

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE AGRONOMÍA



**“MONITOREO DE CONIDIAS DE *Lasiodiplodia* sp. EN PALTO
‘HASS’ (*Persea americana* Mill.) EN DISTINTAS ZONAS DE LA
COSTA DEL PERÚ”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERA AGRÓNOMA**

ENY DEL MILAGRO SANDOVAL REQUEJO

LIMA-PERÚ

2022

La UNALM es titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación
(Art. 24 – Reglamento de Propiedad Intelectual)

Document Information

Analyzed document	TESIS ENY SANDOVAL REQUEJO.docx (D143532883)
Submitted	9/2/2022 3:15:00 PM
Submitted by	Patricia Quiroz
Submitter email	investigacionfa@lamolina.edu.pe
Similarity	2%
Analysis address	investigacionfa.strate@analysis.arkund.com

Sources included in the report

- SA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO / Carlos Goyes.docx**
Document Carlos Goyes.docx (D132707799)
Submitted by: yruiz@utb.edu.ec
Receiver: yruiz.utb@analysis.arkund.com
- SA UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO / Artículo CARLOS CAnsiong.pdf**
Document Artículo CARLOS CAnsiong.pdf (D122439172)
Submitted by: gvasconez@uteq.edu.ec
Receiver: gvasconez.uteq@analysis.arkund.com
- SA TSP Luigi Paino Final.docx**
Document TSP Luigi Paino Final.docx (D143102485)
- SA Grupo Difusión Científica / WENDY JIMENEZ Urkund.docx**
Document WENDY JIMENEZ Urkund.docx (D100376118)
Submitted by: dmancero@uagraria.edu.ec
Receiver: kreal.GDC@analysis.arkund.com
- SA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ / 10. Estudio de la asociación de Fusarium sp., Lasiodiplodia sp y Meloidogyne incognita en el cultivo de maracuyá.pdf**
Document 10. Estudio de la asociación de Fusarium sp., Lasiodiplodia sp y Meloidogyne incognita en el cultivo de maracuyá.pdf (D111404153)
Submitted by: titulacion.posgrado@utm.edu.ec
Receiver: titulacion.posgrado.utm@analysis.arkund.com
- SA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ / tesis escritura finalizada_Rev_JBVO_18-04-2022.docx**
Document tesis escritura finalizada_Rev_JBVO_18-04-2022.docx (D136233715)
Submitted by: roberto.bravo@utm.edu.ec
Receiver: roberto.bravo.utm@analysis.arkund.com
- SA EF_TT1_TESIS_TAZACAHUANAGIANNINA_GASPARRIOSMARIA.docx**
Document EF_TT1_TESIS_TAZACAHUANAGIANNINA_GASPARRIOSMARIA.docx (D120891416)
- SA Universidad Nacional de Cajamarca / TESIS Lidonil Chavez- Etiología y Patogénesis del hollín del quinal (Polylepis r acemosa Ruiz & Pavón).docx**
Document TESIS Lidonil Chavez- Etiología y Patogénesis del hollín del quinal (Polylepis r acemosa Ruiz & Pavón).docx (D87781117)
Submitted by: mroncal@unc.edu.pe
Receiver: mroncal.undc@analysis.arkund.com

Entire Document

35% MATCHING BLOCK 4/16

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA FACULTAD DE AGRONOMÍA "MONITOREO DE CONIDIAS DE Lasiodiplodia sp. EN PALTO 'HASS' (Persea americana Mill.) EN DISTINTAS ZONAS D

ENY DEL MILAGRO SANDOVAL REQUEJO
LIMA-PERÚ
2022

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA FACULTAD DE AGRONOMÍA
"MONITOREO DE CONIDIAS DE Lasiodiplodia sp. EN PALTO 'HASS' (Persea americana Mill.) EN DISTINTAS ZONAS DE LA COSTA DEL PERÚ"

ENY DEL MILAGRO SANDOVAL REQUEJO

Tesis para optar el Título de:

INGENIERA AGRÓNOMA

Sustentada y Aprobada ante el siguiente jurado:

----- Dr. Jorge Alberto Escobedo Álvarez Ph. D. Walter Eduardo Apaza Tapia PRESIDENTE ASESOR
----- Ph. D. Liliana María Aragón Caballero Ing. Mg. Sc. Heidi Huarhua Zaquinauta MIEMBRO MIE

LIMA-PERÚ 2022
ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN 1 II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA 3 2.1. Situación del cultivo de palto en el Perú y el mundo 3 2.2. Características del cultivo de palto 4 2.3. Hongo Lasiodiplodia sp. 5 2.3.1. Morfo
Identificación morfológica 23 3.2.7. Identificación molecular 24 3.2.8. Análisis de resultados 25 IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES 27 4.1. Fase de campo - Monitoreo de conidias 27 4.1.1. Fundo B
4.1.2. Fundo Agrícola Chapi - Ica 31 4.1.3. Fundo Agrícola Lorca- Cañete 34 4.1.4. Fundo Agrokasa - Barranca 37 4.1.5. Monitoreo comparativo entre el fundo Agrícola Chapi, Agrícola Lorca, Agro
INDICE DE TABLAS

Tabla 1 : Recopilación de registro de conteos de conidias Lasiodiplodia sp., aplicaciones de fungicidas y labor de poda en el Fundo Beggie – Trujillo (2019-2020) 29 Tabla 2 : Recopilación de regi

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

“MONITOREO DE CONIDIAS DE *Lasiodiplodia* sp. EN PALTO ‘HASS’
(*Persea americana* Mill.) EN DISTINTAS ZONAS DE LA COSTA DEL
PERÚ”

ENY DEL MILAGRO SANDOVAL REQUEJO

Tesis para optar el Título de:

INGENIERA AGRÓNOMA

Sustentada y Aprobada ante el siguiente jurado:

Dr. Jorge Alberto Escobedo Álvarez
PRESIDENTE

Ph. D. Walter Eduardo Apaza Tapia
ASESOR

Ph. D. Liliana María Aragón Caballero
MIEMBRO

Ing. Mg. Sc. Heidi Huarhua Zaquinaula
MIEMBRO

LIMA-PERÚ

2022

DEDICATORIA

En la culminación de esta meta tan anhelada se me hace presente el esfuerzo, ayuda y motivación de quienes siempre estuvieron para mí, es por ello que dedico este triunfo a:

Dios que nunca soltó mi mano y me guio por el camino correcto

A mis padres Gary Sandoval y Enny Requejo por siempre creer en mi capacidad, que con sus palabras de aliento me ayudaron a seguir permaneciendo perseverante a pesar de las adversidades y así poder llegar a cumplir con mi ideal trazado, por forjarme en la persona que soy en la actualidad, porque muchos de mis logros se los debo a ellos en los que incluye este.

A mi hermanita Soraya Sandoval porque es la razón de sentirme tan orgullosa de culminar mi meta.

Por último, a mi Mishito mi compañero de amanecidas en la redacción de mi tesis.

Ustedes son mi motor de seguir adelante

AGRADECIMIENTOS

Expreso mis agradecimientos a las personas que fueron mi apoyo durante el periodo de realización de este proyecto y quiero empezar nombrando:

- A mi profesor asesor el Ph. D. Walter Eduardo Apaza Tapia quien durante esta etapa me apoyo en mi formación profesional, así como también me contribuyó con sabios consejos para la realización de este trabajo de investigación.
- Al Ing. Víctor Escobedo Solorzano, director técnico de la empresa PROHASS, por su apoyo en esta investigación y la disponibilidad de materiales brindados por la empresa.
- A los miembros del jurado al Dr. Jorge Escobedo Álvarez, Ph. D. Liliana Aragón Caballero y la Ing. Mg. Sc. Heidi Huarhua Zaquinaula por sus contribuciones en la mejora de este trabajo de investigación.
- Al personal de la Clínica de Diagnóstico por su constante apoyo en la realización de mi trabajo de investigación, convirtiéndose como en una segunda familia para mí.
- A Michael Sandoval Sarmiento que estuvo conmigo en muchos momentos difíciles, brindándome muy buenos consejos de los cuales estoy muy agradecida.
- A Sharon Tadey Tupac por su tiempo brindado y el apoyo constante en la realización de este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1	SITUACIÓN DEL CULTIVO DE PALTO EN EL PERÚ Y EL MUNDO	3
2.2	CARACTERÍSTICAS DEL CULTIVO DE PALTO	4
2.3	HONGO <i>Lasiodiplodia</i> sp.	5
2.3.1	Morfología del hongo <i>Lasiodiplodia</i> sp.	6
2.3.2	Síntomas	7
2.3.3	Ciclo de la enfermedad	8
2.3.4	Control.....	10
2.4	TRAMPEO DE CONIDIAS	11
2.5	MÉTODOS MORFOLÓGICOS PARA LA IDENTIFICACIÓN	12
2.5.1	Aislamiento.....	12
2.6	ANÁLISIS MOLECULAR PARA IDENTIFICACIÓN	13
III.	METODOLOGÍA	14
3.1	FASE DE CAMPO	14
3.2.	FASE DE LABORATORIO.....	20
3.2.1	Localización del trabajo.....	20
3.2.2	Material Experimental	20
3.2.3	Conteo de conidias	21
3.2.4	Aislamiento.....	21
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	26
4.1	FASE DE CAMPO -MONITOREO DE CONIDIAS	26
4.2	FASE LABORATORIO	41

V.	CONCLUSIONES	51
VI.	RECOMENDACIONES	51
VIII.	ANEXOS	60

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 : Recopilación de registro de conteos de conidias <i>Lasiodiplodia</i> sp., aplicaciones de fungicidas y labor de poda en el Fundo Beggie – Trujillo (2019-2020).....	8
Tabla 2 : Recopilación de registro de conteos de conidias <i>Lasiodiplodia</i> sp., aplicaciones de fungicidas y labor de poda en el Fundo Agrícola Chapi – Ica (2019-2020)	31
Tabla 3 : Recopilación de registro de conteos de conidias <i>Lasiodiplodia</i> sp., aplicaciones de fungicidas y labor de poda en el Fundo Agrícola Lorca – Cañete (2019-2020)	34
Tabla 4 : Recopilación de registro de conteos de conidias <i>Lasiodiplodia</i> sp., aplicaciones de fungicidas y labor de poda en el Fundo Agrokasa – Barranca (2019-2020)	37
Tabla 5 : Comparativo de promedio de conidias <i>Lasiodiplodia</i> sp. durante (2019-2020)	39

INDICE DE FIGURAS

Figura 1:	Volumen de las exportaciones de los principales exportadores de palto.....	4
Figura 2:	Ciclo infectivo de <i>Lasiodiplodia</i> sp.....	10
Figura 3:	Ubicación de los fundos de monitoreo de conidias en el mapa del Perú...	15
Figura 4:	A. Ubicación de cancro en el árbol, B. Marcado de árbol y cancro para posterior ubicación, C. Colocación de laminilla sostenida por el clip binder, D. Trampa de conidias lista para la captura, E. Recojo de laminilla en tubo eppendorf (15 días después de la instalación), F. Muestra lista para traslado a laboratorio.....	18
Figura 5:	Cartilla de registro de datos para la evaluación de trampa de conidias.....	19
Figura 6:	A. Plaqueo de medio PDA (Papa Dextrosa Agar), B. Materiales para la extracción y siembra, C. Extracción de conidias <i>Lasiodiplodia</i> sp. de lámina mediante uso de estereoscopio.....	22
Figura 7:	Placas con siembra de <i>Lasiodiplodia</i> sp. expuesta a luz blanca de 4130 lux.....	23
Figura 8:	Diagrama de flujo de análisis de resultados.....	25
Figura 9:	Promedios mensuales de conidias <i>Lasiodiplodia</i> sp. por árbol de palto var. ‘Hass’, datos de humedad relativa (%) y temperatura promedio mensual (°C) en el Fundo Beggie –Trujillo (2019-2020).....	29
Figura 10:	Promedios mensuales de conidias <i>Lasiodiplodia</i> sp. por árbol de palto var. ‘Hass’, datos de humedad relativa (%) y temperatura promedio mensual (°C) en el Fundo Agrícola Chapi-Ica (2019-2020).....	32
Figura 11:	Promedios mensuales de conidias <i>Lasiodiplodia</i> sp. por árbol de palto var. ‘Hass’, datos de humedad relativa (%) y temperatura promedio mensual (°C) en el Fundo Agrícola Lorca-Cañete (2019-2020).....	35
Figura 12:	Promedios mensuales de conidias <i>Lasiodiplodia</i> sp. por árbol de palto var. ‘Hass’, datos de humedad relativa (%) y temperatura promedio mensual (°C) en el Fundo Agrokasa-Barranca (2019-2020).....	38

Figura 13: Comparativo de promedio de conidias <i>Lasiodiplodia</i> sp. en los cuatro fondos desde junio del 2019 y finales del 2020.....	40
Figura 14: (A-D) Placas con crecimiento de micelio denso blanquecino de <i>Lasiodiplodia</i> sp. (3 días después de la siembra) sin formación de picnidias, (E-H) Placas con la presencia del micelio de color gris olivo (6 días después de la siembra), (I-L) Placas con formaciones estromáticas (15 días después de la siembra), (M-O) Placas con presencia de cirrus (25 días después de la siembra)	42
Figura 15: A. Indicios de formación estromáticas de la siembra de <i>Lasiodiplodia</i> sp. en el reverso de la placa, B. Formaciones estromáticas de <i>Lasiodiplodia</i> sp. (15 días después de la siembra), C. Mucílago o cirrus liberado por las picnidias (25 días de la siembra)	43
Figura 16: A. Conidias maduras pigmentadas con septación y estriaciones longitudinales de <i>Lasiodiplodia</i> sp. conidias inmaduras hialinas en formación de septo. B. Conidias inmaduras hialinas en formación de septo.....	43
Figura 17: Medida del largo y ancho de conidias <i>Lasiodiplodia</i> capturadas en trampas de conidias de fundo Agrokasa localidad de Barranca.....	44
Figura 18: Dimensión de conidias maduras presentes en la siembra de <i>Lasiodiplodia</i> de cada uno de los fondos en estudio.....	44
Figura 19: Comparación de conidias maduras e inmaduras por largo y ancho - Beggie (Trujillo).....	45
Figura 20: Comparación de conidias maduras e inmaduras por largo y ancho – Agrícola Lorca (Cañete).....	45
Figura 21: Comparación de conidias maduras e inmaduras por largo y ancho - Agrokasa (Barranca).....	46
Figura 22: Comparación de conidias maduras e inmaduras por largo y ancho – Agrícola Chapi (Ica).....	46
Figura 23: Árbol filogenético construido con secuencias correspondientes a partir del gen TEF1 de especies del género <i>Lasiodiplodia</i> ; las figuras de colores indican aislamientos obtenidos en el estudio.....	48

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1:	Representación gráfica de conteo de conidias.....	60
Anexo 2:	Protocolo de preparación de medio PDA	60
Anexo 3:	Cebadores utilizados para amplificar gDNA del gen EF- α de <i>Lasiodiplodia</i> spp.....	61
Anexo 4:	Secuencias de la región TEF1, de muestras en estudio para el género <i>Lasiodiplodia</i> obtenidas del secuenciamiento.....	61
Anexo 5:	Promedio de largo y ancho de conidias maduras presentes en la siembra de <i>Lasiodiplodia</i> de cada uno de los fundos en estudio.....	63
Anexo 6:	Promedio de largo y ancho de conidias inmaduras presentes en la siembra de <i>Lasiodiplodia</i> de cada uno de los fundos en estudio.....	64
Anexo 7:	Promedio semanal de temperatura (°C) y humedad relativa (%) desde junio del año 2019 hasta diciembre del 2020 en el fundo Beggie-Trujillo.....	66
Anexo 8:	Promedio semanal de temperatura (°C) y humedad relativa (%) desde junio del año 2019 hasta diciembre del 2020 en el fundo Agrícola Lorca-Cañete..	69
Anexo 9:	Promedio semanal de temperatura (°C) y humedad relativa (%) desde junio del año 2019 hasta diciembre del 2020 en el fundo Agrícola Chapi-Ica.....	72
Anexo 10:	Promedio semanal de temperatura (°C) y humedad relativa (%) desde junio del año 2019 hasta diciembre del 2020 en el fundo Agrokasa-Barranca...	75

RESUMEN

La principal variedad de palto cultivada en Perú destinada al mercado internacional es 'Hass', la cual ha crecido en área y producción. Uno de los principales factores que afectan al cultivo es la presencia de patógenos como *Lasiodiplodia* sp, presente en la región costera del país donde se produce casi en la totalidad. Muchos fundos no conocen con exactitud el momento en que se presenta una mayor presión de inóculo en la planta y los factores influyentes, originando que sus labores de prevención no se den en el momento oportuno y genere poco efecto sobre la enfermedad, con esta investigación se pretende monitorear la presencia de conidias de *Lasiodiplodia* sp. en el cultivo palto 'Hass' en distintas zonas productoras de la costa del Perú. El ensayo se llevó a cabo en cuatro huertos comerciales ubicados en Trujillo, Ica, Barranca y Cañete donde se colocaron trampas elaboradas con portaobjetos y vaselina en canchales del tercio inferior de la copa de los árboles en lotes con alta incidencia de infección. Las trampas de conidias se instalaron durante el 2019 realizándose la evaluación y recambio quincenalmente hasta finales del 2020, los datos de conteo de conidias fueron contrastados con la temperatura y humedad relativa, así como las labores de poda y aplicaciones fitosanitarias siendo recopiladas mediante encuestas realizadas a los fundos. Finalizando las evaluaciones, los resultados arrojaron distintos picos de liberaciones de conidias, presentando en todas las zonas una tendencia al aumento a partir del mes de diciembre que se extiende hasta marzo durante el crecimiento de la fruta y próximo a la cosecha, para luego reducirse significativamente después de la poda durante el crecimiento vegetativo y floración. La temperatura influyó en las liberaciones, pero no fue un factor determinante. Por otra parte, las aplicaciones de fungicidas cúpricos mitigaron las liberaciones.

Palabras clave: *Lasiodiplodia*, conidia, cancro, trampa, monitoreo.

ABSTRACT

The main variety of avocado grown in Peru destined for the international market is 'Hass', which has grown in area and production. One of the main factors that affect the crop is the presence of pathogens such as *Lasiodiplodia* sp, present in the coastal region of the country where almost all of it is produced. Many estates do not know exactly the moment in which there is a greater pressure of inoculum in the plant and the influencing factors, causing their prevention work not to occur at the right time and generating little effect on the disease, with this investigation intends to monitor the presence of conidia of *Lasiodiplodia* sp. in the 'Hass' avocado crop in different producing areas of the Peruvian coast. The trial was carried out in four commercial orchards located in Trujillo, Ica, Barranca and Cañete where traps made with slides and vaseline were placed in cankers of the lower third of the tree canopy in lots with a high incidence of infection. The conidia traps were installed during 2019, evaluating and replacing them every two weeks until the end of 2020, the conidia count data were compared with temperature and relative humidity, as well as pruning and phytosanitary applications, being collected through surveys carried out on the estates. At the end of the evaluations, the results showed different peaks of releases of conidia, presenting in all areas a tendency to increase from the month of December that extends until March during the growth of the fruit and close to the harvest, to later be significantly reduced after pruning during vegetative growth and flowering. Temperature influenced releases, but was not a determining factor. On the other hand, applications of cupric fungicides mitigated releases.

Key words: *Lasiodiplodia*, conidia, canker, trap, scoutin

I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de palto viene tomando gran trascendencia en la actualidad formando parte de un importante porcentaje en volumen de las exportaciones en principales países como México, Perú, Chile, Kenia y Sudáfrica siendo México el principal exportador teniendo como destino primordial a Estados Unidos (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2020).

En el mundo existen aproximadamente 500 variedades de palta sin embargo destacan dos grandes variedades de paltas: Hass y Fuerte. A pesar de que tradicionalmente la variedad ‘Fuerte’ es una de las más consumida en Latinoamérica, la variedad ‘Hass’ domina el 80% del mercado mundial, debido a la dureza y rugosidad de su cáscara permite su mayor manipulación y transporte a largas distancias además de poseer una textura suave y de sabor delicado (Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego del Perú [MIDAGRI], 2019).

El palto se ha ido convirtiendo en uno de los principales productos de agroexportación en el Perú llegando a superar a muchos productos tradicionales como espárragos, banano, café, mandarina, entre otros como menciona MIDAGRI (2019) llegando a convertirse en el segundo proveedor de palto a nivel mundial alcanzando en el año 2019 una exportación de 312000 toneladas, destinándose un 60% a los mercados de la Unión Europea como señala FAO (2020), siendo el cultivar Hass el principal en el país presentado un área sembrada de 31000 hectáreas en el año 2018 y teniendo un aumento de 2000 más en el 2019 (Ortiz 2019), por tanto se puede inferir que en el Perú el sector de la palta se cuenta con un enorme potencial de ser aprovechado, por tal motivo los productores de palto para llevar a cabo su producción y desarrollo del cultivo tienen muy en cuenta las condiciones climáticas presentes en la zona de plantación ya que el clima suele ser un factor determinante para su establecimiento como señala Lao (2013), afectando favorable o desfavorablemente la fase vegetativa, floración y fructificación del cultivo. Por eso mismo un buen conocimiento de la fenología del cultivo y clima de la zona permitirá adecuados y oportunos manejos

agronómicos como podas, fertilización, control de maleza, aplicaciones sanitarias, riego, entre otras.

Sin embargo, a pesar de que muchos productores cumplen a cabalidad lo necesario para la producción de palto, en los últimos años se ha observado una fuerte incidencia de lesiones o canchros en las ramas de los paltos causada por el hongo *Lasiodiplodia* sp. que ha ocasionado gran alarma entre los productores durante los periodos de pre y postcosecha.

Frecuentemente muchos fundos que cultivan palto no conocen con exactitud el momento en que se presenta una mayor carga de inóculo en la planta y en el ambiente, lo que provoca que sus labores de prevención no se den en el momento oportuno y se genere poco efecto sobre la enfermedad, provocando gastos adicionales para su control.

El objetivo de este trabajo de investigación es monitorear la presencia de conidias de *Lasiodiplodia* sp. en el cultivo palto 'Hass' en distintas zonas de la costa del Perú.

