colonias (French & Hebert, 1980), concluimos el ensayo cuando el hongo se desarrolló sobre toda la superficie del cultivo en las placas de Petri que no contenía fungicida (testigo).

b. Prueba de fungicidas en invernadero:

Después de 50 días de aplicada los fungicidas evaluamos las variables siguientes:

– Altura de la planta:

Con una regla graduada en centímetros se midió la altura de tres plantas por tratamiento, iniciando desde la inserción del brote en la estaca hasta el ápice principal.

– Longitud de la nervadura central:

Con una regla graduada en centímetros se midió desde la intersección de peciolo hasta la punta del ápice de la hoja, en total se midieron tres plantas por tratamiento de fungicidas y lo testigos, se midieron tres hojas de la parte media de cada brote.

– **Medición del ancho de la hoja:**

Con una regla graduada en centímetros se midió nueve hojas en la parte central para obtener el ancho promedio y luego comparar con cada uno de los tratamientos.

4.3.6 Métodos biológicos

En esta prueba evaluamos el tipo de relación antagónica (French & Hebert, 1980).

4.3.7 Métodos culturales

A los dos meses se evaluaron las estacas de cada tratamiento por bloque.

V. RESULTADOS

5.1 Descripción de los síntomas de la enfermedad.

5.1.1 Pudrición seca y carbonosa del tallo

Síntomas.

La figura 10 muestra los síntomas de la pudrición seca y carbonosa del tallo de la vid:

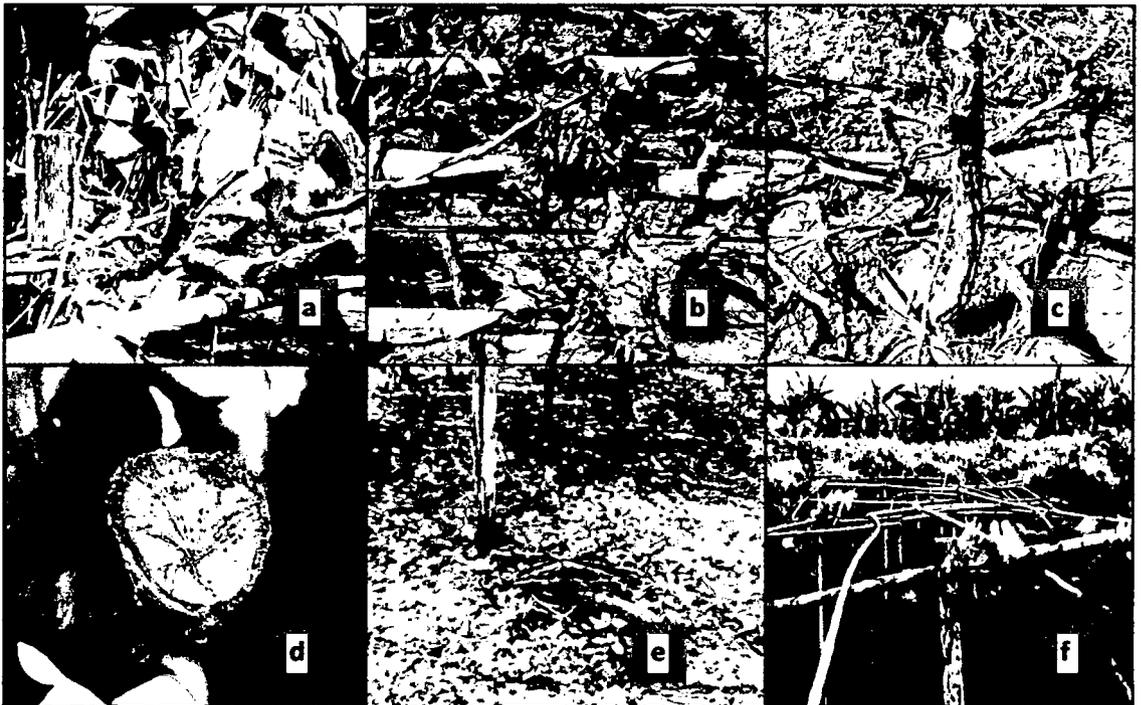


Figura 10: a) Marchitez, b) Hojas secas, c) Cancros o lesiones con grietas, d) Raíces con pudrición seca y costras negras, e) Planta erradicada y f) Aclareo de parra. W. Uriarte, 2015. La enfermedad se ha observado en plantaciones de vid en San Roque de Cumbaza - Centro Poblado de Aucaloma Sector Sanango, afectando en diversos estadios de desarrollo de la planta y durante la producción mostraron frutos pequeños.

5.2. Caracterización de los aislamientos del agente causal.

El cuadro 5 muestra las características biométricas y morfológicas del patógeno que causa la pudrición de seca y carbonosa del tallo.

Cuadro 5: Características biométricas y morfológicas del hongo aislado de la Pudrición seca y carbonosa del tallo

Características		Resultados
Colonia	Tiempo	6 días
	Medición lineal	90,00 mm
	Color	Gris oscuro
Micelio	Color	Marrón oscuro
Conidia	Largo	11,3 μm
	Ancho	5,43 μm
	Color	Marrón oscuro
	Septas	1
	Forma	Ovoide

La figura 11 muestra la estructura del agente causal de la pudrición seca y carbonosa del tallo en la vid.

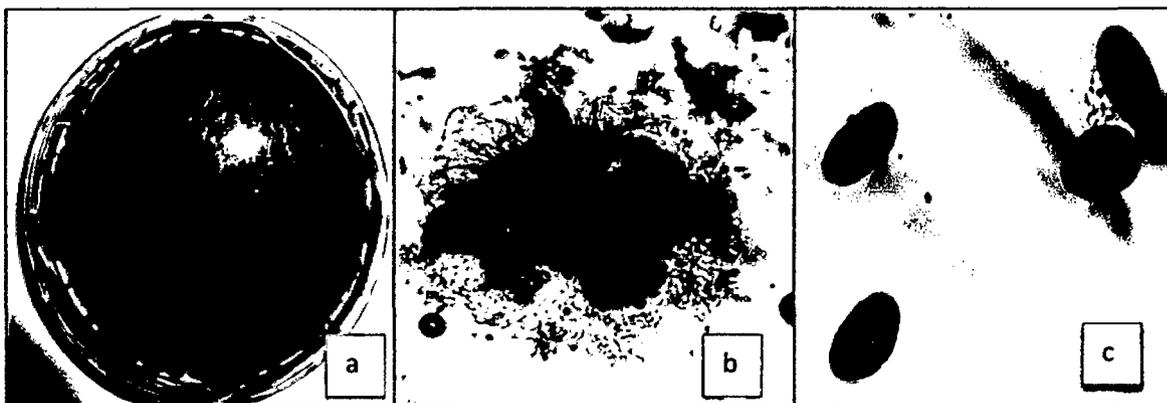


Figura 11: a) Colonia, b) Picnidio con masa de conidios en la base y el ostiolo, c) Conidias maduras. W. Uriarte, 2015. Según los síntomas causados y descripción de las características morfológicas y biométricas corresponden al hongo *Lasiodiplodia parva*.

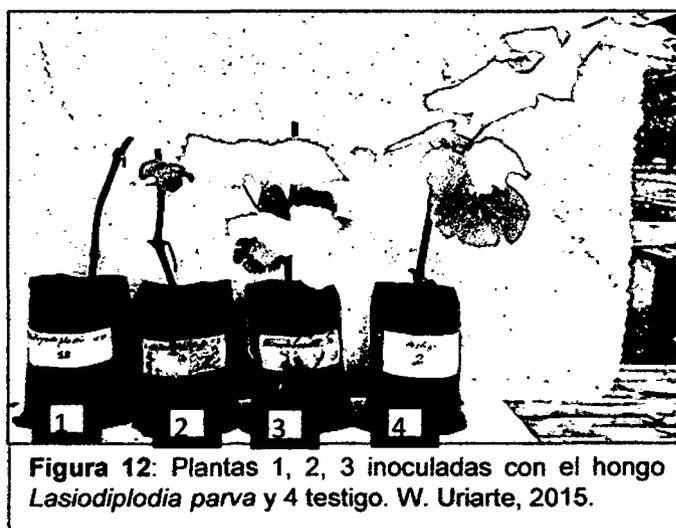
Evaluación de la prueba de patogenicidad.

El cuadro 6 muestra la prueba de patogenicidad del hongo *Lasiodipladia parva* en el invernadero.

Cuadro 6: Prueba de patogenicidad del hongo aislado *Lasiodipladia parva* en el invernadero.

N°	Tratamiento	Número de plantas	Plantas Infectadas	Incidencia %
1	Testigo	20	0	0
2	<i>Lasiodipladia parva</i>	20	15	75

La figura 12 muestra los síntomas de la enfermedad causado por el hongo *Lasiodipladia parva* en el invernadero.



En el cuadro 6, se presenta los resultados de la prueba de patogenicidad de 20 plantas inoculada con $4,2 \times 10^4$ conidias/ml, resultó 75 % infectados comparada con el testigo y en la Foto 12, se observa que la planta uno, muestra la muerta por causa de la pudrición seca; las plantas dos y tres presentaron brotes débiles y hojas pequeñas a diferencia de la planta cuatro que muestra características propias de una planta sana.

5.4 Evaluación de la prueba de fungicidas *in vitro*.

El cuadro 7 y el gráfico 1 muestran el análisis de varianza y la prueba de Duncan del crecimiento lineal de la colonia del hongo *Lasiodiplodia parva* en la prueba *in vitro* de fungicidas.

Cuadro 7: Análisis de varianza para el crecimiento lineal de la colonia del hongo *Lasiodiplodia parva* en la prueba *in vitro* de fungicidas.

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.E.	F-Valor	Pr > F	Signific.
TTOS	6	50323,44	8387,240	288,640	< 0,0001	**
ERROR	28	813,63	29,060			
TOTAL	34	51137,07				

** : Altamente significativo.

$R^2 = 98,41 \%$

C.V. = 12,92 %

Promedio = 41,71 mm

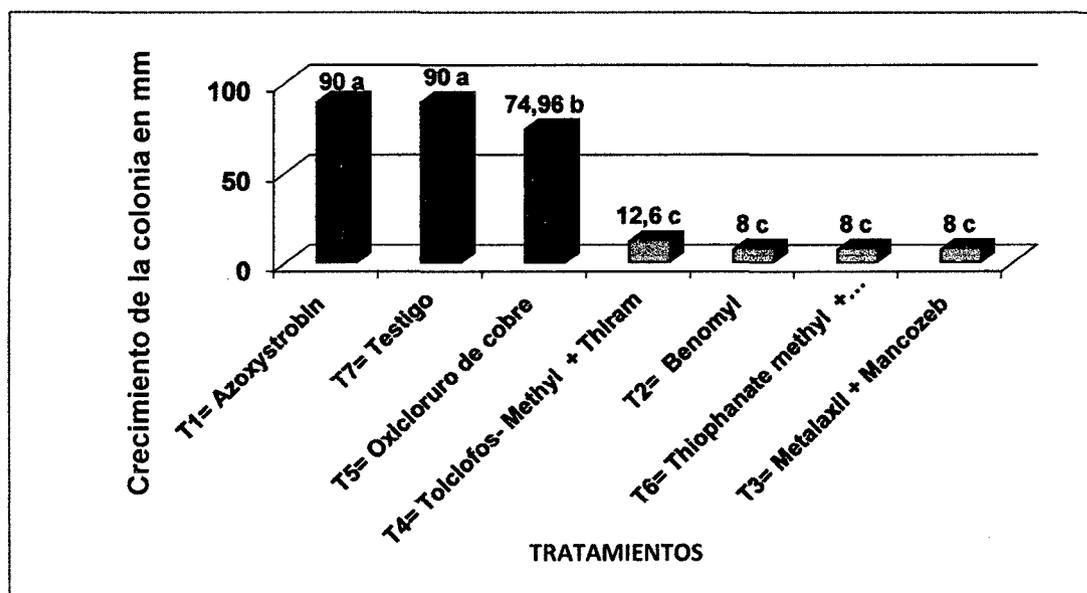


Gráfico 1: Prueba de Duncan (0,05) para el crecimiento lineal de la colonia del hongo *Lasiodiplodia parva* en la prueba *in vitro* de fungicidas.

5.5 Evaluación de la prueba de fungicidas en invernadero.

5.5.1. Medición de la altura de planta

El cuadro 8 y el gráfico 2 muestran el análisis de varianza y la prueba de Duncan para la medición de la altura de planta (cm) de la prueba de fungicidas del hongo *Lasiodiplodia parva* en vivero.

Cuadro 8: Análisis de varianza para la medición de la altura de planta (cm) de la prueba de fungicidas del hongo *Lasiodiplodia parva* en vivero.

