

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
ANTONIO ABAD DEL CUSCO**

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

TROPICALES

CARRERA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

TROPICAL



"TESIS FINANCIADA POR LA UNSAAC"

**"IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL Y CONTROL QUÍMICO
DE LA MUERTE REGRESIVA (*Phoma sp.*) DE BROTES EN CAFÉ
(*Coffea arabica* L.), EN SANTA ANA - LA CONVENCION - CUSCO".**

EJECUTORA: Br. CHAVELI ELORRIETA ZAMALLOA

ASESORA: Mg. Sc. FANNY ROSARIO MÁRQUEZ ROMERO

QUILLABAMBA - 2015

DEDICATORIA

A mis padres, porque con gran amor, esfuerzo y sacrificio me sacaron adelante brindándome todo lo que estuvo a su alcance para que culmine mis estudios logrando uno de los proyectos más importantes de mi vida.

A mis hermanos, Juan Carlos, Juan Gabriel y Johan Louis, por su gran amor, comprensión y apoyo incondicional en los momentos más difíciles de mi vida.

A Lucas por darme felicidad por siempre, siendo mi mejor amigo.

A mis compañeros de la carrera profesional de Agronomía Tropical que directa o indirectamente han contribuido y posibilitado la realización de la presente tesis y que, sin duda, sería interminable numerarlos.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por concederme la salud y la fuerza para poder culminar este trabajo de investigación.

A la UNSAAC Y FACAT por permitirme realizar mis estudios y hacer posible esta investigación.

Al Concejo de Investigación por brindarme apoyo económico para el desarrollo de la tesis.

A cada uno de mis docentes de la Facultad de Ciencias Agrarias Tropicales, por sus enseñanzas impartidas durante mi época Universitaria.

A la Mg. Sc. Fanny Rosario Márquez Romero, por el asesoramiento de esta tesis y sus valiosos aportes y sugerencias.

Al Biólogo Tito Guevara Zapata por sus aportes como coasesor.

Al Ing. Dilman Paricoto Apaza y a la Ing. Angela Karina Vilchez Melo por su incansable apoyo.

Finalmente deseo expresar mi más profunda gratitud a todos aquellos que han hecho posible la culminación del presente trabajo de investigación.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	7
2.1. EL CULTIVO DE CAFÉ.....	7
2.1.1. ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN DEL CAFÉ.....	7
2.1.2. EL CULTIVO DE CAFÉ EN EL PERÚ.....	8
2.1.3. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.....	10
2.1.4. MORFOLOGÍA DEL CAFÉ.....	10
2.1.5. PRINCIPALES CULTIVARES NACIONALES.....	12
2.1.6. ECOLOGÍA Y ADAPTACIÓN.....	15
2.2. MUERTE REGRESIVA DE BROTES EN CAFÉ.....	16
2.2.1. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.....	16
2.2.2. IMPORTANCIA ECONÓMICA.....	17
2.2.3. TAXONOMÍA.....	18
2.2.4. SÍNTOMAS.....	18
2.2.5. ETIOLOGÍA.....	20
2.2.6. CICLO BIOLÓGICO.....	21
2.2.7. EPIDEMIOLOGÍA.....	22
2.3. CONTROL QUÍMICO.....	22
2.4. DESCRIPCIÓN DE LOS FUNGICIDAS.....	23
2.4.1. TIPOS DE FUNGICIDAS.....	24
2.4.2. CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES DE LOS FUNGICIDAS.....	24
2.5. MEDIOS DE CULTIVO PARA HONGOS.....	29
2.5.1. COMPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVOS.....	29
2.5.2. PREPARACION DE MEDIOS.....	30
2.5.3. TIPOS DE MEDIOS DE CULTIVOS PARA HONGOS.....	31
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
3.1. UBICACIÓN GEOGRÁFICA Y CLIMÁTICA.....	32
3.2. PLANO DE UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO.....	33
3.3. MATERIALES.....	34
3.3.1. FASE DE LABORATORIO.....	34
3.3.2. FASE DE VIVERO.....	35
3.4. MÉTODOS.....	36
3.4.1. FASE DE LABORATORIO.....	36
3.4.2. FASE DE VIVERO.....	44
VI. RESULTADOS.....	48
4.1. RESULTADOS.....	48
4.1.1. A NIVEL DE LABORATORIO.....	48
4.1.2. A NIVEL DE VIVERO.....	61

V.	CONCLUSIONES.....	Pág. 69
VI	RECOMENDACIONES.....	70
VII.	RESUMEN.....	71
VIII.	BIBLIOGRAFÍA.....	73

LISTA DE CUADROS

		Pág.
1	Características morfológicas de <i>Phoma sp.</i> Realizada por Sutton.....	20
2	Fungicidas usados para el control de la muerte regresiva en brotes de café.....	42
3	Tratamientos en estudio a nivel de vivero.....	44
4	Escala de evaluación para el cultivar Catimor.....	45
5	Resultados del análisis micológico de semillas de café por el método papel toalla.....	50
6	Diámetro promedio (mm) del crecimiento micelial del fitopatógeno en diferentes medios de cultivo, a los 10 días después de la siembra.....	52
7	Análisis de variancia del crecimiento micelial (mm) del fitopatógeno en diferentes medios de cultivo, a los 10 días después de la siembra.....	53
8	Prueba de Tukey para promedios del crecimiento micelial (mm) del fitopatógeno en los diferentes medios de cultivo, a los diez días después de la siembra.....	53
9	Inhibición del crecimiento micelial de <i>Phoma tarda</i> con diferentes fungicidas y dosis....	55
10	Análisis de variancia del crecimiento micelial " <i>in vitro</i> " de <i>Phoma tarda</i> en tratamientos con fungicidas.....	57
11	Prueba de Tukey (0.05) para el crecimiento micelial promedio de <i>Phoma tarda</i> en tratamientos con fungicidas.....	57
12	Prueba de Tukey (0.05) para el crecimiento micelial promedio de <i>Phoma tarda</i> en tratamientos con diferentes dosis.....	58
13	Análisis de variancia del crecimiento micelial " <i>in vitro</i> " de efectos simples de la interacción (Fungicidas en diferentes dosis, Diferentes dosis en fungicidas).....	60
14	Promedio del porcentaje del área foliar afectado por <i>Phoma tarda</i>	61
15	Porcentaje promedio de área foliar afectado por <i>Phoma tarda</i> , a los 42 días.....	62
16	Análisis de variancia del porcentaje de área foliar afectada por <i>Phoma tarda</i> , a los 42 días.....	63
17	Prueba de Tukey, para valores promedios del porcentaje de área foliar afectada por <i>Phoma tarda</i> , a los 42 días.....	63

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
1 Distribución física de los tratamientos a nivel de laboratorio.....	40
2 Distribución de los tratamientos en estudio a nivel "in vitro".....	43
3 Escala diagramática de evaluación propuesta por SENASA para la mancha foliar de los brotes de café en el cultivar Catimor.....	46
4 Distribución al azar y Diseño Experimental a nivel de Vivero.....	47
5 Aislamiento en Cámara húmeda de hojas y brotes de café.....	49
6 Aislamiento en medio de cultivo PDA de <i>phoma sp</i>	49
7 Porcentaje de semillas infestadas de café con y sin pergamino.....	51
8 Análisis micológico de semillas de café, con y sin pergamino por el método papel toalla, donde se observa el crecimiento de <i>Penicillium sp.</i> y <i>Aspergillus sp</i>	51
9 Crecimiento micelial (mm) del fitopatógeno en diferentes medios de cultivo, a los diez días después de la siembra.....	54
10 Medición a los 3 días del crecimiento de <i>Phoma tarda</i> en diferentes medios como: PDA, CMA, OMA Y Jugo V8.....	54
11 Crecimiento micelial (mm) del <i>Phoma tarda</i> en los tratamientos con fungicidas.....	58
12 Promedio del porcentaje del área foliar afectado por <i>Phoma tarda</i>	61
13 Promedio del porcentaje del área foliar afectado por <i>Phoma tarda</i>	64
14 Vista de todos los tratamientos en estudio en el vivero de la Facultad de Agronomía Tropical.....	64
15 Evaluación de los diferentes tratamientos y dosis en plantas de café cultivar Catimor.....	65

I. INTRODUCCIÓN

El café (*Coffea arabica* L.), es uno de los productos de agro exportación que genera divisas al país y constituye la principal fuente de generación de ingresos, siendo el sustento económico de un importante número de familias. Con el transcurso de los años, tanto en mercado nacional e internacional hay mayor demanda de productos de calidad; es decir, el mercado de hoy exige un café de buena calidad de tasa, aroma, estética y sobre todo una alta calidad sanitaria (Tirado, 2007).

A nivel mundial, el Perú ocupa el séptimo lugar como país exportador de café con un aporte del 3.4% del total; sin embargo, es el primer país exportador de café orgánico aportando más del 50% del total mundial exportado. Según la Junta Nacional de Café (2009) una de las principales limitantes de la producción es la deficiencia en la transferencia de tecnologías apropiadas para el manejo del cultivo en vivero y campos de producción, plagas y enfermedades; por otro lado, el 70% de las áreas cafetaleras se manejan en forma tradicional y la edad promedio de más del 60% de los cafetales está por encima de 15 años.

La superficie agrícola asciende a 7 125 007 hectáreas, de estas 4 155 678 hectáreas, es decir el 58,3% del total de tierras agrícolas presentan cultivos, entre ellas destacan las dedicadas tanto a cultivos industriales, como para el consumo humano directo, entre ellos podemos mencionar el café que constituye el 10,2% del total de superficie. Y como cultivo permanente sobresale con 425,4 mil hectáreas según CENAGRO (2012).

En la provincia de La Convención la superficie total del cultivo de café es de 48,723 ha. Y a nivel del departamento de Cusco la superficie total del cultivo de café asciende a 52,222.6 ha. (MINAG. 2013).

La producción de café presenta frecuentemente problemas fitosanitarios a nivel de germinaderos, viveros y plantas en producción, siendo las de mayor importancia la incidencia y el grado de severidad de manchas necróticas en las hojas, causados por hongos fitopatógenos, que provocan síntomas de lesiones necróticas, lo que ocasiona pérdidas hasta en un 75 % (Innovación y competitividad del Agro Peruano - INCAGRO, 2009).

Existen diversos patógenos que afectan las plántulas de café a nivel de vivero. Schuller (2003), describe síntomas parecidos a los observados en el distrito de Santa Ana, en la etapa de vivero en Tingo María, causada por *Rhizoctonia sp.* y *Fusarium sp.* (damping off) y *Cercospora coffeicola* (mancha foliar). Dado que no existe información sobre enfermedades a nivel de plántulas, para las condiciones del distrito de Santa Ana, se ejecuta la presente investigación a fin de identificar al agente causal de la muerte regresiva de brotes de café y hallar posibles fungicidas comerciales que puedan controlar dicha enfermedad.

Por lo expuesto, se consideró necesario realizar un estudio al respecto a fin de identificar al patógeno involucrado en el desarrollo y diseminación de la muerte regresiva en brotes de café; así como, desarrollar metodologías de control más eficientes para solucionar el problema.

PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Planteamiento del problema

En la provincia de La Convención, una de las limitantes es el gran porcentaje de agricultores que practican una agricultura tradicional, donde no se realiza un buen manejo agronómico (selección de semilla, fertilización, podas, control fitosanitario) adecuado y oportuno, esto hace que la producción de café presente frecuentemente problemas de enfermedades a nivel de germinaderos, viveros y plantas en producción, siendo las de mayor importancia la incidencia y el grado de severidad de manchas necróticas de las hojas, causados por hongos fitopatógenos, que provocan síntomas de lesiones necróticas en los brotes, lo que ocasiona pérdidas del 75%. Es así, que las manchas foliares en el cultivo de café se presentan a nivel de la filosafera por tanto, en el planteamiento de un manejo integrado de enfermedades el control químico es el componente más importante, seguido de un control cultural y control genético. Nuestros agricultores no tienen una cultura en el uso, momento de aplicación y dosis óptima de fungicidas a usarse para cada patosistema.

Formulación del problema

_ ¿Cuál será el agente causal de la muerte regresiva de los brotes?

_ ¿El análisis micológico determinará si es por semilla la transmisión del agente causal?

_ ¿El mejor medio de cultivo será Corl meal agar (CMA)?

_ ¿Qué efecto tendrá la aplicación de los fungicidas a nivel in vitro y/o vivero como: Tebuconazole + Trifloxystrobin, Trifloxystrobin, Iprodione, Pirimetanil, Triadimenol + Tebuconazole y Metalaxil + Mancozeb; en el control del agente causal de la muerte regresiva de brotes en plantas de café?

OBJETIVOS

Objetivo General:

Identificar el agente causal y evaluar el efecto de fungicidas comerciales en el control de la muerte regresiva de brotes en plantas de café (*C. arábica* L.).

Objetivos Específicos:

1. Aislar e identificar el agente causal de la muerte regresiva de brotes en café
2. Realizar el análisis micológico de semillas de café.
3. Determinar el mejor medio de cultivo para el fitopatógeno aislado.
4. Determinar la eficacia in vitro de los fungicidas: Tebuconazole + Trifloxystrobin, Trifloxystrobin, Iprodione, Pirimetanil, Triadimenol + Tebuconazole y Metalaxil + Mancozeb para el control del agente causal de la muerte regresiva de brotes en café.
5. Evaluar la eficacia en vivero de los fungicidas: Tebuconazole + Trifloxystrobin, Trifloxystrobin, Iprodione, Pirimetanil, Triadimenol + Tebuconazole y Metalaxil + Mancozeb para el control del agente causal de la muerte regresiva de brotes en café.

JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS

Justificación

Schuller (2003) menciona en 1995 se reportó en Perú, en las zonas altas del valle de Chanchamayo la presencia de *Phoma sp.*, actualmente se encuentra diseminada en todas las zonas altas cafetaleras del país, así mismo acotó que mayormente en las semillas se encontraban hongos secundarios y esto debido a la humedad del café. Con este trabajo podremos conocer si el patógeno es diseminado a través de las semillas.

Según SENASA (2001) el porcentaje de incidencia en Cusco – La Convención a nivel nacional y local para *Phoma sp.* fue de 15%. Actualmente en la provincia de La Convención no se conocía el agente causal a nivel de especie y es por esa razón importante realizar estudios, así mismo para realizar estudios posteriores no se conocía el mejor medio de cultivo para el Fitopatógeno.

El cultivo del Café es de mucha importancia para los agricultores de la Provincia de La Convención, porque para muchos es la base de su economía, por eso es necesario realizar este trabajo de investigación para conocer a nivel de género y especie el agente causal de la muerte regresiva de brotes en café y así mismo poder realizar el control químico con el producto y la dosis adecuada para el Fitopatógeno.

Actualmente debido al desconocimiento de la epidemiología del patógeno, la incidencia de esta enfermedad es fuerte, debido a que las medidas de control son inoportunas e ineficientes.

Así mismo, el uso de productos químicos sin dosis adecuadas y momento oportuno de aplicación en la mayoría de los agroecosistemas del cultivo de café genera la poca efectividad de estos.

Hipótesis

Hipótesis planteada

1. El agente causal de la muerte regresiva de brotes en café, es *Phoma* sp.
-El agente causal de la muerte regresiva de brotes en café, no es *Phoma* sp.
2. El agente causal de la muerte regresiva de brotes en café, es diseminado por semilla
-El agente causal de la muerte regresiva de brotes en café, no es diseminado por semilla
3. El mejor medio de cultivo para el agente causal de la muerte regresiva de brotes en café, es Papa dextrosa agar (PDA).
-El mejor medio de cultivo para el agente causal de la muerte regresiva de brotes en café, no es Papa dextrosa agar (PDA).
4. El fungicida que tuvo mejor control a nivel "in vitro" es Nativo.
-El fungicida que tuvo mejor control a nivel "in vitro" no es Nativo.
5. El fungicida que tuvo mejor control a nivel de "vivero" es Rovral.
-El fungicida que tuvo mejor control a nivel de "vivero" no es Rovral.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. EL CULTIVO DE CAFÉ

2.1.1. Origen y distribución del café

El café (*Coffea arabica* L.), es nativo de las tierras altas de Etiopía, en elevaciones que oscilan los 1350 y los 2000 msnm en Etiopía y Sudán (África). Este fue introducido por inmigrantes franceses en América Central a principios del siglo XVII, pero luego los holandeses extendieron su cultivo hacia América del Sur (Crespo, 1996). Este es un arbusto o árbol pequeño liso, de hojas lustrosas. Las hojas son relativamente pequeñas, pero varían en anchura, promediando de 12 a 15 cm de largo y más o menos 6 cm de ancho, de forma oval o elíptica, acuminadas, cortas, agudas en la base, algunas veces un tanto onduladas, siempre vivas. Tradicionalmente, fue utilizado por las tribus nómadas en África. Aunque existen entre cien especies de café, solamente hay cinco que son utilizadas para el consumo: *Coffea liberica*, *Coffea excelsa* Cher, *Coffea bengalensis* y mayormente *Coffea arabica* y *Coffea canephora* (Gotteland, 2007).