Como objetivos específicos se tiene lo siguiente:

- Identificar la fenología en el cultivo palto 'Hass' en cuatro zonas productoras de las Costa del Perú.
- Identificar la presencia de conidias de *Lasiodiplodia* sp. en el cultivo palto 'Hass' en cada fundo según las condiciones climatológicas.
- Identificar las características macro y microscópicas de las conidias capturadas.
- Identificar la presencia de conidias de *Lasiodiplodia* sp. en el cultivo palto 'Hass' en cada fundo según la labor de poda y aplicaciones fitosanitarias.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 SITUACIÓN DEL CULTIVO DE PALTO EN EL PERÚ Y EL MUNDO

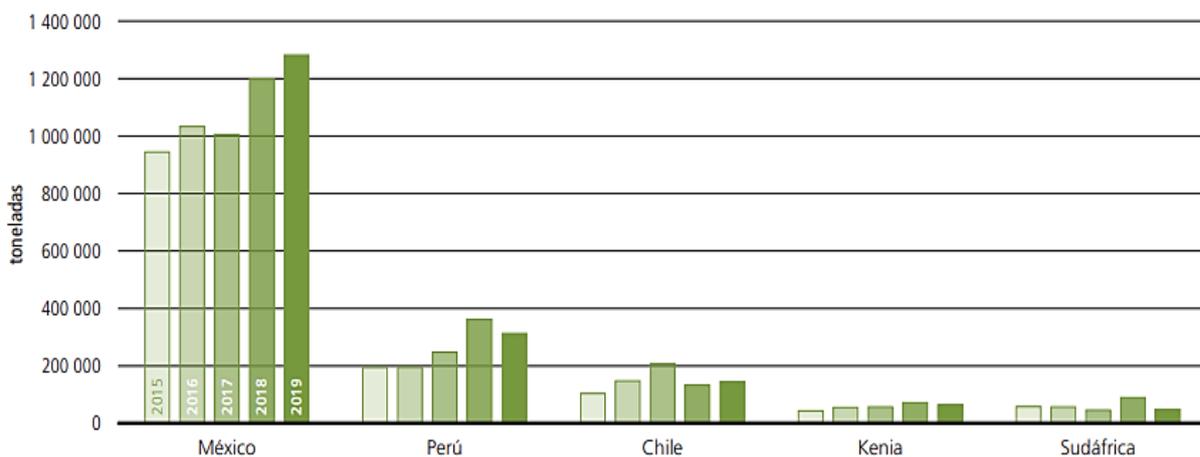
El cultivo de palto ha tenido un crecimiento constante en el mercado internacional, dejando de ser una fruta exótica para llegar a ser consumido por muchas personas alrededor del mundo que tienen tendencias de consumo por productos naturales (Téliz y Mora, 2007). En el mundo existen alrededor de 500 variedades de palta, representado la variedad Hass el 80% del comercio mundial (MINAGRI, 2019). La producción mundial de palto ha ido variando durante el presente siglo con un aumento durante los años 2000 a 2017 de 2.8 millones de toneladas a 5.9 millones respectivamente (Quiroz, 2019), destacando el país de México como el mayor productor y exportador del mundo con una producción de millón 644 mil toneladas (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria [SENASICA], 2017).

Según Accame (2018) (como se cita en FAOSTAT, 2017) menciona que el área sembrada ha ido en aumento, registrándose en el año 2010 un valor de 443 mil ha y ya para el año 2016 se registró un área sembrada de 563 mil ha el cual equivaldría a un 27% más, así mismo los rendimientos a nivel mundial también tuvieron aumentos significativos los cuales fueron de 9.2 t/ha en el 2010 a 9.7 t/ha para el año 2016, este aumento se debió a causa de las mejoras tecnológicas en el manejo del cultivo.

El palto en el Perú es de gran importancia al presentar un buen potencial de exportación y encontrarse bien aclimatado en costa, valles interandinos de la sierra y selva (Bazán de Segura, 1975) habiéndose registrado a finales del 2021 un registro de exportaciones de 537,460 toneladas de palto superando en un 30% a la campaña del 2020 como informa el Servicio Nacional de Sanidad Agraria [SENASA] (2021).

Hass, es el principal cultivar en el Perú presentando en el año 2018 un área sembrada de 31,000 hectáreas y estimándose un aumento de 2000 más para el 2019 (Ortiz, 2019).

El departamento de la Libertad es el primer productor de palta en el Perú con un registro de 65 mil toneladas anuales que representan el 36% de la producción nacional de palto (“La Libertad es el primer productor”, 2015), siguiéndole en producción los departamentos de Lima, Ica, Junín y Ancash (Instituto para la Innovación Tecnológica en Agricultura.



[INTAGRI], 2018).

Fuente: Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura-FAO

Figura 1: Volumen de las exportaciones de los principales exportadores de palto (2015-2019).

2.2 CARACTERÍSTICAS DEL CULTIVO DE PALTO

El palto es un frutal subtropical siempreverde perteneciente a la familia Laurácea que se originó en el continente americano y que se extendió desde el centro sur de México hasta América Central como menciona Allende (s.f.) (como se cita en Chandler, 1962).

Este fruto fue conocido por los nativos de México y América Latina como un alimento con una alta fuente alimenticia por contener grasas en la pulpa, vitaminas A, C, E y cuatro vitaminas esenciales del complejo B, proteínas y minerales como el hierro, magnesio y potasio (Mont, 1998). Actualmente se conoce tres razas principales: mexicana, guatemalteca, las que se originadas en México y Guatemala, y la raza Antillana la cual se originó en la zona sur de México en la localidad de Yucatán y en Centroamérica en las localidades de El Salvador y Nicaragua (MINAGRI, 2015). Los cruces entre las variedades guatemalteca con mexicana y guatemalteca con antillana dan como resultado la formación

de variedades de origen híbrido como Hass, Fuerte, Nabal y Ettinger, siendo esta última una nueva variedad introducida en el país recientemente (Instituto Nacional de Innovación Agraria [INIA], 2012).

La fenología del palto en el Perú se caracteriza por presentar dos marcados crecimientos vegetativos que se extiende de junio a mayo siendo uno de menor intensidad en épocas invernales y el otro de mayor intensidad en verano, encontrándose intercalados por dos crecimientos radiculares que van desde mediados de septiembre en épocas primaverales hasta fines de abril en épocas otoñales. Por otro lado, el desarrollo floral es prolongado presentándose a mediados de mayo hasta finales de agosto, para después desarrollarse la floración principal desde finales de agosto a finales de octubre, ocurre la polinización y la cuaja de frutos se desarrolla durante octubre y noviembre para luego dar inicio al crecimiento frutal que ocurre de noviembre a abril ralentizándose de ahí en adelante su crecimiento (Fernández, 2017; Mena, 2004).

Gallegos (1983) menciona que un factor clave para su desarrollo es el clima. Las variedades pertenecientes a la raza mexicana soportan bien las temperaturas cercanas a 0°C, en cambio otras variedades presentan gran sensibilidad al frío, además agrega que si durante la etapa de floración o después cuando el fruto recién esta cuajado y se presenta días calurosos repentinamente puede que se presente caída de frutos y flores.

El viento también tiene gran influencia en el desarrollo del cultivo ya que los vientos cálidos y secos pueden causar rápido desecamiento de los estigmas florales afectando la cuaja frutal (Ibar, 1986).

2.3 HONGO *Lasiodiplodia* sp.

Lasiodiplodia sp. es un hongo que pertenece a la familia de las Botryosphaeriaceae que puede causar muerte regresiva en palto, mango, vid, arándano y otros cultivos. Este se encuentra en la naturaleza como endófito comportándose como patógeno latente y oportunista que desarrolla su patogenicidad cuando sus hospedadores se encuentran bajo alguna forma de estrés (Denman *et al.*, 2000). Picos-Muñoz (2014) (como se cita en Schoch

et al., 2006; Slippers *et al.*, 2013) propone la siguiente taxonomía para el hongo *Lasiodiplodia*:

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota

Clase: Dothyeomycetes

Orden: Botryosphaeriales

Familia: Botryosphaeriaceae

Género: *Lasiodiplodia*

Lasiodiplodia es considerado como parásito débil y oportunista por razones ecofisiológicas de la interacción con sus hospederos, pues su micelio avanza sistemáticamente en la infección en condiciones particulares, como el estrés en la planta (Delgado, 2019a).

Este hongo tiene como agente causal *Lasiodiplodia theobromae* cuya fase teleomorfa es *Botryosphaeria theobromae*, el agente causal de esta enfermedad desarrolla internamente en los tallos del palto (endófito) pudiendo infectar los frutos desde la inflorescencia y colonizar los pedúnculos (Hartman, 1995; Ibar, 1986).

Las plantas son invadidas por este hongo por un mal manejo agronómico del cultivo llegando a tener consecuencias muy graves como muerte descendente de las ramas y condiciones de pudrición del pedúnculo del fruto (Gardiazabal, 1991).

2.3.1 Morfología del hongo *Lasiodiplodia* sp.

Según Allende *et al.* (2015) menciona que “la presencia de parafisas, picnidias y estrías longitudinales en las conidias es la característica más resaltante que distingue al género *Lasiodiplodia* de otros hongos”. (p. 55). Al desarrollar el hongo *Lasiodiplodia* en medio de cultivo sus colonias muestran un rápido crecimiento son ligeramente densas, aéreas y de un color inicial blanquecino, al séptimo día aproximadamente estas se vuelven más oscuras tornándose de un color gris olivo para finalmente tomar un color negro al pasar el tiempo como expresa Allende *et al.* (2015) (como se cita en Slippers *et al.*, 2004 y Alves *et al.*,

2008). De Souza (2021) menciona que al mes se estaría dando lugar a la formación de estructuras conocidas como picnidias.

Sobre el tejido de la corteza infectada en presencia de húmeda y de luz solar se forman estructuras de fructificación asexuales del hongo conocidas como picnidias, estas estructuras son de color oscuro con medidas de 493,04 μm x 622,82 μm y con presencia de ostiolos en su ápice por donde serán expulsadas las conidias unidas una a continuación de otra formando a especie de hilo (Rodríguez, 2006; 2010).

Las paráfisis son hifas estériles que se forman entre las ascas del ascocarpo se caracterizan por ser hialinas, cilíndricas, tabicadas con los extremos redondeado con un largo de hasta 55 μm de largo y una anchura de 3-4 μm (Phillips *et al.*, 2013). Los conidióforos son hialinos, simples, a veces septados, cilíndricos y surgen de capas internas de células que revisten la cavidad picnidial. Las células conidiógenas son hialinas, simples, cilíndricas a subovopiriformis (Whiley *et al.*, 2002).

Las conidias se forman sobre células conidiogénicas en conidióforos cortos las cuales son de color claro, hialinas, aseptadas cuando son inmaduras y al madurar son de color marrón oscuras, con una sola septa y con estriaciones longitudinales debido a la presencia de melanina en la superficie interior de la pared (Rodríguez, 2010; Picos *et al.*, 2015).

2.3.2 Síntomas

Los árboles afectados por *Lasiodiplodia* presentan varios síntomas, siendo el más notorio la presencia de canchales de tamaños variables ubicados en los tallos, ramas y troncos estos son producidos debido a que el hongo degrada el tejido xilemático originando su desorganización (Apaza, 2021). Según Rodríguez (2010), los canchales suelen estar acompañados comúnmente de exudados blanquecinos en la corteza, estos se presentan tanto en plantas jóvenes como en las adultas, la zona sub epidérmica ubicada debajo de los canchales llega a presentar tejido necrosado de color marrón oscuro, cuya intensidad aumenta conforme se va profundizando en la corteza, abarcando muchas veces el cilindro vascular además García *et al.* (2017) hace referencia al síntoma de muerte regresiva en la cual se observa necrosis del follaje, ramas y ramillas, provocando finalmente la muerte total del

tejido con avance basipetal, donde las ramas se necrosan desde el ápice y la necrosis avanza en sentido descendente de forma progresiva.

En el caso de los frutos se inicia en el punto de inserción del pedúnculo, afectando la cáscara del fruto tornándose ésta a un color café oscuro con un margen bien definido que avanza de manera gradual y uniforme hacia el centro del mismo, mientras tanto, en el interior la pudrición compromete casi todo el mesocarpio, presentando una consistencia acuosa y una coloración oscura (Bazán de Segura, 1975; Gardiazabal, 1991), a la vez estos síntomas pueden ir acompañados de la decoloración de los haces vasculares que se extiende antes de la decoloración de la pulpa (Bazán de Segura, 1975; Mont, 2019).

Gardiazabal (1991) menciona que el desarrollo y pudrición del pedúnculo luego de la cosecha aparece a los 4 a 7 días cuando la temperatura es aproximadamente 25°C esta sintomatología se detecta por un ligero arrugamiento en la parte de unión con el pedúnculo del fruto y la presencia de micelio fungoso en la cicatriz de abscisión cuando se remueve el botón peduncular así mismo en los resultados de estudio de Valencia *et al.* (2020) menciona que los puntos más estrechamente relacionados con la incidencia y severidad del daño en la madera producto de la enfermedad es el diámetro del tronco, el volumen del dosel forestal, la distancia entre plantas, índice del área foliar y años de la plantación por otro lado en los frutos prevalece el periodo que existe desde el momento de cosecha hasta su maduración para ser consumido además de la materia seca presentada.

2.3.3 Ciclo de la enfermedad

Lasiodiplodia sp. se le considera un patógeno latente pudiendo presentar etapa de crecimiento saprofítica o endofítica. Este hongo al encontrar a su hospedero debilitado bajo condiciones de estrés hídrico, defoliación, bajos niveles de nutrientes, ataques de insectos, exceso de carga, podas excesivas y malformaciones de raíces comienza a actuar como oportunista entrando a una fase de crecimiento patogénico (Gardiazabal, 1991; Ploetz *et al.*, 1994; Rubini *et al.*, 2005; Damm *et al.*, 2007; Picos-Muñoz, 2015).

Apaza (2021) menciona que, ya colonizado el tejido, el hongo puede llegar a esporular formando unas estructuras sexuales conocidas como picnidias que se forman en la madera

durante la estación de invierno, estas al madurar liberan a las conidias a través de una forma de masa gelatinosa conocida como “cirrus” que servirá como fuente de inóculo para poder infectar a otros árboles. Una vez que las conidias ingresan, germinan e invaden el sistema vascular afectando los haces vasculares del xilema originando al poco tiempo ocurrido la infección aparición de lesiones mostradas en necrosis y muerte regresiva en el árbol (Rangel, 2016). Como se indicó este hongo tiene la capacidad de ser un saprofítico es decir sobrevivir en tejidos muertos por tal motivo otra manera de fuente del inóculo pueden ser los residuos de hojas que permanecen acumuladas en la base del tronco, hojas muertas y ramas infectadas de la copa del árbol (Gardiazabal, 1991).

La formación de las picnidias es favorecida por la exposición a más de 16 horas de luz por el contrario si la exposición a luz durante el día es menor a 4 horas y durante un periodo de 23 días se originará la inhibición de la formación de las estructuras del hongo Allende *et al.* (2015) (como se cita en Pereira y Lago, 1986).

Según informes, las conidias las cuales son las estructuras infectivas más comunes se producen en mayor cantidad durante la temporada de lluvias, pudiendo propagarse por medio de gotas de lluvia y el viento (García *et al.*, 2017; Vásquez *et al.*, 2009) o también por herramientas de corte sin desinfectar que arrastran las conidias de una fruta infectada a una sana, por heridas expuestas sin cicatrizar y a nivel de injertos en el vivero (Colonia, 2012).

Las temperaturas superiores a 30°C, la presencia de estrés hídrico y deficiencias nutricionales ayudan a promover la incidencia de la enfermedad (Khanzada *et al.*, 2005) por otro lado Apaza (2021) plantea que la temperatura óptima para el desarrollo e incidencia del hongo *Lasiodyplodia* se encuentra entre las temperaturas de 20 y 30°C.

Cuando el desarrollo del fruto ya está bien avanzando, los síntomas de la infección endofítica se manifestarán en los tejidos del pedúnculo. Las infecciones del pedúnculo pueden ocurrir durante el desarrollo del fruto y periodo de precosecha, a través de heridas o lenticelas donde las conidias infectarán a la planta, estas infecciones de precosecha permanecerán quiescentes hasta que el fruto madure (Gardiazabal, 1991; MINAGRI *et al.*, 1997). Después de la cosecha, la fruta del árbol puede infectarse si se coloca en el suelo o si hay contacto con fruta con presencia del hongo (Ventura *et al.*, 2004)

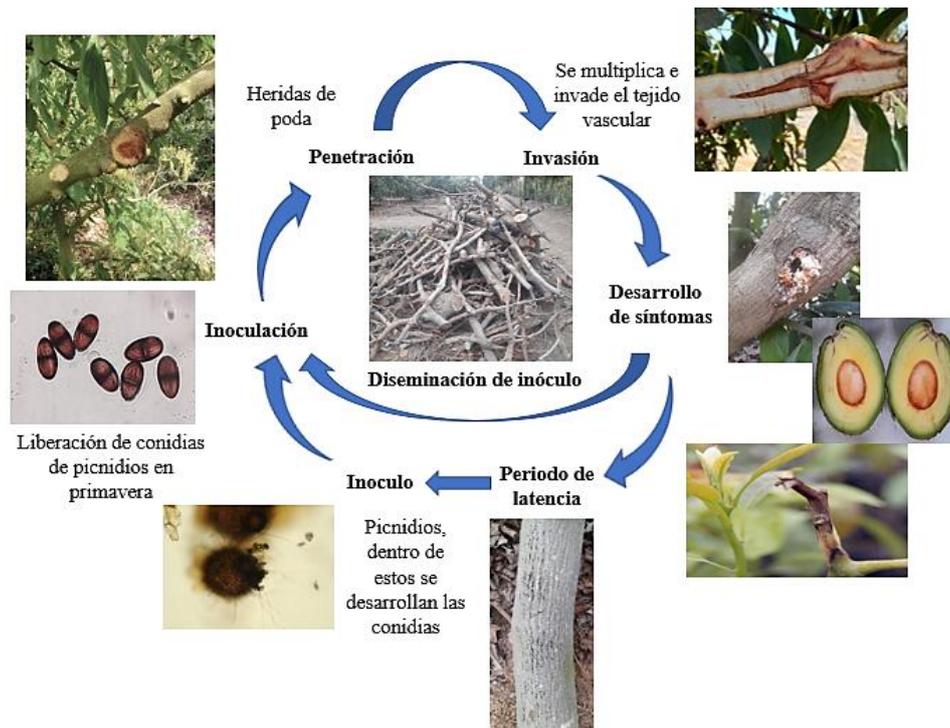


Figura 2: Ciclo infeccioso de *Lasiodiplodia* sp.

2.3.4 Control

Según Hanna (2016) (como se cita en Gamarra, 2009) el debido control del hongo *Lasiodiplodia* sp. implica una serie de medidas como realizar un monitoreo continuo de la enfermedad observando la aparición de partes secas en el árbol, identificando el origen de estas durante el proceso productivo del cultivo tomando especial importancia en labores después de actividades como poda, floración, crecimiento del fruto y después de cosecha así mismo se deberá retirar del campo restos de poda leñosos ya que resultan una fuente de infección y eliminar el tejido muerto realizando seguidamente aplicaciones de fungicidas sistémicos en las zonas de corte o en todo el árbol en el tiempo más corto posible para evitar que las conidias de *Lasiodiplodia* penetren el tejido vegetal se deberá evitar realizar la poda en zonas calurosas de manera tardía cercana a épocas frías tal como menciona Apaza (2021).

Tamayo (2007) recomienda aspersiones antes de la cosecha con fungicidas a base de cobre, benomil, metil tiofanato, carbendazim o tiabendazol realizándola de forma rotativa a fin de evitar que el hongo tome resistencia, cabe recalcar que el uso de fungicidas es principalmente preventivo siendo un complemento al resto de medidas.

Ya que *Lasiodiplodia* afecta principalmente a las plantas con apariencia poco vigoroso y con condiciones de estrés se deberá evitar la falta de agua por lo que se recomienda revisar el adecuado volumen de riego y la presencia de goteros tapados por lo que también para la mejora de la vigorosidad y menor susceptibilidad de la planta se opta como alternativa el control biológico mediante el uso de antagonista como *Trichoderma* o *Bacillus subtilis* a nivel de las raíces como declara Apaza (2021).

2.4 TRAMPEO DE CONIDIAS

En epidemiología, el uso de trampas se ha usado en diferentes patosistemas para poder lograr el conocimiento de la disponibilidad y dispersión del inóculo de los hongos fitopatógenos así como de los factores ambientales que favorecen la liberación de esporas para poder determinar periodos de riesgo de infección y así implementar medidas preventivas para su control (Noriega *et al.*, 2017). Actualmente se viene desarrollando diferentes tipos de trampas en función a la biología del organismo y al objetivo epidemiológico (Kerssies *et al.*, 1998).

El Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria [SENASICA] (2013) dice que “las trampas pueden ser activas las cuales generalmente aplican el concepto volumétrico de succión del aire o pasivas si emplean el movimiento natural del inóculo” (p. 3).

Entre las trampas volumétricas que se han desarrollado se encuentra la trampa Burkard la cual está compuesta de un tambor cilíndrico que gira con un tiempo de rotación de 1 hora hasta 7 días, está cubierta de una cinta transparente que estará impregnada comúnmente de una mezcla de vaselina y hexano en la cual impactarán las esporas (Guillen *et al.*, 2004; Merle, 2014). Otro diseño es el de las trampas de esporas por escurrimiento de lluvia las cuales se emplean recipientes con forma de botella y presentan como principio la captación de gotas de lluvia con presencia de esporas (Roelfs *et al.*, 1970), también existen las trampas que se exponen a la dirección del viento para la captura de esporas por impactación sobre láminas portaobjetos con sustancias adherentes como la vaselina, las cuales serán sostenidas mediante sujetadores de hojas como los clips binder usados en lugares administrativos y dada su estructura facilitaría su recojo, para la instalación de esta clase de trampas se evalúa una elevación idónea para eludir la contaminación de la muestra por residuos terrestres o

material orgánico que logren dificultar la observación de la muestra en el microscopio, los portaobjetos serán reemplazados al momento de la colecta por nuevos portaobjetos los cuales serán utilizados para el mismo fin (SENASICA, 2013). Este último tipo de trampa mencionada será usada en el ensayo por ser una de las más simples de adquirir, por su bajo costo, practicidad y fácil reproducción local con materiales accesibles (Peterson, 1959).

2.5 MÉTODOS MORFOLÓGICOS PARA LA IDENTIFICACIÓN

Las estructuras somáticas de los diversos hongos son muy similares y pocos pueden ser identificados cuando no se presentan las estructuras reproductivas (Herrera, 1994).

Ríos *et al.* (2008) afirma que para la identificación de hongos fitopatógenos es necesario la observación de sus estructuras somáticas y reproductivas, mediante la técnica de cámara húmeda y/o aislamiento es posible inducir la aparición de estas estructuras producidas y el uso de claves taxonómicas son necesarios para determinar el género y la especie del hongo patógeno.

Para su observación al microscopio compuesto, los hongos requieren ser preparados y montados en portaobjetos (Loredo, 2009).