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.E.	F-Valor	Pr > F	Signific.
TTOS	4	427,4333	106,6083	14,12	<0,0001	**
ERROR	10	75,5000	7,5500	-	-	-
TOTAL	14	501,9333	-	-	-	-

** : Altamente significativo.

$R^2 = 84,95\%$

C.V. = 11,83 %

Promedio = 23,23 cm

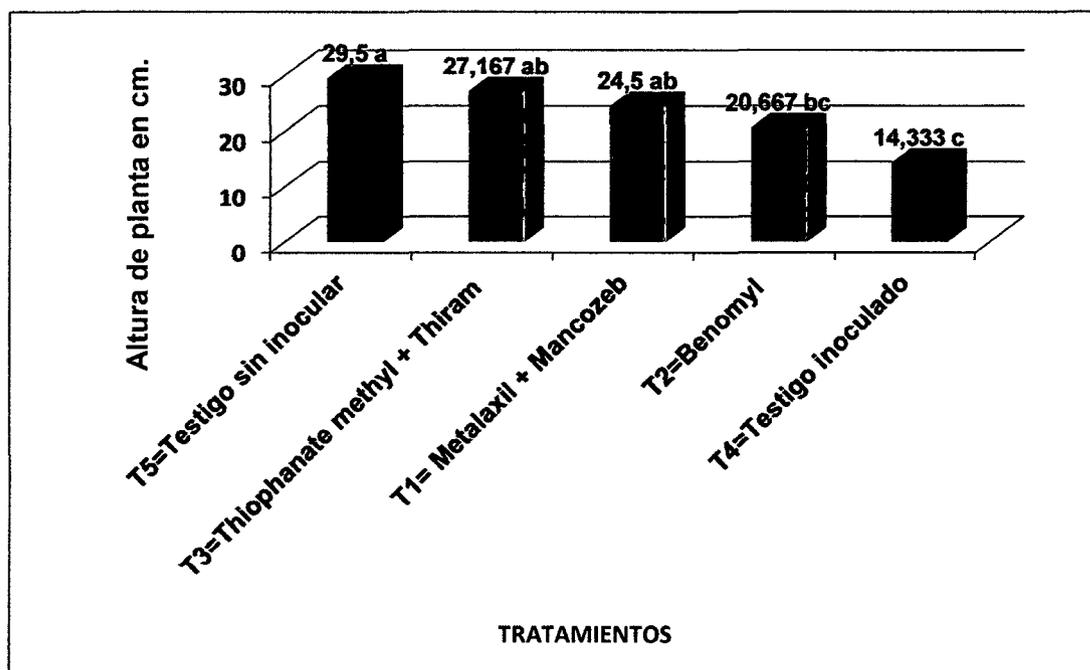


Gráfico 2: Prueba de Duncan (0,05) para la medición de altura de planta (cm) en el control químico del hongo *Lasiodiplodia parva* en vivero.

5.5.2 Medición de longitud de la nervadura central de la hoja

El cuadro 9 y el gráfico 3 muestran el análisis de varianza y la prueba de Duncan para la medición de longitud de nervadura central de la hoja (cm) en la prueba de control químico del hongo *Lasiodiplodia parva* en vivero.

Cuadro 9: Análisis de varianza para la medición de longitud de nervadura central de la hoja (cm) en la prueba de control químico del hongo *Lasiodiplodia parva* en vivero.

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.E.	F-Valor	Pr > F	Signific.
TTOS	4	34,8780	8,7195	11,33	<0,0001	**
ERROR	25	19,2367	0,7695	-	-	-
TOTAL	29	54,1147	-	-	-	-

** : Altamente significativo.

$R^2 = 64,45\%$

C.V. = 10,63 %

Promedio = 8,2467 cm

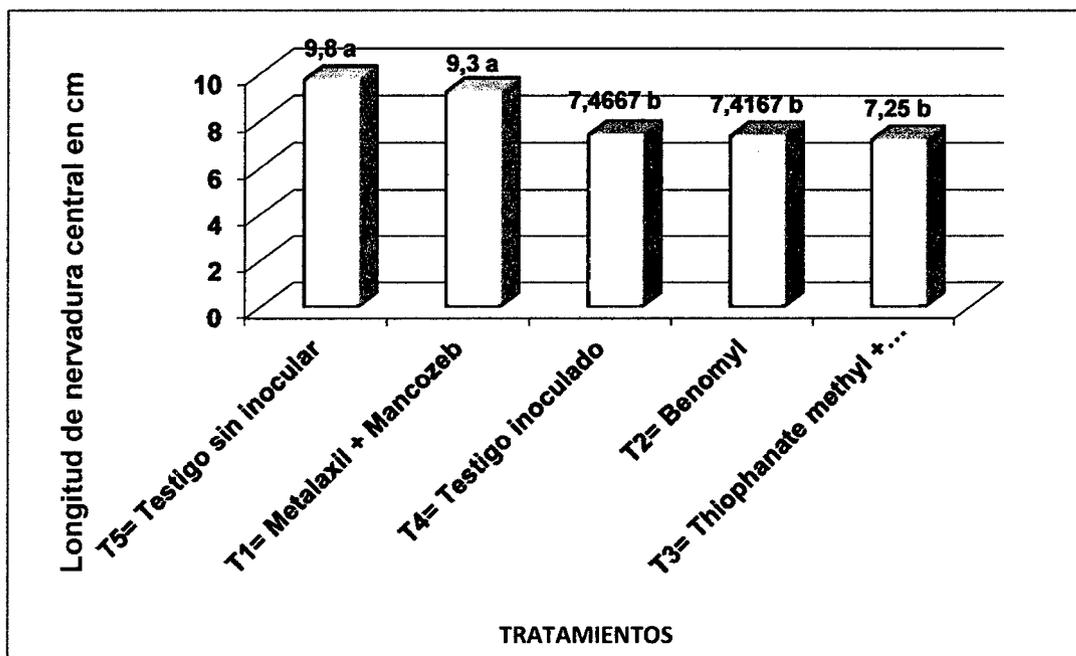


Gráfico 3: Prueba de Duncan (0,05) para la medición de longitud de nervadura central (cm) en la prueba de fungicidas del hongo *Lasiodiplodia parva* en vivero.

5.5.3 Medición del ancho de la hoja

El cuadro 10 y el gráfico 4 muestran el análisis de varianza y la prueba de Duncan para medición del ancho de la hoja (cm) en la prueba de fungicidas del hongo *Lasiodiplodia parva* en vivero.

Cuadro 10: Análisis de varianza para medición del ancho de la hoja (cm) en la prueba de fungicidas del hongo *Lasiodiplodia parva* en vivero.

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.E.	F-Valor	Pr > F	Signific.
TTOS	4	50,4913	12,6228	13,88	0,0001	**
ERROR	25	22,7387	0,9095	-	-	-
TOTAL	29	73,2297	-	-	-	-

** : Altamente significativo.

$R^2 = 68,95\%$

C.V. = 10,52 %

Promedio = 9,06 cm

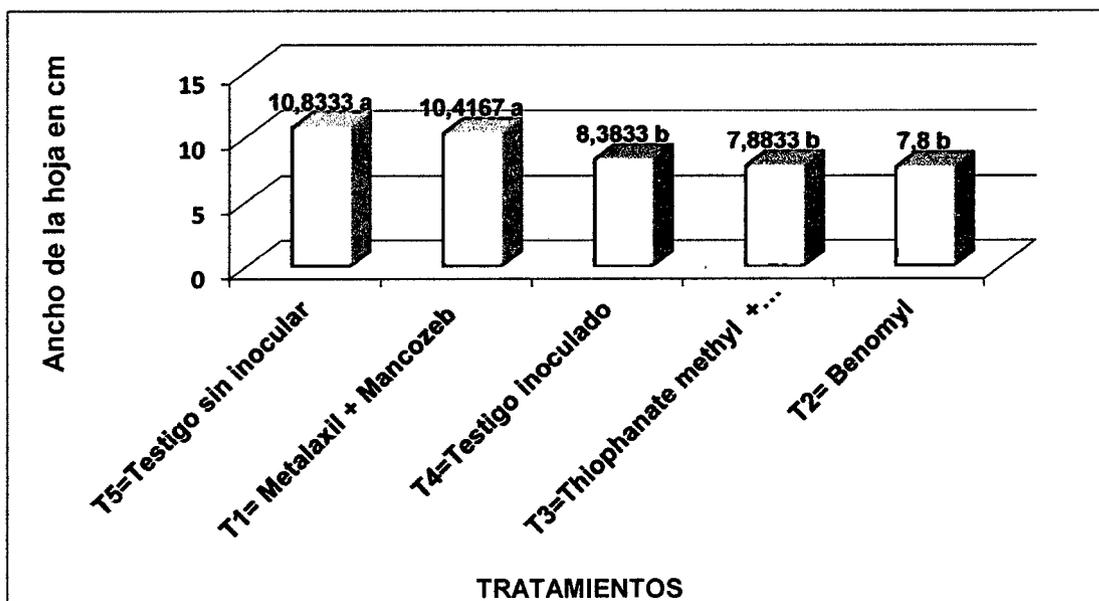
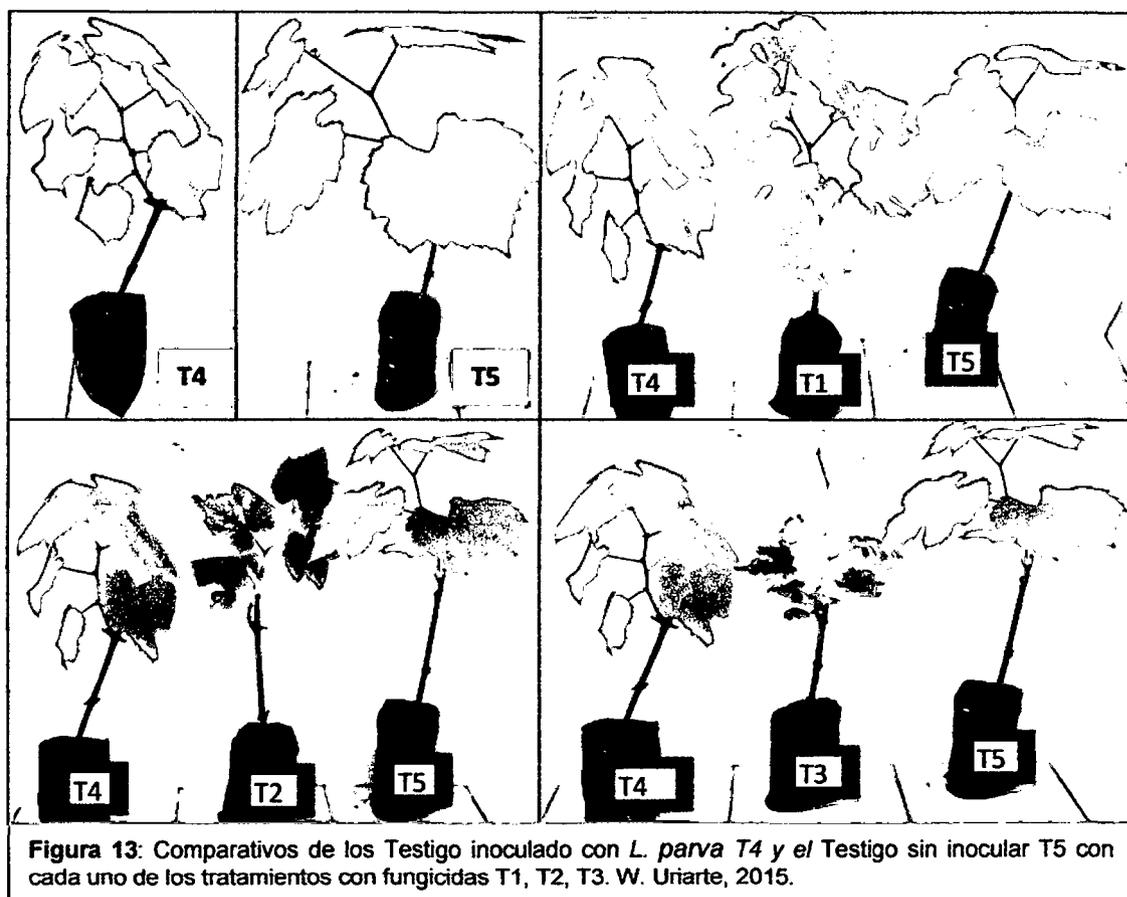


Gráfico 4: Prueba de Duncan (0,05) para medición del ancho de la hoja (cm) en la prueba de fungicidas del hongo *Lasiodiplodia parva* en vivero.

La figura 13 muestra los resultados del control químico del hongo *Lasiodiplodia parva* observándose efecto fitotóxico de los fungicidas aplicados a la vid en vivero.



Las plantas de vid después de 15 días de aplicación del tratamiento presentaron efecto fitotóxico leve que se muestra en la foto 13, en el tratamiento T1 (Metalaxil + Mancozeb al 3 g/l) se observó hojas con puntos cloróticos y necróticos en toda la superficie, mientras que las plantas del T2 (Benomyl 1.0 g/l), presentaban clorosis internerval y las plantas del T3 (Tiophanate metil + thiram a 2 g/l), presentaron las hojas con muerte celular a nivel de los hidátodos y formando manchas necróticas en los bordes debido a la acumulación toxica.

5.6 Control biológico *in vitro* de *Lasiodiplodia parva* con cepas de *Trichoderma* spp.

Las figuras 14 y 15 muestran el efecto de los *Trichodermas* sobre el hongo *Lasiodiplodia parva* causante de la enfermedad pudrición negra y carbonosa del tallo de la vid.

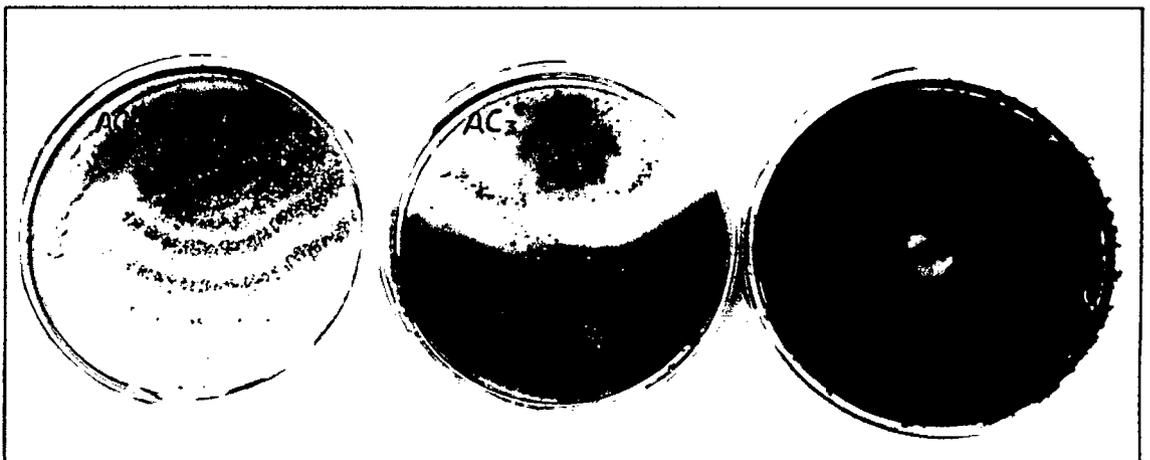


Figura 14: Prueba dual entre *Trichoderma* cepa AC3 (Aucaloma) con *Lasiodiplodia parva*. W. Uriarte, 2015.