La introducción original del café arábico a América se hizo en el año 1717 con semillas provenientes de plantas que crecían en el Jardín botánico de Ámsterdam, que procedían de Java; Haití fue el primer centro productor de América (Castañeda, 1997; Crespo, 1996). Las primeras plantaciones que se establecieron en América procedían entonces de una o pocas plantas madres las mismas que originaron una gran cantidad de individuos de alta uniformidad pertenecientes al cultivar “Typica” (Crespo, 1996).

El café arábico, es de mejor calidad y se cultiva más en América Central, Colombia y Kenya. El café robusta (*C. canephora*) tiene un sabor más fuerte y más cafeína, 40 a 50% más que *C. arabica* L. (Gotteland, 2007).

Dentro de los cafés arábigos están los denominados cafés especiales, estos son aquellos que conservan una consistencia en sus características físicas (forma, tamaño, humedad, apariencia y defectos), sensoriales (olfativos, visuales y gustativos), también en las prácticas culturales usadas (recolección, lavado y secado) y en los procesos finales (tostado, molienda y preparación) estas características los distinguen del común de los cafés y por los cuales los clientes están dispuestos a pagar un precio superior (Gotteland, 2007).

2.1.2. El cultivo de café en el Perú

Hacia 1875, como consecuencia de la colonización de Chanchamayo por los colonos Italianos, se produce un notable incremento de la producción, ellos vieron las condiciones apropiadas del valle para el cultivo y así se iniciaron las primeras exportaciones del Perú con un tipo especial de café apreciado por su suavidad que ganó prestigio en los mercados europeos (Crespo, 1996).

Alemania, Italia, Inglaterra, Bélgica y Francia fueron los compradores importantes del café peruano hasta la segunda guerra mundial; la producción era baja, pero tenía asegurado el mercado por su calidad. En 1940 se inicia una nueva etapa de la producción cafetalera en el Perú al abrirse nuevas zonas de producción en San Martín y posteriormente en Tingo María, Junín, Cerro de Pasco, Cusco y otras.

La mayor parte de la superficie cafetalera se encuentra en la selva.

La reforma agraria afectó enormemente el desarrollo de la agricultura peruana y fue un factor determinante para la aparición de pequeños caficultores que en la actualidad constituyen el grueso de los productores de café en nuestro país (Crespo, 1996).

En el año 2010 se exportaron 4 millones 987 mil quintales de café verde, por un valor FOB de US\$ 888 millones (JNC, 2011), el 26% de las agro exportaciones del país. Durante las dos últimas décadas este ha sido el principal producto de agro exportación, lo que significa que ha generado más divisas que cualquier otro cultivo. Existen cuatro regiones cafetaleras: Región Nor Oriental, Nor Occidental, Central y la Región Sur Oriental, cultivándose desde los 700 hasta los 2000 msnm, con precipitaciones que varían de 800 mm a 2500 mm por año, el “Típica” representa el 70% de la producción y el 30% restante corresponde a *Canephora* (Castañeda, 2000; JNC, 2004).

En el Perú se cultiva exclusivamente la especie *Coffea arabica*. Los cafetales se manejan bajo sombra, y los caficultores mantienen una tendencia a la diversificación productiva. Según los datos del último censo agropecuario, de 1993, el 85% de las familias cafetaleras son productores a pequeña escala, con unidades productivas de media a cinco hectáreas. La actividad cafetalera se desarrolla en 67 provincias, 338 distritos rurales y 11 regiones (Crespo, 1996) y es practicada por pequeños productores quienes en promedio conducen 2.5 hectáreas. Siendo la productividad promedio de 11 a 14 qq/ha/año (CAFÉ PERU, 2011).

2.1.3. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

El café se describe taxonómicamente de acuerdo al sistema de Cronquist (1981), de la siguiente manera:

Reino: Vegetal

División: Magnoliophyta

Clase: Dicotyledoneae

Subclase: Asteridae

Orden: Rubiales

Familia: Rubiaceae

Género: *Coffea*

Especie: *Coffea arabica* L.

2.1.4. MORFOLOGÍA DEL CAFÉ

Raíz.- El sistema radicular, está constituido por la raíz principal o pivotante que puede alcanzar 50 ó más centímetros de profundidad, de la cual se originan las raíces secundarias que ejercen la función de anclaje y las raíces terciarias de las que emergen las raicillas (cabellera), que sirven a la planta para la absorción de agua y nutrientes. El desarrollo normal del sistema radicular del cafeto es muy importante para su crecimiento, producción y longevidad. Por lo que desde la etapa de semillero y vivero se debe lograr una raíz principal bien formada, para obtener un excelente crecimiento en el campo (Castañeda, 1997).

Tallo.- El cafeto es un arbusto que está formado por un tallo central en cuyo extremo se encuentra la “yema” terminal u ortotrópica”, que es la responsable del crecimiento vertical, formando nudos y entrenudos. De los nudos se forman las ramas laterales o bandolas y las crinolinias o palmillas (crecimiento plagiotrópico). A través de ambos tipos de crecimiento se conforma la arquitectura del cafeto, es decir su sistema vegetativo y productivo (Castañeda, 1997).

Hojas.- Las hojas nacen en la parte terminal del tallo y en las ramas o bandolas laterales. Crecen en disposición opuesta, son de forma elíptica. Su tamaño, color y cantidad varía de acuerdo a la especie y variedad. La función principal de las hojas está asociada a la fotosíntesis y fotorespiración, procesos indispensables para regular la actividad productiva (Castañeda, 1997).

Flores.- Al igual que la mayoría de especies de la familia Rubiaceae, la disposición floral del cafeto es distal o sea, en grupos separados de yemas, que brotan en los nudos a lo largo de las ramas laterales. Cada flor tiene en la base un receptáculo corto que se prolonga en el cáliz de color verde que mide de 1 a 2 milímetros (mm) de largo, con cinco picos terminales. La corola es un tubo largo, cilíndrico en la base y de color blanco, que mide de 6 a 12 mm de largo, la cual se abre arriba en cinco pétalos. Consta de 5 estambres insertados en el tubo de la corola. El gineceo está constituido por un ovario súpero con dos óvulos. El estilo es fino y largo con terminaciones estigmáticas (Castañeda, 1997).

Fruto.- Es una drupa que normalmente, contiene dos semillas con una longitud de 10 a 17 mm que se conoce como café uva. Dependiendo de la variedad se necesitan 7 a 8 meses para que madure, su cubierta (pulpa) es roja o amarilla en algunas variedades.

El fruto está formado por: la pulpa (exocarpio y mesocarpio), el pergamino (endocarpio), la película plateada (testa), la semilla (endosperma) y el embrión. Por otra parte se manifiesta que en la superficie de la semilla se encontraron hongos secundarios como *penicillium sp* y *Aspergillus sp* (Castañeda, 2000 y Shuller, 2003).

2.1.5. PRINCIPALES CULTIVARES NACIONALES

Los cultivares cultivados en los diferentes pisos altitudinales (msnm) y climas de las zonas cafetaleras, son los cultivares de la especie *Coffea arabica*, que muestran su buena adaptación debido a sus características de rusticidad. De acuerdo a las evaluaciones de vivero y campo se identificó a los cultivares de Typica, Caturra, Bourbon, Pache y Catimor, como las más difundidas (MINAG, 2003).

2.1.5.1. Typica

Fue la primera variedad en introducirse al continente americano. En el Perú recibe los nombres de nacional, común, arábico, criollo, etc. Se caracteriza por su tamaño variable según el suelo, clima y sombra, del lugar donde se cultive. Si se deja crecer libremente puede llegar hasta los 6 metros, presenta una forma piramidal y sus ramas plagiotrópicas nacen en un ángulo de 50°C con el tallo, las ramas jóvenes tienden a ser horizontales (Figueroa, 1990; Castañeda, 2000)

Las hojas jóvenes o nuevas son de color bronceado, a veces rojizas y de color verde a la adultez, las hojas son elípticas, más alargadas que en la variedad Bourbon, fruto de color rojo, alargado y de buen tamaño (Figuroa, 1990; Castañeda, 2000). Según Huaraca (1999), la variedad típica es susceptible a la Roya del cafeto.

2.1.5.2. Caturra

Blas *et al.* (2011), señalan que son cultivares de porte bajo, probablemente originadas de una o dos mutaciones naturales de Bourbon Rojo de porte alto. La forma amarilla puede haber tenido su origen en una mutación de la propia Caturra Roja. Posee entrenudos muy cortos en las ramas y en el tallo lo que lo hacen un alto productor. Sus hojas son grandes, de borde ondulado, anchas, redondeadas, gruesas y de color verde oscuro. Las hojas nuevas son de color verde claro. Es un arbusto de un aspecto general compacto y de mucho vigor. Las ramas laterales forman un ángulo bien cerrado con el tronco. El porte bajo de las plantas le permite altas densidades de siembra que se reflejan en aumentos notables en la producción y al mismo se adapta al cultivo a plena exposición solar, con aplicaciones abundantes de fertilizantes. El caturra es más precoz y productivo que las líneas Típicas y Bourbon (Castañeda, 2000).

2.1.5.3. Bourbon

Es originaria de la Isla Bourbon, hoy denominada Isla Reunión situada al sur de África, son plantas de porte alto, los espacios en las ramas laterales en el eje central como en las ramas donde produce los frutos, son menos separados que en la variedad Típica.

Es de buen crecimiento vegetativo, las hojas son medianas y de color verde claro, sistema radical bien desarrollado, esta variedad es precoz, más productiva que el Typica y más uniforme en la maduración de los frutos.

En términos generales se considera que esta variedad se adapta mejor que la typica a zonas bajas y responde mejor en el cultivo a pleno sol o en suelos de fertilidad media (Blas *et al.*, 2011).

2.1.5.4. Catimor

Se origina del cruzamiento del Caturra rojo con el Híbrido de Timor. El cafeto Catimor se caracteriza por su porte bajo, su tronco de grosor intermedio así como por su considerable número de ramas laterales que forman una copa medianamente vigorosa y compacta. Además de su productividad relativamente alta muestra un comportamiento favorable con respecto a la roya, por lo menos a las razas del hongo *Hemileia vastatrix* (Fischersworing y Robkamp, 2001).

2.1.5.5. Pache

Es una mutación de Typica de porte bajo con buena ramificación secundaria, de entrenudos cortos y abundante follaje, termina en una copa bastante plana o “pache” (Anacafé, 1998). Sus hojas y frutos son similares a la variedad Typica excepto el tamaño del árbol que es ligeramente menor al “caturra”, sus brotes que emergen son de color pardo-violáceo (bronceado) semejante al Typica (Huaraca, 1999). En general, se adapta bien en rangos de altitud de 3500 a 5500 pies (Anacafé, 1998).

2.1.6. ECOLOGÍA Y ADAPTACIÓN

La radiación solar que requiere se encuentra entre 1500 y 2500 horas de sol al año, con mínimo de 200 horas/mes en los meses secos y 100 horas en los lluviosos, se debe mencionar que las zonas con menores temperaturas nocturnas producen café de mejor calidad (Figueroa, 1990).

En relación al tipo de suelo, prefiere suelos fértiles, volcánicos, húmedos y de buen drenaje. No acepta los extremos arcillosos y arenosos. Se desarrolla mejor en suelos profundos (1.50 m), permeables, de textura franca (franco arenoso o franco arcilloso), buena aireación, drenaje y estructura granular, pH entre 4,5 - 6, pero también desarrolla en suelos neutros y alcalinos, pero con adecuado suministro de nutrientes (Figueroa, 1990).

Aunque las heladas dañan enseguida las plantas de café, éste se cultiva en regiones frías, debido a que la temperatura determina la calidad del café peruano y a medida que aumenta la altura, disminuye la temperatura y aumenta la calidad del café. Las temperaturas de crecimiento oscilan entre 13 y 26 °C. Las condiciones óptimas para el cultivo del café son: temperatura media mensual entre 18 y 22°C con máxima de 25 y mínima de 16 °C, sin peligro de heladas, con precipitación entre 1500 y 2000 mm/año, con lluvias bien distribuidas y menos de dos meses de época seca (menos de 50 mm de lluvia/mes) (MINAG, 2003).

Las condiciones climáticas más adecuadas para el cultivo del café se presentan en las zonas subtropicales y en las zonas de las regiones tropicales. La altitud ideal para cultivar el café se encuentra entre los 900 y 1400 msnm (Schuller, 2003).

La fertilidad y la reacción del suelo, además de su textura, afectan marcadamente el crecimiento de las raíces. Los suelos neutros o ligeramente ácidos son los más favorables para el crecimiento de las raíces del cafeto. El pH 5.8 representa el límite inferior para el buen desarrollo del sistema radicular (Castillo, 2005). El manejo adecuado del cultivo de café requiere un amplio conocimiento de la planta en lo que respecta a su crecimiento, desarrollo y producción, así como los factores que lo afectan. Expresado en términos más simples, el éxito del cultivo del café depende de la cantidad y la calidad de su crecimiento, de tal forma que si estos son óptimos, los rendimientos en producción serán buenos y excepto en situaciones económicas especiales se obtendrán ganancias, contrario a lo que ocurre cuando el crecimiento del cultivo es deficiente (Guerrero, 2007). Como todo organismo vivo especie vegetal, tiene un ciclo de vida potencial productivo característica. En el transcurso de este ciclo es posible distinguir una serie de fases de desarrollo. En las cuales, la planta o sus órganos, permanece por periodos de corta o larga duración, dependiendo de sus características genéticas y de las condiciones ambientales que ocurran en el sitio del cultivo (Guerrero, 2007).

2.2. MUERTE REGRESIVA DE BROTES EN CAFÉ

2.2.1 Distribución Geográfica

Esta enfermedad se encuentra distribuida en diferentes zonas cafeteras del mundo, esta distribución está estrictamente relacionada con factores ambientales para su desarrollo (Salgado y Pfenning, 2000).

En cafetos localizados a altitudes por encima de los 1600 metros la enfermedad normalmente adquiere características epifitóticas como es el caso de los países latinoamericanos como Costa Rica, Panamá, Nicaragua y Colombia. En Brasil fue identificada por primera vez en 1973 en el estado de Espirito Santo (Zambolin *et al.*, 1996), donde los síntomas eran inicialmente confundidos con deficiencias de boro.

Actualmente esta enfermedad constituye un serio problema en todas las regiones productoras de Brasil (Salgado y Pfenning, 2000; Chalfoun *et al.*, 2000).

En el Perú esta enfermedad se desarrolla mayormente en plantaciones localizadas en zonas altas a altitudes mayores de 1200 msnm donde existe alta humedad y baja nubosidad durante gran parte del año. El hongo ataca los brotes nuevos, las ramas y hojas tiernas (Castro y Rivillas, 2005). Esta enfermedad también es reportada en cafetales de altura de la selva central (Chanchamayo y oxapampa) afectando plántulas de café en condiciones de vivero (Tirado, 2007)

2.2.2 Importancia Económica

Debido a que el hongo ataca las zonas de crecimiento de plantas de café, ocasiona atrasos drásticos en su desarrollo, malformación de plántulas debido a la continua emisión de brotes, lo cual genera desarreglos de los ciclos de renovación y disminución de la producción en el lote.

Figueroa (1985), encontró pérdidas hasta de 80% en almácigos afectados por *Phoma* *sp.* Por otra parte Cáceres (1999), reporta bajo condiciones de campo en Guatemala una severidad del 28% cuando no se realiza ningún tipo de control.

2.2.3 Taxonomía

Phoma sp. Presenta la siguiente clasificación Agrios (1996).

Reino: Fungi

Phyllum : Deuteromycota

Clase: Coelomycetes

Orden: Sphaeropsidales

Familia: Sphaeropsidaceae

Género: *Phoma*

Especie: *Phoma sp.*

2.2.4. Síntomas

Los primeros síntomas de la enfermedad se manifiestan entre 4 y 9 días después de la penetración del patógeno; estos corresponden a pequeñas manchas cloróticas de forma irregular que coalescen formando manchas que a los 10 días no es posible individualizar. El ataque de las plantas puede comenzar por la parte apical del brote terminal o ramas laterales y continuar progresando hacia abajo, hasta alcanzar el tallo principal (Fernández, 1961).

En las hojas la enfermedad produce manchas redondeadas, de color oscuro, de bordes estriados. La hoja frecuentemente se encrespa por la parte necrosada, especialmente cuando la lesión se presenta en los bordes de la hoja. En las hojas se observan microscópicamente los picnidios del hongo, distribuidos concéntricamente. En presencia de alta humedad, por el haz y envés de la lesión se nota un desarrollo micelial blanquecino y felposo (Fernández, 1961).

En las hojas jóvenes se observan manchas oscuras, redondeadas, de bordes irregulares que coalescen, necrosándolas totalmente. Cuando estas manchas aparecen en los bordes de las hojas más desarrolladas, se produce malformación (encrespamiento) ocasionada por el crecimiento normal de tejido sano alrededor del área afectada (Cadena, 1982).

La muerte de las yemas terminales y la proliferación de nuevos brotes son similares a los síntomas asociados con la deficiencia de boro. No obstante, el amarillamiento progresivo del ápice hacia el centro de la hoja, la suberización de las nervaduras y la deformación de la hoja sin presencia de necrosis, característico de esa deficiencia permite su diferenciación (Valencia, 1987).