2.5.1 Aislamiento

Se puede realizar desde el material infectado o por siembra de signos. Para el aislamiento de hongos podemos dividir los medios de cultivos en generales como papa dextrosa agar (PDA) y AA; y específicos (Universidad Nacional Autónoma de Honduras [UNAH], 2014).

Los medios de cultivos más utilizados y vendidos en el mercado es el Agar Papa Dextrosa (PDA) y Agar Papa Sacarosa Acidificado (APSA). El PDA es un medio útil para valorar el aspecto morfológico y la coloración de la colonia. Su alto contenido de carbohidratos condiciona un mayor crecimiento. El medio ASPA inhibe la multiplicación de las bacterias, es de uso generalizado para el aislamiento de los hongos a partir de tejidos enfermos. Si se reduce a la mitad la cantidad de azúcar, generalmente se produce un crecimiento más ralo y

fácil de observar con una esporulación más rápida, factores que facilitan la identificación de hongo (Nelson, 1994).

2.6 ANÁLISIS MOLECULAR PARA IDENTIFICACIÓN

Settani (2007) mencionan que pese a que el procedimiento de caracterización morfológica es el estándar para la identificación de la mayor parte de los hongos sin embargo debido a su tediosidad en su realización los procedimientos moleculares pasan a tomar una gran importancia.

Los métodos moleculares como Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) agilizan la identificación analizando regiones específicas dentro de genes. Las secuencias de espaciadores transcritos internos (ITS) y regiones como el factor de elongación 1-alfa (TEF 1- α) son las más utilizadas en la identificación (Fernández *et al.*, 2010)

Jan (2001) mencionan que actualmente los métodos moleculares para la identificación de microorganismos están experimentando gran importancia debido a su especificidad ya que detectan solo la molécula o microorganismo de interés, presentan sensibilidad, capaces de detectar la existencia de un sólo microorganismo con rapidez y automatización logrando identificar y establecer un diagnóstico en menor tiempo y costo, así mismo el uso de las técnicas moleculares han permitido la identificación de microorganismos los cuales no eran posible ser identificados mediante técnicas tradicionales.

III. METODOLOGÍA

3.1 FASE DE CAMPO

3.1.1 Localización del trabajo

Los fundos fueron los siguientes y se observan en la Figura 3:

- Fundo Las Mercedes-Agrokasa ubicada en la provincia de Barranca, departamento Lima, lote N.º 11 Sector 10 se encuentra ubicado en las coordenadas 10°42'50"S 77°41'11"W, conformado por siembra de palto var. 'Hass' con patrón Zutano. Presenta una plantación de 12 años de edad con una altura promedio de 5 metros.
- Fundo Beggie ubicado en la irrigación Chavimochic, provincia de Virú, departamento de Trujillo, lote N.º 733 se encuentra ubicado en las coordenadas 8°21'29"S 78°52'24"W, conformado por siembra de palto var. 'Hass' con patrón Antillano. Presenta una plantación de 8 años edad con una altura promedio de 4 metros.
- Fundo "Don Ernesto" Agrícola Chapi ubicado en el Sector Cinco Piedras, departamento Ica, lote N.º 54 se encuentra ubicado en las coordenadas 14°05'19"S 75°43'21"W, conformado por siembra de palto de var. 'Hass' con patrón Topa Topa. Presenta una plantación de 16 años de edad con una altura promedio de 12 metros.
- Fundo Agrícola Lorca ubicado en la provincia de Cañete, departamento de Lima, lote N.º 6 se encuentra ubicado en las coordenadas 12°59'17"S 76°22'3"W, conformado por siembra de palto var. 'Hass' con patrón Zutano. Presenta una plantación de 15 años de edad con una altura promedio de 8 metros.

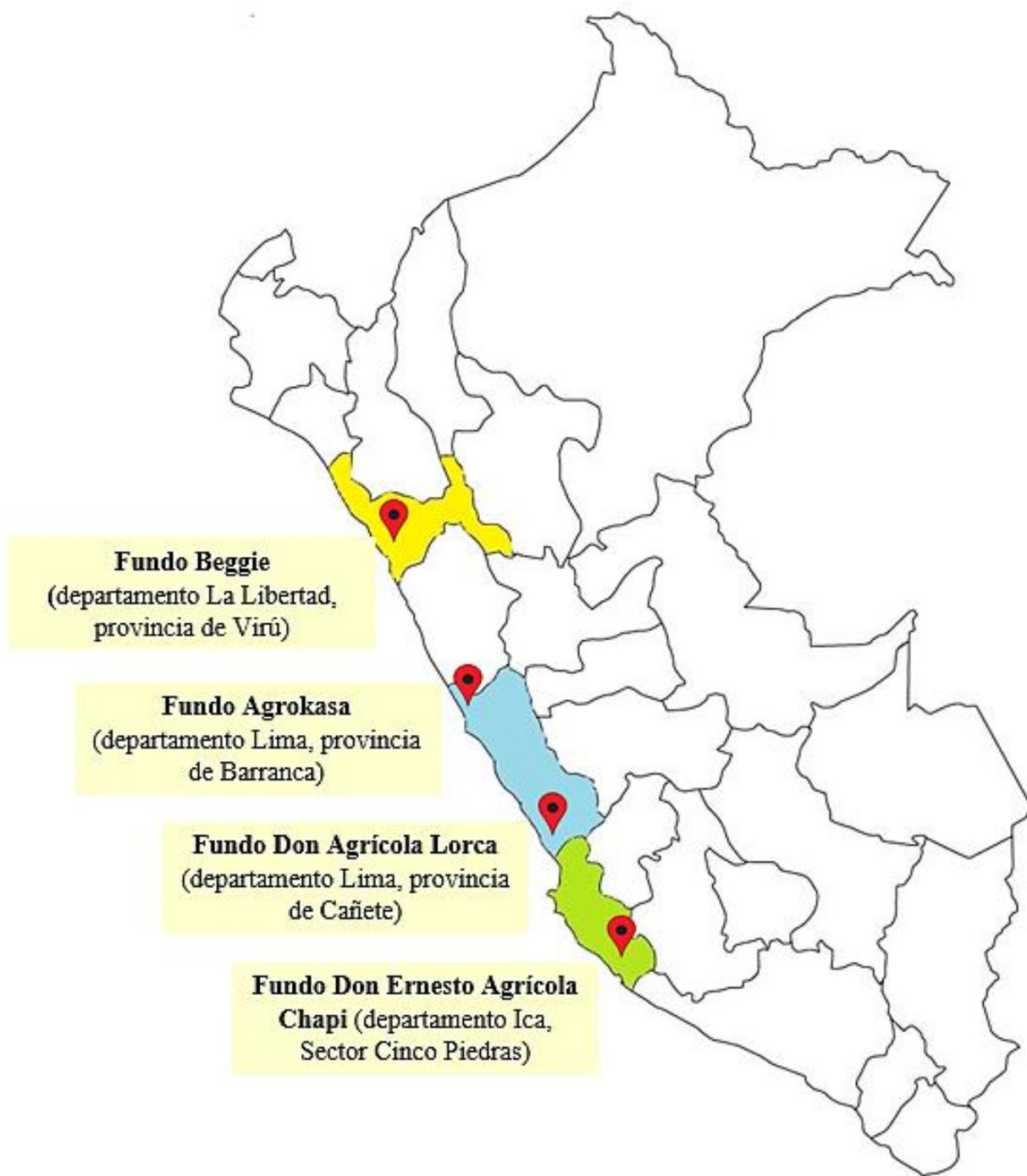


Figura 3: Ubicación de los fundos de monitoreo de conidias en el mapa del Perú.

3.1.2 Material experimental

El ensayo se realizó en uno de los lotes de cada fundo donde se presentó una mayor incidencia de muerte regresiva y cancro de madera.

Materiales a usar:

- Láminas portaobjeto.
- Tubos eppendorf.
- Vaselina sólida.
- Clips binder.
- Guantes de látex.
- Pabilo.
- Cinta fosforescente.
- Plumón indeleble.

3.1.3 Instalación de trampa de conidias

En cada lote seleccionado se escogió 10 árboles al azar tomando en cuenta el tamaño, edad y apariencia uniforme, en los cuales se escogieron dos lesiones (cancros) ubicadas en ramas que pertenecían al primer tercio de la copa del árbol cuya altura aproximada fue de 90 cm a 180 cm como describe Eskalen (2013) ya que a esa altura facilitaría la instalación, retiro y visualización de las trampas de conidias durante su periodo en campo.

Para la captura de las conidias *Lasiodiplodia* sp. se usó un método práctico y de fácil reproducción como menciona Peterson (1959), el cual consistió en la captura pasiva de esporas, mediante portaobjetos impregnados de una sustancia adherente inerte y que fueron reemplazados por unos nuevos periódicamente, siendo colocados a una determinada altura del suelo (Diez, 2013).

Una vez identificadas las lesiones en los árboles de palto (Figura 4A), se eligió como sustancia adherente la vaselina siendo un adherente efectivo como señala Huerta (2014) la cual fue esparcida en uno de los lados de la lámina para la captura de conidias, sin olvidar antes de colocarse los guantes para evitar dejar residuos de cualquier procedencia sobre la vaselina y las láminas, luego cada lámina fue sostenida con un clip tipo binder (Figura 4C)

y colgada con un pabilo cerca de la lesión aproximadamente a unos 5 a 10 cm de distancia (Figura 4D), después se amarró una cinta fosforescente cercana a las trampas para su identificación (Figura 4B).

El tiempo de retiro de la lámina instalada se dio después de 15 días ya que la infección de cancro *Lasiodiplodia* tiene un ciclo de enfermedad entre los 12 y 15 días que culmina con la esporulación de conidios como señala Cruz (2001). La lámina retirada se colocó en un tubo eppendorf de 50 ml para minimizar la contaminación (Eskalen, 2013) como se muestra en la Figura 4E, cada tubo fue rotulado con un código que represente a la localidad (Figura 4F). Una vez culminada la retirada de las láminas se procedió a realizar el mismo procedimiento de instalación mencionado anteriormente para la continuación de monitoreo.

3.1.4 Recolección de data

Mediante encuestas realizadas a los fundos como se muestra en la Figura 5 se obtuvieron registros de temperatura y humedad relativa, así como también las labores realizadas en el lugar de instalación del ensayo durante cada quincena que coincide con las fechas de instalación y reposición de las trampas de conidias.



Figura 4: A. Ubicación de cancro en el árbol, B. Marcado de árbol y cancro para posterior ubicación, C. Colocación de laminilla sostenida por el clip binder, D. Trampa de conidias lista para la captura, E. Recojo de laminilla en tubo eppendorf (15 días después de la instalación), F. Muestra lista para traslado a laboratorio.

REGISTRO DE DATOS	
ENSAYO: Monitoreo de conidias de <i>Lasiodiplodia</i> sp.	
Fecha de instalación:	Fecha de colecta:
Encargado del trampeo:	
1. TRAZABILIDAD	
Localización y fundo:	
Lote:	Fecha en envió:
2. LABORES	
Especificar qué labor cultural se realizó en la quincena, durante el tiempo en que la lámina estuvo expuesta	
APLICACIONES	
PODAS	
COSECHA	
OTROS	
3. DATOS METEOROLÓGICOS	
Deberán ser enviados vía correo electrónico	
Envío de datos Lima	<input type="radio"/> Enviados este periodo <input type="radio"/> No enviados este periodo
OBSERVACIONES (imprevistos, roturas de lámina, recambios o retrasos de la información)	

Figura 5: Cartilla de registro de datos para la evaluación de trampa de conidias.

3.2. FASE DE LABORATORIO

3.2.1 Localización del trabajo

El ensayo se realizó en la Clínica de Diagnóstico de Fitopatología de la Universidad Nacional Agraria La Molina, ubicado en el distrito de La Molina, provincia de Lima, departamento Lima ubicado en las coordenadas 12°04'07"S 76°56'56"W.

3.2.2 Material Experimental

Para la evaluación de las láminas, aislamiento, conservación e identificación morfológica y molecular se hizo uso de lo siguiente:

Materiales a usar:

- Láminas portaobjetos.
- Microscopio Leica.
- Estereoscopio.
- Placas con medio PDA (Papa Dextrosa Agar).
- Mechero.
- Jeringa tuberculina.
- Alcohol de 96°.
- Agua destilada.
- Oxitetraciclina.
- Parafilm.
- Sacabocado.
- Bolsas de polipropileno.
- Plumón indeleble.
- Incubadora.
- Viales estériles

3.2.3 Conteo de conidias

Para la realización del conteo se tomó con cuidado la lámina portaobjeto contenida en el tubo eppendorf, evitando que al ser extraída limpiemos la parte que esta bañada de vaselina, luego se utilizó una lámina portaobjeto nueva, la cual fue limitada por dos líneas horizontales dibujadas con plumón indeleble, las que sirvieron como guía para que al momento de evaluar no se repita la misma área contabilizada (Anexo 1), después esta lámina fue colocada encima del lado con vaselina de la otra lámina (lámina trampa). Se colocó la muestra en el microscopio Leica y se procedió al conteo individual de conidias maduras *Lasiodiplodia* en el aumento 100x abarcando toda la lámina que tiene un área aproximada de 7.6 cm largo x 2.5 cm ancho, este aumento fue elegido ya que proporcionó una mejor visualización porque uno menor dificultaba la ubicación de la conidia y uno mayor sería imposible de utilizar por la distancia casi nula entre lámina y lente lo que podría provocar un posible roce entre ambos.

3.2.4 Aislamiento

Se procedió a aislar las conidias impregnadas en la vaselina de las láminas portaobjetos para la identificación morfológica y molecular.

Para el proceso de extracción de las conidias se hizo uso de un estereoscopio el cual con ayuda de una jeringa tuberculina se extrajo las conidias impregnadas en la vaselina (Figura 6B y Figura 6C). La conidia *Lasiodiplodia* una vez extraída fue colocada en una placa petri con medio de Potato Dextrosa Agar modificado con 0.5 gr/L de Oxitetraciclina (PDA-O) con el fin de inhibir crecimiento bacterial.

Las placas fueron colocadas en la incubadora durante 3 días a 25°C para permitir el crecimiento del hongo. Obtenido el crecimiento micelial, se procedió a obtener colonias más puras mediante repiques por la cual se tomó porciones de micelio con ayuda de un sacabocado sembrándose en placas Petri con medio PDA-O hasta la obtención de colonias libres de contaminantes (axénicas).



Figura 6: **A.** Plaqueo de medio PDA (Papa Dextrosa Agar), **B.** Materiales para la extracción y siembra, **C.** Extracción de conidias *Lasiodiplodia* sp. de lámina mediante uso de estereoscopio.

3.2.5 Conservación de las colonias

Para la conservación de los cultivos axénicos, los aislamientos fueron repicados en viales estériles de 2 ml conteniendo 1.8 ml de agua esterilizada, estos tubos se sellaron y se colocaron en racks conservándolos en la incubadora a 24°C.

3.2.6 Identificación morfológica

Para la identificación morfológica se realizó repique de los aislamientos conservados a placas petri con medio de cultivo PDA-O y se incubaron a 25°C durante 3 días.

Pasado ese tiempo se colocaron las placas en bolsas de polipropileno y fueron expuestas a luz blanca de 4130 lux durante 24 horas al día con el fin de acelerar el proceso de formación de las estructuras características del género *Lasiodiplodia* sp como menciona Allende *et al.*, (2015) como se cita en (Pereira y Lago, 1986) mostrándose en la Figura 7.



Figura 7: Placas con siembra de *Lasiodiplodia* sp. expuesta a luz blanca de 4130 lux.

3.2.7 Identificación molecular

Para el desarrollo de la identificación molecular se tomó como base lo descrito por Huarhua (2018) para *Phytophthora cinnamomi* Rands como agente causal de la pudrición de corona y raíces de arándanos, por la cual se marcó los microtubos con los códigos de las muestras y se procedió a usar 0.5 cm² de micelio, para eso se tomó un bisturí y se raspo la superficie de la placa con el cultivo de hongo.

En microtubos de 1.5 ml se colocó 500 μ l de buffer extracción, se adicionó el micelio y con ayuda de un micropistilo se molió el micelio, a esta suspensión se añadió 300 μ l de fenol, cloroformo y alcohol isoamílico en la relación de 25:24:1 respectivamente y se homogenizó agitando la mezcla suavemente unas 10 veces.

Se centrifugó a 1200 rpm durante 10 minutos a una temperatura de 20°C para eso se hizo uso de otro microtubo, se decantó el material sobrenadante procediendo a incubar a 37°C por 30 minutos en Thermo mixer eppendorf. Luego se procedió a agregar 300 μ l de 2-propanol y se homogenizó, esto se llevó a -20°C por 15 minutos, después de pasado el tiempo fue centrifugado a 1200 rpm por 10 minutos a 4°C, se descartó el sobrante y se añadió 1 ml de etanol al 70% haciendo que el pellet nade en el medio, luego se centrifugó a 1200 rpm por 5 minutos a 4°C. Se volvió a descartar el sobrante y secó, para finalmente añadir 30 μ l de agua

ultrapura para ser almacenado a - 20°C o a -30°C como señala Llanos (2021) y ser llevado hacia el proceso de PCR.

Para la identificación de especies se hizo uso de cebadores EF1-728F y EF-986R los cuales se usaron para el proceso de amplificación del factor de elongación de traducción 1-alfa (Carbone & Kohn, 1999) como se muestra en el anexo 3.

3.3 ANÁLISIS DE RESULTADOS

El análisis de resultados se efectuará mediante la realización de un diagrama de flujo (Figura 8).

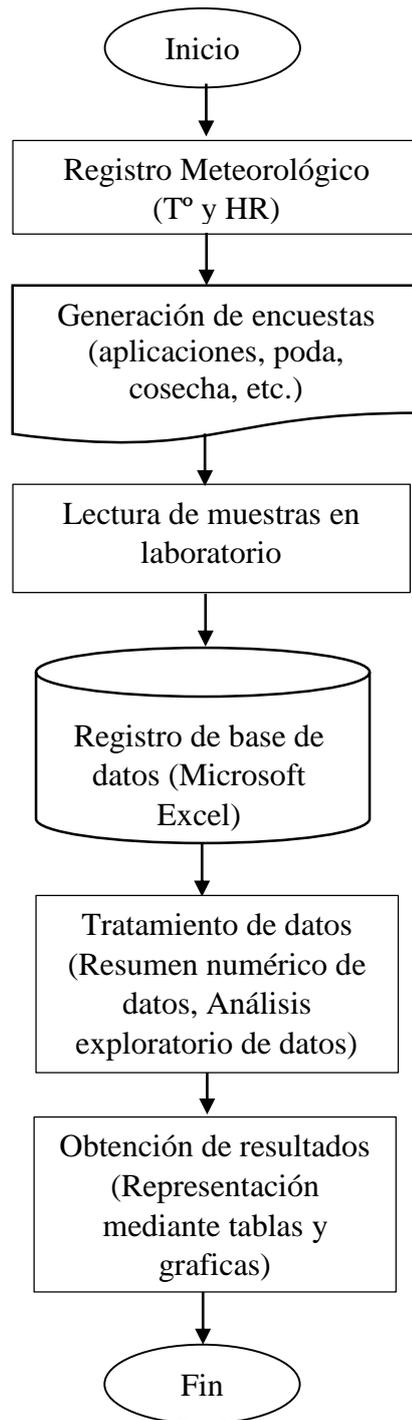


Figura 8: Diagrama de flujo de análisis de resultados.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 FASE DE CAMPO -MONITOREO DE CONIDIAS

4.1.1 Fundo Beggie - Trujillo

En la Tabla 1 y Figura 9, se observa los registros del conteo de conidias *Lasiodiplodia* sp. durante desarrollo fenológico del cultivo de palto var. 'Hass' en el fundo Beggie - Trujillo con una clara variación mensual. Los máximos niveles registrados en la liberación de conidias *Lasiodiplodia* se dieron durante la estación de verano y los menores durante la estación de invierno y primavera. La liberación de conidias comenzó a aumentar a partir de la etapa de cuajado del fruto alcanzando valores máximos durante la fase de crecimiento de la fruta y finales del crecimiento vegetativo, así como también próximo a la maduración y cosecha registrado de de igual manera por Noriega *et al.* (2017) en sus estudios de fluctuación de esporas de los principales hongos fitopatógenos en la copa de los árboles de mango ataulfo en Guerrero, ciudad de México, en la que se muestra que las esporas de *Lasiodiplodia* sp. presenta la mayor concentración a finales del crecimiento vegetativo y cuajado, durante el crecimiento de la fruta y próximo a la cosecha.

La liberación de conidias comenzó en ascenso en la semana 46 de noviembre del 2019 alcanzando el mayor promedio mensual de conidias por árbol en el año 2020 en el mes de enero con un valor de 109.63 con una temperatura promedio mensual de 24°C así mismo en el mes mayo se presentó un valor promedio mensual de conidias liberadas por árbol de 116.20 en presencia de una temperatura mensual de 21°C. El valor promedio de conidias por árbol en el mes de enero se vio favorecido por la presencia de un promedio de temperatura mensual dentro del rango establecido como temperatura óptima mencionada por Apaza (2021) el cual hace referencia a un rango de 22-28°C para el desarrollo de *Lasiodiplodia* además probablemente también se vio influenciado al no haber habido alguna aplicación cercana al mes de liberación, sin embargo la liberación pudo haber sido más alta si es que

se hubiera presentado a finales del crecimiento frutal donde hay un mayor estado de estrés en la planta lo que favorece al desarrollo del hongo *Lasiodiplodia* como es el caso del mes de mayo en el que tuvo una temperatura promedio mensual de 21°C, temperatura cercana al umbral óptimo planteada por Apaza (2021), favoreciendo la liberación de conidias a pesar de haber presentado una aplicación de sulfato de cobre en el 28/02/20 el cual solo contribuyó a un descenso del promedio de conidias que se mantuvo hasta el mes de marzo y de oxiclورو de cobre el 4/04/20 como se observa en la Figura 9.