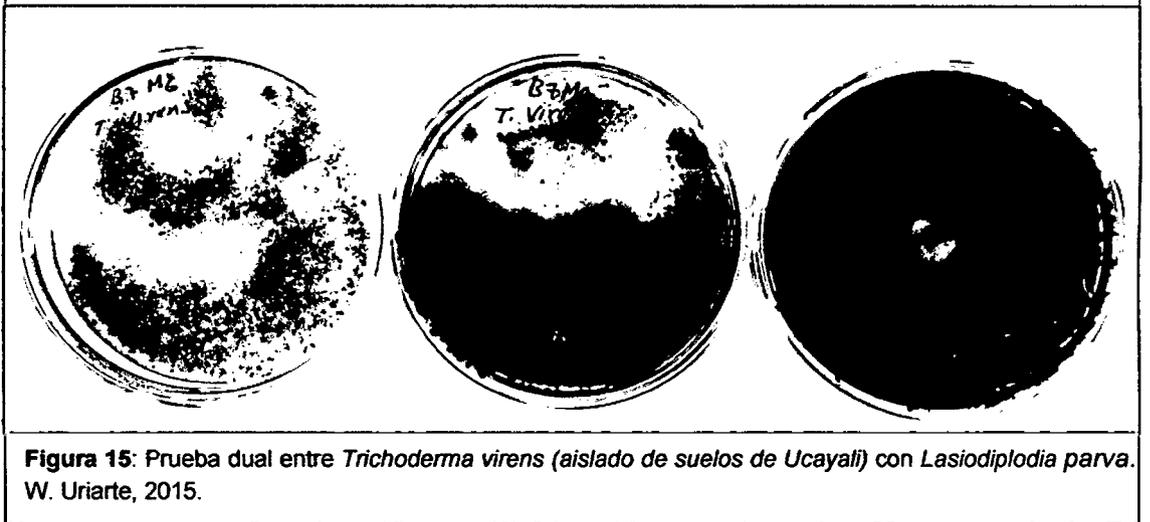


Figura 15: Prueba dual entre *Trichoderma virens* (aislado de suelos de Ucayali) con *Lasiodiplodia parva*. W. Uriarte, 2015.

Los *Trichodermas* Cepa AC3 (foto 14) y *Trichoderma virens* (foto 15) dieron buenos resultados al enfrentarse al hongo *Lasiodiplodia parva*, lo cual pueden considerarse buenos antagonistas.

5.7 Descripción de los síntomas de la enfermedad.

5.7.1 Pudrición húmeda de raíces.

Síntomas.

La figura 16 muestra los síntomas de la pudrición húmeda de raíces de la vid:



Figura 16: a) pudrición húmeda de raíces, b) Marchitez, c) Secado y caída de hojas, d) planta erradicada y e) aclareo de parra. W. Uriarte, 2015. La enfermedad se ha observado en plantaciones de vid en San Roque de Cumbaza - Centro Poblado de Aocaloma Sector Sanango, afectando en diversos estadios de desarrollo de la planta causando la muerte y durante la producción mostraron momificación de frutos por falta de agua y nutrientes.

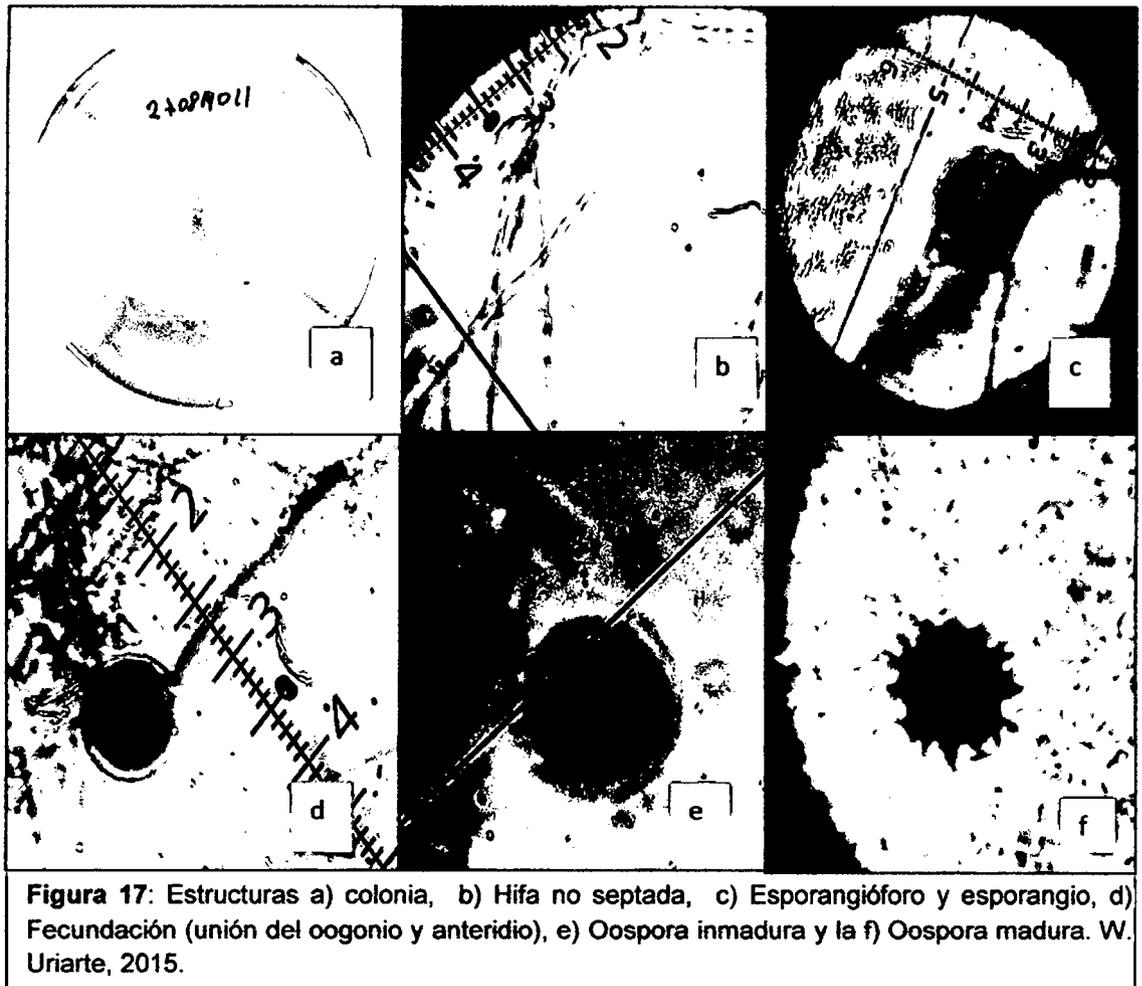
5.8 Caracterización de los aislamientos del agente causal.

El cuadro 11 muestra las características biométricas y morfológicas del patógeno que causa la pudrición húmeda de raíces de la vid.

Cuadro 11: Características biométricas y morfológicas.

Características		Resultados
Colonia	Tiempo	10 días
	Medición lineal	90,00 mm
	Color	Blanco crema
Micelio	Color	Claro o hialinos
	Hifas	Sin septas en forma de tubo
	Eporangióforo	Claros en forma de tubo sin septas
	Esporangio	Sub globoso o limoniforme de pared delgada
	Oospora	Pared gruesa y ornamentada
	Oogonio	En forma esfera
	Anteridio	En forma de uña

La figura 17 muestra la estructura del agente causal de la enfermedad pudrición húmeda de raíces de la vid.



Según los síntomas causados y descripción de las características morfológicas y biométricas pertenecen al stramenopila *Pythium oligandrum*.

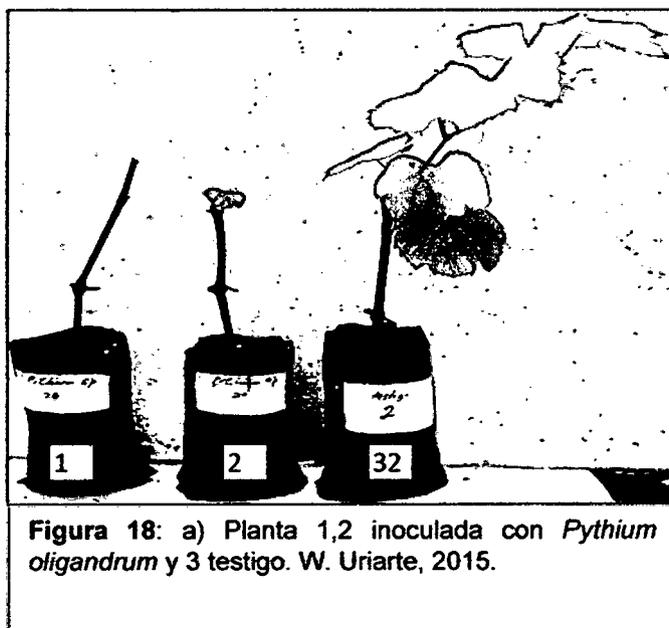
5.9 Evaluación de la prueba de patogenicidad.

El cuadro 12 muestra la prueba de patogenicidad de la stramenophyla *Pythium oligandrum* en invernadero.

Cuadro 12: Prueba de patogenicidad del stramenopila aislado *Pythium oligandrum* en vivero.

N°	Tratamiento	Número de plantas	Plantas Infectadas	Incidencia %
1	Testigo	20	0	0
2	<i>Pythium oligandrum</i>	20	19	95

*: Prueba realizada en los ambientes del Laboratorio de Sanidad Vegetal.



En la figura 18, se observa que la planta uno se muestra muerta por causa de la pudrición húmeda; la planta dos presentó brotes débiles con hojas pequeñas a diferencia de la planta tres que muestra características propias de una planta sana.

5.10 Evaluación de la prueba de fungicidas *in vitro*.

El cuadro 13 y el gráfico 5 muestran el análisis de varianza y la prueba de Duncan para el crecimiento lineal de la colonia del stramenopila *Pythium oligandrum* en la prueba *in vitro* de fungicidas.

Cuadro 13: Análisis de varianza para el crecimiento lineal de la colonia del stramenopila *Pythium oligandrum* en la prueba *in vitro* de fungicidas.

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.E.	F-Valor	Pr > F	Signific.
TTOS	6	27277,30	4529,55	738,23	0,0001	**
ERROR	28	171,80	6,14			
TOTAL	34	27349,10				

** : Altamente significativo.

$R^2 = 99,37 \%$

C.V. = 66,41 %

Promedio = 37,30 mm

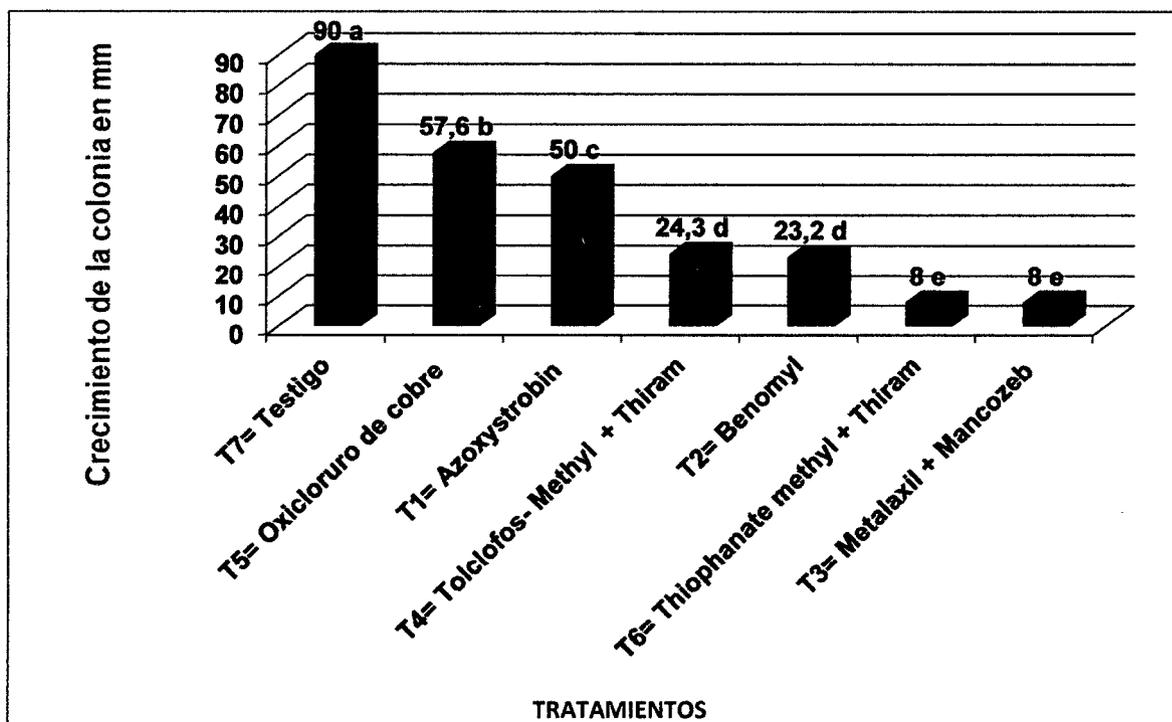


Gráfico 5: Prueba de Duncan (0,05) para del crecimiento lineal de la colonia del stramenopila *Pythium oligandrum* en la prueba *in vitro* de fungicidas.