El hongo afecta tejidos tiernos de hojas en desarrollo, brotes terminales tanto del tallo principal como de ramas laterales en los cuales penetra por estomas y/o por heridas. Las plantas afectadas presentan necrosis descendente de los tejidos en desarrollo, la cual avanza hasta el tejido lignificado donde se detiene (Gil y Leguizamón, 2000).

En el tallo ataca los brotes y ramas jóvenes no lignificadas formando lesiones necróticas, hundidas y agrietadas; los primordios foliares son afectados desde su parte terminal, avanzando el daño de forma descendente, abarcando los pecíolos en formación ocasionándoles necrosis y abscisión. El daño ocasionado a flores y frutos es muy rápido, ocasionándoles también necrosis y abscisión (Cadena, 1982).

El patógeno ataca el brote principal, en los nudos lignificados hasta donde llega la necrosis, se presenta desarrollo anormal de la planta caracterizado por la proliferación de nuevos brotes y de ramas laterales pequeñas, que en conjunto dan la apariencia de rosetas.

Plantas con ataques severos pueden sufrir la destrucción de la totalidad de sus brotes; en ausencia de medidas de control, el inoculo producido en esos, afecta los nuevos brotes (Gil y Leguizamón, 2000).

2.2.5. Etiología

Phoma sp. presenta picnidios de pared fina, color marrón suave, con conidias hialinas, alipsoideas o cortos cilindros, rectos mayormente unicelulares, con extremos redondeados y con dos grandes gúttulas aceitosas en los extremos opuestos. Además en el Cuadro 1, se observa otras características morfológicas de *Phoma sp.* Descrita por este mismo autor (Sutton, 1980).

Cuadro 1. Características morfológicas de *Phoma sp.*

Características morfológicas	<i>Phoma sp.</i>
CÉLULA CONDIÓGENA	Blástica
	Enteroblástica
	Phialídico
CONIDIÓFORO	Ausente
CONIDIOMA PYCNIDIAL	Inmerso
	Globoso
	Marrón pálido
OSTIOLO	Pared delgada
	Central
	Hialina
	Marrón oscuro
	1 Septa
	Pared gruesa
RANGO DE HOSPEDANTES	Doliforme
	Hortalizas, palmeras, café

Fuente: Sutton (1980)

Las conidias se presentan en forma oval, unicelulares hialinas, sin septas, con un tamaño aproximado de 6.5 a 10.5 micras de largo y de 2 a 3 micras de ancho, formadas en picnidios de aspectos globosos semi-hundidos en el estrato epitelial, adheridos por hifas alargadas emitidas desde la base del picnidio, este último presenta coloración gris clara cuando joven, tornándose oscura cuando envejece; sus paredes son pseudo-parenquimatosas con un ostiolo en su parte superior por donde expulsan las conidias envueltas por una masa gelatinosa de coloración clara, siendo la lluvia la responsable de la disolución de este mucus y de la disolución de las esporas a través del salpique de gotas, ayudado por el viento. Este último juega un papel muy importante al provocar heridas en el hospedero por donde fácilmente penetra el patógeno (Castaño, 1984).

2.2.6. Ciclo biológico

Entre 48 y 72 horas después de la penetración ocurre la maduración de los picnidios y la producción de abundantes esporas (Vidal, 1977 y Figueroa, 1985). En el proceso de infección, las esporas transportadas por el viento germinan sobre los tejidos del hospedante y su tubo germinativo penetra por los estomas y/o heridas y forma un apresorio; luego, a partir de esta última estructura se producen hifas de colonización que avanzan por los espacios intercelulares de la epidermis, invaden inter e intracelularmente el mesófilo y de allí colonizan los tejidos esponjosos y de empalizada. Las células afectadas se plasmolizan, los cloroplastos se aglutinan y ocurre el colapso total del tejido afectado. (Gil y Leguizamón, 2000). En este tejido se encuentran los picnidios del hongo, en el caso de daño en la hoja, estas estructuras de reproducción se presentan por el haz y por el envés. (Vidal, 1977 y Figueroa, 1985).

Así mismo, Sutton (1980) menciona que el crecimiento y desarrollo de las picnidias se da porque algunos medios de cultivo contienen hidratos de carbono que favorecen inmediatamente el desarrollo de estos.

2.2.7. Epidemiología

La muerte regresiva es una enfermedad típica de zonas altas o con regímenes de lluvia prolongados, baja luminosidad y temperatura mínima baja. Es típica de cultivos localizados a altitudes superiores a los 1.600 m, aunque puede estar presente desde los 600 m (Zambolin *et al.*, 1996; Castaño, 1984) con regímenes de lluvias prolongados, baja luminosidad y temperatura mínima baja (Fernández, 1961; Gil y Leguizamón, 2000). En México se localiza arriba de los 900 msnm en las diferentes zonas cafeteras (Regalado, 1982).

En Brasil la enfermedad está asociada a corrientes de aire frío y cambios bruscos de temperatura (Salgado y Pfenning, 2000).

2.3. Control Químico

Investigaciones realizadas demostraron, la efectividad de los fungicidas Difolatan (captafol) – 4 g/l + Triton AE 1%, Daconil (chlorotalonil) – 2.5 g/l y Euparen (diclofuanida) – 4 g/l. De los anteriores el Daconil es extremadamente tóxico y Euparen es medianamente tóxico, sin embargo estos productos se encuentran discontinuados en el mercado (Cadena, 1982).

En otros países cafeteros de Centroamérica, además de los anteriores fungicidas, se recomienda la aplicación de Orthocide 50 (Captan), Alto 100 (ciproconazol), Dyrene (anilazina), Belkutte (iminocadine), Aliette (fosetyl – Al) y mezclas de fungicidas como Cynosin (benzimidazol) + Dithane (mancozeb), Alto 100 + Thiovit (azufre) (Almeida y Mantiello, 1989).

En cuanto a este control se deben realizar aplicaciones preventivas en almácigos cada 15 días y en plantaciones establecidas una cada mes cuando aparezcan las primeras manchas durante la época lluviosa (Gálvez, 1990).

Para el control de la muerte regresiva del cafeto en Guatemala, la aplicación del fungicida trichloromethylthyio (Folpet) a razón de 544 gramos por hectárea a intervalos de 25 días entre cada aplicación hasta que las condiciones ambientales sean adversas para el hongo (falta de precipitación o disminución de la humedad) (Cáceres, 1999).

2.4. DESCRIPCIÓN DE LOS FUNGICIDAS

Los hongos causan graves daños en la agricultura, lo que resulta graves pérdidas de rendimiento, calidad y rentabilidad. Los fungicidas son usados tanto en la agricultura como para luchar contra las infecciones por hongos en los animales. Estos fungicidas son compuestos químicos u orgánicos biológicos utilizados para eliminar o inhibir hongos o esporas de hongos (BASF, 2009).

Existen fungicidas que no logran inhibir completamente el desarrollo del hongo, y estos no son efectivos para integrar un programa de manejo de enfermedades, ya que el hongo podría desarrollar rápidamente y causar graves daños (Bayer 2011).

2.4.1. Tipos de Fungicidas

Fungicidas de Contacto

Estos fungicidas son también llamados protectores y estos son aplicados antes de que lleguen las esporas de los hongos. Actúan solamente en la superficie de la planta donde el fungicida ha sido depositado y estos evitan que los esporangios germinen y penetren las células (Tirado, 2007).

Fungicidas Sistémicos

También llamados erradicadores, estos fungicidas son usados para el tratamiento de la planta ya enferma por hongos, estos fungicidas son absorbidos a través del follaje o de las raíces y se movilizan por toda la planta. Estos fungicidas afectan varias etapas de la vida del hongo (Tirado, 2007).

Fungicidas Translaminares

Estos fungicidas tienen la capacidad de moverse del lado superior de la hoja al inferior, pero no de hoja a hoja (Tirado, 2007).

2.4.2. Características Principales de los Fungicidas

- ❖ - **Nombre Comercial:** RIDOMIL 68 WP
- **Ingrediente activo:** Mancozeb + Metalaxil M

- **Grupo Químico:** Ditiocarbamato + Fenilamida
 - **Concentración:** 64% Mancozeb + 4% Metalaxil M
 - **Formulación:** Polvo mojable (WP)
 - **Clasificación Toxicológica:** III
 - **Banda Toxicológica:** Azul
 - **Toxicidad aguda:** oral DL 50
 - **Modo de Acción:** Fungicida sistémico y de contacto efectivo para el control de enfermedades causadas por Peronospora, Phytophthora y otros hongos de la clase de los Oomicetes. Donde Metalaxil- M, es rápidamente absorbido por las partes verdes de la planta (30 minutos), distribuyéndose acropetalmente, inclusive a los nuevos brotes aparecidos después de la aplicación, actúa suprimiendo el crecimiento y reproducción del hongo. Mientras el otro componente Mancozeb, proporciona la acción de contacto complementaria desde el exterior (inhibe la germinación de esporas) (BASF, 2009).
- ❖ - **Nombre Comercial:** NATIVO 75 WG
- **Ingrediente activo:** Trifloxystrobin + Tebuconazole
 - **Grupo Químico:** Estrobilurina, Triazol
 - **Concentración:** 250 g/kg + 500 g/kg
 - **Formulación:** Granulo dispersable (WG)
 - **Clasificación Toxicológica:** IV
 - **Banda Toxicológica:** Verde
 - **Toxicidad aguda:** oral DL 50

- **Modo de Acción:** Debido al modo de acción de Trifloxystrobin y del Tebuconazole, puede ser utilizado en forma preventiva y/o curativa. La molécula de Trifloxystrobin tiene una actividad mesostémica caracterizada por una alta afinidad con la superficie de la planta, una distribución por movimiento de vapor superficial y reubicación en la superficie vegetal, y una penetración del tejido con movimiento translaminar. Trifloxystrobin es particularmente activo sobre la germinación de esporas y el crecimiento del micelio en la superficie de la planta. Inhibe también el desarrollo de patógenos, como la formación de haustorios en la epidermis del tejido vegetal. Así mismo, Tebuconazole es incorporado a la planta y distribuido en forma ascendente. Actúa sobre los hongos patógenos durante la penetración y formación de haustorios. Detiene el crecimiento del hongo interfiriendo la biosíntesis de sus membranas celulares. Tiene una acción preventiva y fuertemente curativa (BAYER, 2011).

❖ - **Nombre Comercial: FLINT 50 WG**

- **Ingrediente activo:** Trifloxystrobin
- **Grupo Químico:** Estrobilurina
- **Concentración:** 50%
- **Formulación:** Granulo dispersable (WG)
- **Clasificación Toxicológica:** IV
- **Banda Toxicológica:** Verde
- **Toxicidad aguda:** oral DL 50, dermal DL 50.

- **Modo de Acción:** Mesostémico, lo cual le confiere una alta adherencia a la superficie de la planta y acción traslaminar, traduciéndose en un alto poder preventivo y largo poder residual (BAYER, 2011).
- ❖ - **Nombre Comercial: ROVRAL 50 PM**
- **Ingrediente activo:** Iprodione
 - **Grupo Químico:** Dicarboximida
 - **Concentración:** 50%
 - **Formulación:** Polvo mojable (PM)
 - **Clasificación Toxicológica:** IV
 - **Banda Toxicológica:** Verde
 - **Toxicidad aguda:** oral DL 50, dermal DL 50.
 - **Modo de Acción:** es un excelente fungicida de acción protectante o de contacto que afecta todas las fases del ciclo de desarrollo de los hongos patógenos como son: 1. Germinación de las esporas. 2. Crecimiento del micelio. 3. Desarrollo y producción de los órganos productores de esporas. 4. En general por su acción de contacto inhibe el desarrollo del micelio y la germinación de esporas del hongo (BAYER, 2011).
- ❖ - **Nombre Comercial: SCALA 40 SC**
- **Ingrediente activo:** Pirimetanil
 - **Grupo Químico:** Pirimidinas
 - **Concentración:** 400 g/l

- **Formulación:** Solución concentrada (SC)
 - **Clasificación Toxicológica:** IV
 - **Banda Toxicológica:** Verde
 - **Toxicidad aguda:** oral DL 50
 - **Modo de Acción:** es un fungicida protectante y curativo que actúa inhibiendo la secreción de enzimas requeridas para el proceso de infección, además inhibe la extensión del tubo germinativo y el crecimiento micelial, impidiendo así las posibilidades de infección (BAYER, 2011).
- ❖ - **Nombre Comercial:** SILVACUR COMBI 300 EC
- **Ingrediente activo:** Triadimenol + Tebuconazole
 - **Grupo Químico:** Triazol
 - **Concentración:** 7.5% + 22.5%
 - **Formulación:** Concentrado emulsionable (EC)
 - **Clasificación Toxicológica:** III
 - **Banda Toxicológica:** Azul
 - **Toxicidad aguda:** oral DL 50
 - **Modo de Acción:** Es un fungicida eficaz con efecto sistémico. Se absorbe por los ectodesmos y luego se transporta vía xilema a todo el vegetal. Es de efecto preventivo, curativo y erradicante. Inhibidor de la biosíntesis del ergosterol (BAYER, 2011).

2.5. MEDIOS DE CULTIVO PARA HONGOS

Medios de cultivo es una sustancia o solución que permite el crecimiento de uno o más organismos (French y Herbert, 1980).

Los hongos crecen en la gran mayoría de los medios de cultivo, por ello los medios de cultivo que se utilizan para hongos generalmente tienen como objetivo la purificación o caracterización de dicho microorganismo. Los medios de cultivo para hongos deben ser transportados a condiciones de temperatura y humedad especificados por el fabricante, y en condiciones asépticas. Existen medios de cultivo así como PDA (Papa Dextrosa Agar), CMA (Corn Meal Agar), OMA (Oat Meal Agar) JV8 (Jugo V 8 Agar) en el cual el crecimiento y desarrollo de las picnidias se da porque en algunos de estos medios de cultivo contienen hidratos de carbono que favorecen inmediatamente el desarrollo de estos (Sutton 1980).

2.5.1. Comparación de Medios de Cultivos

Existe una gran cantidad de medios de cultivos para la propagación y estudio de hongos, pero la mayoría han sido diseñados con alguna finalidad especial, tales como la seguridad de un crecimiento óptimo o para determinar la necesidad de una sustancia específica (French y Herbert, 1980).

Los medios para Micología difieren en varios aspectos de aquellos que se usan en Bacteriología. Estos últimos por lo general son levemente alcalinos, mientras que la mayoría de los hongos prefieren un medio ácido e incluso muchas especies toleran una acidez relativamente alta. Los medios de bacteriología normalmente contienen proteínas como fuente tanto de carbono como de nitrógeno (French y Herbert, 1980)

En cambio para hongos, se usa hidratos de carbono como fuente de energía, y el nitrógeno se suministra como sales inorgánicas, sea como nitrato o como sales de amonio (French y Herbert, 1980)

Los elementos químicos esenciales para el cultivo de hongos son: C, H, O, S, N, P, K, Mg, Fe, etc. También son necesarias cantidades mínimas de otros elementos para el crecimiento de ciertos hongos (French y Herbert, 1980)

Muchos vegetales y extractos vegetales son especialmente adecuados como medios de cultivos sin ningún agregado, o sólo con el agregado de sacarosa y en algunos casos son útiles para el aislamiento y conservación. En algunos tipos de trabajo, tales como estudios nutricionales o investigaciones bioquímicas, se usa casi exclusivamente medios sintéticos, ya que es necesario conocer la composición, para poder repetir la fórmula en caso necesario (French y Herbert, 1980)

El tipo de crecimiento para una especie determinada varía según el medio de cultivo utilizado y en consecuencia, es de gran importancia cuando se describe una especie, registrar las observaciones hechas sobre medios preparados en forma idéntica a la de otros autores. (French y Herbert, 1980)

2.5.2. Preparación de Medios

- Siempre preparar los medios con agua destilada.
- Todos los utensilios deben estar perfectamente limpios.
- Usar 15g de agar, 15g de glucosa, 60g de harina de maíz, 60g de avena, Jugo V8 200 cc, 250g de papa.
- Todos los medios deben esterilizarse de alguna forma (French y Herbert, 1980).

2.5.3. Tipos de Medios De Cultivos para Hongos

Medios Selectivos: Medios de cultivo que poseen un compuesto o compuestos que permiten el crecimiento de ciertos tipo de microorganismos pero no de otros. Los medios selectivos para hongos tienen la característica de un pH bajo (5,6) lo que inhibe el crecimiento de la mayoría de las bacterias. A algunos medios se le adicionan antibióticos para inhibir el crecimiento bacteriano (Sutton 1980).

Medios Diferenciales: Se basan en las características metabólicas del microorganismo, el cual es capaz de utilizar un sustrato del medio y desarrollar una característica notable y particular en sus colonias, por ejemplo desarrollo del color (Sutton 1980).

Líquidos: Se usan principalmente en el incremento de bacterias, en las determinaciones de sus propiedades fisiológicas, para el incremento masivo de bacterias y hongos con fines experimentales y para estudios de crecimientos de microorganismos. Industrialmente tienen uso en la preparación de productos accesorios al crecimiento de microorganismos, (ácidos orgánicos, antibióticos.). Los medios líquidos son comúnmente aireados por agitación (French y Herbert, 1980).