Los meses que alcanzaron el menor promedio mensual de conidias por árbol en el 2019 fue en la semana 36 del mes de setiembre con un valor de 0 hasta la semana 44 de octubre con un valor de 0.05 en presencia de temperaturas 18 y 19°C respectivamente, mucho menores a la temperatura óptima recomendada para el desarrollo del hongo, sin embargo la infección pudo haberse provocado en el mes de julio tomando como referencia la investigación de Delgado (2019b) en el que uno de sus ensayos las conidias *Lasiodiplodia* colectadas procedentes de material de poda de palto fueron inoculadas en plántones de palto de la variedad Topa Topa presentando estos una zona de corte para realizar el procedimiento en la cual se depositó la suspensión de conidias calibrada de 10, 1000, 100000 conidias mostrando a los 6 días avance de la infección en los tres tratamientos por lo que el potencial numérico de infección resultó que solo eran necesarias 10 conidias para iniciar una nueva infección demostrando porque la enfermedad es endémica y complicada de controlar con esto se podría decir que en el fundo Beggie probablemente la infección ya había comenzado en el mes de julio cuando hubo una captura promedio de 11.6 conidias por árbol como se muestra en la Figura 9 siendo mayor a lo planteado por Delgado, para después presentarse una aplicación de tiabendazole el 19/07/19 el cual coincidió con un promedio de conidias bajo que permaneció así hasta finales del mes de octubre. Así mismo en el año 2020 los valores de liberación son casi nulos durante la semana 36 de agosto a la semana 48 del mes de noviembre durante las etapas de crecimiento vegetativo y floración en los cuales el promedio de conidias por árbol fue menor a 2.15, este promedio se dio con la presencia de temperaturas entre 17 a 19°C las cuales eran menores al umbral óptimo de tal forma que coincide con la poda realizada en la fecha del 6/07/20 la cual es determinante para disminuir los niveles de la enfermedad y originar una ruptura del ciclo biológico al encontrarse en época invernal, época propicia para la formación de estructuras sexuales del hongo denominadas picnidias como manifiesta Rivera (2014) para el caso del hongo *Monioliophthora pernicioso* el cual hace referencia sobre la influencia de la poda en este

hongo en la formación de basidiocarpos al realizarla en el momento adecuado en el cultivo de cacao.

Cabe indicar que la disminución también se vio influenciada por haberle antecedido una segunda aplicación de sulfato de cobre el 12/06/20 y de oxiclورو de cobre el 28/07/20 y haberse llevado en ese periodo una última aplicación de tiabendazole el 4/09/20.

Tabla 1: Recopilación de registro de conteos de conidias *Lasiodiplodia* sp., aplicaciones de fungicidas y labor de poda en el Fundo Beggie – Trujillo (2019-2020)

Año/mes	T° promedio	Hr promedio	Promedio mensual de conidias	Aplicaciones		Labor de poda
				Ingrediente activo	Fecha de aplicación	
2019						
Julio	17	88	11.60	Tiabendazole	19/07/2019	-
Agosto	18	87	8.95	-	-	-
Septiembre	18	84	0.00	-	-	-
Octubre	19	82	0.05	-	-	-
Noviembre	21	84	20.55	-	-	-
Diciembre	22	83	39.00	-	-	-
2020						
Enero	24	81	109.63	-	-	-
Febrero	25	79	23.55	Sulfato de cobre	28/02/2020	-
Marzo	24	78	14.10	-	-	-
Abril	22	82	77.45	Oxicloruro de cobre	04/04/2020	-
Mayo	21	84	116.20	-	-	-
Junio	18	85	29.10	Sulfato de cobre	12/06/2020	-
Julio	17	85	13.17	Oxicloruro de cobre	28/07/2020	06/07/2020
Agosto	17	85	2.15	-	-	-
Septiembre	18	84	2.50	Tiabendazole	04/09/2020	-
Octubre	18	83	0.10	-	-	-
Noviembre	19	82	0.25	-	-	-

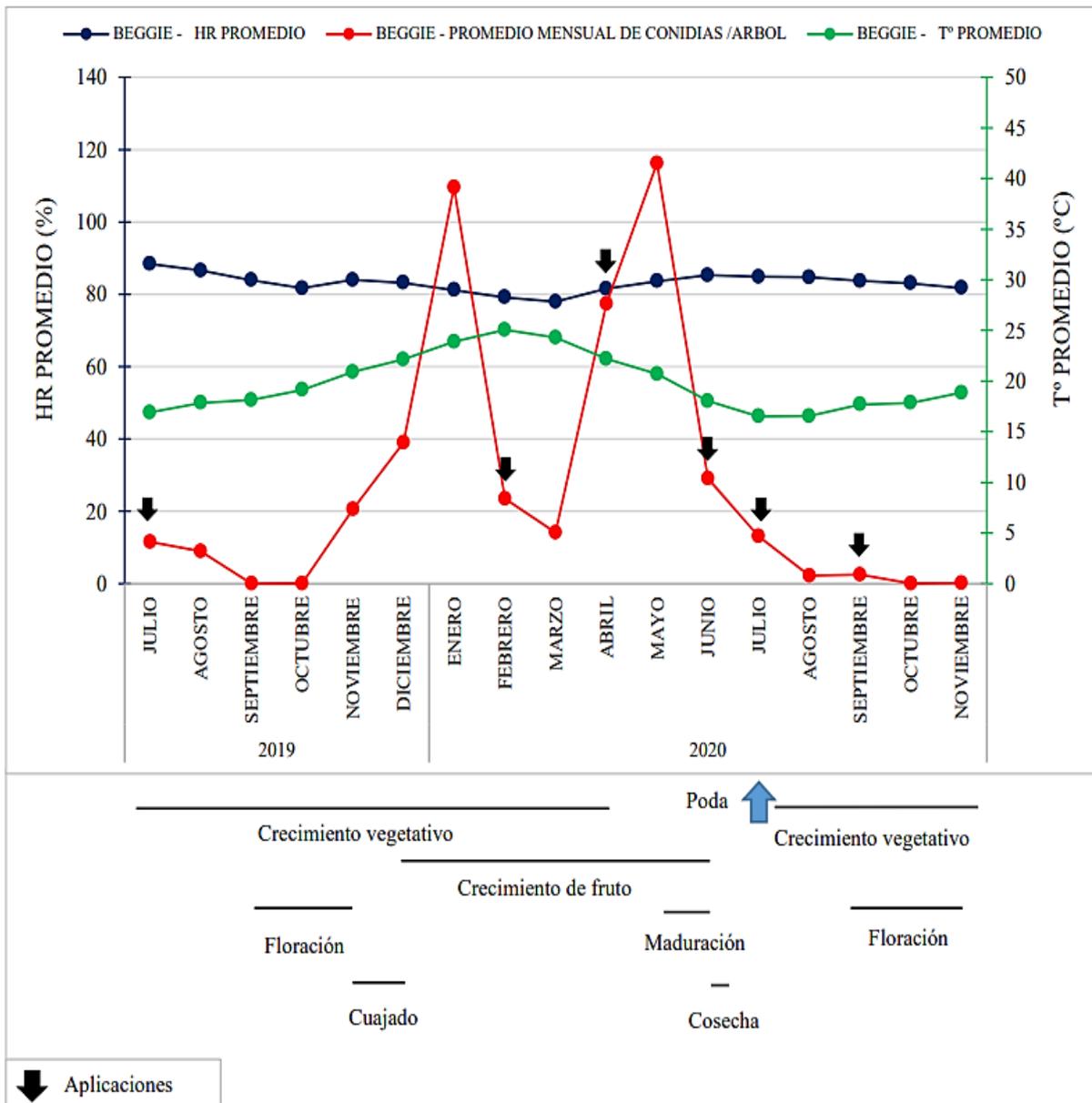


Figura 9: Promedios mensuales de conidias *Lasiodiplodia* sp. por árbol de palto var. ‘Hass’, datos de humedad relativa (%) y temperatura promedio mensual (°C) en el Fundo Beggie - Trujillo (2019-2020).

4.1.2 Fundo Agrícola Chapi - Ica

En la Tabla 2 y Figura 10, se observa los registros del conteo de conidias *Lasiodiplodia sp.* a lo largo del desarrollo fenológico del cultivo de palto var. 'Hass' en el fundo Agrícola Chapi – Ica, desarrollándose los máximos niveles registrados de conteos de conidias durante la estación de verano y los menores niveles durante la estación de invierno y primavera. La liberación de conidias comenzó en ascenso durante la semana 51 del mes de diciembre del 2019 y se extendió hasta la semana 16 del mes de abril del 2020 para luego descender, esto se dio durante el crecimiento frutal de la misma manera como se pudo observar en la Figura 9 en el fundo Beggie, llegando a alcanzar sus picos máximos durante esta etapa fenológica. Los meses de enero, marzo y abril del 2020 alcanzaron los valores máximos presentando el mes de enero un promedio mensual de conidias por árbol de 78.60 y marzo con 165, ambos en presencia de una temperatura promedio de 26°C y humedad relativa promedio de 72 y 68% respectivamente al contrario Tucuch *et al.* (2005) menciona que la enfermedad se presentaría en mayor intensidad cuando la humedad relativa es mayor al 80% y temperatura entre 26 a 32°C pero como vemos en la Tabla 2, que a pesar de no presentar una humedad relativa mayor a 80% sino de 72% se presenta liberaciones altas de conidias, luego en el mes abril se registra un valor de 165.10 con una de temperatura promedio de 24°C, estando estas en el umbral óptimo para el desarrollo de *Lasiodiplodia sp.* Los picos máximos registrados en marzo y abril fueron antecedidos por una aplicación de oxiclورو de cobre el 11/02/20 el cual contribuyó a que las liberaciones en el mes de febrero se vean reducidas sin embargo ante el estado fenológico y condiciones de temperatura en que se encontraba la planta se volvió a retomar las liberaciones alta de promedio de conidias mensual por árbol.

Los meses que alcanzaron menores registros de conteos de conidias se dio a partir de la semana 33 del mes de agosto a diciembre del 2019 con un promedio de conidias entre 0 a 2.5 a una temperatura promedio mensual de 19 a 24°C estuvo acompañado de una poda realizada el 28/08/2019 y antecedido por otra el día 3/07/2019 por otra parte se observan la realización de dos aplicaciones durante este periodo los días 24/08/19 de tiabendazole y 23/11/19 de fenhexamid así mismo en el año 2020 los menores registros se dieron a partir de la semana 29 del mes de julio al mes de noviembre en los cuales el promedio de conidias por árbol fue de 0.0 a 3.30 a una temperatura promedio mensual en el rango de 18 a 25°C acompañado de una poda realizada el día 27/08/2020 y antecedido por dos podas sucesivas

los días 18/05/20 y 5/06/20, en este periodo se llevó a cabo previamente dos aplicaciones de extracto de canela los días 8/05/20 y 11/06/20, tanto en el 2019 como en el 2019 las bajas liberaciones se desarrollaron durante la etapa de crecimiento vegetativo, floración y cuajado.

Tabla 2: Recopilación de registro de conteos de conidias *Lasiodiplodia* sp., aplicaciones de fungicidas y labor de poda en el Fundo Agrícola Chapi (2019-2020)

Año/mes	T° promedio	Hr promedio	Promedio mensual de conidias	Aplicaciones		Labor de poda
				Ingrediente activo	Fecha de aplicación	
2019						
Junio	18	74	15.60	-	-	-
Julio	18	73	18.20	-	-	03/07/2019
Agosto	19	69	0.00	Tiabendazole	24/08/2019	28/08/2019
Septiembre	20	69	0.00	-	-	-
Octubre	20	65	0.45	-	-	-
Noviembre	21	67	0.10	Fenhexamid	23/11/2019	-
Diciembre	24	68	2.50	-	-	-
2020						
Enero	26	72	78.60	-	-	-
Febrero	26	68	32.95	Oxicloruro de cobre	11/02/2020	-
Marzo	26	68	165.10	-	-	-
Abril	24	66	165.00	-	-	-
Mayo	21	72	44.20	Extracto de canela (<i>Cinamomum zeylanicum</i>)	08/05/2020	18/05/2020
Junio	19	73	15.47	Extracto de canela (<i>Cinamomum zeylanicum</i>)	11/06/2020	05/06/2020
Julio	18	70	3.20	-	-	-
Agosto	18	73	3.30	-	-	27/08/2020
Septiembre	20	68	1.03	-	-	-
Octubre	25	67	0.00	-	-	-
Noviembre	22	67	0.40	-	-	-

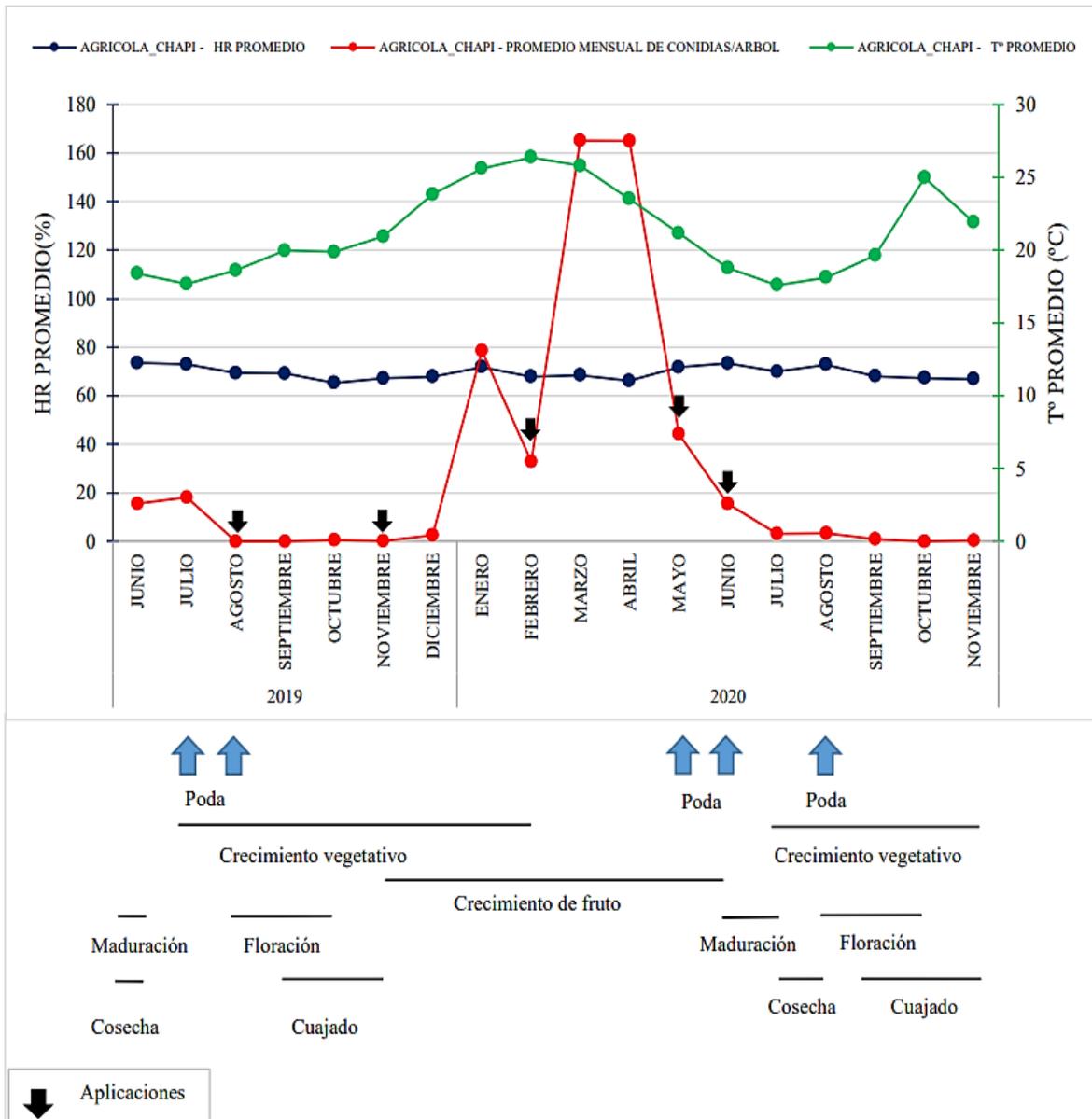


Figura 10: Promedios mensuales de conidias *Lasiodiplodia* sp. por árbol de palto var. ‘Hass’, datos de humedad relativa (%) y temperatura promedio mensual (°C) en el Fundo Agrícola Chapi-Ica (2019-2020).

4.1.3 Fundo Agrícola Lorca - Cañete

En la Tabla 3 y Figura 11, se observa los registros del conteo de conidias *Lasiodiplodia* sp. a lo largo del desarrollo fenológico del cultivo de palto var. 'Hass' en el fundo Agrícola Lorca - Cañete. Los máximos niveles registrados en el conteo de conidias se dieron durante la estación de verano y los menores niveles durante las estaciones de invierno y primavera. Durante la cosecha de junio 2019 se presentó una liberación alta de conidias de 95.70 como promedio mensual de conidias por árbol para luego descender producto de la disminución de temperaturas alcanzando una temperatura de 15°C, temperatura mínima para el desarrollo de *Lasiodiplodia* como menciona Slippers *et al.* (2004) y Alves *et al.* (2008) por lo que aún podemos observar una reducida liberación de conidias como se muestra en la Tabla 3, así mismo la aplicación de sulfato de cobre el día 24/06/19, mancozeb el 25/09/19 y de azoxistrobin el 10/10/19 contribuyeron al mantenimiento de los registros bajos hasta la semana 50 del mes de diciembre desarrollándose durante el crecimiento vegetativo, floración y cuajado.

En el año 2020 comenzó a registrarse incrementos en las liberaciones de conidias presentándose a inicios de enero y febrero los valores máximos de promedio de conidias por árbol los cuales fueron 24.33 y 22.40 respectivamente, meses en los cuales se presentó una temperatura promedio de 24 a 25°C, desarrollándose a finales de la etapa de crecimiento vegetativo y próximo al crecimiento frutal.

Los menores registros de liberación de conidias en el 2020 se dio a partir de la semana 32 de agosto a noviembre en el cual se presentó un promedio de conidias por árbol de 0 a 0.65 estos conteos de conidias registrados en presencia de temperatura entre 15 a 20°C y cuyos árboles en su mayoría se encontraban en estado de crecimiento vegetativo, cabe agregar que durante estos meses de bajos niveles liberaciones se realizó dos podas sucesivas en los días 6/07/20 y 10/08/2020.

Por otra parte, en el 2020, se realizaron aplicaciones de azufre en las fechas de 30/05/20 y 13/06/20, seguidamente una aplicación de oxiclورو de cobre el 29/07/20 y dos aplicaciones

de pyrimetanil en las fechas del 26/09/20 y 14/10/20, las cuales coincidieron con niveles bajos de liberación de conidias.

Tabla 3: Recopilación de registro de conteos de conidias *Lasiodiplodia* sp., aplicaciones de fungicidas y labor de poda en el Fundo Agrícola Lorca (2019-2020)

Año/mes	T° promedio	Hr promedio	Promedio mensual de conidias	Aplicaciones		Labor de poda
				Ingrediente activo	Fecha de aplicación	
2019						
Junio	17	88	95.70	Sulfato de cobre	24/06/2019	-
Julio	15	91	19.95	-	-	-
Agosto	15	90	1.50	-	-	-
Septiembre	16	89	2.90	Mancozeb	25/09/2019	-
Octubre	18	86	0.07	Azoxistrobin	10/10/2019	-
Noviembre	20	84	0.10	-	-	-
Diciembre	21	84	0.00	-	-	-
2020						
Enero	24	82	24.33	-	-	-
Febrero	25	80	22.40	-	-	-
Marzo	24	80	9.15	-	-	-
Abril	22	80	10.30	-	-	-
Mayo	19	86	1.40	Azufre	30/05/2020	-
Junio	17	88	5.85	Azufre	13/06/2020	-
Julio	16	88	5.70	Oxicloruro de cobre	29/07/2020	06/07/2020
Agosto	15	90	0.65	-	-	10/08/2020
Septiembre	16	88	0.17	Pyrimetanil	26/09/2020	-
Octubre	18	84	0.00	Pyrimetanil	14/10/2020	-
Noviembre	20	85	0.05	-	-	-

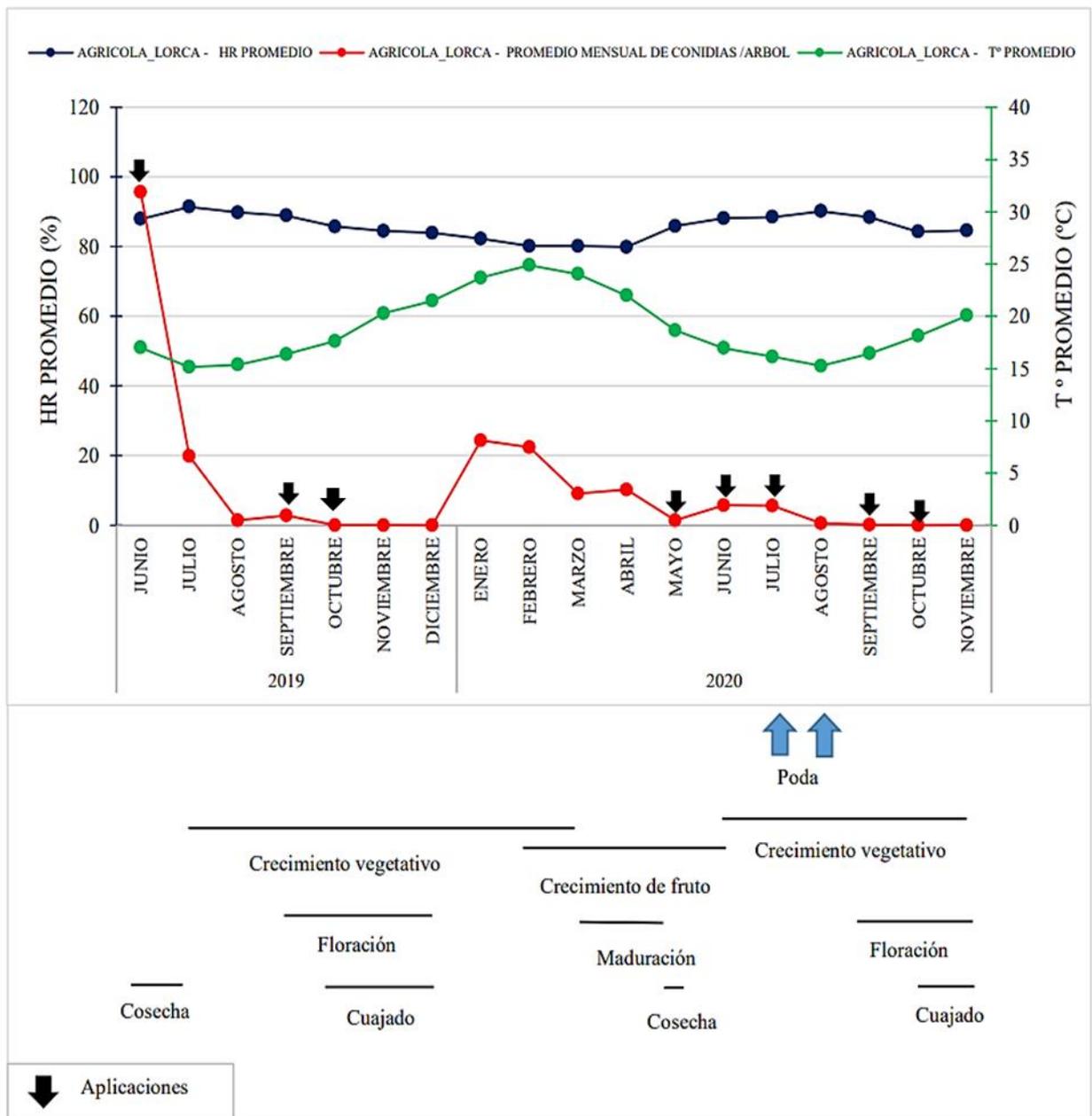


Figura 11: Promedios mensuales de conidias *Lasiodiplodia* sp. por árbol de palto var. ‘Hass’, datos de humedad relativa (%) y temperatura promedio mensual (°C) en el Fundo Agrícola Lorca-Cañete (2019-2020).