5.11 Evaluación de la prueba de fungicidas en invernadero.

5.11.1 Medición de altura de planta.

El cuadro 14 y el gráfico 6 muestran el análisis de varianza y la prueba de Duncan para altura de planta (cm) en la prueba del control químico del stramenopila *Pythium oligandrum* en vivero.

Cuadro 14: Análisis de varianza para altura de planta (cm) en la prueba del control químico del stramenopila *Pythium oligandrum* en vivero.

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.E.	F-Valor	Pr > F	Signific.
TTOS	3	397,2567	132,4189	30,46	0,0001	**
ERROR	8	34,7733	4,3467	-	-	-
TOTAL	11	432,0300	-	-	-	-

** : Altamente significativo.

$R^2 = 91,95\%$

C.V. = 10,19 %

Promedio = 20,45 cm

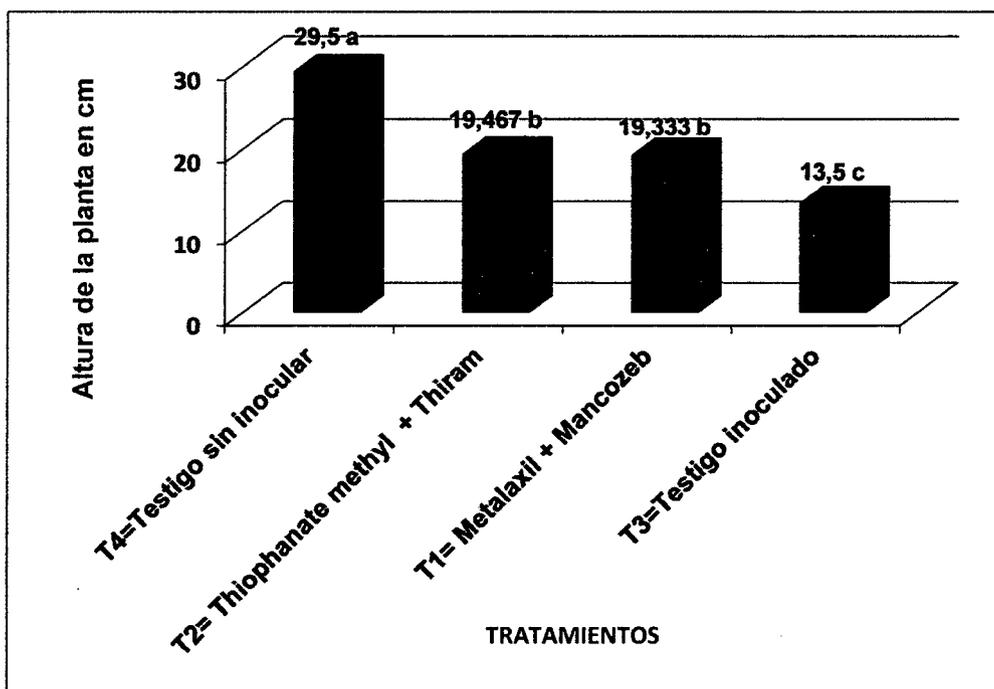


Gráfico 6: Prueba de Duncan (0,05) para altura de planta (cm) en la prueba de fungicidas del stramenopila *Pythium oligandrum* en vivero.

5.11.2 Medición de nervadura central de la hoja

El cuadro 15 y el gráfico 7 muestran el análisis de varianza y la prueba de Duncan para la longitud de nervadura central de la hoja (cm) en la prueba del control químico del stramenopila *Pythium oligandrum* en vivero.

Cuadro 15: Análisis de varianza para la longitud de nervadura central de la hoja (cm) en la prueba del control químico del stramenopila *Pythium oligandrum* en vivero.

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.E.	F-Valor	Pr > F	Signific.
TTOS	3	28,2846	9,4282	283,35	0,0001	**
ERROR	20	0,6650	0,0332	-	-	-
TOTAL	23	28,9495	-	-	-	-

** : Altamente significativo.

$R^2 = 97,70\%$

C.V. = 2,28 %

Promedio = 8,004 cm

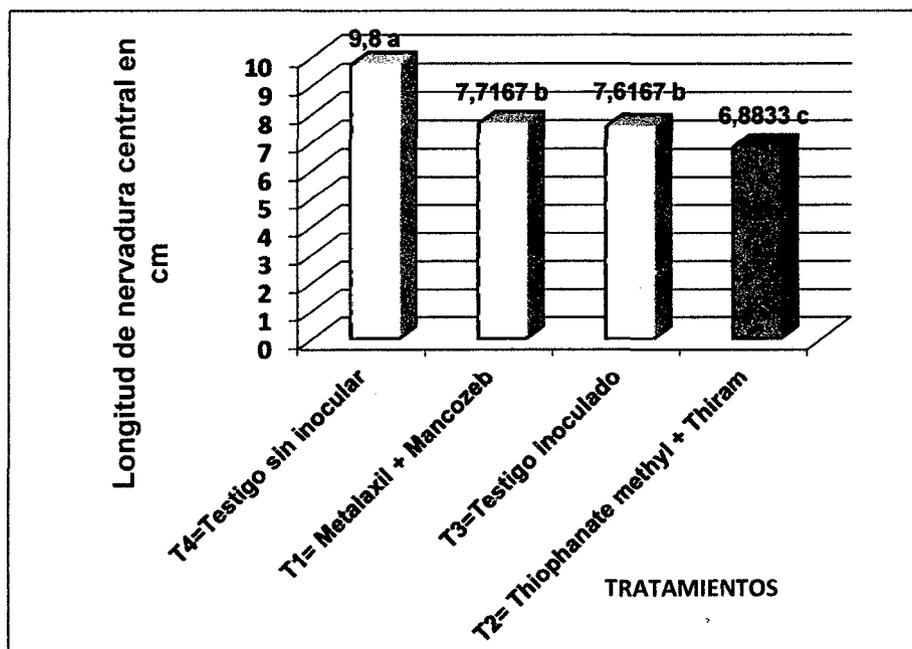


Gráfico 7: Prueba de Duncan (0,05) para para la longitud de nervadura central de la hoja (cm) en la prueba de fungicidas del stramenopila *Pythium oligandrum* en vivero.

5.11.3 Medición del ancho de la hoja

El cuadro 16 y el gráfico 8 muestran el análisis de varianza y la prueba de Duncan para el ancho de la hoja (cm) en la prueba de control químico del stramenopila *Pythium oligandrum* en vivero.

Cuadro 16: Análisis de varianza para el ancho de la hoja (cm) en la prueba de control químico del stramenopila *Pythium oligandrum* en vivero.

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.E.	F-Valor	Pr > F	Signific.
TTOS	3	51,0833	17,0278	75,74	0,0001	**
ERROR	20	4,49670	0,2248	-	-	-
TOTAL	23	55,5800	-	-	-	-

** : Altamente significativo.

$R^2 = 91,91\%$

C.V. = 5,42 %

Promedio = 8,75 cm

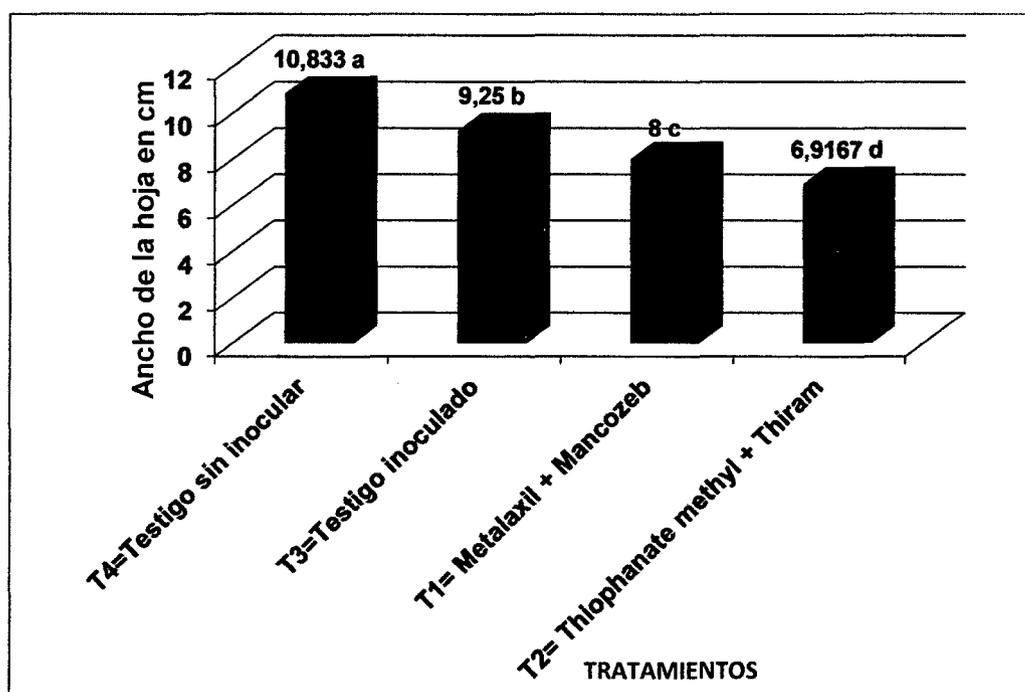
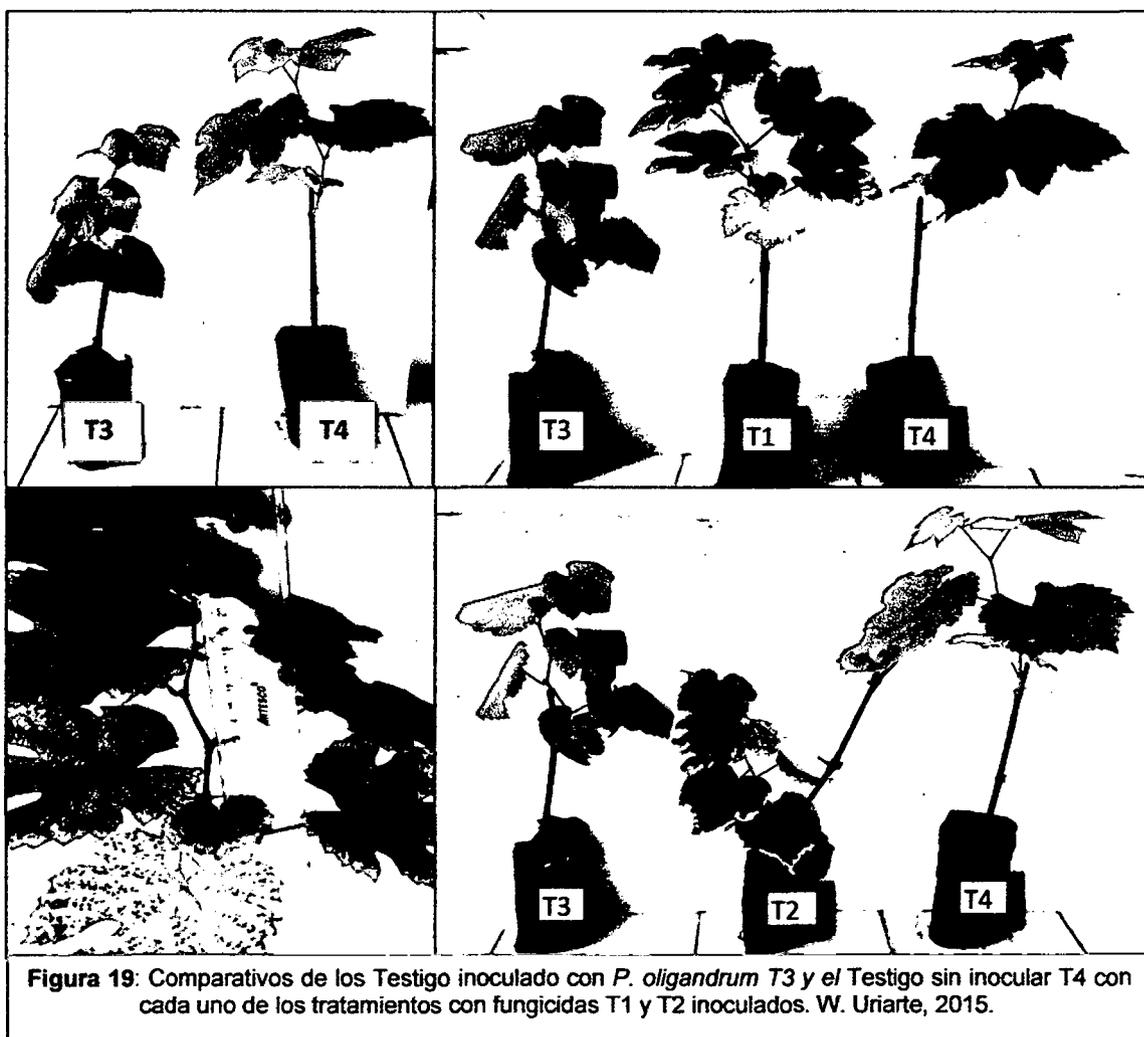


Gráfico 8: Prueba de Duncan (0,05) para el ancho de la hoja (cm) en la prueba de fungicidas de *Pythium oligandrum* en vivero.

La figura 19: muestra los resultados del control químico de *Stramenopila Pythium oligandrum* observándose efecto fitotóxico de los fungicidas aplicados a la vid en vivero.



Las plantas vid después de 15 días de aplicación del tratamiento presentaron efecto fitotóxico leve que se muestra en la foto 18, en el tratamiento T1 (Metalaxil + Mancozeb al 3 g/l) se observó hojas con puntos cloróticos y necróticos en toda la superficie y en las plantas del T3 (Tiophanate metil + thiram a 2 g/l), presentaron las hojas con muerte celular a nivel de los hidátodos y formando manchas necróticas en los bordes debido a la acumulación toxica.

5.12 Control biológico *in vitro* de *Pythium oligandrum* con cepas de *Trichoderma* spp.

Las figuras 20 y 21 muestran el efecto de los *Trichodermas* sobre la Stramenopila *Pythium oligandrum* causante de la enfermedad pudrición húmeda de raíces de la vid.