Sólidos: El uso principal de medios sólidos es para el aislamiento de hongos y bacterias, y para su mantenimiento. Se prepara en frascos, placas Petri y tubos de prueba (French y Herbert, 1980)

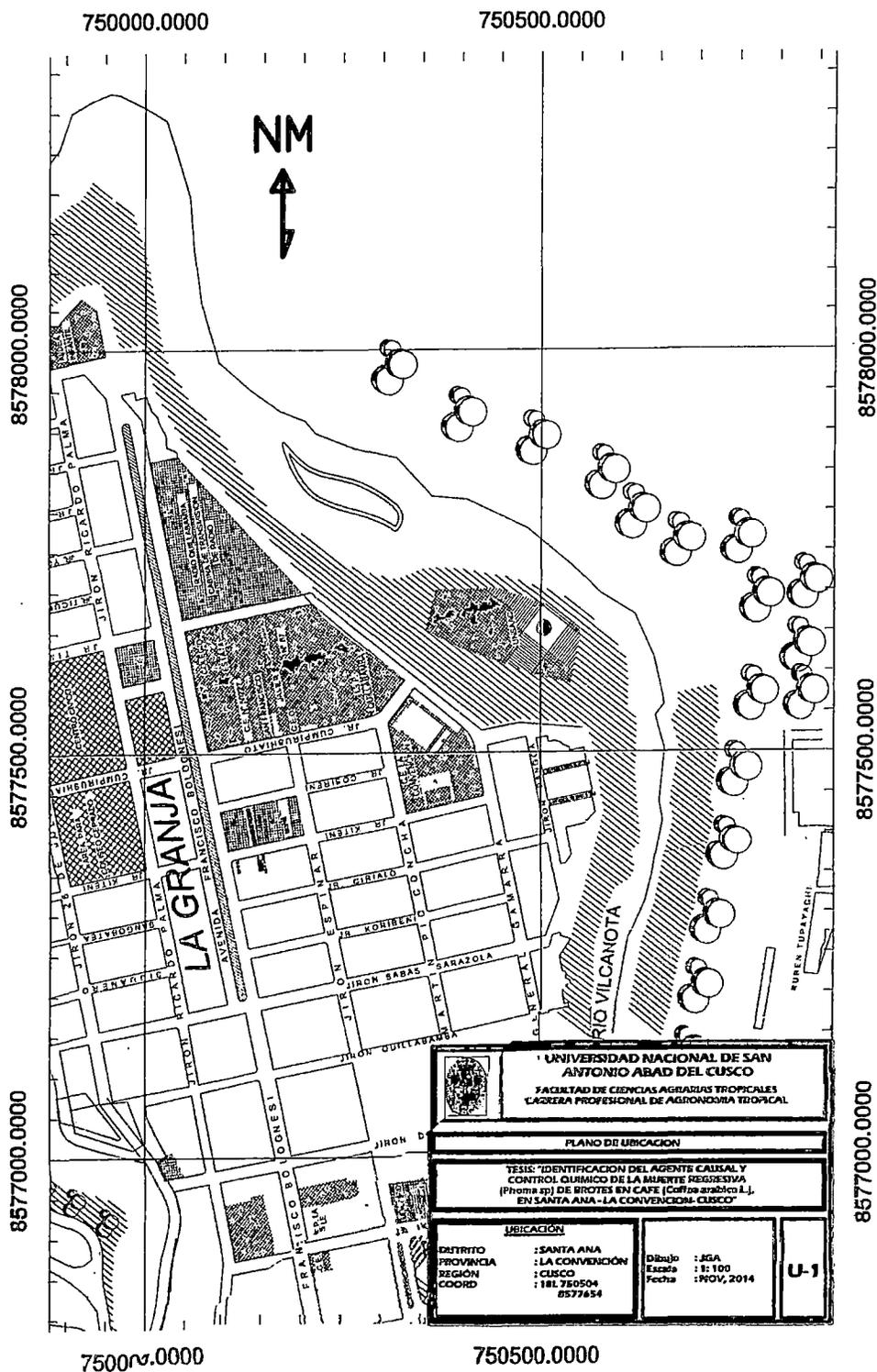
III. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en dos fases. La primera fase fue realizada en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias Tropicales (UNSAAC – Sede Quillabamba) y la segunda fase fue ejecutada en el vivero de la misma facultad; el cual se encuentra ubicado en la provincia de La Convención – Cusco, durante los meses de Enero a Mayo del 2013.

3.1. UBICACIÓN GEOGRÁFICA Y CLIMÁTICA

Altitud	:	994 msnm
Coordenadas UTM	:	X: 0755869
		Y: 8583513
Zona de vida	:	Bosque Seco sub tropical (Bs-St)
Temperatura	:	25°C
Humedad Relativa	:	80%

3.2. PLANO DE UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO



3.3. MATERIALES

3.3.1. FASE DE LABORATORIO

a. Material Biológico

- Plantas y brotes de café cultivar Catimor infectados
- Semillas de café con y sin pergamino

b. Insumos

- Fungicidas: Nativo 75 wg (Trifloxystrobin + Tebuconazole)
 - Flint 50 wg (Trifloxystrobin)
 - Rovral 50 pm (Iprodione)
 - Scala 40 sc (Pirimetani)
 - Silvacur combi 300 ec (Triadimenol + Tebuconazole)
 - Ridomil 68 wp (Mancozeb + Metalaxil M)
- Medios de cultivos: PDA, CMA, OMA, JUGO V8

c. Materiales

- | | |
|------------------------|-------------------------|
| - Erlenmeyer | - Balde de plástico (6) |
| - Ligas | - Alcohol 96° |
| - Tijera | - Sacabocado |
| - Pinzas | - Placas petri |
| - Papel toalla | - Algodón |
| - Hipoclorito de sodio | - Frascos de vidrio |

- Regla milimétrica
- Bagueta
- Porta y cubre objeto
- Plumón indeleble

- Bolsas de polipropileno
- Tubos de ensayo
- Film sellante
- Calculadora

d. Equipos

- Microscopio compuesto
- Balanza analítica
- Autoclave
- Cámara de flujo laminar
- Hematocímetro

- Estereoscopio
- Cámara de siembra
- Horno microondas
- Cocina eléctrica

3.3.2. FASE DE VIVERO

a. Material Biológico

- Plantas de café variedad Catimor

b. Materiales

- Bolsas de polipropileno
- Algodón
- Rociadores (5)
- Letreros

- Botellas de 2 litros (2)
- Agua estéril
- Plásticos

3.4 MÉTODOS

3.4.1 FASE DE LABORATORIO

3.4.1.1. IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL DE LA MUERTE REGRESIVA DE BROTES EN CAFÉ.

Para la identificación del agente causal se cumplió con los Postulados de Koch:

El aislado del agente causal de la muerte regresiva en brotes fue obtenido a partir de brotes de café de variedad Catimor infectados naturalmente; las muestras fueron colectadas del Sector Calderón Alta, distrito Santa Ana - provincia de La Convención - Cusco. El procedimiento se realizó de la siguiente manera:

A. Aislamiento

- 1.- Las porciones de brotes enfermos se lavaron con abundante agua a chorro continuo y luego lavados con agua destilada estéril.
- 2.- En el interior de una cámara aséptica, las muestras fueron sumergidas en una solución de hipoclorito de sodio al 0.1% durante cinco minutos.
- 3.- El material desinfectado fue cortado en trozos pequeños considerando los márgenes de avance de la lesión y luego ubicados sobre papel filtro estéril, dejándolos orear hasta que estén secos y luego se procedió a sembrarlos en medio papa dextrosa agar (PDA) el cual fue plaqueado previamente.
- 4.- Las placas sembradas se sellaron lateralmente con film y se incubaron a temperatura de 25 °C, hasta obtener el crecimiento del hongo.
- 5.- Se realizó también cámaras húmedas para observar sus estructuras.

B. Purificación

Una vez obtenido el crecimiento del hongo se realizó repiques hasta obtener el cultivo puro. Y este se inoculó en plantas sanas para luego ser reaislado en cultivo puro.

C. Mantenimiento

El reaislado fue puesto en tubos de ensayo con medio PDA e incubado a 25 °C y luego almacenado en refrigeración a 10 °C con la finalidad de mantener la viabilidad y patogenicidad del hongo para su identificación.

D. Identificación

La identificación fue llevada a cabo en la Clínica de Diagnóstico de la Universidad Nacional Agraria La Molina, para esto se realizó la preparación de cultivos puros en placas petri, tubos de ensayo con PDA y cámaras húmedas del agente causal, las cuales fueron enviadas por servicio courier directamente a la Clínica de Diagnóstico de Fitopatología de la UNALM.

3.4.1.2. ANÁLISIS MICOLÓGICO DE SEMILLAS DE CAFÉ

Las semillas de café del cultivar Catimor, fueron seleccionadas al azar y analizadas mediante el método del papel toalla para determinar si existe transmisión del patógeno por medio de la semilla.

Método papel toalla:

Este método crea condiciones de alta humedad relativa favorables para el desarrollo rápido de microorganismos. Se prepararon cámaras húmedas empleando diez envases descartables los cuales fueron desinfectados con alcohol previamente, donde se usó placas petri estériles que fueron puestas en la base conteniendo papel toalla en su interior donde se adicionó aproximadamente 2 ml de agua estéril. Se usó cinco envases para café con pergamino y cinco para café sin pergamino.

Las semillas de café con pergamino y sin pergamino fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio al 1% por cinco minutos, luego se dejó secar y haciendo uso de una pinza estéril se colocó sobre las placas petri estériles de cada envase semillas por cada cámara húmeda. Dichas cámaras fueron incubadas a 25°C por siete días. Luego que desarrollaron los hongos en la semilla, estos fueron identificados mediante la clave de identificación de Ellis (Ellis, 1976). Se determinó el porcentaje de semilla afectada.

3.4.1.3. DETERMINACIÓN DEL MEJOR MEDIO DE CULTIVO PARA EL FITOPATÓGENO AISLADO

Este procedimiento se realizó con la finalidad de seleccionar el mejor medio de cultivo que favorezca el crecimiento, desarrollo y esporulación del hongo. Se evaluaron los siguientes medios de cultivo: Papa Dextrosa Agar (PDA), Jugo V8 Agar, Oat Meal Agar (OMA) y Corn Meal Agar (CMA); los cuales se prepararon y plaquearon siguiendo las respectivas indicaciones:

Medio de Cultivo “CMA” Corn Meal Agar

Se requiere de: 60g harina de maíz, 15 g de agar, 15g de glucosa, agua destilada. (6% harina de maíz, 1.5% de agar, 1.5% de glucosa y 91% de agua). Se procede a cocinar la harina en un poco de agua hasta que se forme una pasta luego se cuele, seguidamente se mezcla con el agar y la glucosa previamente disuelta se enraza hasta 1 litro y listo para esterilizar.

Medio de Cultivo “OMA” Oat Meal Agar

Se requiere de: 60g de avena, 15g de agar, 15g glucosa, agua destilada. (6% de avena, 1.5% de agar, 1.5% de glucosa y 91% de agua). Se licua la avena hasta tener una mezcla pareja luego se incorpora el agar y la glucosa previamente disuelta se mezcla bien y llevar a esterilizar.

Medio de Cultivo “PDA” Papa Dextrosa Agar

Se requiere de: 250g de papa, 15g de agar, 15g de glucosa, agua destilada. (25% de papa, 1.5% de agar, 1.5% de glucosa y 72% de agua). Se hace hervir la papa hasta obtener un caldo de esta, luego se disuelve el agar en agua y con ayuda del horno microondas. Inmediatamente se mezcla el agar diluido con el caldo de papa y la glucosa para enraza a 1 litro, se lleva a esterilizar y listo para el uso en las placas Petri.

Jugo V8 Agar

Se requiere de: Jugo V8 200 cc, 15g de agar, Agua destilada hasta completar 1000cc. (20% jugo V8, 1.5% de agar y 78.5% de agua). Este medio es muy útil para la esporulación de muchos hongos. Contiene extractos de tomate, zanahoria, apio, beterraga, perejil, lechuga, espinaca y berro.

En los diferentes medios de cultivo contenidos en las placas, se sembró una rodaja de 0.6 cm de cultivo fresco del agente causal; tomado del borde de crecimiento activo en PDA. Estos cultivos fueron incubados a temperatura de 25 °C.

Se realizaron mediciones diarias del diámetro de crecimiento micelial del patógeno, hasta que el micelio cubrió totalmente el medio de cultivo y adicionalmente se observó en cuál de ellos se producía la esporulación. El mejor medio se seleccionó para las pruebas posteriores.

3.4.1.3.1. DISEÑO ESTADÍSTICO

Para la determinación del mejor medio de cultivo se realizó el Diseño Completamente al Azar (DCA) con 4 tratamientos y 5 repeticiones (Figura 1), asimismo la Prueba de Tukey para la comparación de medias, con un nivel de significación de 0.05.

Los tratamientos en estudio fueron:

A=PDA (Papa Dextrosa Agar)

C=OMA (Oat Meal Agar)

B=CMA (Corn Meal Agar)

D=JV8 (Jugo V 8 Agar)

TRATAMIENTOS			
A1	A2	C4	D3
C1	B2	B5	A4
C3	C2	A3	B4
B1	D1	D5	C5
A5	B3	D2	D4

Figura 1. Distribución física de los tratamientos a nivel de laboratorio.

3.4.1.4. PRUEBA "IN VITRO" DE FUNGICIDAS PARA EL CONTROL DEL

AGENTE CAUSAL DE LA MUERTE REGRESIVA DE BROTES EN CAFÉ.

Se evaluaron diferentes fungicidas: Tebuconazole + Trifloxystrobin, Trifloxystrobin, Iprodione, Pirimetanil, Triadimenol + Tebuconazole y Metalaxil M + Mancozeb a fin de determinar la eficacia de cada uno de ellos en el control de *Phoma sp.* aislado de brotes de café. Se probó dosis baja (0.05%), media (0.25%) y alta (0.5%) según lo recomendado por la casa comercial.

En el Cuadro 2 se muestran los fungicidas evaluados. La eficacia de cada fungicida evaluado fue determinada por medio de la Técnica del Medio de Cultivo Envenenado (French y Herbert, 1980) de la siguiente manera:

1. Se preparó medio de cultivo PDA, el cual se esterilizó, luego 100 ml del medio a punto de plaqueo fue mezclado y homogenizado con cada uno de los ingredientes activos (Iprodione, Metalaxil + Mancozeb, Triadimenol + Tebuconazol, Tebuconazol + Trifloxystrobin, Pirimetanil, Trifloxystrobin), después 20 ml de la mezcla fue vertido a cada placa de Petri estériles y se les dejó reposar el tiempo necesario para su solidificación.
2. El aislamiento se obtuvo del margen de crecimiento activo de un cultivo de *Phoma sp.* de diez días de incubación. Una rodaja de 0.6 cm conteniendo el hongo es ubicado en el centro de la superficie, teniendo cuidado de poner en contacto el micelio del hongo con el medio de cultivo.

3. Se realizaron mediciones diarias del diámetro de crecimiento micelial del hongo. La última evaluación se realizó cuando el testigo cubrió toda la superficie del medio.

Cuadro 2: Fungicidas usados para el control de la muerte regresiva de brotes en café.

TRATAMIENTOS	FUNGICIDAS	INGREDIENTE ACTIVO
T1	Rovral	Iprodione
T2	Ridomil	Mancozeb + Metalaxil M
T3	Silvacur combi 300	Triadimenol + Tebuconazole
T4	Nativo	Trifloxystrobin + Tebuconazole
T5	Scala	Piremitanil
T6	Flint	Trifloxystrobin
T7	Testigo	PDA

3.4.1.4.1. DISEÑO ESTADÍSTICO

Para la prueba in vitro, se realizó el Diseño Completamente al Azar (DCA) con 7 tratamientos, 5 repeticiones y 3 dosis diferentes para cada fungicida y también la Prueba de Tukey para la comparación de medias, con un nivel de significación de 0.05.

Los tratamientos que se aplicaron en laboratorio fueron:

DOSIS		D1	D3	D2	D2	D3	D1	D1	D2	D3	D3	D2	D1	D2	D3	D1	D3	D2	D1	D2	D3	D1
REPETICION	1	I	B	D	J	C	F	L	G	P	N	LL	R	M	J	B	P	K	D	E	H	C
	2	Ñ	F	M	K	E	O	H	Q	C	R	E	O	A	LL	S	O	G	Q	L	Q	A
	3	D	N	A	J	N	L	B	LL	Q	J	E	F	S	I	O	S	LL	P	H	R	G
	4	Ñ	K	L	R	C	Q	Ñ	G	I	P	S	O	Ñ	B	G	F	D	M	C	P	S
	5	LL	K	A	H	I	F	N	M	Ñ	A	L	D	N	M	H	R	J	I	K	E	B

Figura 2: Distribución de los tratamientos en estudios a nivel "in vitro"

Dónde: (T1+D1=A); (T1+D2=B); (T1+D3=C); (T2+D1=D); (T2+D2=E); (T2+D3=F); (T3+D1=G); (T3+D2=H); (T3+D3=I); (T4+D1=J);
 (T4+D2=K); (T4+D3=L); (T5+D1=LL); (T5+D2=M); (T5+D3=N); (T6+D1=Ñ); (T6+D2=O); (T6+D3=P); (T7+D1=Q); (T7+D2=R);
 (T7+D3=S). TOTAL: 7 x 3 = (21 Tratamientos)

T1: Iprodione vs *Phoma tarda*.
 T3: Tebuconazole + Triadimenol vs *Phoma tarda*
 T5: Pirimetanil vs *Phoma tarda*
 T7: Testigo vs *Phoma tarda*
 D2: Dosis media

T2: Mancozeb + Metalaxil M vs *Phoma tarda*
 T4: Trifloxystrobin + Tebuconazole vs *Phoma tarda*
 T6: Trifloxystrobin vs *Phoma tarda*
 D1: Dosis baja
 D3: Dosis alta.