4.1.4 Fundo Agrokasa - Barranca

En la Tabla 4 y Figura 12, se observa los registros del conteo de conidias *Lasiodiplodia* sp. a lo largo del desarrollo fenológico del cultivo de palto var. 'Hass' en el fundo Agrokasa - Barranca, dándose la máxima liberación de conidias durante la estación de verano y finales de otoño y los menores durante la estación de invierno y primavera. En la fase maduración del fruto durante el año 2019 se puede ver como la liberación de conidias registradas en la semana 25 del mes de junio empezó a presentar un aumento significativo con un promedio de conidias de 53.50 y continuando su ascenso hasta la semana 30 del mes de julio con un registro de promedio de conidias 101.53 estando acompañado de registro de temperaturas promedio de 15 y 16°C para luego descender drásticamente en el mes de agosto y continuar así hasta noviembre con un promedio de conidias por árbol de 0.0 a 1.40, por otra parte se observa una aplicación de sulfato de cobre el 24/09/19, el cual coincidió con niveles bajos de liberaciones. En el mes de diciembre se visualiza que se retomó el aumento y ya para el año 2020 durante etapa de crecimiento frutal, se realizó la primera aplicación sulfato de cobre de ese año el día 28/01/20 la cual a pesar de haber sido efectuada se alcanzó en el mes siguiente niveles altos de liberaciones. Los meses de enero y febrero presentaron los valores máximos de promedio de conidias por árbol los cuales fueron 23.17 y 68.50 respectivamente, en los que se presentó una temperatura promedio de 23 y 24°C, pero al término de este periodo comenzó un descenso en las liberaciones que se extienden hasta finales de año, presentando un promedio de conidias por árbol de 0.55 a 18 durante el estado de crecimiento vegetativo estando presentes en un rango de temperatura promedio de 15 a 21°C coincidiendo con la segunda aplicación de sulfato de cobre el 11/03/20 sin embargo se presentó un ligero aumento en la semana 24 del mes de junio a pesar de haberse dado la aplicación de sulfato de cobre el día 10, a partir del mes de julio se vuelve a retomar los niveles bajos de liberación registrándose una poda el 14/08/20 siguiéndole una aplicación de sulfato de cobre el 27/08/20 y aplicaciones sucesivas de procloraz durante los meses de setiembre, octubre y noviembre, la acción efectiva de procloraz es mencionada por Delgado (2019b) el cual hace referencia a la reducción de los niveles de infección de *Lasiodiplodia* por la aplicación de este ingrediente activo en brotes frescos de palto pero alegando que este presentaría muy bajo poder residual por lo que tendría relación con las tres aplicaciones sucesivas realizadas de procloraz en el fundo.

Tabla 4: Recopilación de registro de conteos de conidias *Lasiodiplodia* sp., aplicaciones de fungicidas y labor de poda en el Fundo Agrokasa (2019-2020)

Año/mes	T° promedio	Hr promedio	Promedio mensual de conidias	Aplicaciones		Labor de poda
				Ingrediente activo	Fecha de aplicación	
2019						
Junio	16	91	53.50	-	-	-
Julio	15	90	101.53	-	-	-
Agosto	18	84	0.75	-	-	-
Septiembre	16	86	1.40	Sulfato de cobre	24/09/2019	-
Octubre	18	83	1.10	-	-	-
Noviembre	19	83	0.00	-	-	-
Diciembre	21	82	14.15	-	-	-
2020						
Enero	23	81	23.17	Sulfato de cobre	28/01/2020	-
Febrero	24	78	68.50	-	-	-
Marzo	23	78	4.50	Sulfato de cobre	11/03/2020	-
Abril	21	80	4.50	-	-	-
Mayo	18	85	1.35	-	-	-
Junio	16	86	18.00	Sulfato de cobre	10/06/2020	-
Julio	15	85	1.45	-	-	-
Agosto	15	79	4.03	Sulfato de cobre	27/08/2020	14/08/2020
Septiembre	17	81	0.55	Procloraz	09/09/2020	-
Octubre	17	80	2.70	Procloraz	27/10/2020	-
Noviembre	18	70	2.65	Procloraz	10/11/2020	-

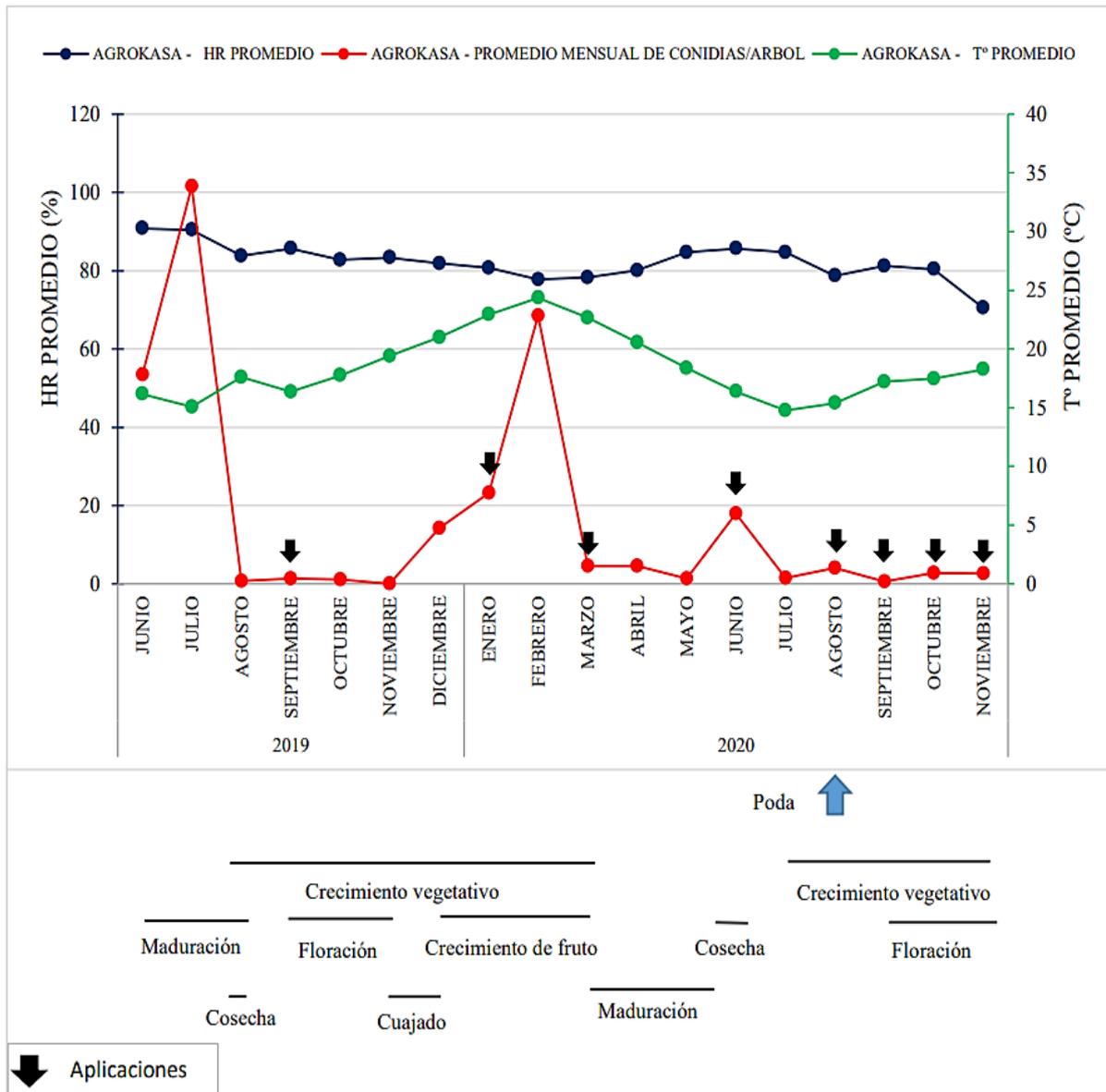


Figura 12: Promedios mensuales de conidias *Lasiodiplodia* sp. por árbol de palto var. Hass, datos de humedad relativa (%) y temperaturas promedio mensual (°C) en el Fundo Agrokasa-Barranca (2019-2020).

4.1.5 Monitoreo comparativo entre el fundo Agrícola Chapi, Agrícola Lorca, Agrokasa y Beggie

En la Tabla 5 y Figura 13, se observa que el promedio mensual de conidias por árbol registrada en cada fundo inició su aumento a mediados del mes noviembre del año 2019 y continuó en ascenso hasta los meses del año siguiente registrándose durante el mes de enero y febrero coincidencias de valores máximos en los cuatro fondos de estudio, presentándose temperaturas mayores a los 20°C. Cuando las temperaturas comenzaron a descender, se registró la disminución de las liberaciones de conidias salvo el fundo Agrícola Chapi que volvió a presentar un incremento en marzo y abril, así como también en el fundo Beggie que después del descenso vuelve a presentar incrementos en la liberación en el mes de abril y mayo, pasado el mes de junio todos los 4 fondos mantienen valores casi nulos hasta finales del año tanto para el año 2019 y 2020.

Tabla 5: Comparativo de promedio de conidias *Lasiodiplodia* sp. en los cuatro fondos

Año/Mes	Agrícola Chapi	Agrícola Lorca	Agrokasa	Beggie	Total general
2019	5.26	17.18	30.22	9.97	15.71
Junio	15.60	95.70	53.50		55.22
Julio	18.20	19.95	101.53	11.60	49.06
Agosto	0.00	1.50	0.75	8.95	2.80
Septiembre	0.00	2.90	1.40	0.00	0.96
Octubre	0.45	0.07	1.10	0.05	0.38
Noviembre	0.10	0.10	0.00	20.55	5.93
Diciembre	2.50	0.00	14.15	39.00	12.05
2020	35.06	7.05	12.77	34.04	21.90
Enero	78.60	24.33	23.17	109.63	57.15
Febrero	32.95	22.40	68.50	23.55	38.91
Marzo	165.10	9.15	4.50	14.10	36.02
Abril	165.00	10.30	4.50	77.45	57.50
Mayo	44.20	1.40	1.35	116.20	30.01
Junio	15.47	5.85	18.00	29.10	16.92
Julio	3.20	5.70	1.45	13.17	6.69
Agosto	3.30	0.65	4.03	2.15	2.63
Septiembre	1.03	0.17	0.55	2.50	0.97
Octubre	0.00	0.00	2.70	0.10	0.70
Noviembre	0.40	0.05	2.65	0.25	0.90
Total general	22.79	10.88	19.25	26.26	19.60

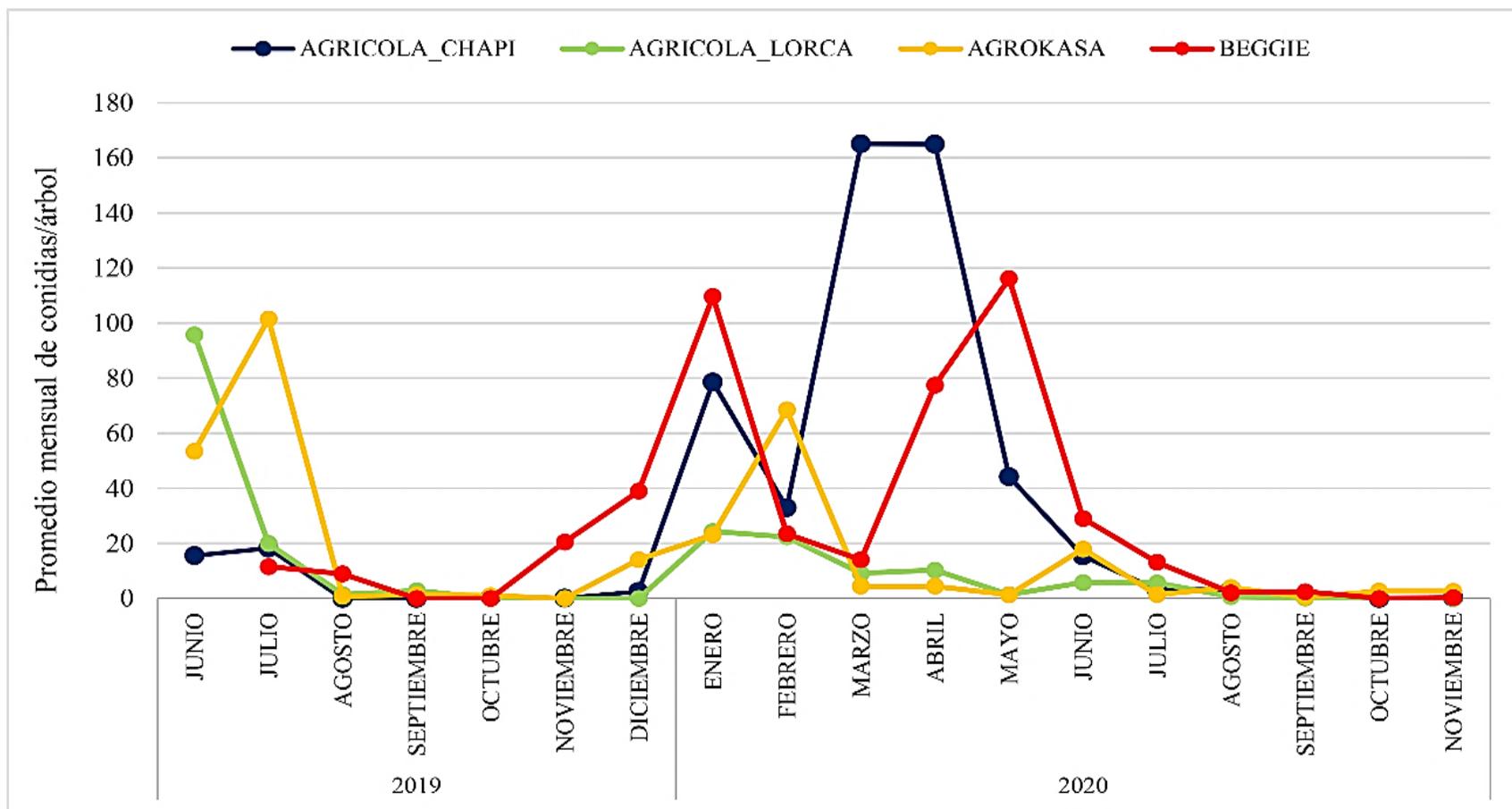


Figura 13: Comparativo de promedio de conidias *Lasiodiplodia* sp. en los cuatro fundos desde junio del 2019 a finales del 2020.

4.2 FASE LABORATORIO

4.2.1 Caracterización e identificación morfológica de aislamientos

Mediante la evaluación macroscópicas en las placas con medio de cultivo a base de papa dextrosa y agar con antibiótico, las colonias de *Lasiodiplodia* sp. mostraron la formación de micelio denso inicialmente blanquecino a los 3 días después de la siembra (Figura 14 A-D) pasando los 6 días y expuesta a la luz se tornó de un color gris olivo a gris oscuro (Figura 14 E-H) estas características mostradas de cambios de coloración y apariencia de la colonia fueron similares a las descritas por Chen *et al.* (2016) en China para los aislamientos de *Lasiodiplodia theobromae* obtenidos de los tallos de Rosa rugosa Thunb. con lesiones necróticas oscuras. A los 15 días se pudo apreciar las características microscópicas, observándose en las colonias la formación de masas estromáticas grisáceas (Figura 14 I-L y Figura 15 B) que al ser vistas al microscopio se evidenció que contenían varias picnidias. En el día 25 se observaron las placas con presencia de cirrus (Figura 14 M-O y Figura 15 C) la cual presentó numerosas conidias, la cual fue de formación acrógena, la forma va de subovoide a elipsoidal, con ápice redondeado y base algo trunca, inicialmente fueron hialinas, aseptadas (Figura 16 B) y después se volvieron marrón oscuro, resultado del depósito de melanina, con una septa al medio y cuando maduraron se observó estrías longitudinales en la superficie como se muestra en la Figura 16 A coincidiendo con lo reportado por Phillips *et al.* (2013). En la Figura 18 se presentan los datos promedio de las mediciones de largo y ancho de las conidias maduras en donde las dimensiones de 50 conidias maduras osciló entre 14-15 μm de largo x 27-28 μm de ancho como también se reporta en los estudios Alves *et al.* (2008) en la cual se determinó la variabilidad genética dentro de una colección de aislamientos previamente identificados como *Lasiodiplodia theobromae* los cuales fueron inducidos a su esporulación en ramitas de álamo dando entre los resultados de los aislados conidias con medidas de 13-15 μm de largo x 21-31 μm de ancho, medidas características de *Lasiodiplodia theobromae* presentes también en este ensayo.

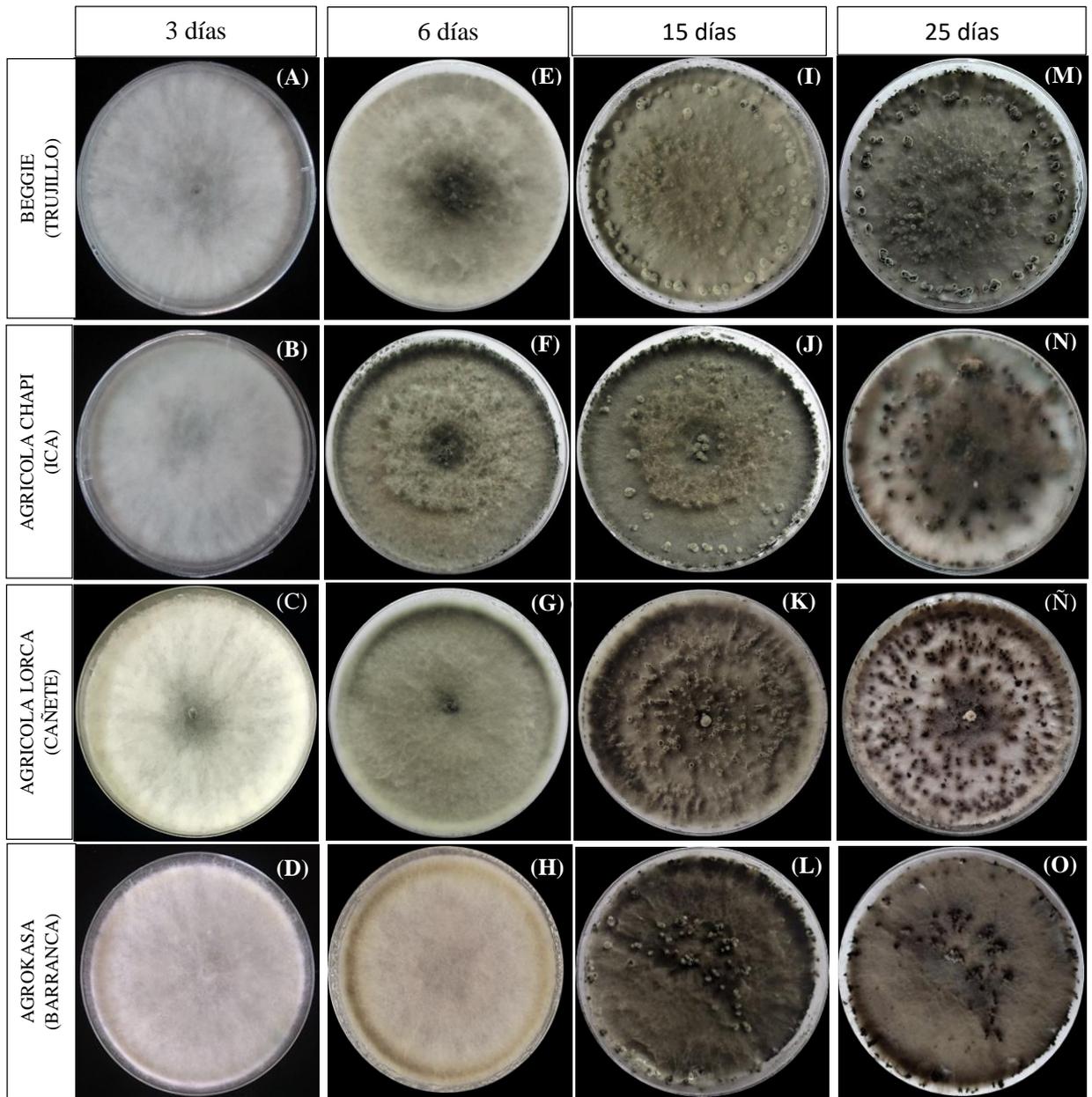


Figura 14: (A-D) Placas con crecimiento de micelio denso blanquecino de *Lasiodiplodia* sp. (3 días después de la siembra) sin formación de picnidias, (E-H) Placas con la presencia del micelio de color gris olivo (6 días después de la siembra), (I-L) Placas con formaciones estromáticas (15 días después de la siembra), (M-O) Placas con presencia de cirrus (25 días después de la siembra).

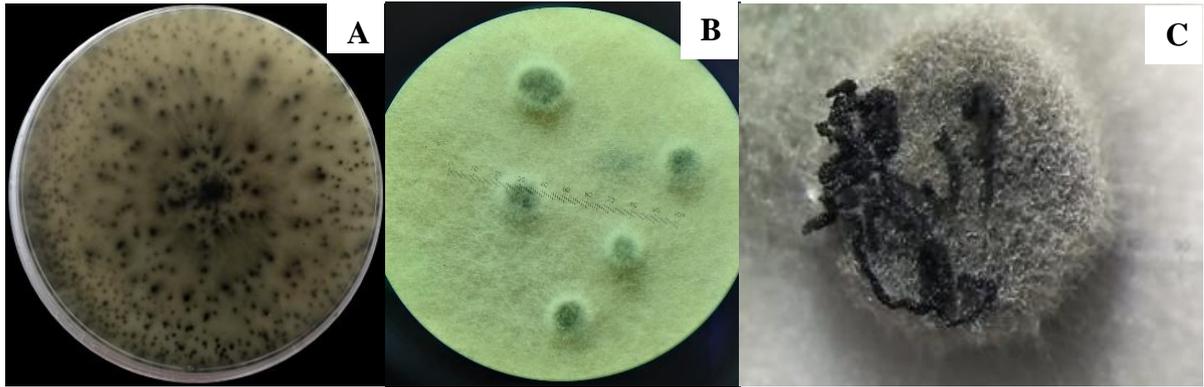


Figura 15: **A.** Indicios de formación estromáticas de la siembra de *Lasiodiplodia* sp. en el reverso de la placa, **B.** Formaciones estromáticas de *Lasiodiplodia* sp. (15 días después de la siembra), **C.** Mucílago o cirrus liberado por las picnidias (25 días de la siembra).