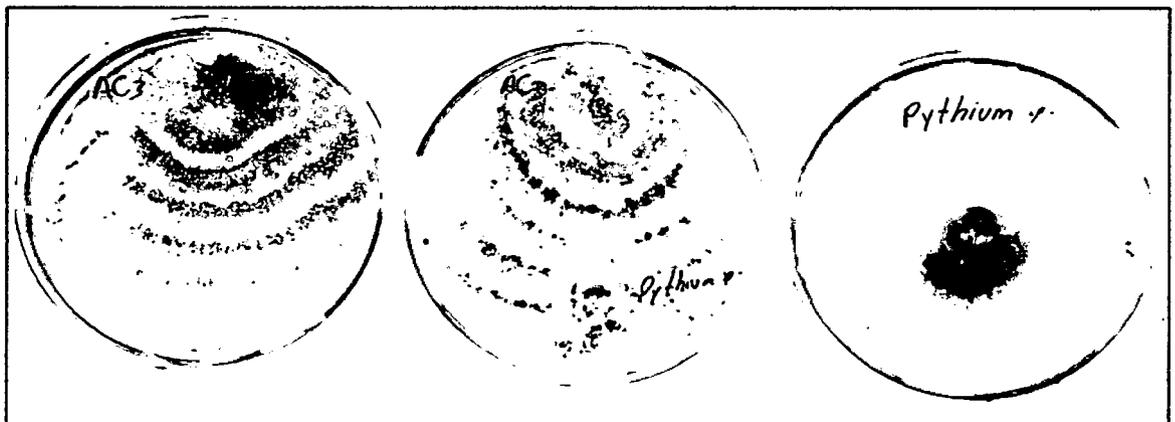


Figura 20: Prueba dual entre *Trichoderma* cepa AC3 (*Aucaloma*) con *Pythium oligandrum*. W. Uriarte, 2015.



Figura 21: Prueba dual entre *Trichoderma virens* (aislado de suelos de Ucayali) con *Pythium oligandrum*. W. Uriarte, 2015.

Los *Trichodermas* Cepa AC3 (figura 19) y *Trichoderma virens* (figura 20) dieron buenos resultados al enfrentarse al stramenopila *Pythium oligandrum*, lo cual pueden considerarse buenos antagonistas.

5.13 Determinación de la incidencia y pérdida económica

Cuadro 17: incidencia causado por las pudriciones de raíces y tallo.

Lugar	N. Parcela	Parcela	Plantas total	Plantas Afectada	Incidencia	Nº Planta/ha	Planta afectada/ha	Rdto/ha	Rdto/planta	Perdida Kg/ha	Perdida S/.
		m ²	Parcela	Parcela	%						
San Roque	1	864	54	12	22,22	625,0	139	7000	11,2	1555,4	2333,10
	2	5016	313	59	18,82	624,0	117	7000	11,2	1317,4	1976,10
	3	896	56	15	26,7	625,0	167	7000	11,2	1869	2803,50
	4	960	60	12	20	625,0	125	7000	11,2	1400	2100,00
	5	384	24	9	37,5	625,0	234	7000	11,2	2625	3937,50
San Antonio	1	1232	77	19	24,68	625,0	154	7000	11,2	1727,6	2591,40
	2	720	45	16	35,56	625,0	222	7000	11,2	2489,2	3733,80
	3	896	56	5	8,9	625,0	56	7000	11,2	623	934,50
	4	2048	128	31	24,2	625,0	151	7000	11,2	1694	2541,00
	5	1872	117	24	20,51	625,0	128	7000	11,2	1435,7	2153,55
					23,91					16736,3	25104,45
										1673,63	2510,45

VI. DISCUSIONES

6.1 De la Enfermedad pudrición seca y carbonosa de raíces y tallos de vid.

6.1.1 De los Sintomas.

Según los síntomas observado en las plantaciones vid en los distritos de San Antonio y San Roque de Cumbaza, como la marchitez y la seca de la hojas debido interferencia del agua y minerales del suelo por la pudrición seca de raíces y tallos; con lesiones y costras negras o carbonosas que se levanta hacia la superficie (Figura 10); en plantaciones en fructificación se observó la falta de envero, frutos pequeños momificados. Estos síntomas descritas corresponden a una nueva enfermedad de la vid en las plantaciones de la Región San Martín.

6.1.2 De las características del Aislamiento del hongo

La descripción de las características morfológicas de los aislamientos muestran colonia de color marrón oscuro, picnidio con masa de conidias en la base y en el ostiolo formando cirrus, y las conidias inmaduras hialina y las maduras de color marrón de forma ovoide, bicelulares con una septa bien pronunciada de color marrón oscuro (Figura 11) y la característica biométrica del conidio $5,43 \mu\text{m} \times 11,3 \mu\text{m}$; corresponden al hongo *Lasiodiplodia parva*, descritas por A.J.L. Phillips , A. Alves y Crous 2007 citado por Phillips *et al*, (2013). Pero no coincide con las características biométricas de los conidios de la especies *L. theobromae* y *L. viticola*. Por lo tanto se considera una nueva especie de *Lasiodiplodia* presente en la vid en San Martín.

6.1.3 De la Prueba de Patogenicidad

Con la prueba de patogenicidad se comprobó que el hongo *Lasiodiplodia parva* es el agente causante de la pudrición seca y carbonosa raíz y el tallo porque en las plantas inoculadas mostraron incidencia del 75% de infección, comparada con el testigo sin inoculación de conidios del hongo que el 100 % de las plantas fueron sanas. Además, los síntomas observados en las inoculaciones fueron similares a los observados a nivel de las plantaciones vid; este pariativo de los postulados uno y tres de Koch descritas por Agrios 2005, nos explica que la enfermedad es causada por el mencionado hongo.

6.1.4 De los Reislamientos

Los reaslamiento realizados de las muestras de planta inoculadas con el hongo *Lasidiplodia parva*, nos mostraron la presencia de estructuras vegetativas y estructuras propagativas similares a los aislamiento obtenidas de las muestra de campo por lo tanto al tener similitud estructuras, se comprueba que el agente causante de la enfermedad es el hongo *Lasiodiplodia parva*.

Este reporte es el primero en la región San Martín en el cultivo de la vid, debiendo considerarse la tercera enfermedad de importancia de la *Vitis labrusca*, después del mildiu causado por estremenopila *Plasmopara viticola* y la roya cusado por el hongo *Phackopsora euvitis* que fueron reportados desde año 1991 en San Martín por Amasifuen en su tesis sobre control químico del mildiu y esto fue corroborado por Chota, 2014 cuando raelizó sus tesis sobre control químico con fungicidas para dos enfermedades mencionadas y Tello 2014, cuando

realizó su tesis sobre control con extractos vegetales en busca de control de las mismas enfermedades.

Se tiene reporte que este hongo afecta a varios cultivos como lo sostiene Khanzada *et al* 2004; Tavarez y Menesses, 1991, en el caso de vid es mencionado por Kuhn, 1981 y Ribeiro *et al.*, 1992. Específicamente en la Costa norte del Perú, se ha reportado este hongo causando enfermedades Manzano, mango, palto por Alarma *et al* 2006; Rodríguez y Mattos 1988, en bananos por Llontop 2011, En San Martín se ha reportado en semillas de frijol huasca, Allpa, Pajatino por Mori 2015. En nuestro trabajo de investigación encontramos que la caña brava fresca y seca que se usan en las parras está infectada por este hongo, convirtiéndose en un agente intermediario de la enfermedad para el caso del cultivo de la vid.

6.1.5 Del Manejo Integrado de la Pudrición seca y carbonosa de las raíces y tallo de la vid.

6.1.5.1. Evaluación de la prueba de fungicidas *in vitro* para el control de

Lasiodiplodia parva.

Los resultados del análisis de varianza para el crecimiento lineal de la colonia del hongo *Lasiodiplodia parva* causante de la enfermedad pudrición seca de raíces y tallo de la vid en la prueba de control químico *in vitro* (cuadro 7), se observa que hay diferencia altamente significativa. Su coeficiente de determinación de 98,41% nos explica que los fungicidas aplicados han

influenciado en el crecimiento del hongo y su coeficiente de variabilidad de 12,92% está dentro del calificativo muy bueno según Kalzada, 1989

Los resultados de la prueba de Duncan a nivel de significancia de (0,05) para el crecimiento lineal del hongo *Lasiodiplodia parva* en la prueba *in vitro* de fungicidas (Gráfico 1), se observa que existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos estudiados. Los fungicidas T₃ Metalaxil (8%)+ Mancoceb (64%), T₆ (Thiophanate methyl 50% + Thiram 30%), T₂ (Benomyl 50%) y el T₄ (Tolclofos- Methyl 30% + Thiram 30%) son iguales estadísticamente y han restringido el crecimiento de la colonia entre 8 a 12,6 mm, pero se diferencian estadísticamente de los fungicidas T₁ (Azoxystrobin 50%), T₅ (Oxicloruro de cobre 85%) y el tratamiento T₇ (Testigo). El segundo ocupó el fungicida T₅ (Oxicloruro de cobre 85%) con 74,96 mm de crecimiento de la colonia del hongo; mientras que el fungicida T₁ (Azoxystrobin 50%) T₇ (Testigo) dejaron desarrollar al hongo con 90 mm que ha llenado la placa de Petri; por lo tanto, no ejercen ningún control al hongo *Lasiodiplodia parva*. Para el caso de los fungicidas T₂ (Benomyl 50%), T₃ Metalaxil (8%)+ Mancoceb (64%), y el T₆ (Thiophanate methyl 50% + Thiram 30%) que ha inhibido totalmente el crecimiento del hongo pero no han tenido diferencia estadística con el fungicida T₄ (Tolclofos- Methyl 30% + Thiram 30%) a nivel *in vitro*.

6.1.5.2. Evaluación de la prueba de fungicidas en invernadero para el control de *Lasiodiplodia parva*.

El testigo inoculado con el hongo *Lasiodiplodia parva* presenta los siguientes síntomas en hojas; son de color verde amarillento, de tamaño pequeño (7,5 – 8,4cm) con respecto al testigo absoluto (9,8-10,8 cm), presenta epinastia (curvatura hacia abajo de las hojas), se enrolla hacia el envés, son coriáceas, gruesas, rígidas debido a que el hongo está interfiriendo en la conducción del agua y nutrientes al afectar los vasos conductores, estos resultados tiene relación con Agrios, 2005, cuando menciona que las plantas infectadas por muchos patógenos vasculares, los estomas permanecen parcialmente cerrados, el contenido de clorofila disminuye y a la fotosíntesis se inhibe incluso antes del marchitamiento de las plantas y asimismo resulta evidente que la interferencia que ocasionan los patógenos sobre el movimiento ascendente del agua y de los nutrientes inorgánicos o sobre el movimiento descendente de las sustancias orgánicas ocasionará la enfermedad.

a) Altura de la plantas de vid.

Los resultados del análisis de varianza para la altura de planta de la vid (cm) después del control químico con fungicidas del hongo *Lasiodiplodia parva* (cuadro 8), se observa que existe diferencia altamente significativa entre los tratamientos estudiados. Su coeficiente de determinación de 84,95% nos explica que los fungicidas aplicados han influenciado en altura de planta después de la inoculación y el control químico. Su coeficiente de

variabilidad de 11,83% está dentro del calificativo muy bueno según Calzada, 1989

Los resultados de la prueba de Duncan a nivel de significancia de (0,05) para la altura de vid (cm), después del control químico con los fungicidas del hongo *Lasiodiplodia parva* en vivero (Gráfico 2), se observó que existe diferencia estadística entre los promedios de los tratamientos estudiados. El tratamientos T₅ (testigo sin inocular) y los tratamientos con fungicidas T₃ (Thiophanate methyl 50% + Thiram 30%) y T₁ (Metalaxil 8%+ Mancoceb 64%) son estadísticamente iguales y obtuvieron las mayores alturas con 29.5, 27.167 y 24.5 cm; diferenciándose del T₄ (testigo inoculado) con el hongo *Lasiodiplodia parva*, que registró la menor altura con 14,333 cm. Además entre los tratamientos con fungicidas no hay diferencia estadística entre ellos; pero la aplicación de 80 ml de producto a la dosis aplicada de cada fungicida ensayada ha demostrado ser fitotóxico.

Existe poca información sobre efectos tóxicos de los fungicidas en los cultivos, tal como lo menciona Cueva, 2009; sobre efectos tóxicos leves y graves de los fungicidas en el cultivo de papaya. En el caso del fungicida T₁ (Metalaxil 8%+ Mancoceb 64%), T₂ (Benomil 1 g/l) y T₃ (Thiofanate Methil + Thiran 2 g/l) y conformidad con lo síntomas observados la fitotoxicidad se califica como leve, al no presentar muerte de hojas de la yema, esto corroborado por Cueva 2007, cuando menciona que la fitotoxicidad es grave cuando se muere una hoja del cogollo para el caso del cultivo de papaya.

Según la cartilla de recomendación de Farmex menciona que el benomyl no es tóxico si se aplica entre las dosis recomendadas para la aplicación por aspersión pero no explica por el método de Drench.

a) Medición de longitud de la nervadura central de la hoja.

El análisis de varianza para longitud de nervadura central de la hoja de la vid (cm) en la prueba de control químico del hongo *Lasiodiplodia parva* en vivero, resultó altamente significativo, lo cual nos indica que entre las pruebas de los tratamientos estudiados existe diferencia estadística. Donde su coeficiente de determinación es de 64,45%, lo cual nos explica el efecto de los fungicidas en esta prueba y su coeficiente de variabilidad de 10,63% está dentro del calificativo muy bueno según Calzada 1980.