3.4.2 FASE DE VIVERO

En esta fase se probaron los fungicidas y dosis seleccionados: Iprodione, Mancozeb + Metalaxil M, Tebuconazole + Triadimenol, Trifloxystrobin + Tebuconazole, Pirimetanil en la fase de laboratorio con la finalidad de evaluar su efecto en el control del agente causal de la muerte regresiva de brotes en café. Ver en el Cuadro 3 la distribución de los tratamientos.

Cuadro 3: Tratamientos en estudios a nivel de vivero.

TRATAMIENTOS	FUNGICIDAS	INGREDIENTE ACTIVO
T1	Rovral	Iprodione
T2	Ridomil	Mancozeb + Metalaxil M
T3	Silvacur combi 300	Triadimenol + Tebuconazole
T4	Nativo	Trifloxystrobin + Tebuconazole
T5	Scala	Piremitanil
T6	Testigo	Ninguno
T7	Testigo absoluto	Ninguno

3.4.2.1. PRUEBA “*EN VIVERO*” DE FUNGICIDAS EN EL CONTROL DE LA MUERTE REGRESIVA DE BROTES EN CAFÉ.

3.4.2.1.1. APLICACIÓN DE LOS FUNGICIDAS

Se probó la eficiencia para el control de *Phoma sp.* con fungicidas seleccionados en la prueba a nivel in vitro: Iprodione (Rovral), Mancozeb + Metalaxil M (Ridomil), Triadimenol + Tebuconazole (Silvacur Combi 300), Trifloxystrobin + Tebuconazole (Nativo), Piremitanil (Scala) durante la fase de laboratorio.

Se usaron plantas de 5 meses de edad del cultivar Catimor, para lo cual se aplicaron las dosis bajas (0.05%), ya que fueron los que controlaron *Phoma* sp. Los fungicidas formulados tanto en polvo como en líquido fueron disueltos en agua para su respectiva aplicación. La frecuencia de aplicación de cada fungicida y las evaluaciones de severidad de la enfermedad fue cada 7 días. La aplicación se efectuó mediante aspersión dirigida a la parte aérea de la planta, usando asperjadores.

Para este trabajo de investigación, el tratamiento “Testigo Absoluto” no recibió ninguna aplicación y para el caso del “Testigo” sólo se le inoculó el agente causante de la muerte regresiva de brotes en café.

Para determinar el efecto de cada uno de los fungicidas en el control del agente causal de la muerte regresiva de brotes, antes de cada aplicación se evaluó el porcentaje de severidad de la enfermedad, usando la escala propuesta modificada “Norma para la ejecución y remisión de información de actividades del programa manejo integrado de plagas y enfermedades del café” Cuadro 4 y Figura 3 (SENASA, 2003).

Cuadro 4: Escala de evaluación para el cultivar Catimor

GRADO	ESCALA DE SEVERIDAD
	Descripción
1	Sano o sin síntoma visible
2	Síntomas visibles llegando de 1 a 5 % del área total sana
3	Las manchas empiezan a unirse llegando a ocupar del 6 al 20% del área sana
4	Las hojas comienzan a necrosarse de manera muy notoria afectando del 21 al 50% del área sana
5	Mayor al 50% del área foliar se encuentra afectada

Fuente: SENASA (2003)

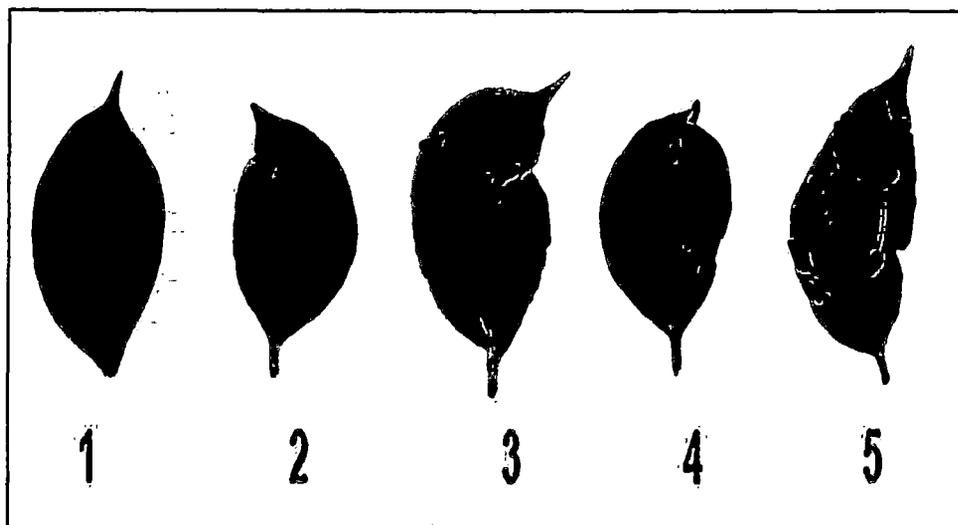


Figura 3. Escala diagramática de evaluación propuesta por SENASA para la mancha foliar de brotes en café cultivar Catimor.

Las plántulas fueron evaluadas según el intervalo señalado (7días), con la finalidad de evaluar la eficiencia de cada tratamiento (fungicidas). Se realizó el análisis de variancia, utilizando el paquete estadístico SAS; posteriormente, se realizó la prueba de significación de Tukey para establecer las diferencias entre los tratamientos evaluados en el presente trabajo (Calzada, 1982).

3.4.2.1.2. DISEÑO ESTADÍSTICO

El diseño estadístico utilizado en el ensayo experimental a nivel de vivero fue el Diseño Completamente al Azar (DCA) con 7 tratamientos y 3 repeticiones, se realizó también la Prueba de Tukey para la comparación de medias, con un nivel de significación de 0.05.

3.4.2.1.3. TRATAMIENTOS EN ESTUDIO

Se tienen nueve plantas por cada tratamiento y para cada repetición, y la distribución se realizó como se muestra en la figura 4.

		TRATAMIENTOS						
		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
REPETICIÓN 1	A	E	C	A	D	F	C	
REPETICION 2	D	B	F	G	E	A	F	
REPETICION 3	E	G	B	D	G	C	B	
REPETICION 4	B	F	D	G	D	A	E	
REPETICION 5	F	C	E	A	G	C	B	

Figura 4. Distribución al azar y Diseño Experimental a nivel de Vivero.

IV. RESULTADOS

4.1. RESULTADOS

4.1.1 A NIVEL DE LABORATORIO

4.1.1.1. IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL DE LA MUERTE REGRESIVA DE BROTES EN CAFÉ.

a. Aislamiento

a.1. Aislamiento en medio de cultivo

A los ocho días, de la siembra en medio PDA, las colonias presentaron abundante micelio. Seguidamente se procedió a realizar el repique de las diferentes colonias para su purificación (Figura 6).

a.2. Aislamiento en cámara húmeda

En cámara húmeda, a los siete días de colocadas en incubación con ayuda del microscopio compuesto y el estereoscopio, se observó el desarrollo de colonias, con micelio inicialmente de color blanquecino, el cual conforme transcurrieron los días fueron cambiando a un color marrón. Se realizó la siembra para luego repicar y purificar la colonia (Figura 5).

b. Purificación

Al purificar el agente causal, este se almacenó en refrigeración a 10°C para su respectiva identificación.

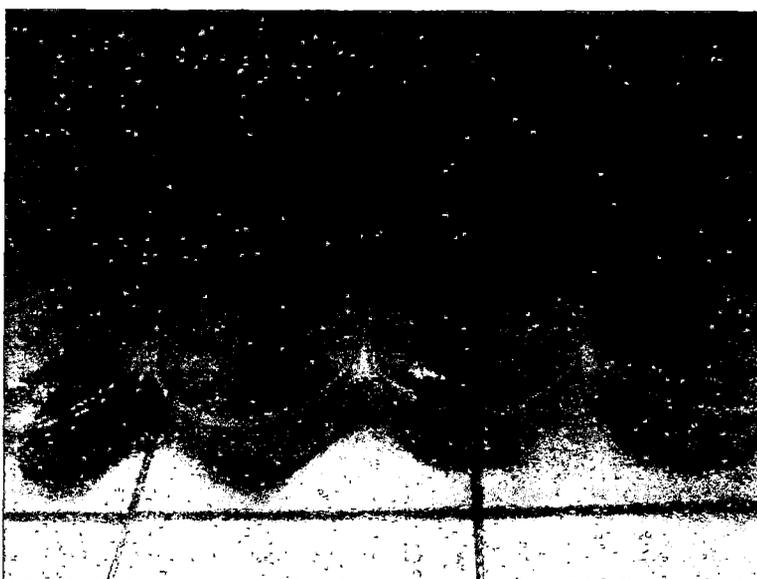


Figura 5. Aislamiento en cámara húmeda de hojas y brotes de café.



Figura 6. Aislamiento en medio de cultivo PDA de *Phoma sp.*

c. Identificación del agente causal

El resultado a nivel de género y especie obtenido del aislamiento de las manchas necróticas a nivel de brotes en plántulas de café, tanto en medio PDA y Cámara húmeda es *Phoma tarda* (R. B. Stewart) H. Verm., el cual fue Identificado en la Clínica de Diagnósis de Fitopatología y Nematología de la Universidad Nacional Agraria La Molina; estos datos coinciden con la descripción hecha por Sutton (1980) y Castaño (1984).

4.1.1.2. ANÁLISIS MICOLÓGICO DE SEMILLAS DE CAFÉ

Los resultados obtenidos del análisis de semillas (Cuadro 5 y figura 7) se encontró *Penicillium sp.* y *Aspergillus sp.*, según el método papel toalla. Por tanto *Penicillium sp.* y *Aspergillus sp.* se presentan como problema a nivel de almacén y más aún si el café pergamino está con un porcentaje de humedad mayor al 13%. Se observa que la mayor cantidad de inóculo, se presenta en los granos de café con pergamino y menor cantidad de inóculo en los granos de café sin pergamino. De esta manera se descarta que *Phoma tarda* infeste por semilla.

Cuadro 5. Resultados del análisis micológico de semillas de café por el método papel toalla

MÉTODO	TRATAMIENTO	SEMILLAS INFECTADAS (%)	PATÓGENO
Papel toalla	Con pergamino	99.6	<i>Penicillium sp.</i> y <i>Aspergillus sp.</i>
	Sin pergamino	85.4	<i>Penicillium sp.</i> y <i>Aspergillus sp.</i>

ANÁLISIS MICOLÓGICO DE SEMILLAS DEL CAFÉ

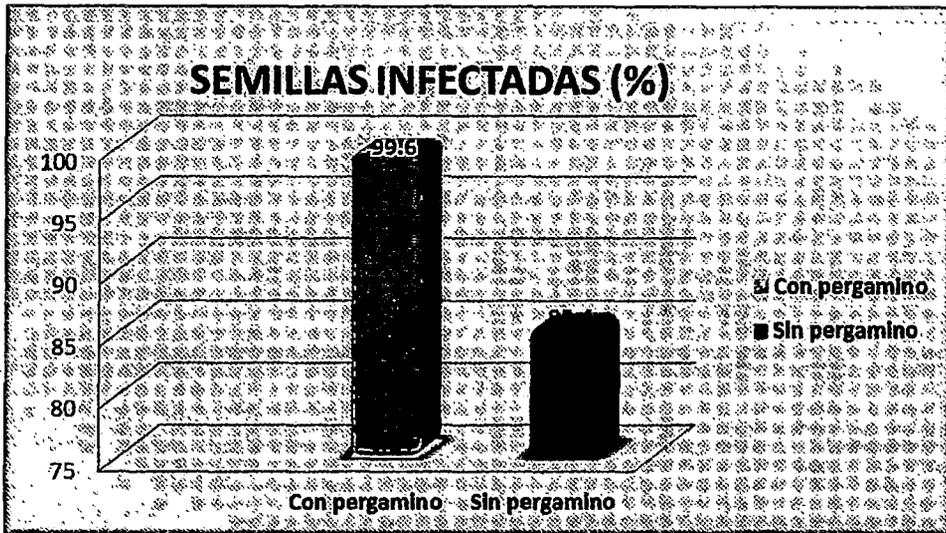


Figura 7. Porcentaje de semillas infestadas de café con y sin pergamino.

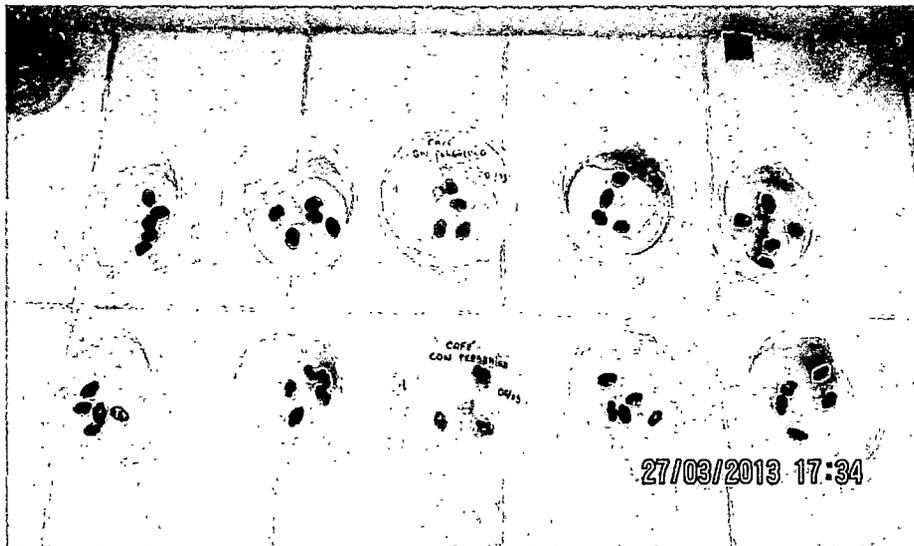


Figura 8. Análisis micológico de semillas de café, con y sin pergamino por el método papel toalla, donde se observa el crecimiento de *Penicillium sp.* y *Aspergillus sp.*

4.1.1.3. DETERMINAR EL MEJOR MEDIO DE CULTIVO PARA EL FITOPATÓGENO AISLADO

Se observa que en los medios de PDA, JV8, CMA y OMA, favorecieron el crecimiento y desarrollo micelial des uniforme, a pesar de tener las condiciones favorables como temperatura y luz. A los 10 días después de siembra del fitopatógeno identificado, el medio CMA y OMA fue el que permitió un mejor crecimiento micelial del fitopatógeno *Phoma tarda*, llegando a cubrir un 85.00 y 70.95 mm de diámetro sobre el medio de cultivo. Ver el Cuadro 6.

Cuadro 6. Diámetro promedio (mm) del crecimiento micelial del fitopatógeno en diferentes medios de cultivo, a los 10 días después de la siembra.

		MEDIOS DE CULTIVO			
		PDA	CMA	OMA	JV8
REPETICIONES	1	65.25	85.00	67.25	69.25
	2	64.75	85.00	72.75	70.00
	3	65.75	85.00	70.75	66.25
	4	64.00	85.00	70.50	65.25
	5	62.25	85.00	73.50	69.75
PROMEDIO		64.40	85.00	70.95	68.10

Aproximadamente después de 13 días de haber sido sembrado en los medios CMA y OMA se observó, en la superficie de cada bloque de agar, la presencia abundante de picnidia semi inmersa. La cual coincide con la identificación de la Clínica de la UNALM.

El análisis de variancia (Cuadro 7) muestra diferencias estadísticas significativas para la fuente de variabilidad de los tratamientos. El coeficiente de variabilidad fue de 2.45%, que se ubica dentro de los rangos establecidos para los trabajos hechos en laboratorio en condiciones de asepsia.

Cuadro 7. Análisis de variancia del crecimiento micelial (mm), del fitopatógeno en diferentes medios de cultivo, a los 10 días después de la siembra.

FUENTE DE VARIACIÓN	G.L.	S.C.	C.M.	$\frac{F}{\text{CALCULADO}}$	F TEÓRICO 5%
Tratamiento	3	1215.1093	405.0364	128.77	3.24 *
Error	16	50.3250	3.1453		
Total	19	1265.4343			
CV (%)			2.45		
Promedio			72.11		

Cuadro 8. Prueba de Tukey para promedios del crecimiento micelial (mm) del fitopatógeno en los diferentes medios de cultivo, a los 10 días después de la siembra.

TRATAMIENTO	MEDIOS DE CULTIVO	DESARROLLO MICELIAL PROMEDIO	SIGNIFICACIÓN
M2	CMA (corn meal agar)	85.00	a
M3	OMA (oat meal agar)	70.95	b
M4	JV8 (jugo V8)	68.10	b
M1	PDA (papa dextrosa agar)	64.40	c

La prueba de comparación de Tukey al 0.05 (Cuadro 8 y Figura 9), muestran que en el medio de cultivo CMA desarrollo completamente *Phoma tarda*, mientras los medios de cultivos OMA y JV8 no muestran diferencias estadísticas entre sí; seguido del medio PDA que difiere del resto de los medios.