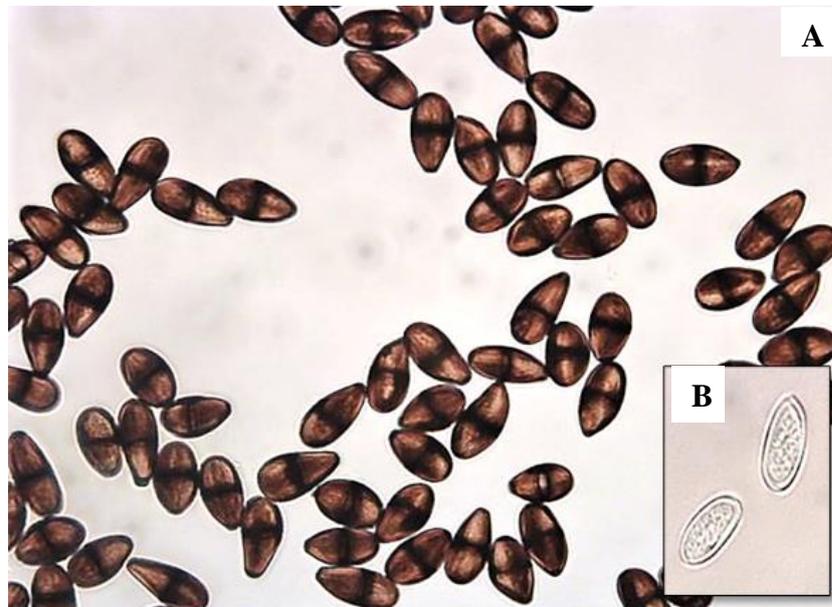


Figura 16: **A.** Conidias maduras pigmentadas con septación y estriaciones longitudinales de *Lasiodiplodia* sp. conidias inmaduras hialinas en formación de septo. **B.** Conidias inmaduras hialinas en formación de septo.

Para la identificación del género taxonómico en base a sus características morfológicas según la Clave de Phillips (1998) se procedió a seguir el siguiente orden: 1(2) conidias formada dentro de un picnidia, 2 (8) conidias marrones (pueden permanecer hialinos durante algún tiempo antes de volverse marrones), 8(9) conidias con ausencia de hendidura, 9(10) conidia con estriaciones longitudinales, 10(11) conidia inmadura sin estriaciones, (11) presencia de parafisas en picnidias llegando así al género *Lasiodiplodia*.



Figura 17: Medida del largo y ancho de conidias *Lasiodiplodia* capturadas en trampas de conidias de fundo Agrokasa localidad de Barranca.

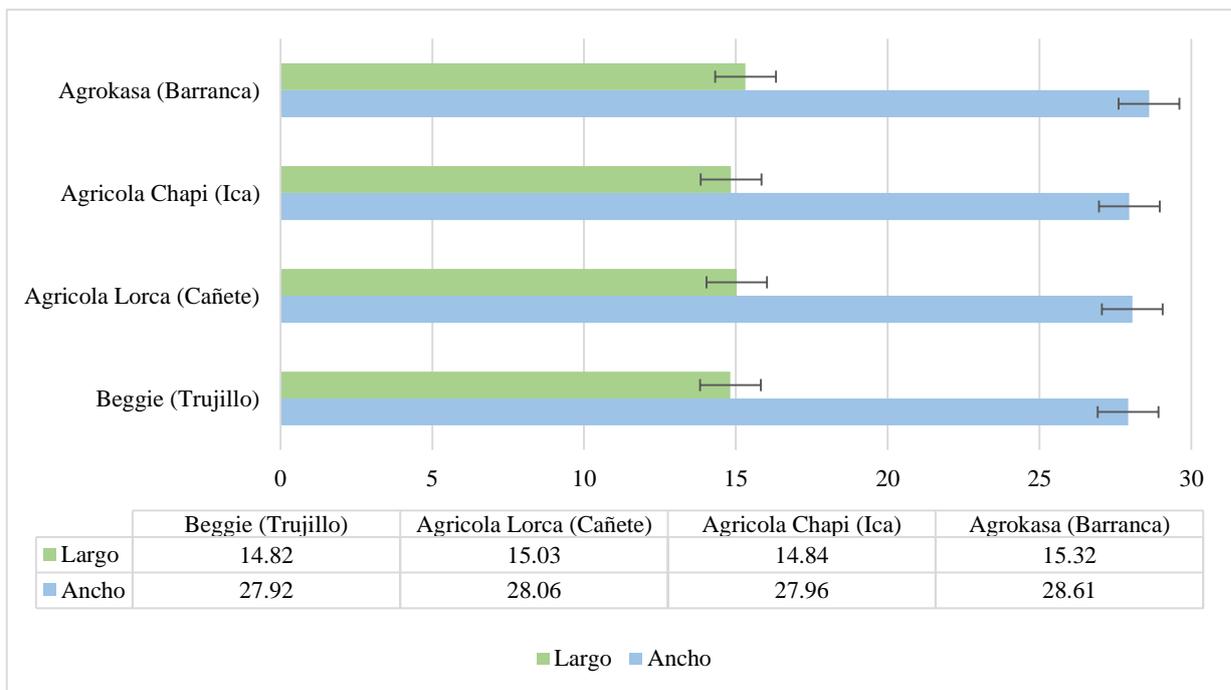


Figura 18: Dimensión de conidias maduras presentes en la siembra de *Lasiodiplodia* de cada uno de los fundos en estudio.

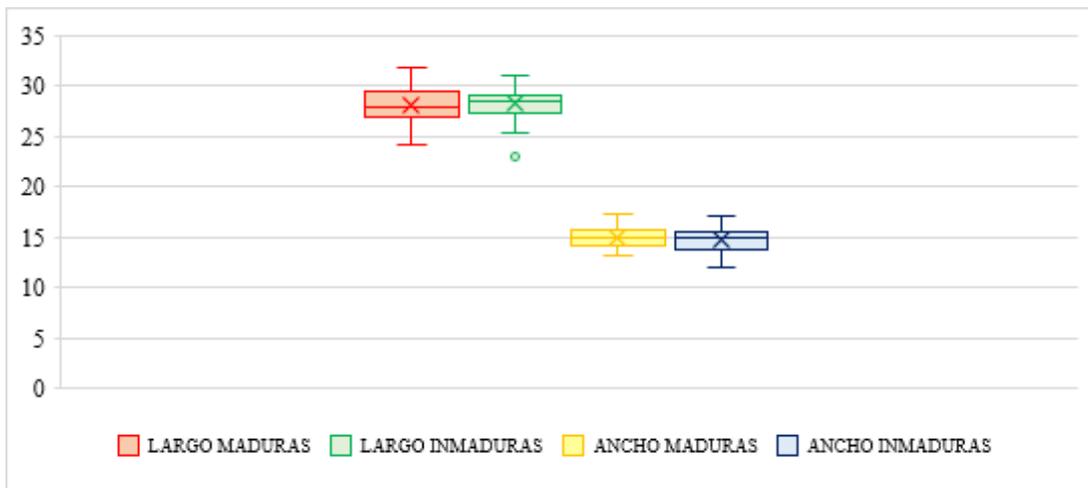


Figura 19: Comparación de conidias maduras e inmaduras por largo y ancho - Beggie (Trujillo).

Se puede observar en la Figura 19 que las conidias maduras e inmaduras, se muestran en largo y ancho de manera distinta, pues presentan un largo entre 25 y 30 μm , encontrándose mayor variabilidad de medidas en los largos maduros. El ancho en ambos casos se ubica alrededor de 15 μm , existiendo mayor variabilidad en los anchos inmaduros.

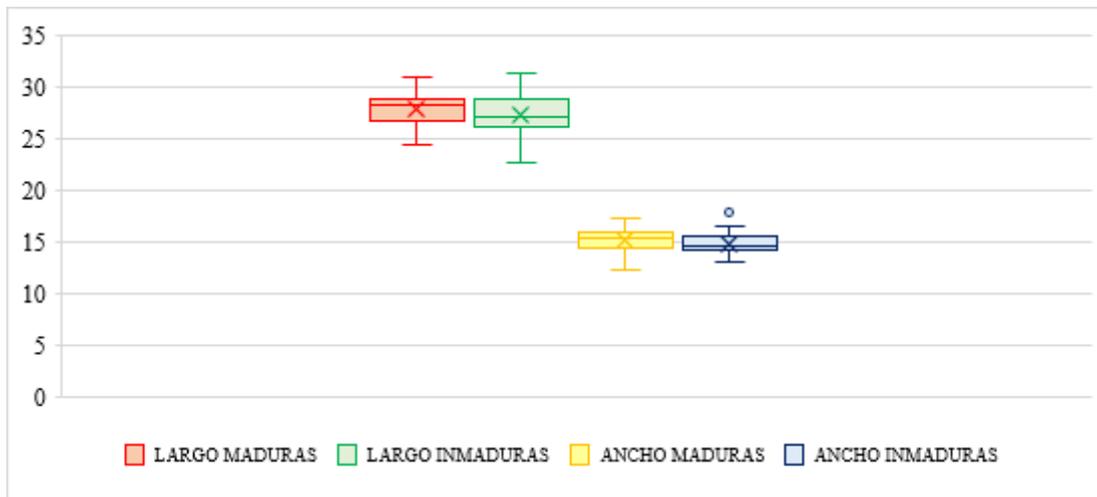


Figura 20: Comparación de conidias maduras e inmaduras por largo y ancho – Agrícola Lorca (Cañete).

Se puede observar en la figura 20 que las conidias maduras e inmaduras, se muestran en largo y ancho de manera distinta, pues presentan un largo entre 25 y 30 μm , encontrándose mayor variabilidad de medidas en los largos inmaduros. El ancho en ambos casos se ubica alrededor de 15 μm , existiendo mayor variabilidad en los anchos maduros.

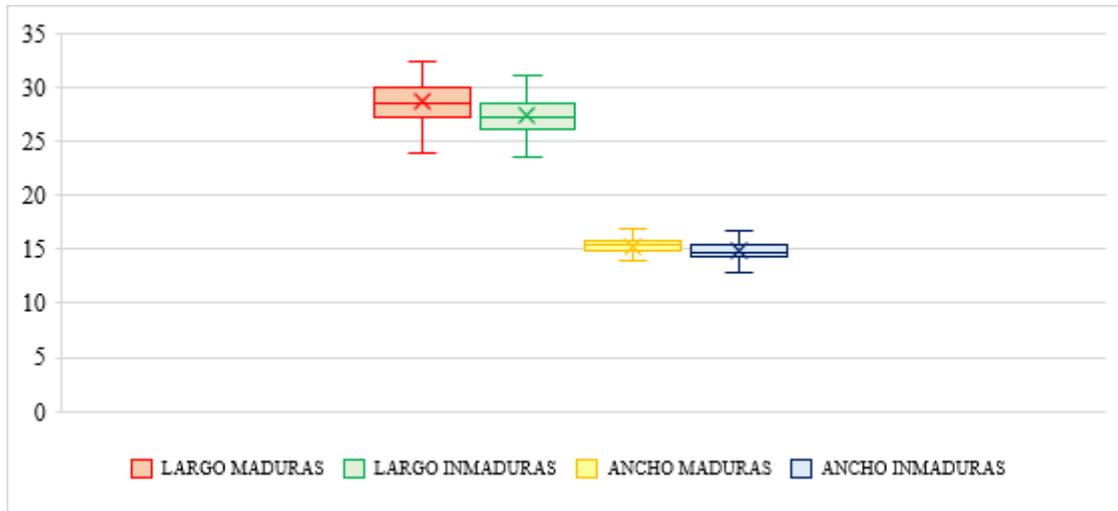


Figura 21: Comparación de conidias maduras e inmaduras por largo y ancho - Agrokasa (Barranca)

Se puede observar en la Figura 21 que las conidias maduras e inmaduras, se muestran en largo y ancho de manera distinta, pues presentan un largo entre 25 y 30 μm , encontrándose mayor variabilidad de medidas en los largos maduros. El ancho en ambos casos se ubica alrededor de 15 μm , existiendo mayor variabilidad en los anchos inmaduros.

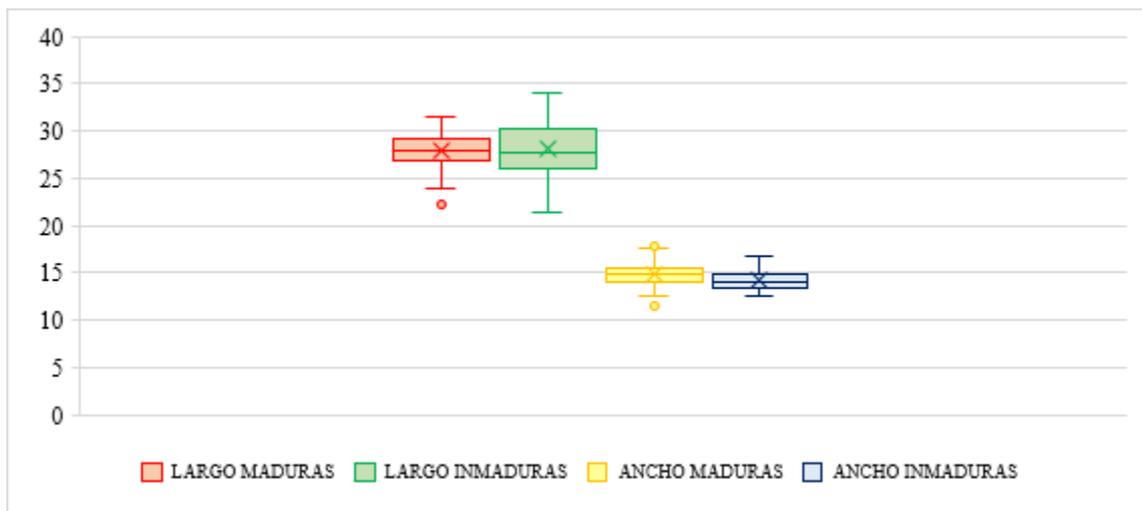


Figura 22: Comparación de conidias maduras e inmaduras por largo y ancho – Agrícola Chapi (Ica).

Se puede observar en la Figura 22 que las conidias maduras e inmaduras, se muestran en largo y ancho de manera distinta, pues presentan un largo entre 25 y 30 μm , encontrándose mayor variabilidad de medidas en los largos inmaduros. El ancho en ambos casos se ubica alrededor de 15 μm , existiendo mayor variabilidad en los anchos maduros.

4.2.2 Análisis molecular

Secuencias representativas de cada especie amplificadas a través del gen TEF1, se analizaron mediante el software MEGA 7.0, para la obtención de un árbol filogenético (Figura 23), en comparación con otras secuencias de *Lasiodiplodia* descargadas de la base de datos GenBank, con una prueba de bootstrap (1000 réplicas) para evaluar el soporte de agrupaciones; además para poder conformar y respaldar el clado formado con las secuencias obtenidas en el estudio se utilizó una secuencia de dos especies totalmente diferentes para que cumpla la función de raíz del árbol.

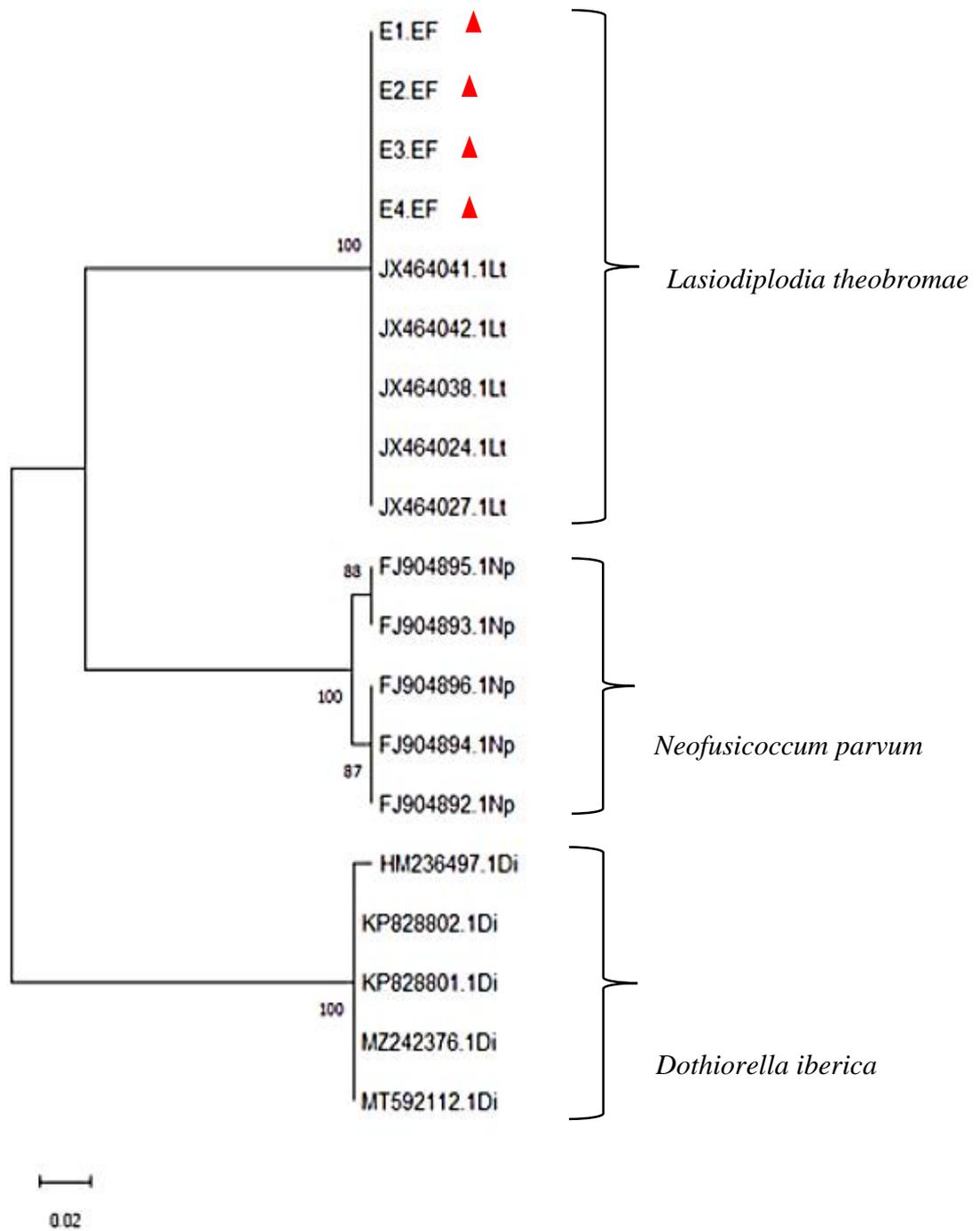


Figura 23: Árbol filogenético construido con secuencias correspondientes a partir del gen ITS y factor de elongación de especies del género *Lasiodiplodia*; las figuras de colores indican aislamientos obtenidos en el estudio.

V. CONCLUSIONES

1. Se contrastó el monitoreo de conidias *Lasiodiplodia* sp. en el cultivo palto Hass en cuatro zonas productoras de la costa del Perú, hallándose diferencias con respecto al promedio mensual de conidias, sin embargo, las cuatro zonas compartieron tendencias similares de aumento y disminución de liberaciones en determinados periodos.
2. Se identificó las etapas fenológicas influyentes para las liberaciones de conidias *Lasiodiplodia* sp., siendo la etapa de crecimiento frutal y próximo a la cosecha donde se presentó mayores promedios de liberaciones mensuales por originar mayor momento de estrés en la planta debido a la carga frutal.
3. Se identificó que la presencia de conidias *Lasiodiplodia* sp. en el palto Hass según las condiciones climatológicas se ve influenciada principalmente por la temperatura mayor o igual a 22°C comenzando el aumento de liberaciones a finales del mes de diciembre 2019 y se extendiéndose hasta marzo del año 2020 abarcando los meses pertenecientes a la estación de verano, sin embargo no resultó un factor determinante para las liberaciones de conidias por otra parte las temperaturas bajas y la alta húmeda relativa en los meses de invierno no presentaron relación con la liberación de conidias *Lasiodiplodia* sp. en los fundos.
4. Se identificó que el promedio mensual de conidias se ve reducido por la labor de poda próxima a épocas invernales así mismo las aplicaciones de fungicidas como cobres mitigan el aumento de las liberaciones.

5. Se identificó las características de las conidias *Lasiodiplodia* sp. a través de la caracterización morfológica la cual mostró que las conidias capturadas pertenecieron al género *Lasiodiplodia* sp. tanto por las características macroscópicas como microscópicas así mismo con el análisis molecular mostro que las 4 secuencias obtenidas de los fondos pertenecieron al género y especie *Lasiodiplodia theobromae*.

VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios similares en más zonas de la costa peruana como la zona central durante mayores periodos de tiempo para observar si la tendencia resulta repetitiva y si hay variabilidad en la liberación de conidias contrastando la investigación con otros factores climáticos como viento, radiación solar y lluvia, así como otras labores en manejo del cultivo.
2. Se recomienda realizar las aplicaciones de cobre a mediados de diciembre para mitigar la llegada de las altas liberaciones de conidias en los meses de verano.