Los resultados de la prueba de Duncan a nivel de significancia de (0,05) para la longitud de nervadura central de la hoja de la vid (cm), después del control químico con fungicidas del hongo *Lasiodiplodia parva* en vivero (Gráfico 3), resultó estadísticamente significativo. El tratamiento T₅ (testigo sin inocular) y el tratamiento con fungicida T₁ (Metalaxil 8%+ Mancoceb 64%) no se diferencian estadísticamente entre si y obtuvieron la mayor altura de 9,3 – 9,8 cm, pero se diferencian estadísticamente de los tratamientos T₄ (testigo inoculado) y los tratamientos con fungicida T₂ (Benomyl 50%) y T₃ (Thiophanate methyl 50% + Thiram 30%) que son iguales estadísticamente. El fungicida T₁ (Metalaxil 8%+ Mancoceb 64%) a la dosis 3g de producto comercial por litro de agua no ha afectado el crecimiento a pesar de presentar efectos fitotóxicos en hojas con síntomas

cloróticos y necróticos. Su efecto de control es corroborado en el control *in vitro* que se explica en el cuadro siete y gráfico uno. Para disminuir el efecto tóxico es necesario realizar estudios sobre menores dosis del producto comercial (PC) o bajar la cantidad solución por plántulas.

b) Medición del ancho de la hoja

El análisis de varianza para el ancho de la hoja (cm) en la prueba de fungicidas del hongo *Lasiodiplodia parva* en vivero, resultó altamente significativo, lo cual nos indica que entre los promedios de los tratamientos estudiados existe diferencia estadística. Su coeficiente de determinación es de 68,95%, esto no indica que el ancho de la hoja se debe al efecto de los fungicidas estudiados. Su coeficiente de variabilidad de 10,63% está dentro del calificativo muy bueno según Calzada 1980.

Los resultados de la prueba de Duncan a nivel de significancia de (0,05) para el ancho de hoja de la vid (cm), después del control químico con fungicidas para el hongo *Lasiodiplodia parva* (Gráfico 4), resultó estadísticamente significativo. El tratamiento T₅ (testigo sin inocular) y el tratamiento con fungicida T₁ (Metalaxil 8%+ Mancoceb 64%) no se diferencian estadísticamente entre si y obtuvieron la mayor ancho de 10,4 – 10,8 cm, pero se diferencian estadísticamente de los tratamientos T₄ (testigo inoculado) y de los tratamientos con fungicida T₃ (Thiophanate methyl 50% + Thiram 30%), T₂ (Benomyl 50%) que son iguales estadísticamente entre sí midiendo de 7,8 – 8,4 cm. El fungicida T₁

(Metalaxil 8%+ Mancoceb 64%) a la dosis 3g /l de agua no ha afectado el crecimiento a pesar de presentar efectos fitotóxicos en las hojas con síntomas cloróticos y necróticos. Su efecto de control es corroborado en el control *in vitro* que se explica en el cuadro 7 y grafico 1.

6.1.5.3. Control biológico *in vitro* de *Lasiodiplodia parva* con cepas de *Trichoderma* spp.

Del control biológico *in vitro*, los Trichodermas Cepa AC3 (Figura 14) y *Trichoderma virens* (Figura 15) presentaron capacidad antagónica eficiente para controlar al hongo fitopatógeno *Lasiodiplodia parva*, demostrando buen nivel de competencia por espacio y nutrientes; es decir que su mecanismo de acción es por micoparasitismo. Los daños contra *Lasiodiplodia parva* comienzan a observarse cuando ambos hongos entran en contacto presentando invasión y esporulación Trichodermas Cepa AC3 (Figura 14) y *Trichoderma virens* (Figura 15) sobre la colonia del mencionado hongo inhibiendo su crecimiento. Este mecanismo de acción también se refleja en trabajos realizados por, Benhamou y Chet, 1993, utilizando cepas de *Trichoderma sp* para el control biológico de *Rhizoctonia solani*. Donde los daños se observa al entrar en contacto ambos hongos y no antes por las sustancias producidas en el avance del antagonista, presentándose invasión y esporulación sobre la colonia de *Rhizoctonia solani* e inhibición de la producción de esclerócios.

6.2 De la Enfermedad pudrición húmeda de las raíces de vid.

6.2.1 De los Síntomas.

Según los síntomas observado en las plantaciones vid en los distritos de San Antonio y San Roque de Cumbaza, como la marchitez, la seca y caída de las hojas debido interfencia del agua y minerales del suelo por la pudrición húmeda de raíces causando la muerte súbita de la planta; cuando las plantas están en p fructificación se observó la falta de envero, frutos pequeños momificados. Esta enfermedad se observa en épocas con suelos humedas y alta nubocidad. Estos síntomas descritas corresponden a una nueva enfermedad de la vid en las plantaciones de la Región San Martín.

6.2.2 De las características del Aislamiento del stramenopila.

La descripción de las características morfológicas de los aislamientos muestran colonia de color blanco crema, micelio color claro con hifas sin septas, esporangioforo claro en forma de tubo sin septas, esporangio limoniforme o subglobosos continuos, de forma irregular, conectadas por partes filamentosas intercaladamente ocasionalmente terminal. Oogonio terminal e intercalar con protuberancias en las bases. Anteridio en forma de uña adherida al oogonion de forma esferica. Oospora inmadura con pared gruesa de 1 a 3 micras de ancho apleuretica (Foto 16). Estas características descritas son similares a la descripción Van Der Plaats-Niterink (1981), sobre la monografía del género *Pythium*, para especie la *Pythium oligandrum* descrita en la pagina 115.

6.2.3 De la Prueba de Patogenicidad

Con la prueba de patogenicidad se comprobó que el stramenopila *Pythium oligandrum* el agente causante de la pudrición húmeda de raíces, porque en las plantas inoculadas mostraron incidencia del 95% de infección, comparada con el testigo sin inoculación de *Pythium oligandrum* que el 100 % de las plantas fueron sanas. Además, los síntomas observados en las plantas inoculadas fueron seca de la yema, brotes débiles y hojas deformadas presentando hepinastia; este pariativo de los postulados 1 y 3 de Koch descritas por Agrios 2005, nos explica que la enfermedad es causada por el stramenopila *Pythium oligandrum*.

6.2.4 De los Reaislamientos

Los reaslamiento realizados de las muestras de planta inoculadas, nos mostraron la presencia de estructuras vegetativas y estructuras propagativas similares a los aislamiento obtenidas de las muestra de campo por lo tanto al tener similitud de estructuras, se comprueba que el agente causante de la enfermedad es el stramenopila *Pythium oligandrum*.

Esta enfermedad en el cultivo de vid es el cuarto en reportarse en la región San Martín, por lo que se debe considerarse una enfermedad potencial debido a que solo esta presente en plantaciones instaladas en terrenos planos con una humedad constante.

6.2.5 Del Manejo Integrado de la Pudrición húmeda de raíces de la vid.

6.2.5.1. Evaluación de la prueba de fungicidas *in vitro* para el control de *Pythium oligandrum*.

Los resultados del análisis de varianza para el crecimiento lineal de la colonia del stramenopila *Pythium oligandrum* causante de la enfermedad pudrición húmeda de raíces de la vid en la prueba de control químico *in vitro* (cuadro 13), se observa que hay una diferencia altamente significativa. Su coeficiente de determinación de 99,37 % nos explica que los fungicidas aplicados han influenciado en el crecimiento del hongo y su coeficiente de variabilidad de 66,41 % está dentro del calificativo deficiente según Calzada, 1989

Los resultados de la prueba de Duncan a nivel de significancia de (0,05) para el crecimiento lineal del stramenopila *Pythium oligandrum* en la prueba *in vitro* de fungicidas (Gráfico 5), se observa que existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos estudiados. El tratamiento T₇ (testigo), sin la aplicación de fungicidas ha llenado la placa de Petri en 10 días es decir registramos 90 mm de crecimiento lineal de la colonia, época que se dejaron de evaluar la prueba *in vitro*, se diferenció estadísticamente de los demás tratamientos con fungicidas. En segundo lugar de crecimiento lineal de la colonia correspondió al tratamiento con fungicida T₅ (Oxicloruro de cobre 85%). En tercer lugar ocupó el tratamiento con fungicida T₁ (Azoxystrobin 50%), el cuarto lugar ocuparon los tratamientos con fungicida T₄ (Tolclofos- Methyl 30% + Thiram 30%) y el T₂ (Benomyl 50%). No dejaron desarrollar al micelio del hongo el tratamiento con fungicida T₆ (Thiophanate methyl 50% + Thiram 30%)

y T₃ (Metalaxil 8%+ Mancoceb 64%), demostrando su alta efectividad *in vitro* y ocupando el último lugar, esto corroborado cuando mencionan que estos fungicidas controlan a *Pythium sp* (Paima, 2011) y *Plasmopara viticola* (Chota, 2014)

6.2.5.2. Evaluación de la prueba de fungicidas en invernadero para el control de *Pythium oligandrum*.

El testigo inoculado con el stramenopila *Pythium oligandrum* presenta los siguientes síntomas en hojas; son de color verde amarillento, de tamaño pequeño (7,75 x 9,25cm) con respecto al testigo absoluto (9,8 x 10,8 cm), presenta epinastia (curvatura hacia abajo de las hojas), son coriáceas, gruesas, rígidos (debido a que el hongo está interfiriendo en la absorción del agua y nutrientes), teniendo resultado similares como describe estos resultados tiene relación con Agrios, 2005, cuando menciona que las plantas infectadas por muchos patógenos vasculares, los estomas permanecen parcialmente cerrados, el contenido de clorofila disminuye y a la fotosíntesis se inhibe incluso antes del marchitamiento de las plantas y asimismo resulta evidente que la interferencia que ocasionan los patógenos sobre el movimiento ascendente del agua y de los nutrientes inorgánicos o sobre el movimiento descendente de las sustancias orgánicas ocasionará la enfermedad.

a) Medición de altura de planta.

El análisis de varianza para para altura de planta de la vid (cm) en la prueba del control químico del stramenopila *Pythium oligandrum* en vivero resultó altamente significativo, lo cual nos indica que entre los promedios

de los tratamientos estudiados existe diferencia estadística. Su coeficiente de determinación es de 91,95%, donde nos explica el efecto de los fungicidas en esta prueba y su coeficiente de variabilidad de 10,19% está dentro del calificativo muy bueno según Calzada 1980.

Los resultados de la prueba de Duncan a nivel de significancia de (0.05) para altura de planta de la vid (cm), después del control químico con fungicidas de *Pythium oligandrum* (Gráfico 6), resultó estadísticamente significativo. El tratamiento T₄ (testigo sin inocular) obteniendo la altura mayor con 29.5 cm se diferencia estadísticamente de los tratamientos con fungicidas T₂ (Thiophanate methyl 50% + Thiram 30%), T₁ (Metalaxil 8%+ Mancoceb 64%) y el tratamiento T₃ (testigo inoculado). Donde los tratamientos con fungicidas T₂ (Thiophanate methyl 50% + Thiram 30%) y T₁ (Metalaxil 8%+ Mancoceb 64%) controlaron a *Pythium oligandrum* pero presentaron un efecto fitotóxico disminuyendo la altura de la planta en 19,33 – 19,47 cm, mientras que el tratamiento T₃ (testigo inoculado con *Pythium oligandrum*) presentó el menor crecimiento en altura de planta en 13.5 cm.

b) Medición de nervadura central de la hoja

Los resultados del análisis de varianza para longitud de nervadura central de la hoja (cm), después del control químico con fungicidas del hongo *Pythium oligandrum* (cuadro 15), se observa que existe diferencia altamente significativa entre los tratamientos estudiados. Su coeficiente de determinación de 97,70 % nos explica que los fungicidas aplicados han

influenciado en la longitud de nervadura central de la hoja después de la inoculación y el control químico. Su coeficiente de variabilidad de 2,28 % está dentro del calificativo muy bueno según Calzada, 1989.

Los resultados de la prueba de Duncan a nivel de significancia de (0,05) para para longitud de nervadura central de la hoja (cm), después del control químico con fungicidas de *Pythium oligandrum* (Gráfico 7), resultó estadísticamente significativo. El tratamiento T₄ (testigo sin inocular) se diferencia estadísticamente de los tratamientos con fungicida T₂ (Thiophanate methyl 50% + Thiram 30%), T₁ (Metalaxil 8%+ Mancoceb 64%) y con el tratamiento T₃ (testigo inoculado). Donde los tratamientos con fungicida T₁ (Metalaxil 8%+ Mancoceb 64%) y T₂ (Thiophanate methyl 50% + Thiram 30%) controlaron a *Pythium oligandrum* pero presentaron un efecto fitotóxico influenciando en la longitud de nervadura central de la hoja en 6,8833 – 7,7167 cm, el tratamiento con fungicida T₁ (Metalaxil 8%+ Mancoceb 64%) y el T₃ (testigo inoculado) no hay diferencia estadística entre sí, presentando una longitud de nervadura central de 7,6167 – 7,7167 cm.

c) Medición del ancho de la hoja.

El análisis de varianza para el ancho de la hoja de la vid (cm) en la prueba de control químico del stramenopila *Pythium oligandrum* en vivero resultó altamente significativo, indicando que entre los promedios de los tratamientos estudiados existe diferencia estadística. Su coeficiente de determinación es de 91,91%, nos explica el efecto de los fungicidas en esta

prueba y su coeficiente de variabilidad de 5,42% está dentro del calificativo muy bueno según Calzada 1980.

Los resultados de la prueba de Duncan a nivel de significancia de (0,05) para ancho de la hoja de la vid (cm), después del control químico con fungicidas de *Pythium oligandrum* en vivero (Gráfico 8), resultó estadísticamente significativo. El tratamiento T₄ (testigo sin inocular) presentando el mayor ancho de hoja de 10,833 cm diferenciándose estadísticamente entre sí con el tratamiento T₃ (testigo inoculado) y con los tratamientos con fungicidas T₁ (Metalaxil 8%+ Mancoceb 64%) T₂ (Thiophanate methyl 50% + Thiram 30%). Donde el T₁ (Hieloxil) y T₂ (Homai) controlaron a *Pythium oligandrum* pero presentaron un efecto fitotóxico influenciando en la reducción el ancho de la hoja en 6,8833 – 7,7167 cm, mientras que en T₃ (testigo inoculado con *Pythium oligandrum*) ocupando el segundo lugar obteniendo una medida del ancho de la hoja de 9,25 cm.