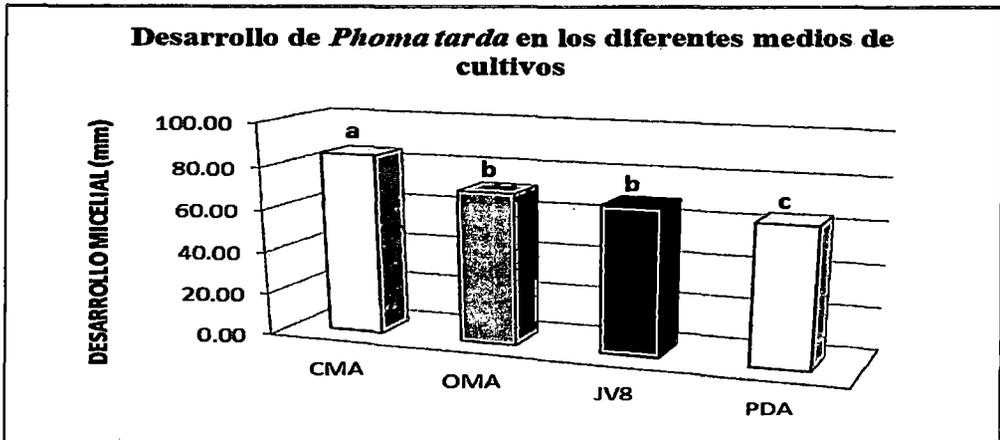


Figura 9. Crecimiento micelial (mm) del fitopatógeno en diferentes medios de cultivo, a los 10 días después de la siembra.

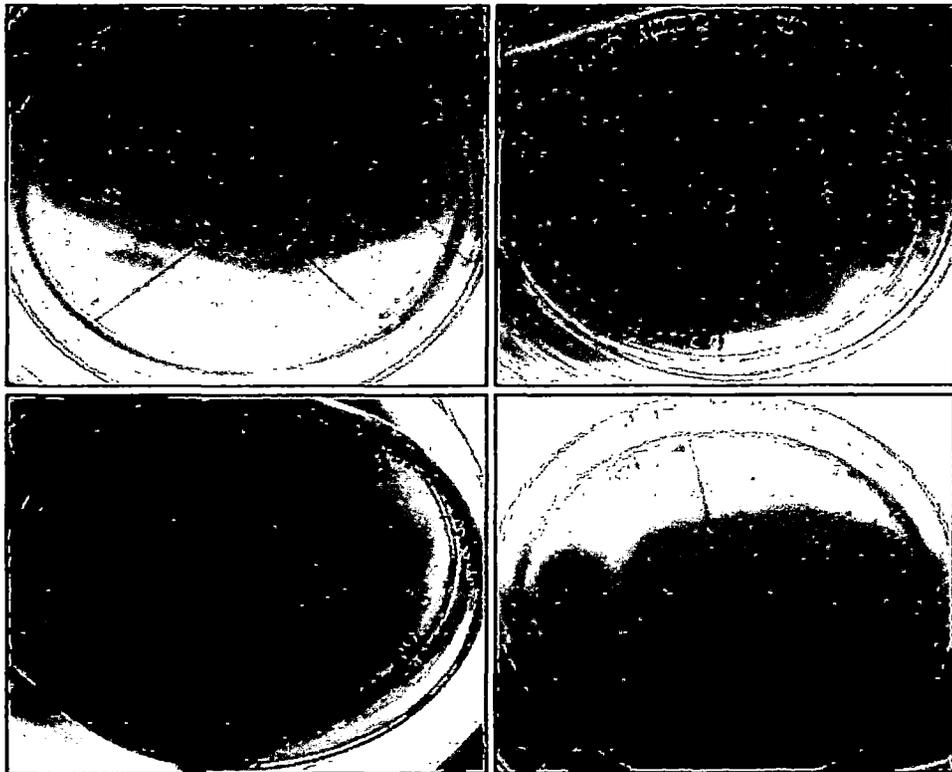


Figura 10. Medición a los 3 días del crecimiento de *Phoma tarda* en diferentes medios como: PDA, CMA, OMA y Jugo V8.

4.1.1.4. PRUEBA "IN VITRO" DE FUNGICIDAS PARA EL CONTROL DEL AGENTE CAUSAL DE LA MUERTE

REGRESIVA DE BROTES EN CAFÉ.

En el Cuadro 9 se muestra las mediciones del crecimiento micelial en mm a nivel in vitro de *Phoma tarda*, utilizando los diferentes fungicidas: Tebuconazole + Trifloxystrobin, Trifloxystrobin, Iprodione, Pirimetanil, Triadimenol + Tebuconazole y Metalaxil M + Mancozeb y dosis: baja (0.05%), media (0.25%) y alta (0.5%) según lo recomendado por la casa comercial.

Cuadro 9. Inhibición del crecimiento micelial de *Phoma tarda* con diferentes fungicidas y dosis.

FUNGICIDAS	RIDOMIL (T2)			FLRYT (T6)			TESTIGO (T7)			SCALA (T5)			ROVRAL (T1)			SILVACUR COMBI 300 (T3)			NATIVO (T4)			
	Baja (D1)	Media (D2)	Alta (D3)	Baja (D1)	Media (D2)	Alta (D3)	Baja (D1)	Media (D2)	Alta (D3)	Baja (D1)	Media (D2)	Alta (D3)	Baja (D1)	Media (D2)	Alta (D3)	Baja (D1)	Media (D2)	Alta (D3)	Baja (D1)	Media (D2)	Alta (D3)	
TRATAMIENTOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
REPETICIONES	1	0.00	0.00	0.00	10.00	9.00	8.000	85.00	85.00	85.000	0.00	0.00	0.000	0.00	0.00	0.000	0.00	0.00	0.000	0.00	0.00	0.000
	2	0.00	0.00	0.00	9.00	8.00	7.000	85.00	85.00	85.000	0.00	0.00	0.000	0.00	0.00	0.000	0.00	0.00	0.000	0.00	0.00	0.000
	3	0.00	0.00	0.00	9.50	8.50	7.500	85.00	85.00	85.000	0.00	0.00	0.000	0.00	0.00	0.000	0.00	0.00	0.000	0.00	0.00	0.000
	4	0.00	0.00	0.00	10.00	9.00	8.000	85.00	85.00	85.000	0.00	0.00	0.000	0.00	0.00	0.000	0.00	0.00	0.000	0.00	0.00	0.000
	5	0.00	0.00	0.00	9.50	8.50	7.500	85.00	85.00	85.000	0.00	0.00	0.000	0.00	0.00	0.000	0.00	0.00	0.000	0.00	0.00	0.000
TOTAL TRATAMIENTOS	0.00	0.00	0.00	48.00	43.00	38.00	425.00	425.00	425.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
TOTAL FUNGICIDAS	0.00			129.00			1275.00			0.00			0.00			0.00			0.00			
TOTAL DOSIS																						
PROMEDIO TRATAMIENTOS	0.00	0.00	0.00	9.60	8.60	7.60	85.00	85.00	85.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	

Se muestran los resultados de la inhibición del crecimiento de *Phoma tarda* en condiciones “*in vitro*” por efecto de los fungicidas. En la figura 11, se puede apreciar que no todos los fungicidas mostraron efectividad a 25 °C al cabo de 10 días.

Los fungicidas Trifloxystrobin + Tebuconazole (Nativo), Triadimenol + Tebuconazole (Silvacur combi 300), Iprodione (Rovral), Piremitanil (Scala) y Mancozeb + Metalaxil M (Ridomil) impidieron completamente el desarrollo del patógeno *Phoma tarda* a la dosis baja (0.05%), media (0.25%) y alta (0.5%). El fungicida Trifloxystrobin (Flint), bajo las mismas condiciones no fue muy efectivo, pues *Phoma tarda* pudo desarrollar micelio en diámetros de 8.60 mm.; el tratamiento testigo de *Phoma tarda* mostró 100% de desarrollo micelial y abundante producción de picnidias. El fungicida Trifloxystrobin (Flint), por su poca efectividad para la inhibición de *Phoma tarda*, fue descartado para las pruebas posteriores.

En el Cuadro 10, se observa el respectivo análisis de variancia para el crecimiento micelial de *Phoma tarda* en tratamientos con fungicidas. La prueba del ANVA indica que existe diferencia estadística significativa a nivel de tratamientos, fungicidas, dosis e interacción. El coeficiente de variabilidad es de 1.18 %, debido a que se trabajó bajo condiciones controladas (asepsia).

Cuadro 10. Análisis de variancia del crecimiento micelial “*in vitro*” de *Phoma tarda* en tratamientos con fungicidas.

FUENTE DE VARIACIÓN	G.L.	S.C.	C.M.	F	F TEÓRICO	
				CALCULADO	5%	
Tratamiento	20	90720.9142	4536.046	181442.00	1.70	*
Fungicidas	6	90710.9142	15118.49	604739.00	2.20	*
Dosis	2	1.4285	0.7142	28.57	3.11	*
Fungicidas*dosis	12	8.5714	0.7142	28.57	1.87	*
Error	84	2.1000	0.025			
Total	104	90723.0142				
CV (%)				1.18		
Promedio				13.37		

Cuadro 11. Prueba de Tukey (0.05) para el crecimiento micelial promedio de *Phoma tarda* en tratamientos con fungicidas.

TRATAMIENTO	FUNGICIDAS	DESARROLLO MICELIAL PROMEDIO	SIGNIFICACIÓN
F7	Nativo	0.0	a
F6	Silvacur combi 300	0.0	a
F5	Rovral	0.0	a
F4	Scala	0.0	a
F1	Ridomil	0.0	a
F2	Flint	8.6	b
F3	Testigo	85.0	c

La prueba de comparación de medias Tukey a 0.05 (Cuadro 11), muestra que los respectivos tratamientos son diferentes entre sí, donde se observa que Tryfloxystrobin (Flint) permitió el crecimiento del patógeno, razón por el cual tiene un comportamiento similar que el Testigo (PDA).

Los fungicidas como: Trifloxystrobin + Tebuconazole (Nativo), Triadimenol + Tebuconazole (Silvacur combi 300), Iprodione (Rovral), Piremitanil (Scala) y Mancozeb + Metalaxil M (Ridomil) no presentan diferencias estadísticas entre ellos porque tienen el mismo efecto sobre el crecimiento y desarrollo de *Phoma tarda*, la inhibición del crecimiento es total.

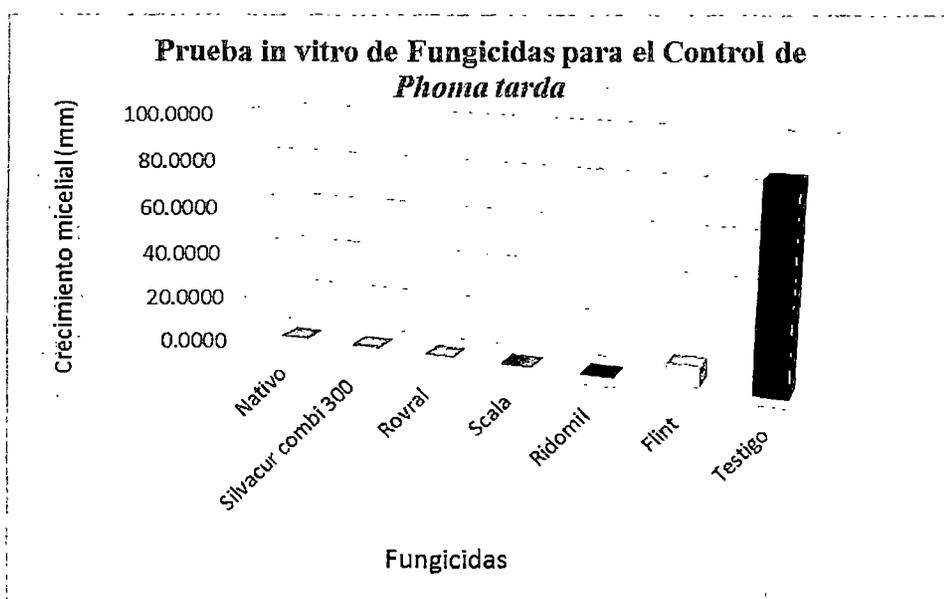


Figura 11. Crecimiento micelial (mm) de *Phoma tarda* en los tratamientos con fungicidas.

Cuadro 12. Prueba de Tukey (0.05) para el crecimiento micelial promedio de *Phoma tarda* en tratamientos con diferentes dosis.

TRATAMIENTO	DOSIS	DESARROLLO MICELIAL PROMEDIO	SIGNIFICACIÓN
D3	Alta	13.228	a
D2	Media	13.371	b
D1	Baja	13.514	c

El Cuadro 12, de la prueba de comparación de medias (Tukey) para el crecimiento micelial promedio de *Phoma tarda* en tratamientos con diferentes dosis, indica que la mejor dosis que logró inhibir el crecimiento y desarrollo de *Phoma tarda*, fue la Dosis alta (0.5%), Seguido de Dosis media (0.25%) y Dosis baja (0.05%).

La interacción entre fungicidas y dosis fue significativa, esto indica que se debe realizar un ANVA de efectos simples. Por tanto en el Cuadro 13, se observa que Trifloxystrobin (Flint), estadísticamente es significativo, esto quiere decir, que a una dosis baja (0.05%), media (0.25%) y alta (0.5%), la inhibición fue diferente, por ello *Phoma tarda* tuvo un crecimiento y desarrollo micelial tanto a una dosis alta (0.5%), media (0.25%) y baja (0.05%).

Los tratamientos Trifloxystrobin + Tebuconazole (Nativo), Triadimenol + Tebuconazole (Silvacur combi 300), Iprodione (Rovral), Piremitanil (Scala) y Mancozeb + Metalaxil M (Ridomil) estadísticamente son “no significativos”, esto quiere decir que *Phoma tarda* fue inhibido completamente por los fungicidas, tanto a la dosis baja (0.05%), media (0.25%) y alta (0.5%). Asimismo las dosis baja (0.05%), dosis media (0.25%) y dosis alta (0.5%), estadísticamente “son significativos”, esto quiere decir que de los productos en estudio no inhibieron completamente el crecimiento y desarrollo del patógeno *Phoma tarda*.

De acuerdo a estos resultados se seleccionaron para las pruebas posteriores los tratamientos con dosis bajas (0.05%) de los fungicidas Trifloxystrobin + Tebuconazole (Nativo), Triadimenol + Tebuconazole (Silvacur combi 300), Iprodione (Rovral), Piremitanil (Scala) y Mancozeb + Metalaxil M (Ridomil).

Cuadro 13. Análisis de variancia del crecimiento micelial “*in vitro*” de efectos simples de la interacción (Fungicidas en diferentes dosis, Diferentes dosis en fungicidas).

FUENTE DE VARIACIÓN	G.L.	S.C.	C.M.	F	F TEÓRICO	
				CALCULADO	5%	
Ridomil en dosis	2	0.0	0.0	0.0	3.10	ns
Flint en dosis	2	10.0	5.0	200.0	3.10	*
Testigo en dosis	2	0.0	0.0	0.0	3.10	ns
Scala en dosis	2	0.0	0.0	0.0	3.10	ns
Rovral en dosis	2	0.0	0.0	0.0	3.10	ns
Silvacur en dosis	2	0.0	0.0	0.0	3.10	ns
Nativo en dosis	2	0.0	0.0	0.0	3.10	ns
Dosis baja en Fungicidas	6	30194.0	5032.3	201290.0	2.21	*
Dosis media en Fungicidas	6	30237.0	5039.5	201580.0	2.21	*
Dosis alta en fungicidas	6	30289.0	5048.2	201926.0	2.21	*
Error	84	2.1	0.0			

4.1.2. A NIVEL DE VIVERO

4.1.2.1. PRUEBA “EN VIVERO” DE FUNGICIDAS PARA EL CONTROL DEL AGENTE CAUSAL DE LA MUERTE REGRESIVA DE BROTES EN CAFÉ.

Se observa en el Cuadro 14 y figura 12, la variación del promedio del área foliar afectado por *Phoma tarda* en los diferentes días, durante el desarrollo del experimento.

Cuadro 14. Promedio del porcentaje del área foliar afectado por *Phoma tarda*.