VII. BILIOGRAFÍA

- Accame, S.; Blanco, A.; Sancho, M. & Vasquez, L. (2018). Análisis de los pequeños productores de palto en el Perú. Propuestas para la mejora. Tesis de Maestría, Universidad Esan. Obtenido de: <https://hdl.handle.net/20.500.12640/1384>
- Allende, R.; Sañudo, A.; Leon, J.; Garcia, R. & Picos, P. (2015). Lasiodiplodia theobromae en Cultivos Agrícolas de México: Taxonomía, Hospedantes, Diversidad y Control. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 33(1). Obtenido de: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v33n1/2007-8080-rmfi-33-01-00054-en.pdf>
- Allende, S. (s.f). Evaluación técnico económica de palto, variedad Hass. Tesis de Pregrado, Universidad Católica de Chile. Obtenido de: http://avocadosource.com/papers/chile_papers_a-z/a-b-c/allendesebastian1995.pdf
- Alves, A.; Crous, P.W.; Correia, A. & Phillips, A.J. (2008). Morphological and molecular data reveal cryptic speciation in Lasiodiplodia theobromae. *Fungal diversity*, 28, 1-3. Obtenido de: <https://www.fungaldiversity.org/fdp/sfdp/28-1.pdf>
- Apaza, W. (junio, 2021). Manejo integrado de los canchros y muerte regresiva causada por Lasiodiplodia theobromae en palto en la Irrigación de Chavimochic. (J. d. Chao, Ed.) *Arenagro*(6), 1-10.
- Bazan de Segura, C. (1975). *Enfermedades de cultivos frutícolas y hortícolas*. Jurídica.
- Carbone, I. & Kohn, L.M. (1999). A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous Ascomycetes. *Mycologia*, 91, 553–556. Obtenido de: <https://doi.org/10.2307/3761358>

- Chen, S.; Li, G.; Liu, Q.; Li, J. & Liu, F. (2016). Characteristics of *Lasiodiplodia theobromae* from *Rosa rugosa* in South China. *Crop Protection*, 79, 51-55.
- Colonia, L. (2012). Guía técnica: “Asistencia Técnica dirigida en Manejo en el cultivo de palto”. Agrobanco. pp22.
- Cruz, J.; Cibrian, D.; Ramirez, H.; Garcia, S. (2001). Etiología y síndrome de los canchros *Cryphonectria*, *Lasiodiplodia* y *Fusicoccum* en eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh). *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 7(1), 27-37. Obtenido de: <https://www.redalyc.org/pdf/629/62970105.pdf>
- Delgado, M. (21 de agosto, 2019a). Memoria descriptiva sobre *Lasiodiplodia* sp. *Red Agrícola*. Obtenido de : <https://www.redagricola.com/pe/memoria-descriptiva-lasiodiplodia-sp/>
- Delgado, M. (16 al 17 de agosto, 2019b). Promotores de resistencia sistémica en el control de *Lasiodiplodia theobromae*. V Seminario Internacional de palta Hass Camet Trading S.A.C. Lima, Perú.
- Damm, U.; Crous, P.W. & Fourie, P.H. (2007). Botryosphaeriaceae as potential pathogens of *Prunus* species in South Africa, with descriptions of *Diplodia africana* and *Lasiodiplodia plurivora* sp. nov. *Mycologia*, 99(5), 664-680.
- Denman, S.; Crous P.; Taylor, J.; Kang, C.; Pascoe, I. & Wingfield, M. (2000). An overview of the taxonomic history of *Botryosphaeria* and a re-evaluation of its anamorphs based on morphology and ITS rDNA phylogeny. *Studies in Mycology* 45:125-140.
- De Souza, J. (28 de junio de 2021). La muerte regresiva en palto. *Ecofertilizing*. Obtenido de: <https://ecofertilizing.pe/la-muerte-regresiva-en-palto/>
- Diez, A.M.; Huerga, V.; Ortiz, A. (28 de junio de 2013). Captura y determinación molecular de esporas para la detección temprana de mildiu, oidio y botrytis en viñedo. Interempresas. Obtenido de: <https://www.interempresas.net/Horticola/Articulos/111135-Captura-determinacion-molecular-esporas-deteccion-temprana-mildiu-oidio-botritis-vinedo.html>
- Eskalen, A.; Faber, B.; Bianchi, M. (2013). Spore trapping and pathogenicity of fungi in the Botryosphaeriaceae and Diaporthaceae associated with avocado branch canker in California. *Plant Dis.* 97:329-332.

- FAO [Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura]. (2020). *Análisis del mercado de las principales frutas tropicales de 2019*. Rome.
- Fernández, D.; Loza, E.; Atkins, S.; Fraaije, B. (2010). The CYP51C gene, a reliable marker to resolve interspecific phylogenetic relationships within the *Fusarium* species complex and a novel target for species-specific PCR *International Journal of Food Microbiology*. 144: 301-309
- Fernández, C.; Villavicencio, Y.; Salazar, S. (2017). Seguimiento y manejo nutricional de la palta 'Hass' en el desierto del Perú.
- Gallegos Espinosa, R. (1983). *Algunos aspectos del aguacate y su producción en Michoacan*. Gaceta.
- García, O.; Pereira, S.; Rodríguez, A.; Silverio (2017). Enfermedades del aguacate causada por especies de hongos de la familia Botryosphaeriaceae. Dirección General de Agricultura, Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Aguas. Gobierno de Canarias. 9pp .
- Gardiazabal, F. & Rosemberg, G. (1991). Cultivo de palto. Valparaíso, Chile: Universidad de Valparaíso.
- Guillen, D.; Téliz, D.; Mora, A.; Nieto, A.; Cárdenas, E.; Siebe, C. & Villanueva, J. (2004). La Severidad de la Cenicilla (*Oidium mangiferae* Berthet) del Mango (*Mangifera indica* L.) y su relación con las emisiones de ceniza de una Central Termoeléctrica. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 22(4), 90-99.
- Hanna, E. (2016). Actividad Biológica de *Lasiodiplodia theobromae* aislado de mango de exportación frente a inductores florales y fungicidas en condiciones de laboratorio. [Tesis de grado, Universidad de Guayaquil]. Archivo digital. Obtenido de: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/11574/1/Hanna%20Aguilar%20Evangelyn%20G..pdf>
- Hartman, H. & Kester, D. (1995). Propagación de plantas. Principios y Prácticas. Compañía Editorial Continental. 42 pp.
- Herrera, L. & Mayea, S. (1994). Fitopatología General. La Habana, Cuba: Felix Valera.
- Huarhua, M.; Flores, J.; Acuña, R.; Apaza, W. (2018). Morphological and molecular identification of *Phytophthora cinnamomi* Rands as a causal agent of Crown and root

- rot in Blueberry (*Vaccinium corymbosum*). *Peruvian Journal of Agronomy*, 2(2), 14–21. doi: <http://dx.doi.org/10.21704/pja.v2i2.1202>
- Huerta, G.; Holguín, F.; Benítez, F.A.; Toledo, J. (2009). Epidemiología de la Antracnosis [*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.)] en Mango (*Mangifera indica* L.) cv. Ataulfo en el Soconusco, Chiapas, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 27:93-105
- Ibar, L. (1986). *El cultivo del aguacate, mango, chirimoyo y papaya*. AEDOS.
- INTAGRI [Instituto para la Innovación Tecnológica en Agricultura]. (2018). *El Aguacate en Latinoamérica: Parte I. México, Colombia y Perú*. INTAGRI.
- INTAGRI (2012). *Cultivo del Palto (Persea americana)*. Obtenido de: https://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/20.500.12955/166/1/Cultivo_palto_2012.pdf
- Jan, J. & LeBorgne, S. (2001). Uso de técnicas moleculares para realizar estudios de biodiversidad microbiana en ambientes petroleros. *Biotecnología* 5(3):103-109.
- Khanzada, M.; Lodhi, A. & Shahzad, S. (2005). Chemical control of *Lasiodiplodia theobromae* the causal agent of mango decline in Sindh. *Pakistan Journal of Botany*, 37(4). 1023-1030.
- Kerssies, A.; Alboster, Z. & Frinking, H. (marzo, 1998). Impactacion of conidia of *Botrytis cinerea* in glasshouses on different spore trap orientations. *Crop Protection*, 17(2), 181-183. doi:[https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(97\)00110-5](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(97)00110-5)
- La libertad es el primer productor de palta en el Perú. (24 de septiembre de 2015). *AGRARIA*. Obtenido de: <https://agraria.pe/noticias/la-libertad-es-el-primer-productor-de-palta-9290>
- Lao Olivares, C.P. (2013). *Fertilización en el Cultivo de Palto*. Agrobanco. Obtenido de: <https://www.agrobanco.com.pe/data/uploads/ctecnica/031-g-palto.pdf>
- Llanos, A.K.; Apaza, W.E. (2021). Distribution of stem-end rot on the canopy in ‘Hass’ avocado trees in two coastal areas in Peru. *Peruvian Journal of Agronomy*, 5(2), 60–70. Obtenido de: <https://doi.org/10.21704/pja.v5i2.1771>

- Loredo, J. & Mena, J. (2009). Manual de prácticas del laboratorio de Fitopatología. Obtenido de: <https://1library.co/document/z158mvy-manualdeprcticasfitopatologia-phpapp.html>
- Merle, I. (2014). *Efecto de la sombra y del microclima sobre la dispersión de las uredosporas de Hemileia vastatrix en sistemas agroforestales de café (Coffea arabica var. 'Caturra') en Turrialba, Costa Rica*. CATIE, Ingeniería Agronómica.
- MIIDAGRI, INIA y CONAFRUT. (1997). El cultivo del palto: aspectos de la producción, manejo en postcosecha y comercialización. Boletín técnico N° 9:47.
- MIDAGRI [Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego]. (2015). *La Palta: Producto Estrella de Exportación*.
- MIDAGRI (2019). *Situación de Mercado Internacional de la Palta*. Lima. Obtenido de: <https://bibliotecavirtual.midagri.gob.pe/index.php/analisis-economicos/estudios/2019/28-la-situacion-del-mercado-internacional-de-la-palta/file>
- Mena, F. (2004). *Fenología del Palto, su uso como base del manejo productivo*. 2 Seminario Internacional de Paltos, September 29 - October 1 2004, Chile.
- Mont, R. (2019). El mango y sus enfermedades. Servicio Nacional de Sanidad Agraria. Lima. 48 pp.
- Noriega, D.H.; Pereyda, J. & Garrido, E.R. (2017). Effects of climatological factors on fluctuation of spores at mango trees cv. Ataulfo, in Guerrero. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35, 227-241. doi:10.18781/R.MEX.FIT.1610-1
- Nelson, P.E.; Dignani, M.C. & Anaissie, E.J. (1994). Taxonomy, biology, and clinical aspects of Fusarium species. *Clinical microbiology reviews*, 7(4), 479-504. Obtenido de: <https://doi.org/10.1128/CMR.7.4.479>
- Ortiz, M. (octubre, 2019). Palto: visión de Perú, el segundo exportador a nivel mundial. *Red Agrícola*. Obtenido de: <https://www.redagricola.com/cl/palto-vision-de-peru-el-segundo-exportador-a-nivel-mundial/>
- Peterson, A. (1959). *Entomological Techniques How to Work with Insects*, The Ohio State University, Columbus, Ohio. Ed. Edwardas brothers Inc. Michigan, USA. 435 p.

- Picos-Muñoz, P.A.; Garcia-Estrada, R.S.; Leon-Felix, J.; Sañudo-Barajas, A. & Allende-Molar, R. (2015). Lasiodiplodia theobromae en Cultivos Agrícolas de México: Taxonomía, Hospedantes, Diversidad y Control. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 33(1), 54-74. Obtenido de: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092015000100054&lng=es&nrm=iso
- Phillips, A.; Alves, A.; Abdollahzadeh, J.; Slippers, B.; Wingfield, M.; Groenewald, J. & Crous, P. (2013). The Botryosphaeriaceae: genera and species known from culture. *Studies in mycology*, 76, 54-74. Obtenido de: <https://doi.org/10.3114/sim0021>
- Ploetz, R.; Zentmyer, G.; MisHijima, W.; Rohrbach, K. (1994). Compendium of Tropical Fruit Diseases. APS Press. USA. 88p.
- Quiroz, I. (octubre, 2019). Retos de las principales hortalizas de exportación. *Red Agrícola* (60), 2-62. Obtenido de: <https://www.redagricola.com/pe/assets/uploads/2019/10/raperu60.pdf>
- Rangel, E. (2016). Respuesta a inhibidores de melanina y condiciones de estrés en el hongo Lasiodiplodia theobromae. Tesis de Maestría en Ciencias, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. Obtenido de: <http://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/45>
- Ríos, J.; Quintero, J.; Apodaca, M.; Loreda, J.; Fierro, D. (2008). Manual de prácticas de Micología. Departamento de Parasitología Rama de Fitopatología. Universidad autónoma de Sinaloa. Escuela superior de agricultura del Valle del Fuerte. 13-15.
- Rivera, R.D.; Valarezo, O.; Vera, L.; Chavarria, J.E. & Guzman, A.M. (2014). Efecto de la poda sanitaria sobre la enfermedad de Escoba de Bruja en el cultivo de cacao. *Intropica*, 9(1), 129-136. Obtenido de: <http://revistas.unimagdalena.edu.co/index.php/intropica/>
- Rodriguez, E.; Maldonado, E. & Alama, I. (enero, 2006). Lasiodiplodia theobromae afectando el Cultivo de Palto (Persea americana) en las condiciones de Piura-Perú. *Universalia*, 11(2), 4-13. Obtenido de: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2924536>
- Rodriguez, E. (2010). *Lasiodiplodia theobromae: Fitopatógeno de mango (Mangifera indica) y palto (Persea americana)*. Valencia.

- Roelfs, A.; Rowel, J. & Roming, R. (1970). Sampler for monitoring cereal rust uredosporas in rain Phytopathology. *60*(1), 187-188.
- Rubini, M.R.; Silva-Ribeiro, R.T.; Pomella A.W.; Maki, C.S.; Rowel, J.; Araujo, W.L.; Dos Santos, D.R. & Azevedo, J.L. (2005). Diversity of endophytic fungal community of cacao (*Theobroma cacao* L.) and biological control of *Crinipellis pernicioso*, causal agent of Witches' Broom Disease. *International Journal of Biological Sciences*. *1*(1), 24-33. Obtenido de: <https://www.ijbs.com/v01p0024.htm>
- Salvo, J. (2017). *Manual de Cultivo del Palto*. INIA.
- SENASICA [Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria]. (13 de junio de 2013). Desarrollo de un prototipo de trampa para uredosporas de roya del cafeto. *El Cafetalero*, 1-12. Obtenido de: <https://royacafe.lanref.org.mx/Documentos/DisenodelaTrampadeEsporas.pdf>
- SENASICA (3 de marzo de 2017). México: Primer productor mundial de aguacate. Gobierno de México. Obtenido de: <https://www.gob.mx/senasica/articulos/mexico-primer-productor-mundial-de-aguacate?idiom=es>
- SENASA [Servicio Nacional de Sanidad Agraria]. (28 de octubre de 2021). Exportaciones de palta crecieron un 30% durante la campaña. Obtenido de: <https://www.gob.pe/institucion/senasa/noticias/549944-exportaciones-de-palta-crecieron-un-30-durante-la-campana-2021>
- Settani, L. & Corsetti, A. (2007). The use of multiplex PCR to detect and differentiate food- and beverage-associated microorganisms. *Microbiological Method*, *69*(1), 1-22. Obtenido de: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2006.12.008>.
- Slippers, B.; Crous, P.W.; Denman, S.; Coutinho, T.A.; Wingfield, B.D. & Wingfield, B.D. (2004). Combined multiple gene genealogies and phenotypic characters differentiate several species previously identified as *Botryosphaeria dothidea*, *Mycologia*, *96*(1), 83-101. doi: 10.1080/15572536.2005.11833000
- Tamayo, P. (2007). Enfermedades del aguacate. *Politécnica*, *4*, 51-70
- Teliz, D. & Mora, A. (2007). *El aguacate y su manejo integrado* (Segunda ed.). Mundi Prensa.

- Tucuch, C.F.; Palacios, P.A.; Ku, N.R. & Guzmán, E.C. (2005). Manejo del cultivo de mango en el estado de Campeche. INIFAP. Folleto técnico. 33-34.
- UNAH [Universidad Nacional Autónoma de México]. (2014). Aislamiento de hongos fitopatógenos. La Ceiba, Atlántida. 13p.
- Valencia, A.L.; Gil, P.; Rosales, M.; Martiz, J. & Link, A. (septiembre, 2020). Botryosphaeriaceae: agentes causales de enfermedades de la madera y pudrición peduncular del fruto. *Red Agrícola*. Obtenido de: <https://www.redagricola.com/co/botryosphaeriaceae-agentes-causales-de-enfermedades-de-la-madera-y-pudricion-peduncular-del-fruto/>
- Vásquez, A.; Mora, J.; Cárdenas, E. & Téliz, D. (2009). Etiología e histopatología de la muerte descendente de árboles de mamey (*Pouteria sapota* (Jacq) HE Moore y Steam) en el estado de Guerrero, México. *Agrociencia*, 43(7), 717-728. Obtenido de: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952009000700006
- Ventura, J. A.; Costa, H. & Da Silva Tatagiba, J. (2004). Papaya diseases and integrated control. In *Diseases of Fruits and Vegetables: Volume II*, 201-268.
- Whiley, A.; Schaffer, B. & Wolstenholme, B. (2002). *The Avocado: Botany Production and uses* (Segunda ed.). CABI

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Representación gráfica del sentido de conteo de conidias.

a)



Figura 24: Representación gráfica del sentido de conteo de conidias.

Anexo 2. Protocolo de preparación de medio PDA-O.

Se utilizará:

- 39 g de Papa Dextrosa Agar (PDA) por litro de medio.
- 1000 ml de agua destilada para un litro de medio.

Utilizar un vaso de precipitado, calentar la mezcla hasta que se disuelva el PDA (Papa dextrosa Agar). Autoclavar a 121°C por 25 minutos. En una cámara de flujo laminar cuando el medio PDA esté a punto óptimo de plaqueo verter el medio y adicionar 0.5 gr/L de Oxitetraciclina, homogenizar la solución y luego verter entre 15 a 20 ml. de medio por placa estéril.

Anexo 3: Cebadores utilizados para amplificar gDNA del gen EF- α de *Lasiodiplodia* spp.

Gen objetivo	Cebador	Dirección	Secuencia (5'-3')
EF- α	EF1- 728F	hacia adelante	CATCGAGAAGTTCGAGAAGG
	EF1- 986R	Reverso	TACTTGAAGGAACCCTTACC

Fuente: Llanos (2021) (como se cita en Carbone y Kohn, 1999)

Anexo 4: Secuencias de la región TEF1, de muestras en estudio para el género *Lasiodiplodia* obtenidas del secuenciamiento.

E1EF

CCCCTCTCGACTTCGGCGCTGCAGCGCTGCGGCGCACAGTCCGCCTTATCGCTT
 TGGTGAGGGGCATTTTTTCGTGGTGGGGTTTGGCCCGCGCTAGCCTCGTCTGGGT
 TCGGCAAATGACCGCACTTGGTTTTTTTTGCGACCGGCGTCTGGCCGACGCGCC
 TCCCCACTAGCGAAAAATGCTCTGACCACTCATGTACCGTCGTACGAGCAAAG
 GCTAACGCGCCCCACTACAGGAAGCCGCTGAGCTCGGCAAGGGTTCCTTCAAG
 TACGCCTGGGTTCTTGACAAGCTTAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCAT
 CGACATTGCCCTCTGGAAGTTCGAGACCCCGAAGTACTATGTCACCGTCATCG
 ACGCCCCGGTCACCGTGACTTCATCAAGAACATGATCACTGGTACCTCGCAG
 GCCGACTGCGCCATTCTCATCATTGCCGCCGGTACTGGTGAGTTCGAGGCTGGT
 ATCTCCAAGGATGGCCAGACCCGTGAGCACGCTCTGCTCGCCTACACCCTCGG
 TGTC

E2EF

CCCCTCTCGACTTCGGCGCTGCAGCGCTGCGGCGCACAGTCCGCCTTATCGCTT
 TGGTGAGGGGCATTTTTTCGTGGTGGGGTTTGGCCCGCGCTAGCCTCGTCTGGGT
 TCGGCAAATGACCGCACTTGGTTTTTTTTGCGACCGGCGTCTGGCCGACGCGCC
 TCCCCACTAGCGAAAAATGCTCTGACCACTCATGTACCGTCGTACGAGCAAAG
 GCTAACGCGCCCCACTACAGGAAGCCGCTGAGCTCGGCAAGGGTTCCTTCAAG
 TACGCCTGGGTTCTTGACAAGCTTAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCAT
 CGACATTGCCCTCTGGAAGTTCGAGACCCCGAAGTACTATGTCACCGTCATCG
 ACGCCCCGGTCACCGTGACTTCATCAAGAACATGATCACTGGTACCTCGCAG

GCCGACTGCGCCATTCTCATCATTGCCGCCGGTACTGGTGAGTTCGAGGCTGGT
ATCTCCAAGGATGGCCAGACCCGTGAGCACGCTCTGCTCGCCTACACCCTCGG
TGTC

E3EF

GCCCGCGCTAGCCTCGTCTGGGTTTCGGCAAATGACCGCACTTGGTTTTTTTTGC
GACCGGCGTCTGGCCGACGCGCCTCCCCACTAGCGAAAATGCTCTGACCACTC
ATGTACCGTCGTACGAGCAAAGGCTAACGCGCCCCACTACAGGAAGCCGCTGA
GCTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTACGCCTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCG
AGCGTGAGCGTGGTATCACCATCGACATTGCCCTCTGGAAGTTCGAGACCCCG
AAGTACTATGTCACCGTCATCGACGCCCCGGTCACCGTGACTTCATCAAGAA
CATGATCACTGGTACCTCGCAGGCCGACTGCGCCATTCTCATCATTGCCGCCGG
TACTGGTGAGTTCGAGGCTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACCCGTGAGCACG
CTCTGCTCGCCTACACCCTCGGTGTCAAGCAGCTCATCGTTGCCATCAACAAGA
TGGACACCACCAAGTGGTCTGAGGAGCGTTAC

E4EF

GCCCGCGCTAGCCTCGTCTGGGTTTCGGCAAATGACCGCACTTGGTTTTTTTTGC
GACCGGCGTCTGGCCGACGCGCCTCCCCACTAGCGAAAATGCTCTGACCACTC
ATGTACCGTCGTACGAGCAAAGGCTAACGCGCCCCACTACAGGAAGCCGCTGA
GCTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTACGCCTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCG
AGCGTGAGCGTGGTATCACCATCGACATTGCCCTCTGGAAGTTCGAGACCCCG
AAGTACTATGTCACCGTCATCGACGCCCCGGTCACCGTGACTTCATCAAGAA
CATGATCACTGGTACCTCGCAGGCCGACTGCGCCATTCTCATCATTGCCGCCGG
TACTGGTGAGTTCGAGGCTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACCCGTGAGCACG
CTCTGCTCGCCTACACCCTCGGTGTCAAGCAGCTCATCGTTGCCATCAACAAGA
TGGACACCACCAAGTGGTCTGAGGAGCGTTAC

Anexo 5: Promedio de largo y ancho de conidias maduras presentes en la siembra de *Lasiodiplodia* de cada uno de los fundos en estudio.