6.2.5.3. Control biológico *in vitro* de *Pythium oligandrum* con cepas de *Trichoderma* spp.

Del control biológico *in vitro*, los *Trichodermas* Cepa AC3 (foto 19) y *Trichoderma virens* (Figura 20) presentaron capacidad antagónica eficiente para controlar al stramenopila *Pythium oligandrum*, demostrando un buen nivel de competencia por espacio y nutrientes y su mecanismo de acción por micoparasitismo, los daños contra *Pythium oligandrum* comienzan a observarse cuando el *Trichoderma* cepa AC3 entra en contacto con el stramenopila

presentando invasión y esporulación sobre la colonia el mencionado hongo deteniendo su crecimiento. Una vez más se demuestra la particular habilidad de las cepas de *Trichoderma* sp.

Stefanova, 1999, demuestra la actividad metabólica de cepas de *Trichoderma* sp. para el control de los hongos, fitopatógenos como *Phytophthora nicotianae*, *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani* y *Pythium* sp., además de provocar un efecto fungistático notable sobre los fitopatógenos por la emanación de sustancias volátiles por parte de *Trichoderma* sp.

6.2.6 Incidencia y pérdida económica causada por pudrición de Raíces y tallo.

Las dos enfermedades causan incidencia de 23,91%, dejando de cosechar en promedio 1673,63 kg/ha, de allí radica la importancia del manejo de la enfermedad a nivel de campo para minimizar las pérdidas económicas. Nuestros viticultores se encuentran preocupados por las enfermedades que se presentan en la vid principalmente con el mildiú y roya; pero no cuentan con información sobre estas dos enfermedades descubiertas recientemente en las zonas vitícolas de la región San Martín; por lo que es necesario profundizar los estudios de manejo integrado a nivel de campo.

VII. CONCLUSIONES

- 7.1** Según el diagnóstico de las enfermedades observadas se encontró dos agentes causales: *Lasiodiplodia parva* causante de la enfermedad pudrición seca y carbonosa del tallo y *Pythium oligandrum* causante de la enfermedad pudrición húmeda de raíces.
- 7.2** Los fungicidas que demostraron mejor control químico *in vitro* para el hongo *Lasiodiplodia parva* son los fungicida Hieloxil Mix 72 (Metalaxil 8%+ Mancozeb 64%), Benlate 50 WP (Benomyl 50%) y por último Homai 50 WP (Thiophanate methyl 50% + Thiram 30%); para el stramenopila *Pythium oligandrum* los fungicidas que dieron mejores resultados son: Hieloxil Mix 72 (Metalaxil 8%+ Mancozeb 4%) y Homai 50 WP (Thiophanate methyl 50% + Thiram 30%).
- 7.3** Los fungicidas demostraron mejor control químico en invernadero tanto para *Lasiodiplodia parva* como para *Pythium oligandrum* con la única desventaja que presentó fitotoxicidad en cada uno de los tratamientos.
- 7.4** En el control biológico *in vitro* las cepas de *trichoderma ssp.* lograron controlar tanto al hongo *Lasiodiplodia parva* como al stramenopila *Pythium oligandrum*, mediante micoparasitismo.
- 7.5** Entre las dos enfermedades se ha encontrado incidencia 23,91%, disminuyendo la producción 1673,63 kg/ha/campaña, dejando de percibir al agricultor 2510,45 nuevos soles por hectárea por campaña.

VIII. RECOMENDACIONES

- 8.1 Realizar la difusión a nivel de campo sobre la presencia de estos dos patógenos nuevo de la vid en la región San Martín.
- 8.2 Realizar la identificación de los agentes causales de las enfermedades a nivel molecular.
- 8.3 Realizar estudios en el control químico buscando la dosis de fungicida adecuada para el control del hongo *Lasiodiplodia parva* y *stramenopila Pythium oligandrum*, sin causar fitotoxicidad.
- 8.4 Hacer trabajos de investigación en el control biológico con cepas de *Trichoderma spp.* en campo.
- 8.5 Para un control cultural de los agentes causales de la pudrición seca y carbonosa de raíces y tallo y pudrición húmeda de raíces, se debe realizar trabajos de investigación utilizando plantones de vid obtenidos en vivero.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. *Adrianzen, R. 1996. Vademécum Agrario 1995/1996: Ingeniero Agrónomo. Editorial. Prensa. Impreso en Lima – Perú. Pág.768.*
2. *Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. Fifth Edition. Editorial ELSEVIER ACADEMIC PRESS. Department of Plant Pathology.of University Florida. Printed in the United States of America. 922 p.*
3. *Ahmad J, Baker R. 1987. Rhizosphere Competence of Trichoderma harzianum. Phytopathol. 77: 182-189*
4. *Alama I., Maldonado, E. y Rodríguez-Gálvez, E. 2006. Lasiodiplodia parva afectando el cultivo del palto (Persia americana) en las condiciones de Piura, Perú. Universalia 11(2): 1-2*
5. *Almanza, P. 2008. Evolución de parámetros fisicoquímicos durante la maduración de frutos de Vitis vinifera L. Trabajo para ascenso en el escalafón. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja. 38 p.*
6. *Apablaza, G. 1997. Patología de Cultivos. Epidemiología y Control Holístico. Colección en Agricultura. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. Pág. 283-305.*
7. *Bazán, C. (1965). Enfermedades de Cultivos Tropicales y Sub Tropicales. Editorial Jurídica S.A. Perú. pp. 395 – 398.*
8. *Bandara, W.; Seneviratne, G.; Kulasooriya, S. A. 2006. International among endophytic bacteria and fungi: effect and potentials. J. Biosci 31:645-650.*

9. Bernal A, Andreu C, Moya M. Utilización de *Trichoderma* spp. como alternativa ecológica para el control de *Fusarium oxysporum* sp. cubense (EF Smith) Snyd & Hans. Cuba. 2004 (Consultado: 22 abr 2007).
10. Benhamou N, Chet I. 1993. Hyphal interactions between *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*: Ultraestructure and Gold Cytochemistry of the mycoparasitic process. *Phytopathol.* 83 (10):1062-1071.
11. Börner, H. 2009. *Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 689 pp.
12. Bruehl, g. w. 19987. *los agentes patógenos del suelo vegetal*. macmillan publishing company, londres. p. 326.
13. Brito. 2001. *lista de hongos identificados ne el laboratorio de sasa – aragua periodo. laboratorio de virología vegetal. instituto de botánica agrícola. facultad de agronomía.*
14. Bretaudeau. 1978. *Poda e Injerto en Frutales*. Ediciones Mundi. Prensa Madrid. Pág. 87 – 96.
15. Carroll, G.; Petrini, O. 1983. Patterns of substrate utilization by some fungal endophytes from coniferous foliage. *Mycology* 75(1):53-63.
16. Carroll, G. 1988. Fungal endophytes in stems and leaves: from latent pathogen to mutualistic symbiont. *Ecology* 69(1):2-9.
17. Carsolio C, Benhamou N, Haran S, Cortés C, Gutierrez Ana, Chet I, Herrera-Estrella A. 1999. Role of the *Trichoderma harzianum* endochitinase gene, ech42, in mycoparasitism. *Appl Environ Microbiol.* 65:929-935.

18. Chet I, Benhamou S. *Mycoparasitism and lectin enzymes*. In: *Trichoderma & Gliocladium: Enzymes, biological control and commercial applications*. Volumen 2. P.153-152. Taylor & Francis Ltd., London, UK. 1998.
19. Chota, G. A. (2014). *Tesis: Efecto del Control Químico sobre Phakopsora euvitidis y Plasmopara viticola en Vitis labrusca en San Martín – Perú*. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de San Martín. Tarapoto – Perú.
20. Compant, S.; Reiter, B.; Sessitsch, A.; Nowak, J.; Clément, C. 2005. *Endophytic colonization of Vitis vinifera L. by plant growth-promoting bacterium Burkholderia sp. Strain Ps JN*. *Applied and Environmental Microbiology* 71(4):1685-1693.
21. Covey, R.P. 1967. *Botryosphaeria canker on apple in Washington*. *Plant. Dis. Rep.* 51: 593-594.
22. Cueva, Jorge 2009 "La Papaya Cultivo Delicado" Publicado En Tecnología Salud Y Medicina. *Es.SlideShare.Net/Jorge Ricardo Cueva Granda/Papaya-Cultivo-Delicado*.
23. Díaz J. 1994. *Algunos aspectos biológicos de Trichoderma y su posible uso como biocontrol*. Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Agraria de La Habana.
24. *Diario iraní de Ciencia y Tecnología, la transacción A, Vol. 29, No. A1 Impreso en la República Islámica de Irán, 2005 Universidad de Shiraz*.
25. Durán Osorio, Daniel y Hernández, José. (2007). *Comparación físico – química de la uva Isabella cultivada en Villa del Rosario (N.S.) Y en el Valle del*

Cauca. Instituto de Investigaciones en Ciencia, Ingeniería y Tecnología de Alimentos, ICITAL. Universidad de Pamplona – Colombia.

26. Duman S, Menéndez A, Godeas A. 2003. Evaluación de *Trichoderma* spp. como antagonista de *Rhizoctonia solani* "in vitro" y como biocontrolador del damping off de plantas de tomate en invernadero. *Revista Argentina de Microbiología*. 31(1):13-18.
27. Ellis, M. B. 1976. *More Dematiaceous Hyphomycetes*. C.A.B. Internacional Mycological institute. Kew. Surrey Enlang. 507 pp.
28. FAO. 2000. *El código internacional de la FAO sobre la distribución y utilización de pesticidas*.
29. Fernández, M. V. 1978. *Introducción a la Fitopatología*. Colección Científica del INTA 3ª Edición. Impreso en Argentina Volumen III. Buenos Aires–Argentina 453– 457 p.
30. Fresa, R. A. 1975. *Podredumbre de las Raíces de los Frutales en Fitopatología*. Curso moderno. Tomo II Micosis. C.R.A.T. /AID. Primera Edición. Edit. Hemisf. Sur S.R.L. Imp. Argentina. Pp. 237 – 242.
31. French, E. R. 1980. *Métodos de Investigación Fitopatológica*.
32. Fischer, I. H.; Ferreira, M. D.; Sposito, M. B. y Amorín, L. 2009. *Citrus postharvest diseases an injures related to impact on packing lines*. *Sci. Agric*. 66(2): 210-217.
33. Fonseca, A. 1998. *Estudio preliminar sobre la dinámica poblacional del bio-controlador Trichoderma spp. En el suelo*. Tesis de pregrado. *Bacteriología*. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad javeriana, Bogotá-Colombia. p. 29-32.

34. Garraway, M.O., Hüttermann, A., Wargo P. M. 1991. *Otogeny and Physiology*. En: *A. mellea Rot.disease. Agriculture Handbook n° 691*. Shaw C.G., Kile G.A. (Eds) Forest Service, United States Department of Agriculture. Washington D.C. 21- 27.
35. Grigoletti, A.; Sônego, O. R. 1993. *Principais doenças fúngicas da videira no Brasil*. 1ª Rev. ed. Brasília, DF, Brasil: EMBRAPA; 36 p.
36. Harman, G. and Chet, I. K. 1981. *Factors affecting Trichoderma hamatum applied to seed of bio-control agent*. *Phytopatology* 71: 579-582.
37. Halman, J., Quadt-Hallman, A. y von Tiedemann, A. 2007. *Phytomedizin*. Eugen Ulmer KG Verlag Stuttgart. 516 pp.
38. Hanlen, R. T. 1989. *Illustrated Genera of Ascomycetes with drawings by Carol Glibbens Hahn*. APS Press The American Phytopathological Society St. Paul Huesate pp. 114 – 115.
39. Hata, K.; Atari, R.; Sone, K. 2002. *Isolation of endophytic fungi from leaves of Pasania edulis and their within-leaf distributions*. *Mycoscience* 43:369-373.
40. Hernández, C.; José, D.; Trujillo, N., Janine Y.; Durán, O.; Daniel, S. 2011. *Contenido fenólico e identificación de lavaduras de importancia vínica de la uva Isabella (Vitis labrusca) procedente de villa del rosario (Norte de Santander)*. *Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*. Volumen 18 número 1. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. págs. 17 – 25.

41. Hodges, c. f. and I. w. Coleman. 1985. *pythium-induced root disfunction of secondary roots de agrostis palustris*. *Plant disease* 68:336-340.
42. Jackson, Ronald S. 2008. *Wine science: Principles and applications*. 3ED. Canadá: Academy Press. Cap 2. p. 16 – 43. ISBN: 978-0-12-373646-8.
43. Khanzada, M. A., Lodhi, A. M. y Shazad, S. 2004. *Pathgenicity of Lasiodiplodia theobromae and Fusarium solani on mango*. *Pak. J. Bot.* 36(1):181-189.
44. Kuhn., G.B. 1981. *Morte de plantas de videira (Vitis spp.) debido á ocorrencia de fungos causadores de podricão radicular e doenças vasculares*. Bento Gonçalves, EMBRAPA UEPAE. *Circular Tecnica* 6: 30.
45. Larrea, R. A. 1981. *Viticultura Básica. Prácticas de Sistemas de Cultivo en España e Iberoamérica*. Editorial Aedos Barcelona. Pág. 113 – 133.
46. Lozano García, Jairo; Figueroa, Lilly; Ocampo, Luis Augusto; Forero, Freddy; Vera, Luis Felipe. 2007. *Generación de un modelo de zonificación edafoclimáticas y Socioeconómica a nivel departamental y municipal, para la producción de mora, lulo, maracuyá, chulupa, granadilla, uva y tomate de árbol en el departamento del Huila*. P. 92-94
47. Llontop, J.A. 2011. *Manejo orgánico de las principales enfermedades del banano orgánico en el Perú*.
48. Martin, f. m. 1992. *pythium, en método de investigación sobre hongos fitopatógenos del suelo*, editado por Il sisgleton, dj mihail cm y rush. 1992. epa de prensa. st. paul, mn. pp. 39-49.
49. Martínez de Toda, F. 1991. *Biología de la vid. Fundamentos biológicos de la viticultura*. Ed. Mundi Prensa, 346 pp.