TRATAMIENTOS	DÍAS DE EVALUACIÓN					
	7	14	21	28	35	42
Scala	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ridomil	0.00	1.99	4.11	6.05	8.15	11.65
Rovral	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Silvacur Combi 300	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Nativo	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Testigo	5.09	10.79	15.64	21.50	26.09	34.46
T. Absoluto	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

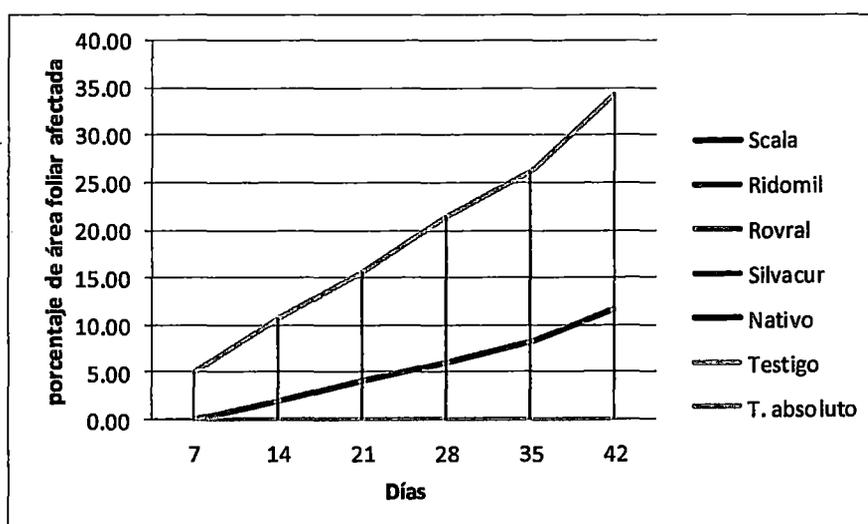


Figura 12. Promedio del porcentaje del área foliar afectado por *Phoma tarda*.

En el Cuadro 15 y figura 13, se muestran los promedios del porcentaje de severidad a los 42 días, de los diferentes tratamientos. Se observa que el tratamiento Testigo muestra el mayor porcentaje de severidad, seguido del tratamiento con el fungicida Ridomil que tuvo el menor porcentaje de control de la enfermedad con 11.7 % logrando grado 3 en la escala de severidad. Y los tratamientos con los fungicidas Scala, Rovral, Silvacur combi 300 y Nativo, no mostraron área foliar afectada por *Phoma tarda*, porque tuvieron un control de la enfermedad del 100% y grado 1 en la escala de severidad.

Cuadro 15. Porcentaje promedio de área foliar afectada por *Phoma tarda*, a los 42 días.

	SCALA	RIDOMIL	ROVRAL	SILVACUR COMBI 300	NATIVO	TESTIGO	TESTIGO ABSOLUTO
1	0.00	12.28	0.00	0.00	0.00	34.5	0.00
2	0.00	12.34	0.00	0.00	0.00	30.64	0.00
3	0.00	11.56	0.00	0.00	0.00	35.4	0.00
4	0.00	11.1	0.00	0.00	0.00	35.53	0.00
5	0.00	10.98	0.00	0.00	0.00	36.23	0.00
PROMEDIO	0.00	11.65	0.00	0.00	0.00	34.46	0.00

El análisis de variancia (Cuadro 16) muestra diferencias estadísticas significativas para la fuente de variabilidad de los tratamientos. El coeficiente de variabilidad fue de 13.26%, que se ubica dentro del rango establecido para los trabajos de campo (Calzada, 1982).

Cuadro 16. Análisis de variancia del porcentaje de área foliar afectada por *Phoma tarda*, a los 42 días.

FUENTE DE VARIACIÓN	G.L.	S.C.	C.M.	F	F TEÓRICO
				CALCULADO	5%
Tratamiento	6	5097.5059	849.5843	1112.24	2.45 *
Error	28	21.3878	0.7638		
Total	34	5118.8938			
CV (%)			13.26		
Promedio			6.58		

Al realizarse la prueba de Tukey (Cuadro 17) para un nivel de 0.05, demostraron ser superiores todos los tratamientos con fungicidas sobre el tratamiento testigo. Scala, Rovral, Silvacur combi 300 y Nativo se mostraron como los tratamientos fungicidas de mayor eficacia de control en comparación al resto de fungicidas.

Cuadro 17. Prueba de Tukey, para valores promedios del porcentaje de área foliar afectada por *Phoma tarda*, a los 42 días.

TRATAMIENTO	FUNGICIDAS	SEVERIDAD PROMEDIO	SIGNIFICACIÓN
TA	Testigo absoluto	0.0	a
F6	Silvacur combi 300	0.0	a
F7	Nativo	0.0	a
F5	Rovral	0.0	a
F4	Scala	0.0	a
F1	Ridomil	11.7	b
T	Testigo	34.5	c

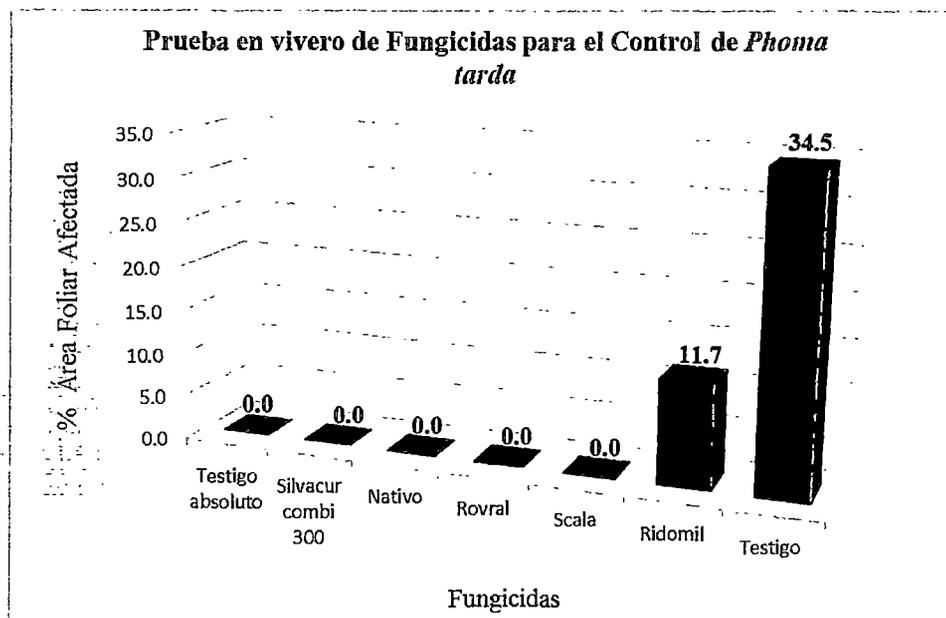


Figura 13. Promedio del porcentaje del área foliar afectado por *Phoma tarda*.



Figura 14: Ubicación de plantas para la aplicación con fungicidas en el vivero de la Facultad de Agronomía Tropical.



Figura 15: Evaluación de los diferentes tratamientos y dosis en plantas de café cultivar Catimor.

4.2. DISCUSIÓN

El hongo *Phoma tarda*, aislado e identificado a nivel de género y especie de los brotes en plántulas de café, procedente del Sector Calderón Alta del Distrito Santa Ana – Cusco, es también reportada en cafetales de altura de la selva central (Chanchamayo y Oxapampa) afectando también plántulas de café en condiciones de vivero (Tirado, 2007).

Según el análisis micológico se determinó que no existe transmisión por semilla del hongo *Phoma tarda*, Solo se encontró hongos secundarios como: *Penicillium sp.* y *Aspergillus sp.*; este resultado lo relacionamos con lo manifestado por otros reportes (Castañeda, 2000 y Schuller, 2003), quienes manifiestan que en la superficie de la semilla se encontró hongos secundarios como: *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Nigrospora sp.*, *Curvularia sp.*, y *Rosellinia sp.*

Los medios de cultivo que favorecieron un mejor crecimiento micelial y desarrollo de *Phoma tarda*, a nivel in vitro fueron CMA y OMA, los cuales son ricos en hidratos de carbono. Existe reportes (Sutton, 1980), donde afirma que estos compuestos favorecen el crecimiento y aumentan la producción de picnidias y conidias.

A nivel in vitro los fungicidas que sobresalieron por inhibir el desarrollo de *Phoma tarda* fueron: T4 (Nativo), T3 (Silvacur combi 300), T1 (Rovral), T5 (Scala) y T2 (Ridomil), los cuatro primeros están recomendados principalmente para el control de fitopatógenos que causan manchas foliares, entre los cuales se encuentra *Phoma tarda*.

Mientras Ridomil está recomendado para varios patógenos del suelo, entre los cuales se hallan oomicetos. Según los resultados obtenidos, para el control de fitopatógenos que causan manchas foliares se observa que el fungicida T6 (Flint) no es muy efectivo, especialmente para *Phoma tarda* (no se tiene mayor información al respecto). Aquellos productos que no lograron inhibir completamente el desarrollo del hongo, indicarían que estos no son muy efectivos o recomendables para integrar un programa de manejo de enfermedades, ya que una vez que pase el periodo de carencia del producto, el hongo podría desarrollar rápidamente y causar graves daños (Bayer, 2011).

A nivel in vitro los fungicidas evaluados como el: T4 (Nativo), T3 (Silvacur combi 300), T1 (Rovral), T5 (Scala) y T2 (Ridomil), tanto a dosis alta (0.5%), media (0.25%) y baja (0.05%) lograron el mayor control eficiente del patógeno *Phoma tarda*, esto podría deberse al mecanismo de acción de los diferentes ingredientes activos que cada uno de ellos posee, porque una vez penetrado en la espora fungosa, alcanza rápidamente el sitio de acción en el hongo antes de que este penetre y también podría deberse a la buena capacidad de adherencia en las plantas y así poder resistir los efectos climatológicos adversos por periodos largos. Excepto T6 (Flint) que no logro controlar el patógeno, también podría ser por su mecanismo de acción y debido a que este fungicida no es muy recomendable especialmente para *Phoma tarda* (Bayer, 2011).

A nivel de vivero los fungicidas evaluados: (Silvacur combi 300), (Nativo), (Rovral) y (Scala) a dosis bajas (0.05%) mostraron mayor eficacia de control del área foliar, debido al amplio espectro de acción con un nivel de efectividad muy alto sobre varias especies de hongos pertenecientes a la división Ascomycota y Deuteromycota.

Razón por lo cual se tuvo un mayor control de la enfermedad. Además, esto podría ocurrir porque ellos, actúan afectando diversos procesos metabólicos del patógeno.

Otra característica es que presentan mayor residualidad después de ser aplicados (BASF, 2009); mientras el fungicida Ridomil permitió el desarrollo de *Phoma tarda* afectando un 11.7% del área foliar, esto quiere decir, que este fungicida tiene poca residualidad. Así mismo, el testigo tuvo un 34.5% de área foliar afectada en comparación con el testigo absoluto con 0%.

V. CONCLUSIONES

1. Se identificó a nivel de género y especie a *Phoma tarda* (R.B Stewart) H. Verm
2. Se determinó la presencia de hongos: *Penicillium sp.* y *Aspergillus sp.* descartando así que *Phoma tarda* infeste por semilla.
3. El mejor medio de cultivo para *Phoma tarda* es CMA (Corn meal agar) y OMA (Oat meal agar) que permitió un crecimiento de 85.00 y 70.95 mm de diámetro sobre el medio de cultivo.
4. A nivel "In vitro" los fungicidas que lograron un 100% de inhibición del desarrollo de *Phoma tarda* (R.B Stewart) H. Verm son: Tebuconazol + Trifloxystrobin (Nativo), Triadimenol + Tebuconazol (Silvacur combi 300), Iprodione (Rovral), Pirimetanil (Scala) y Metalaxil M+ Mancozeb (Ridomil) a sus tres dosis. mientras el fungicida Trifloxystrobin (Flint) a sus tres dosis si permitió el crecimiento de *Phoma tarda*.
5. A nivel de "vivero" los fungicidas: Tebuconazol + Trifloxystrobin (Nativo), Triadimenol + Tebuconazol (Silvacur combi 300), Iprodione (Rovral) y Pirimetanil (Scala), controlaron eficientemente al 100% la necrosis de brotes en plántulas de café causado por *Phoma tarda* (R.B Stewart) H. Verm; mientras el fungicida Mancozeb + Metalaxil M (Ridomil) tuvo un menor porcentaje de control del área foliar con 11.7 %. Así mismo el testigo respecto del testigo absoluto se vio afectada en 34.5% del área foliar por *Phoma tarda*.

VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar más estudios del agente causal para determinar el comportamiento de la enfermedad en diferentes altitudes para las condiciones de La Convención.
2. Realizar trabajos de control químico en condiciones de campo con los mejores fungicidas seleccionados a nivel de vivero en el presente trabajo.
3. Usar semillas con un porcentaje de humedad no mayor de 13% para evitar el desarrollo de patógenos.
4. Almacenar las semillas de café con un porcentaje de humedad no mayor al 12%.
5. Utilizar los fungicidas oportunamente y a una dosis adecuada.

VII. RESUMEN

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en la Facultad de Ciencias Agrarias Tropicales – UNSAAC (Sede Quillabamba), ubicado en la provincia de la Convención-Región Cusco, en los meses de Enero a Mayo del 2013. Con el objetivo de identificar el agente causal y evaluar el efecto de fungicidas comerciales en el control de la muerte regresiva de brotes en plantas de café (*C. arábica*) a nivel in vitro y vivero.

Las plantas de café (*Coffea arabica*) variedad Catimor, fueron encontradas con síntomas de muerte regresiva a nivel de brotes apicales, en el Sector Calderón Alta del Distrito Santa Ana – Provincia de La Convención – Cusco. Realizadas las observaciones y pruebas a nivel de laboratorio y vivero, se identificó por medio de la Clínica de la UNALM que el agente causal de la sintomatología observada fue *Phoma tarda* (R.B Stewart) H. Verm. Así mismo, la prueba de patogenicidad confirmó que se trata de la misma enfermedad.

El análisis micológico de las semillas permitió determinar que *Phoma tarda* (R.B Stewart) H. Verm, no se disemina por semilla. Además, las pruebas “in vitro”, determinó que el medio de cultivo CMA (Corn meal agar) y OMA (Oat Meal Agar), favorecieron el mejor crecimiento y desarrollo de agente causal *Phoma tarda* (R.B Stewart) H. Verm.

A nivel "in vitro", los fungicidas Tebuconazol + Trifloxystrobin (Nativo), Triadimenol + Tebuconazol (Silvacur combi 300), Iprodione (Rovral), Pirimetanil (Scala) y Metalaxil + Mancozeb (Ridomil), inhibieron el crecimiento micelial de *Phoma tarda* (R.B Stewart) H. Verm. en un 100%. Y en condiciones de "vivero", los fungicidas Tebuconazol + Trifloxystrobin (Nativo), Triadimenol + Tebuconazol (Silvacur combi 300), Iprodione (Rovral) y Pirimetanil (Scala), tuvieron el mejor control sobre *Phoma tarda* (R.B Stewart) H. Verm en un 100%.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Agrios, G. N. 1996. Fitopatología. 2^{da} ed. México. Limusa. 838p.
2. Almeida, S. R.; Mantiello, J. B. 1989. Estudo de novos produtos para controle quimico a *Phoma spp.* Em cafeeiros, a nivel de campo. In: Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, 15. Maringa, Setembro 26 – 29, 1989. Trabalhos apresentados. Rio de Janeiro, IBC. p. 145 – 146.
3. Asociación Nacional del Café. ANACAFE. 1998. Capítulo 3: Especies y Variedades En: Manual de caficultura. 3^{ra} edición. Guatemala. 26-39 p.
4. Basf. 2009. Información técnica. Chile S. A. – Carrascal – Santiago – Chile. 24 p.
5. Bayer CropScience. 2011. Diccionario de Especialidades Agroquímicas. DEAQ. Edición 5. Lima-Perú. 943p.
6. Blas, R., Cruz, R.; Bello, S., Borjas, R.; Talaverano, D.; Echevarría, C., Crespo, R; Flores, J.; Álvarez, F.; Sánchez, M.; Julca, A. 2011. Informe del Proyecto: Estudio de variabilidad genética del café y establecimiento de un banco de germoplasma en la selva peruana. Caracterización del germoplasma peruano de café. FINCYT. Editorial ESERGRAF. 26-28 p.
7. Cáceres P., V. R. Evaluación de tres fungicidas en el control del derrite del cafeto (*Phoma sp.*) municipio de pueblo nuevo viñas, departamento de Santa Rosa. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Agronomía. Pueblo Nuevo Viñas, 1999. 44 p. (Tesis: Ingeniero agrónomo).
8. Cadena G., G. 1982. Muerte Descendente (*Phoma sp.*). In: Centro Nacional de Investigaciones de Café – Cenicafe. Chinchiná. Colombia. Informe anual sección de Fitopatología Chinchiná, Cenicafe. p. 8-20.

9. Café Perú. 2011. Compendio de artículos de investigación de Post cosecha y calidad del café. 1^{ra} Ed. Café Perú. Lima-Perú. 50p.
10. Calzada, J. 1982. Métodos estadísticos para la investigación. Lima – Perú.
11. Castañeda, E. 1997. Manual Técnico Cafetalero. Proyecto ADEX – USAID. Lima – Perú, INDES. 162p.
12. Castañeda, E. 2000. El ABC del Café. Cultivando calidad. Lima – Perú. TECNATROP S.R. L. 172p.
13. Castaño, J.J. 1984. Muerte descendente en cafetos de toda edad en varias regiones del departamento del Cauca. Boletín informativo (Colombia) N° 73:12-20.
14. Castillo, L. 2005. Bases fisiológicas para la producción de café. Insumos tecnológicos para la producción del café de calidad. Proyecto Tambo pata Inambari. Impreso Stampa gráfica. Lima- Perú. 25-40 págs.
15. Castro, A.M., Rivillas C.A. 2005. Biorregulación de *Rhizoctonia solani* en germinadores de café. Programa de Investigación científica. Avance Técnico N° 336. 7 p.
16. Censo Nacional Agropecuario IV. CENEAGRO. 2012. Resultados Definitivos. Instituto Nacional de Informática. Lima. 63p.
17. Crespo, R.1996. Café: Curso de Cultivos Tropicales. Dpto. de Fitotecnia. UNALM. Lima – Perú. 124p.
18. Cronquist, A. J. 1981. An integrated System of Classification of Flowering Plants. Editorial Marín. Barcelona-España. 576 p.