REPE- TICIÓN	BEGGIE (TRUJILLO)		AGRÍCOLA LORCA (CAÑETE)		AGRÍCOLA CHAPI (ICA)		AGROKASA (BARRANCA)	
	LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO
1	28.933	14.842	31.325	14.791	28.786	17.567	29.633	16.29
2	28.31	15.344	31.221	13.716	29.529	14.973	23.951	15.039
3	30.659	16.15	28.584	13.996	26.616	14.211	30.848	15.874
4	25.292	14.77	27.553	15.444	26.214	15.959	26.172	16.268
5	27.018	15.198	25.599	14.201	27.948	17.922	30.085	15.801
6	28.855	15.487	28.895	17.315	27.944	16.89	29.163	14.362
7	26.671	16.363	30.067	14.918	31.562	14.501	30.08	14.977
8	27.81	13.952	30.067	14.918	30.4	15.513	29.212	15.511
9	27.861	17.83	28.951	13.83	28.301	14.963	28.08	15.363
10	27.746	16.386	31.848	13.609	25.85	14.654	30.038	15.603
11	29.981	15.582	30.324	13.353	30.67	14.936	27.484	15.332
12	28.236	15.391	27.02	16.607	24.799	14.134	26.95	14.774
13	28.493	13.216	29.485	16.512	25.369	15.27	27.429	15.964
14	26.01	13.63	26.45	14.482	27.121	14.836	26.35	16.217
15	29.892	14.643	27.049	15.11	28.985	14.542	26.213	15.564
16	27.268	15.120	28.997	14.468	30.054	15.935	26.182	16.26
17	25.96	14.447	24.167	16.664	27.388	14.93	28.767	15.825
18	29.369	13.818	26.005	15.726	28.258	16.332	28.342	16.902
19	28.67	13.322	24.46	14.234	27.092	14.501	28.062	15.366
20	25.479	16.555	31.25	13.853	29.808	16.027	30.306	15.291
21	24.351	16.172	29.296	15.914	29.121	15.603	30.869	15.557
22	27.802	14.202	28.943	15.525	27.779	13.743	31.857	15.688
23	26.551	14.973	31.123	14.725	29.672	14.514	30.928	16.329
24	26.392	13.807	27.706	15.11	30.381	14.93	31.644	15.467
25	27.532	15.529	27.863	15.778	26.844	13.929	29.302	14.149
26	28.427	15.541	24.441	14.784	29.059	14.102	27.736	15.364
27	30.932	14.098	29.116	16.29	28.349	15.789	28.341	14.521
28	29.691	15.016	25.714	15.176	30.141	12.955	27.144	14.788
29	28.377	14.321	28.527	15.482	22.221	11.591	26.14	15.877
30	28.774	16.014	30.062	15.423	27.936	12.613	28.975	16.857
31	28.439	14.182	29.327	15.294	27.045	13.824	30.737	14.867
32	26.739	14.453	27.345	13.351	26.501	16.079	29.381	14.105
33	27.327	15.497	27.292	13.104	30.041	15.21	32.15	13.974
34	29.707	14.28	29.867	16.977	24.015	15.066	28.855	14.531

REPE-TICIÓN	BEGGIE (TRUJILLO)		AGRÍCOLA LORCA (CAÑETE)		AGRÍCOLA CHAPI (ICA)		AGROKASA (BARRANCA)	
	LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO
35	29.838	15.369	27.575	14.369	28.563	15.385	28.307	15.544
36	29.956	14.586	27.055	15.295	30.715	14.205	28.347	15.614
37	27.727	14.195	28.739	16.144	26.91	14.888	31.468	15.304
38	28.512	14.223	27.076	14.981	27.831	14.492	27.808	14.411
39	30.031	13.008	25.176	13.199	24.643	15.881	27.043	14.4
40	28.673	14.764	27.472	15.705	28.63	13.378	27.311	15.125
41	29.976	13.488	28.053	15.356	27.727	13.946	25.386	15.048
42	28.047	14.002	29.627	14.738	28.833	14.807	28.87	15.295
43	28.329	15.023	25.859	14.416	26.002	13.946	27.94	13.902
44	24.746	14.546	26.676	14.114	29.809	14.357	29.199	14.352
45	25.478	14.511	27.513	17.398	28.178	15.274	29.159	14.385
46	27.98	15.264	26.345	13.967	29.084	14.542	29.372	14.947
47	26.4	15.648	28.195	14.344	27.622	13.824	32.374	16.081
48	28.339	13.698	27.078	15.214	27.41	13.376	26.727	15.816
49	27.04	14.116	26.42	15.11	26.216	16.079	26.652	15.511
50	25.155	14.414	28.272	16.548	28.074	14.888	27.085	15.528
PROMEDIO	27.916	14.82	28.061	15.032	27.961	14.836	28.609	15.318

Anexo 6: Promedio de largo y ancho de conidias inmaduras presentes en la siembra de *Lasiodiplodia* de cada uno de los fundos en estudio

REPE-TICIÓN	BEGGIE (TRUJILLO)		AGRÍCOLA (LORCA)		AGRÍCOLA (CHAPI)		AGROKASA (BARRANCA)	
	LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO
1	28.295	15.830	27.626	17.170	29.292	15.651	29.292	15.651
2	28.391	16.634	28.778	15.918	25.768	13.876	25.768	13.876
3	24.413	16.237	28.424	12.829	26.611	15.650	26.611	15.650
4	29.067	16.964	29.113	15.126	25.683	15.210	25.683	15.210
5	31.283	14.796	30.177	15.864	29.613	13.824	29.613	13.824
6	29.223	15.867	30.050	16.089	26.122	15.011	26.122	15.011
7	30.031	16.273	28.989	15.744	29.953	15.275	29.953	15.275
8	26.764	15.729	29.622	15.309	32.584	15.591	32.584	15.591
9	29.506	16.358	28.613	15.607	33.961	14.938	33.961	14.938
10	26.586	16.249	27.716	15.023	29.515	13.897	29.515	13.897
11	28.938	15.616	28.590	15.093	31.860	14.290	31.860	14.290
12	26.226	15.704	29.803	14.917	26.424	14.408	26.424	14.408
13	26.309	13.539	29.047	13.558	31.601	15.539	31.601	15.539

REPE- TICIÓN	BEGGIE (TRUJILLO)		AGRÍCOLA (LORCA)		AGRÍCOLA (CHAPI)		AGROKASA (BARRANCA)	
	LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO
14	28.211	15.334	27.357	14.460	31.095	15.688	31.095	15.688
15	27.978	15.424	29.790	16.707	30.624	14.408	30.624	14.408
16	28.140	14.499	30.281	13.352	31.601	15.539	31.601	15.539
17	27.751	14.223	30.807	13.865	31.558	15.338	31.558	15.338
18	28.690	15.979	27.943	14.596	30.001	14.491	30.001	14.491
19	26.029	14.458	29.834	14.882	33.154	13.826	33.154	13.826
20	24.373	17.310	30.212	14.605	30.486	14.557	30.486	14.557
21	27.801	14.661	28.229	15.404	27.782	13.417	27.782	13.417
22	30.741	15.829	30.999	14.295	28.737	14.681	28.737	14.681
23	27.051	16.681	26.332	13.817	28.386	13.021	28.386	13.021
24	29.966	15.488	28.710	14.295	24.238	14.374	24.238	14.374
25	28.325	15.986	23.001	15.395	24.434	12.665	24.434	12.665
26	25.682	16.551	28.503	16.778	24.333	13.574	24.333	13.574
27	28.963	16.680	27.472	13.865	27.140	14.290	27.140	14.290
28	26.124	14.417	28.392	13.193	25.859	14.290	25.859	14.290
29	26.304	16.590	25.663	13.855	26.542	13.356	26.542	13.356
30	25.382	12.737	28.182	13.499	24.196	13.903	24.196	13.903
31	22.627	13.422	28.013	15.197	26.078	12.566	26.078	12.566
32	28.455	15.317	25.271	15.309	24.198	14.155	24.198	14.155
33	27.141	13.327	28.778	14.525	27.852	16.603	27.852	16.603
34	27.581	15.688	26.511	15.809	25.346	14.678	25.346	14.678
35	29.862	14.447	28.280	15.101	26.304	16.759	26.304	16.759
36	27.050	14.952	26.773	15.663	21.465	13.856	21.465	13.856
37	28.096	13.465	27.225	13.817	26.308	12.886	26.308	12.886
38	26.650	14.653	26.852	13.808	26.943	13.548	26.943	13.548
39	25.594	15.984	28.600	15.023	28.149	12.754	28.149	12.754
40	26.628	15.908	26.670	16.473	26.021	12.626	26.021	12.626
41	25.340	12.720	25.740	16.966	30.614	14.744	30.614	14.744
42	25.693	12.290	28.636	15.232	28.069	13.475	28.069	13.475
43	26.298	14.660	28.779	14.587	26.329	12.767	26.329	12.767
44	29.508	16.135	30.381	13.865	26.985	13.203	26.985	13.203
45	29.365	14.404	26.192	14.369	27.322	13.749	27.322	13.749
46	27.047	15.088	27.328	14.802	31.382	12.630	31.382	12.630
47	25.086	14.526	29.065	15.395	27.139	12.525	27.139	12.525
48	25.091	14.620	28.961	14.258	28.277	13.730	28.277	13.730
49	27.122	13.906	27.410	14.677	30.223	12.863	30.223	12.863
50	22.710	15.218	28.056	12.024	29.786	13.565	29.786	13.565
PROMEDIO	27.039	14.962	27.979	14.696	27.702	13.922	27.702	13.922

Anexo 7: Promedio semanal de temperatura (°C) y humedad relativa (%) desde julio del año 2019 hasta diciembre del 2020 en el fundo Beggie - Trujillo.

AÑO/MES/SEMANA	TEMPERATURA PROMEDIO (°C)	HUMEDAD RELATIVA PROMEDIO (%)
2019		
JULIO		
27	18.97	86.79
28	19.00	84.07
29	18.04	84.50
30	17.10	89.71
31	15.48	90.83
AGOSTO		
31	17.99	83.25
32	16.97	85.93
33	18.15	84.14
34	17.95	84.86
35	18.08	84.83
SEPTIEMBRE		
35	18.45	84.50
36	18.54	82.50
37	17.64	84.07
38	18.10	84.64
39	17.87	86.00
40	18.65	84.00
OCTUBRE		
40	17.78	87.58
41	18.42	81.86
42	18.88	83.21
43	18.27	81.79
44	19.28	80.88
NOVIEMBRE		
44	19.78	81.00
45	19.85	80.79
46	20.41	82.14
47	20.01	88.93
48	21.13	83.33
DICIEMBRE		
48	21.60	81.50
49	21.99	81.64
50	21.33	84.71
51	21.72	84.79
52	22.59	81.86
53	23.45	81.00

AÑO/MES/SEMANA	TEMPERATURA PROMEDIO (°C)	HUMEDAD RELATIVA PROMEDIO (%)
2020		
ENERO		
1	23.31	80.40
2	22.81	82.00
3	23.45	79.71
4	25.09	79.36
5	24.43	82.60
FEBRERO		
5	24.05	83.75
6	23.98	82.29
7	23.94	82.57
8	24.82	81.36
9	25.23	80.00
MARZO		
9	25.00	83.00
10	25.48	76.50
11	25.54	74.43
12	24.91	77.71
13	24.14	77.79
14	23.98	76.50
ABRIL		
14	23.30	80.40
15	23.13	81.50
16	22.98	80.00
17	21.51	81.29
18	21.71	80.88
MAYO		
18	21.57	83.17
19	21.52	83.71
20	20.73	82.79
21	20.15	83.07
22	20.94	83.07
JUNIO		
23	18.98	86.21
24	18.13	85.43
25	18.30	84.71
26	18.06	85.07
27	16.73	88.75
JULIO		
27	16.44	84.80
28	16.18	87.14
29	16.72	86.14

AÑO/MES/SEMANA	TEMPERATURA PROMEDIO (°C)	HUMEDAD RELATIVA PROMEDIO (%)
30	16.80	84.71
31	15.97	84.40
AGOSTO		
31	17.30	83.00
32	16.29	83.86
33	16.85	83.29
34	16.60	83.71
35	17.39	82.36
36	16.30	87.00
SEPTIEMBRE		
36	15.88	86.58
37	16.21	85.50
38	17.35	84.29
39	17.80	83.50
40	17.28	83.50
OCTUBRE		
40	17.61	84.25
41	18.22	82.71
42	18.35	82.79
43	18.11	82.93
44	18.01	84.42
NOVIEMBRE		
44	17.30	83.50
45	17.01	82.64
46	17.94	81.57
47	18.43	81.64
48	18.77	82.14
49	20.25	82.50
DICIEMBRE		
49	20.08	81.67
50	20.36	82.64
51	20.65	82.29
52	20.91	80.64
53	20.75	84.75

Anexo 8: Promedio semanal de temperatura (°C) y humedad relativa (%) desde junio del año 2019 hasta diciembre del 2020 en el fundo Agrícola Lorca - Cañete.

AÑO/MES/ SEMANA	TEMPERATURA PROMEDIO (°C)	HUMEDAD RELATIVA PROMEDIO (%)
2019		
JUNIO		
22	17.23	92.00
23	16.41	92.64
24	16.80	90.93
25	15.59	93.64
26	16.47	89.64
JULIO		
27	16.01	92.29
28	15.89	90.93
29	15.45	92.21
30	15.21	91.43
31	14.02	91.17
AGOSTO		
31	15.09	90.00
32	14.71	90.71
33	14.64	91.36
34	15.99	88.50
35	15.65	89.67
SEPTIEMBRE		
35	16.75	88.00
36	16.44	87.86
37	15.56	89.86
38	15.87	90.36
39	17.39	87.07
40	16.85	89.50
OCTUBRE		
40	16.59	90.42
41	16.17	86.64
42	17.87	85.14
43	17.37	84.57
44	18.39	83.25
NOVIEMBRE		
44	19.62	82.33
45	18.49	85.14
46	19.04	86.36

AÑO/MES/ SEMANA	TEMPERATURA PROMEDIO (°C)	HUMEDAD RELATIVA PROMEDIO (%)
47	19.93	84.21
48	20.56	83.92
DICIEMBRE		
48	21.20	82.50
49	20.77	84.21
50	21.12	83.79
51	21.43	83.57
52	21.71	83.93
53	21.93	86.25
2020		
ENERO		
1	23.21	82.10
2	22.96	82.71
3	22.60	84.00
4	24.97	78.79
5	24.47	82.90
FEBRERO		
5	24.38	83.50
6	23.99	81.29
7	23.78	82.71
8	25.13	79.93
9	25.13	80.50
MARZO		
9	25.05	77.50
10	25.14	77.36
11	25.55	76.79
12	25.06	77.43
13	24.16	78.86
14	23.08	83.00
ABRIL		
14	23.40	81.70
15	23.14	82.71
16	23.30	79.00
17	21.64	79.14
18	21.28	77.25
MAYO		
18	23.22	82.00
19	21.11	82.36
20	20.11	82.79
21	17.22	87.29
22	19.21	86.21
JUNIO		

AÑO/MES/ SEMANA	TEMPERATURA PROMEDIO (°C)	HUMEDAD RELATIVA PROMEDIO (%)
23	18.11	87.00
24	17.85	87.36
25	17.08	87.36
26	16.50	89.00
27	17.50	87.50
JULIO		
27	16.31	87.40
28	16.23	88.71
29	16.55	88.71
30	16.31	87.71
31	15.97	89.10
AGOSTO		
31	15.38	88.50
32	15.81	88.64
33	15.84	88.36
34	15.69	88.14
35	16.19	89.57
36	15.95	91.50
SEPTIEMBRE		
36	15.40	88.75
37	16.26	87.50
38	17.33	86.00
39	17.94	86.43
40	17.80	85.83
OCTUBRE		
40	18.26	85.88
41	18.37	84.21
42	18.24	85.29
43	18.91	85.29
44	18.33	84.50
NOVIEMBRE		
44	17.45	86.50
45	18.11	84.29
46	19.15	84.29
47	18.55	84.00
48	19.49	84.43
49	20.50	82.50
DICIEMBRE		
49	21.23	82.17
50	21.71	81.07
51	21.33	81.50
52	21.84	81.93

AÑO/MES/ SEMANA	TEMPERATURA PROMEDIO (°C)	HUMEDAD RELATIVA PROMEDIO (%)
53	23.60	77.00

Anexo 9: Promedio semanal de temperatura (°C) y humedad relativa (%) desde junio del año 2019 hasta diciembre del 2020 en el fundo Agrícola Chapi - Ica.

AÑO/MES/ SEMANA	TEMPERATURA PROMEDIO (°C)	HUMEDAD RELATIVA PROMEDIO (%)
2019		
JUNIO		
22	20.40	67.00
23	19.33	69.36
24	18.95	73.86
25	17.24	75.07
26	18.24	72.93
JULIO		
27	18.19	76.43
28	18.39	72.71
29	18.00	73.71
30	17.69	70.64
31	16.17	70.17
AGOSTO		
31	17.16	79.25
32	17.65	71.71
33	17.92	73.93
34	19.07	73.50
35	18.32	69.00
SEPTIEMBRE		
35	20.30	65.50
36	19.61	67.29
37	19.00	68.50
38	19.24	70.43
39	21.05	67.93
40	21.30	71.50
OCTUBRE		
40	19.92	70.92
41	19.16	65.00

AÑO/MES/ SEMANA	TEMPERATURA PROMEDIO (°C)	HUMEDAD RELATIVA PROMEDIO (%)
42	20.30	65.79
43	20.11	65.00
44	21.06	63.13
NOVIEMBRE		
44	22.82	63.00
45	21.66	69.07
46	21.74	70.79
47	22.78	68.50
48	22.78	67.67
DICIEMBRE		
48	25.50	62.00
49	23.41	70.36
50	23.29	69.71
51	23.82	66.50
52	24.59	67.71
53	25.65	67.75
2020		
ENERO		
1	24.97	70.40
2	25.20	68.43
3	25.30	70.50
4	25.36	75.00
5	26.02	75.10
FEBRERO		
5	28.78	68.25
6	25.64	66.86
7	26.11	66.14
8	26.41	69.86
9	27.05	69.50
MARZO		
9	26.55	69.00
10	26.96	66.07
11	26.71	67.29
12	26.28	67.79
13	25.83	68.14
14	25.13	69.00
ABRIL		

AÑO/MES/ SEMANA	TEMPERATURA PROMEDIO (°C)	HUMEDAD RELATIVA PROMEDIO (%)
14	25.36	68.40
15	25.34	69.36
16	24.61	69.86
17	23.14	66.21
18	22.51	68.13
MAYO		
18	24.80	63.83
19	23.13	69.21
20	21.84	71.14
21	19.76	70.21
22	20.21	75.86
JUNIO		
23	19.02	74.71
24	19.65	73.50
25	17.79	75.29
26	18.29	71.71
27	17.03	71.75
JULIO		
27	17.20	72.50
28	16.63	73.43
29	17.90	71.14
30	17.59	71.14
31	16.96	69.60
AGOSTO		
31	17.95	68.25
32	18.09	67.57
33	17.85	69.14
34	17.60	72.50
35	18.94	72.71
36	18.10	71.00
SEPTIEMBRE		
36	17.58	69.50
37	18.24	66.57
38	19.86	67.64
39	20.16	66.79
40	20.28	69.00
OCTUBRE		

AÑO/MES/ SEMANA	TEMPERATURA PROMEDIO (°C)	HUMEDAD RELATIVA PROMEDIO (%)
40	19.21	72.88
41	21.09	66.50
42	21.51	66.21
43	20.76	68.14
44	21.64	67.42
NOVIEMBRE		
44	20.60	70.00
45	20.39	69.50
46	20.48	67.21
47	21.18	63.86
48	21.44	67.07
49	22.75	71.00
DICIEMBRE		
49	23.42	68.25
50	23.55	68.21
51	23.64	66.93
52	23.32	71.43
53	24.40	71.25

Anexo 10: Promedio semanal de temperatura (°C) y humedad relativa (%) desde junio del año 2019 hasta diciembre del 2020 en el fundo Agrokasa - Barranca.

AÑO/MES SEMANA	TEMPERATURA PROMEDIO (°C)	HUMEDAD RELATIVA PROMEDIO (%)
2019		
JULIO		
27	18.97	86.79
28	19.00	84.07
29	18.04	84.50
30	17.10	89.71
31	15.48	90.83
AGOSTO		
31	17.99	83.25
32	16.97	85.93
33	18.15	84.14
34	17.95	84.86
35	18.08	84.83
SEPTIEMBRE		

AÑO/MES SEMANA	TEMPERATURA PROMEDIO (°C)	HUMEDAD RELATIVA PROMEDIO (%)
35	18.45	84.50
36	18.54	82.50
37	17.64	84.07
38	18.10	84.64
39	17.87	86.00
40	18.65	84.00
OCTUBRE		
40	17.78	87.58
41	18.42	81.86
42	18.88	83.21
43	18.27	81.79
44	19.28	80.88
NOVIEMBRE		
44	19.78	81.00
45	19.85	80.79
46	20.41	82.14
47	20.01	88.93
48	21.13	83.33
DICIEMBRE		
48	21.60	81.50
49	21.99	81.64
50	21.33	84.71
51	21.72	84.79
52	22.59	81.86
53	23.45	81.00
2020		
ENERO		
1	23.31	80.40
2	22.81	82.00
3	23.45	79.71
4	25.09	79.36
5	24.43	82.60
FEBRERO		
5	24.05	83.75
6	23.98	82.29
7	23.94	82.57
8	24.82	81.36
9	25.23	80.00
MARZO		
9	25.00	83.00
10	25.48	76.50
11	25.54	74.43

AÑO/MES SEMANA	TEMPERATURA PROMEDIO (°C)	HUMEDAD RELATIVA PROMEDIO (%)
12	24.91	77.71
13	24.14	77.79
14	23.98	76.50
ABRIL		
14	23.30	80.40
15	23.13	81.50
16	22.98	80.00
17	21.51	81.29
18	21.71	80.88
MAYO		
18	21.57	83.17
19	21.52	83.71
20	20.73	82.79
21	20.15	83.07
22	20.94	83.07
JUNIO		
23	18.98	86.21
24	18.13	85.43
25	18.30	84.71
26	18.06	85.07
27	16.73	88.75
JULIO		
27	16.44	84.80
28	16.18	87.14
29	16.72	86.14
30	16.80	84.71
31	15.97	84.40
AGOSTO		
31	17.30	83.00
32	16.29	83.86
33	16.85	83.29
34	16.60	83.71
35	17.39	82.36
36	16.30	87.00
SEPTIEMBRE		
36	15.88	86.58
37	16.21	85.50
38	17.35	84.29
39	17.80	83.50
40	17.28	83.50
OCTUBRE		
40	17.61	84.25

AÑO/MES SEMANA	TEMPERATURA PROMEDIO (°C)	HUMEDAD RELATIVA PROMEDIO (%)
41	18.22	82.71
42	18.35	82.79
43	18.11	82.93
44	18.01	84.42
NOVIEMBRE		
44	17.30	83.50
45	17.01	82.64
46	17.94	81.57
47	18.43	81.64
48	18.77	82.14
49	20.25	82.50
DICIEMBRE		
49	20.08	81.67
50	20.36	82.64
51	20.65	82.29
52	20.91	80.64
53	20.75	84.75