50. *Martínez, V. C. 1999. El mundo de las plantas. <http://www.botanical-online.com/medicinalestaninos.htm>*
51. *Morales, P. y Morales, G. 1995. El cultivo de la uva. Fundación de Desarrollo Agropecuario. Boletín Técnico n° 6. Segunda edición. Pág. 4.*
52. *Mont, R. 2002. Manejo de enfermedades de las plantas, Edit. VPI gráficos, primera edición, Lima – Perú. 330 p..*
53. *Mullins, M.; A. Bouquet y L. E. Williams. 1992. The structure of the grapevine: vegetative and reproductive anatomy. In: Biology of the grapevine. Cambridge University Press Cambridge. 239 p.*
54. *Müller E. and A. Von Arx. 1973. Pyrenomicetes: Meliales, Coronophorales, Sphaeriales. Pp 87 – 132 In: The Fungi. Vol. a4. Eds. G. C. Ainsworth, F. K. and A. S. Sussan. Academic Press, New York & London.*
55. *Mwenje, E., Ride J.P., Pearce R.B. 1998. Distribution of Zimbabwean Armillaria groups and their pathogenity on cassava. Plant Pathol 47: 623 – 634.*
56. *O'Reilly H.J. 1963. A. mellea root rot of deciduous fruits, nuts and grapevines. California Agricultural Experiment Station Extension Service. 15 pp.*
57. *Owen-going, T. N. 2002. Etiology and epidemiology of pytium root rot in bell pepper (capsicum annum l.) in commercial-scale and small-scale hydroponic systems. m. sc. thesis, university de guelph, guelph, ontario.*
58. *Papavizas, G. 1985. Trichoderma y Gliocladium. Biology, Ecology and potential for bio-control. Annual Review of Phytopathology 23: 23-54.*

59. Pegler D.N. 2000. *Taxonomy, nomenclature and description of A. mellea* Rot. *Biology and Control of Honey Fungus*. Fox R.T.V (Ed) UK: intercept. Pp: 81- 93.
60. Phillips, A.J.L.; Alves, A.; Abdollahzadeh, J; Slippers, B; Wingfield, M.J.; Groenewald, J.Z. and P.W. Crous. 2013. The *Botryosphaeriaceae*: genera and species known from culture. *Studies in Mycology* 76: 51–167. available online at www.studiesinmycology.org
61. Pocasangre, L. E. 2000. *Biological enhancement of banana tissue culture plantlets with endophytic fungi for the control of the burrowing nematode Radopholus similis and the Panama disease (Fusarium oxysporum f.sp. cubense)*. Ph.D. Thesis. University Bonn, DE. 95 p.
62. Ribeiro, I.J.A. Paradelo Filho, O., Terra, M.M. y Pires, E.J.P. 1992. Uma nova doença da videira (*Vitis vinífera*) causado por *Botryodiplodia parva*. *Summs Phytopathologica*. 18(1): 30.
63. Rivero D. 2008. *Identificación y control in vitro con quitosana y Trichoderma spp. de hongos que causan el manchado del grano en arroz (Oryza sativa L.)*. *Rev Protección Veg.* 23 (1): 67.
64. Rodríguez, C. y Mattos, L. 1988. *Muerte regresiva en mango (Manguiфера indica L.) y comportamiento de cinco variedades frente al agente causal*. *Fitopatología* 23(2): 41-48.
65. Rodríguez, M. 1996. *Manual de identificación de especies forestales de la Sub Región Andina*. Primera edición INIA – Perú – 154 p.

66. *Rodríguez, G. y E. J. Flores. (2011). Caracterización morfológica de Hongos endófitos asociados a cacao nativo y su capacidad antagónica para el control de Moniliophthora perniciosa. Tesis de ingeniero Agrónomo. Escuela Académico – Profesional de Agronomía Facultad de Ciencias Agrarias de la UNSM – T. 74p.*
67. *Ryugo, K. 1993. Fruticultura. Ciencia y Arte: cosechas de enredaderas y arbustos frutales. Editorial AGT México, 520 p.*
68. *Samuels, G. J. 2004. Trichoderma a guide to identification and biology. United States Dept. of Agriculture - Agricultural Research Service Systematic Botany and Mycology Lab. Beltsville, MD 20705 U.S.A. 40 p.*
69. *Salazar, D. y P. Melgarejo. 2005. Viticultura. Técnicas de cultivo de la vid, calidad de la uva y atributos de los vinos. Mundi – Prensa, Madrid. 325 p.*
70. *Samuels G. J. 1996. Trichoderma: a review of biology and systematic of the genus. Mycol Res. 100(8):923- 935.*
71. *Sharma, J.K., Mohanan, C. y Florence, J.M. 1984. A new canker disease of Eucalyptus caused by Botryodiplodia theobromae in India. Trans. Brit. Mycol. Soc. 83(1): 162.163.*
72. *Shi, Y.; Lou, K.; Li, C. 2009. Promotion of plant growth by phytohormone producing endophytic microbes of sugar beet. Biol Fertil Soils. 45:645-653.*
73. *Sikora, R. 1992. Management of the antagonistic potential in agricultural ecosystems for biological control of plant parasitic nematodes. Annual Review of Phytopathology 30:245-270.*

74. Sivanesan A. y Holliday P. 1972. *Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria*, no. 352.
75. Stefanova M. y Coronado M. 1999. *Actividad metabólica de cepas de Trichoderma spp. para el control de hongos fitopatógenos del suelo. Rev Fac Agron (Luz)*; 16:509-516
76. Tavares C.C.H. Y Meneses, M. 1991. *Proceso de infecção por Botryodiplodia em plantas de manguifeira e videira no trópico semi-árido brasileiro. Fitopatologia Brasileira* 16(2):505.
77. Tessier, C., David, J., This, P., Boursiquot, J. M. y Charrier, A. 1999. *Optimization of the choice of molecular markers for varietal identification in Vitis vinifera L. Theor. Appl. Genet.* 98, 171 – 177.
78. Tello. K.J. 2015. "Efecto de extractos vegetales en *Plasmopara viticola* y *Phakopsora euveitidis* en la *Vitis labrusca*, San Martín – Perú"
79. Trigozo, E. y E. J. Flores. 2012. *Influencia de Trichoderma spp endófito sobre el crecimiento e inducción de resistencia al estrés hídrico en cacao (Theobroma cacao L.)*. 124p.
80. Tronsmo A. 1998. *Trichoderma and Gliocladium in biological control: an overview. In: Trichoderma & Gliocladium: Enzymes, biological control and commercial applications. Volumen 2. P.131-151. Taylor & Francis.*
81. Vero S, Mondino P. 1999. *Control biológico postcosecha en Uruguay. Horticultura Internacional.* 7:1-10.

82. *Wellman, F. L. 1953. Enfermedades de las plantas. Traducido por Mesa, J. de Plant Disease The Yearbook of Agriculture. Centro Regional de Ayuda Técnica A.I.D. Editorial Herrerp S.A. pp. 1044 – 1047.*
83. *Yaringaño, C., 1985. Control Químico del ojo de Sapo del Tabaco Negro en Almaciguera y Campo definitivo. Boletín técnico. E.E.A. "El Porvenir". San Martin – Perú. Pág. 23.*
84. *Zanuz, M. C. 1991. Efeito da maturação sobre a composição do mosto e qualidade do suco de uva. Tesis magistral. Porto Alegre, Faculdade do Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.*

RESUMEN

Con el objeto de diagnosticar los agentes causantes de la podredumbre de raíces *Vitis labrusca* L. y el manejo de la enfermedad realizamos el trabajo de investigación, a nivel de laboratorio de Sanidad Vegetal – Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la universidad Nacional de San Martín y campo en San Roque de Cumbaza en la región San Martín. Se empleó el método descriptivo y cuantitativo; fue conducido bajo el diseño completamente al azar; evaluándose Síntomas, características morfológica y biométrica de los aislamientos, prueba de patogenicidad, control químico y biológico y prácticas culturales. Como resultados diagnosticamos que *Lasiodiplodia parva* es el causante de la pudrición seca carbonosa de raíces y tallo, mientras que *Pythium oligandrum* causa la pudrición húmeda de raíces. Los fungicidas que inhibieron al 100% el crecimiento de *L. parva* son: Benomyl 50%, Metalaxil 8% + Mancozeb 64% y Thiophanate methyl 50% + Thiram 30% y a *Pythium oligandrum*. Metalaxil 8% + Mancozeb 64% y Thiophanate methyl 50% + Thiram 30%. Mientras que las cepas de *trichoderma ssp.* controlaron *L. parva* y *P. oligandrum* por micoparasitismo. La incidencia de las enfermedades fue 23.91%, con pérdidas 1673.63 kg/ha/campaña.

Palabras claves: *Trichoderma*, enfermedad de la uva, pudrición de la raíz.

SUMMARY

In order to diagnose the causative agents of root rot *Vitis labrusca* L. and disease management carried out the research work in the laboratory of Plant Protection - Plant Pathology, Faculty of Agricultural Sciences of the National University of San Martin of San Roque Cumbaza in the region of San Martin. Descriptive and quantitative method was used; It was conducted under completely randomized design; evaluating symptoms , morphological and biometric characteristics of the isolates, pathogenicity test , chemical and biological control , incidence , losses and cultural practices. As results have been diagnosed *Lasiodiplodia parva* is the cause of dry charcoal rot roots and stem, while wet causes *oligandrum Pythium* root rot. Fungicides 100% inhibited the growth of *L. parva* are : Benomyl 50 % Metalaxyl 8% + Mancozeb 64% and 50 % Thiophanate methyl + Thiram 30 % and *Pythium oligandrum* . Metalaxyl 8% + Mancozeb 64% and 50 % Thiophanate methyl + Thiram 30 %. While strains of *Trichoderma* ssp. they controlled and *L. parva P. oligandrum* by mycoparasitism . The disease incidence was 23.91 %, with losses 1673.63.

Key words: *Trichoderma*, disease of grape, root rot

ANEXOS

ANEXO 1: Clave para especiar Lasiodiplodia (Phillips et al, 2013)

1. Conidia sub-globose.....	2
1. Conidia elipsoidal a ovoide.....	3
2. Conidia 13.5–21.5 × 10–14 µm (longitud 17.5 µm).....	<i>L. mahajangana</i>
2. Conidia 12–19 × 10–12.5 µm (longitud 15.3 µm)	4
3. Largo/ancho relación igual que 2.....	5
4. Los conidios 26-33 × 12-15 micras (De longitud 28,4 µm).....	<i>L. venezuelensis</i>
4. Los conidios 17-23 × 8-11 micras (De longitud 19,5 µm).....	<i>L. viticola</i>
5. Mayor Paráfisis más de 100 µm de largo	6
5. Paráfisis más largos de menos de 100 µm de largo	9
6. Longitud conidial menos de 25 micras	7
6. Longitud conidial superior a 25 micras	8
7. Ancho promedio conidial igual 13 micras	<i>L. iraniensis</i>
7. Ancho de conidias menos de 11,5 micras.....	<i>L. parva</i>
8. Los conidios 22-35 micras de largo (29,6 micras), L/a relación igual que 1,9	<i>L. plurivora</i>
8. Los conidios 20-31 micras de largo (24,5 micras), L/a relación igual que 1,6	<i>L. citricola</i>
9. Ancho medio de conidias de menos de 16 micras.....	10
9. Ancho media de conidias 16 micras o más.....	15
10. Conidias pequeños, en su mayoría de menos de 25 micras de largo.....	11
10. Conidias grandes, sobre todo más de 25 µm, de hasta 30 micras o más.....	14

11. Anchura media de conidios de menos de 10 micras..... 12
11. Anchura media de conidias mayor que 10 micras..... 13
12. Duración del Paráfisis hasta 15, conidios hasta 17,5..... *L. lignicola*
12. Duración del Paráfisis hasta 55, conidios hasta 21 micras..... *L. missouriana*
13. Paráfisis hasta 55 μm de longitud, conidios L/a relación igual que 2
..... *L. egypticae*
13. Paráfisis hasta 85 μm de largo, L/a relación igual que 1,7
..... *L. hormozganensis*
14. Conidiomas marrón oscuro a negro. *L. theobromae*
14. Conidiomas rojizo-púrpura *L. rubropurpurea*
15. Los conidios no superior a 35 micras de largo 16
15. Los conidios hasta 39 μm de largo..... 17
16. Paráfisis mayoría septadas..... *L. crassispora*
16. Paráfisis mayoría aceptados..... *L. pseudotheobromae*
17. Paráfisis hasta 95 μm de largo..... *L. gilanensis*
17. Paráfisis no superior a 65 μm , sin llegar nunca a 95 micras..... *L. gonubiensis*

ANEXO 2: Clave para *pythium* spp. (Diario iraní de Ciencia y Tecnología. 2005.

Universidad de Shiraz.)

1 Oogonios producidos en medio de cultivo.....	2
Oogonios no producidos en medio de cultivo.....	13
2 (1) Oospora con paredes ornamentadas o proyección contundente.....	3
Oospora de pared lisa.....	4
3 (2) Esporangio sub globosos y filamentosos que consiste en complejos irregulares.....	<i>Pythium oligandrum.</i>