19. Chalfoun, S.M; Carvalho, V.L Angelico, C.L. Identificacao, epidemiologia e controle dos fungos *Ascochyta coffeae*, *Phoma sp.* e *Phoma costarricensis* na regio cafeeira do sul do estado de Minas Gerais. In: SIMPOSIO de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 1. Pocos de Caldas (Brasil), Setembro 26-29, 2000. Resumos expandidos. Pocos de Caldas (Brasil) Ministerio da Agricultura e do Abastecimento, 2000. 4p.
20. Ellis, M.B. 1976. More Dematiaceous, Hyphomycetes. C.A.B. International Mycological Institute Kew, England. 507p.
21. Fernández B., O. 1961. Muerte descendente de los brotes del cafeto causada por especies de *Phoma* y *Colletotrichum*. Cenicafe 12 (3): 127 – 140.
22. Figueroa N., G.A. 1985. Descripción y control del agente Causal de *phoma*, *Phyllosticta coffeicola*. Revista cafetera de Guatemala No 253: 19 – 23.
23. Figueroa, R.1990. La caficultura en el Perú. 201 p.
24. Fischersworrng, B; Robkamp, R. 2001.Guia para la caficultura. 3^{ra} edición. Lima – Perú, GTZ. 153p.
25. French, E.R. y T.T. Herbert. 1980. Métodos de Investigación fitopatológica. Editorial IICA. San José, Costa Rica. 277p.
26. Gálvez, B.C. 1990. Enfermedades en el cultivo de café. En: Curso Regional sobre Fundamentos de la Caficultura Moderna (8., 1990, Costa Rica). Turrialba. Costa Rica, PROMECAFE. s.p.
27. Gil, V. L.F.; Leguizamon, C. J.E. 2000. La muerte descendente del cafeto (*Phoma sp.*). Avances Técnicos Cenicafe No. 278: 1 – 4.
28. Gotteland, M. 2007. Efectos beneficiosos del café sobre la salud. Jornadas de Nutrición. INTA. Universidad de Chile. 54p.

29. Guerrero, A. 2007. El suelo, ecología, abonos y la fertilización de los cultivos. 2da edición. Ed. Mundi Prensa. Bilbao, España. 206p.
30. Huaraca, A. 1999. Evaluación de los efectos de seis fertilizantes a la aplicación foliar en almácigos de café “catimor” en bolsas de polietileno. UNALM. Lima- Perú. 76p.
31. Innovación y competitividad del Agro Peruano – INCAGRO. 2009. Proyecto: “Selección de fuentes naturales para la Fertilización de café en el marco de una agricultura orgánica”. (Resultados de ensayos en vivero y campos comerciales) Junín- Perú. 82 p.
32. Junta Nacional del Café. JNC. 2004. Publicado en [http:// www.juntadel café.org.pe/caféperuano.htm](http://www.juntadelcafé.org.pe/caféperuano.htm). Revisado en feb del 2013.
33. Junta Nacional del Café. JNC. 2009. Situación Actual de la Caficultura Peruana: Tendencias, limitaciones y oportunidades. En el marco del sub proyecto INCAGRO- UNALM “Selección de fuentes naturales para la fertilización de café en el marco de una agricultura orgánica”. Boletín informativo. Lima.22p.
34. Junta Nacional del Café. JNC. 2011. Cafés especiales disponible en [http:// www.juntadel café.org.pe/?caféespeciales&ctg=cae&idn=0](http://www.juntadelcafé.org.pe/?caféespeciales&ctg=cae&idn=0). Revisado en feb del 2013.
35. MINAG. 2003. Caracterización de zonas Cafetaleras en el Perú. Programa para el desarrollo de la Amazonia – PRO AMAZONIA. Informe final. Lima-Perú. 120pp.
36. MINAG. 2013. Ministerio de Agricultura. Estadística anual 2013 de la provincia de La Convención. Oficina de información agraria La Convención.
37. Platt, H.W. and R. Redin. 1996. Evaluation of fungicides for Control of Potato Early Blight. *Annals of Applied Biology* (supplement) 122: 48-49.

38. Regalado, O.A. 1982. El requemo del cafeto *Phoma costaricensis* Ech. Y su combate químico en plantaciones recepadas en la región central de Veracruz. In Simposio Latinoamericano sobre Caficultura. San Salvador (El Salvador) IICA-PROMECAFE. 50-70p.
39. Salgado, M; Pfenning, L.H. Identificao e caracterizacao morfológica de espécies de /Phoma/ do cafeeiro no Brasil. In: SIMPOSIO de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 1. Pocos de Caldas (Brasil), Setembro 26-29, 2000. Resumos expandidos. Pocos de caldas (Brasil), ministerio da Agricultura e do Abastecimento, 2000. 4p.
40. SENASA. 2001. Incidencia de los principales problemas fitosanitarios en las regiones cafetaleras. Resultado de diagnósticos. 26p.
41. SENASA. 2003. Normas para la ejecución y remisión de la información del manejo integrado de plagas y enfermedades cafeto.
42. Schuller, S. 2003. La problemática fitosanitaria del cultivo del cafeto en el Perú. Junta nacional del café, Perú. 147 p.
43. Sutton, C.B. 1980. The Coelomycetes. Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey, England. 378-391p.
44. Tirado. L., J. 2007. Enfermedades Fungosas del Cultivo del Café. CONCYTEC. Lima-Perú. 183p.
45. Valencia A., G.1987. Deficiencias minerales en el cafeto y manera de corregirlas. Boletín Técnico Cenicafe N° 1: 1-16.
46. Vidal C., G. M. 1977. Estudio sobre el agente causal de la Muerte Descendente en el cafeto *Coffea arabica* L. y comportamiento de cuatro variedades comerciales. Bogotá, Universidad Nacional – ICA. 67p. (Tesis: Maestría en Fitopatología).

47. Zambolin, L., Chaves, G.M., Vale, F.X., Pereira, A.A. 1996. Manejo Integrado das doenças do cafeeiro em cultivo adensado. Coffee diseases management in high density plantings. Simposio Internacional sobre café Adensado. Londrina, PR. (Brasil). P. 15. 1-182.

ANEXOS

Anexo 1. Conteo de conidias de *Phoma sp.*

<i>Phoma sp.</i>						
N° CONTEO	CUADRO DE CONTEO - HEMATOCÍMETRO (suma de 5 cuadrantes principales)					N° DE CONIDIAS POR CONTEO
	A	B	C	D	E	
1	35	43	43	25	39	185
2	33	35	32	33	33	166
3	35	33	29	41	36	174
4	32	28	41	29	37	167
5	25	35	36	37	41	174
6	40	40	29	40	38	187
						176

Anexo 2. Cuadro ordenado del diámetro (mm) de crecimiento micelial de los fitopatógenos en medios de cultivo, a los 8 días después de la siembra.

PATOGENOS	TRATAMIENTOS	DESARROLLO MICELIAL (mm.)												
		DÍAS												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
<i>Phoma tarda</i>	PDA (papa dextrosa agar)	0.00	8.90	14.90	22.10	31.00	36.50	44.94	51.50	58.90	64.40	71.60	78.56	85.00
	CMA (corn meal agar)	0.00	11.10	19.20	26.65	35.40	43.15	51.20	60.25	68.50	85.00			
	OMA (oat meal agar)	0.00	10.80	17.90	25.55	33.90	41.45	49.85	58.40	66.20	70.95	85.00		
	JV8 (jugo V8)	0.00	8.60	15.00	22.25	29.90	37.55	45.60	53.50	61.70	68.10	73.75	85.00	

Anexo 3. Porcentaje de área foliar afectada por *Phoma tarda*, a los 7 días.

	Scala	Ridomil	Rovral	Silcacur combi 300	Nativo	Testigo	Testigo absoluto
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	5.11	0.00
2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	4.82	0.00
3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	5.34	0.00
4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	4.70	0.00
5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	5.50	0.00
Promedio	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	5.09	0.00

Anexo 4. Porcentaje de área foliar afectada por *Phoma tarda*, a los 14 días.

	Scala	Ridomil	Rovral	Silcacur combi 300	Nativo	Testigo	Testigo absoluto
1	0.00	1.44	0.00	0.00	0.00	9.90	0.00
2	0.00	2.12	0.00	0.00	0.00	12.30	0.00
3	0.00	1.80	0.00	0.00	0.00	11.43	0.00
4	0.00	2.46	0.00	0.00	0.00	9.88	0.00
5	0.00	2.12	0.00	0.00	0.00	10.45	0.00
Promedio	0.00	1.99	0.00	0.00	0.00	10.79	0.00

Anexo 5. Porcentaje de área foliar afectada por *Phoma tarda*, a los 21 días.

	Scala	Ridomil	Rovral	Silcacur combi 300	Nativo	Testigo	Testigo absoluto
1	0.00	4.32	0.00	0.00	0.00	14.70	0.00
2	0.00	3.88	0.00	0.00	0.00	14.40	0.00
3	0.00	4.27	0.00	0.00	0.00	16.34	0.00
4	0.00	4.12	0.00	0.00	0.00	15.66	0.00
5	0.00	3.95	0.00	0.00	0.00	17.10	0.00
Promedio	0.00	4.11	0.00	0.00	0.00	15.64	0.00

Anexo 6. Porcentaje de área foliar afectada por *Phoma tarda*, a los 28 días.

	Scala	Ridomil	Rovral	Silcacur combi 300	Nativo	Testigo	Testigo absoluto
1	0.00	6.08	0.00	0.00	0.00	19.80	0.00
2	0.00	5.84	0.00	0.00	0.00	22.12	0.00
3	0.00	6.30	0.00	0.00	0.00	23.40	0.00
4	0.00	6.21	0.00	0.00	0.00	20.45	0.00
5	0.00	5.80	0.00	0.00	0.00	21.75	0.00
Promedio	0.00	6.05	0.00	0.00	0.00	21.50	0.00

Anexo 7. Porcentaje de área foliar afectada por *Phoma tarda*, a los 35 días.

	Scala	Ridomil	Rovral	Silcacur combi 300	Nativo	Testigo	Testigo absoluto
1	0.00	7.98	0.00	0.00	0.00	25.34	0.00
2	0.00	8.43	0.00	0.00	0.00	27.54	0.00
3	0.00	7.70	0.00	0.00	0.00	24.80	0.00
4	0.00	8.54	0.00	0.00	0.00	25.65	0.00
5	0.00	8.12	0.00	0.00	0.00	27.10	0.00
Promedio	0.00	8.15	0.00	0.00	0.00	26.09	0.00

Anexo 8. Porcentaje de área foliar afectada por *Phoma tarda*, a los 42 días.

	Scala	Ridomil	Rovral	Silcacur combi 300	Nativo	Testigo	Testigo absoluto
1	0.00	12.28	0.00	0.00	0.00	34.50	0.00
2	0.00	12.34	0.00	0.00	0.00	30.64	0.00
3	0.00	11.56	0.00	0.00	0.00	35.40	0.00
4	0.00	11.10	0.00	0.00	0.00	35.53	0.00
5	0.00	10.98	0.00	0.00	0.00	36.23	0.00
Promedio	0.00	11.65	0.00	0.00	0.00	34.46	0.00

Anexo 9. Resultados obtenidos de la Identificación de las muestras de la muerte regresiva de brotes en café.



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

Clinica de Diagnóstico de Fitopatología y Nematología

Av. La Universidad s/n - La Molina Apdo. 056 L-12

Telefax: 349-6631 Nextel: 416*9694

e-mail: clinica@lamolina.edu.pe



La Molina, 31 de mayo de 2013

PLAF 190-2012 LAC 111

17/181

Srta.
Chavelli Elorrieta Zamaflora
Cusco
Presente.-

El resultado del análisis de la identificación de especie de una colonia de *Phoma* aislada de una plantita de café var. Catimor con síntomas de necrosis foliar, procedente de Quillabamba, Cusco, es el siguiente:

1. MÉTODO

Repique a medio de cultivo OA (Oat Meal Agar) y PDA (Papa Dextrosa Agar) de la colonia de *Phoma sp* e incubación a 25 C. Examen macroscópico de la colonia y examen morfológico al microscópico compuesto de las estructuras fungosas contenidas en la colonia. Utilización de la bibliografía correspondiente para la identificación de la especie.

2. RESULTADOS

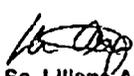
Colonia afelpada de color verde olivo a verde olivo oscuro, con borde blanco por el haz, de forma circular, formando anillos concéntricos; de color verde olivo negruzco a negruzco por el envés; alcanzando los 64 mm de diámetro a los 7 días en el medio OA y 58 mm a los 8 días en el medio PDA. Hifas tabicadas de color marrón oscuro, de 2.5 μ m de grosor. Presenta clamidosporas, mayormente unicelulares de color marrón oscuro de forma elipsoide, 5 μ m; a ligeramente irregular. Presenta abundantes picnidias globosas, 230 μ m; con o sin papila; con ostiolos grandes de 27 μ m de diámetro, presentándose a veces dos a tres ostiolos en una misma picnidia.; de color marrón oscuro y también de color negro, simples y parcialmente embobidas en el agar, una pared delgada con tejido pseudoparenquimatoso, matriz de color blanquecino. Conidias abundantes, hialinas, elipsoides a cortos cilindros, con o sin gúttulas, y de 2.5 x 5 μ m; mayormente unicelulares aunque hay algunas bicelulares, ligeramente constricta en la septa. La liberación de las conidias es por los ostiolos o por rajaduras de las picnidias.

Según las características presentes se ha determinado la siguiente especie:

***Phoma tarda* (R. B. Stewart) H. Verm.**
(Syn. *Ascochyta tarda* R. B. Stewart)

3. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Boerema, et al. 2004. *Phoma Identification Manual*, 479 p.
- <http://www.Mycobank.org>
- <http://www.studiesinmycology.org/>


Mg. Sc. Lilliana Aragón Caballero
COORDINADORA
CLINICA DE DIAGNOSIS

LAC/mmg
C.c. Archivo

ANEXO 10: Panel fotográfico



FOTO 01: Recolección de muestras con manchas necróticas en brotes de café colectadas en el Sector Calderón Alta Distrito Santa Ana - La Convención - Cusco.



FOTO 02: Muerte regresiva de brotes en café en el lugar de recolección sector Calderón Alta.



FOTO 03: Traslado de las muestras con manchas necróticas en café al laboratorio de la Facultad de Ciencias Agrarias Tropicales - UNSAAC (Sede Quillabamba).



FOTO 04: Selección de muestras de brotes de café para cámara húmeda y Lavado de muestras

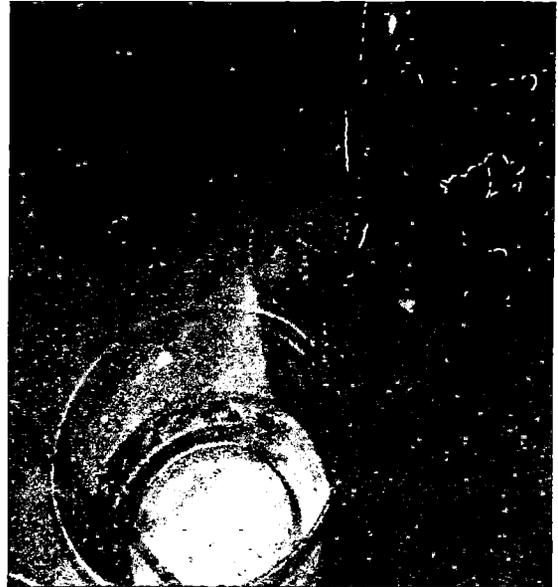


FOTO 05: Enjuague de muestras a chorro continuo y desinfección con hipoclorito de sodio al 0.1%

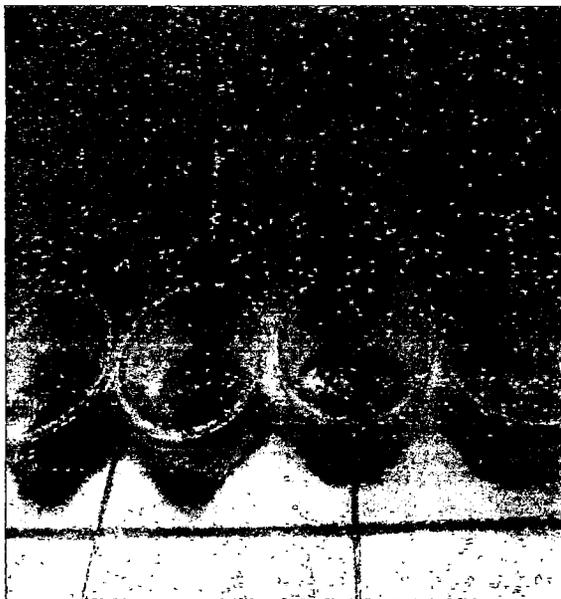


FOTO 06: Siembra en cámara húmeda y siembra en medio PDA

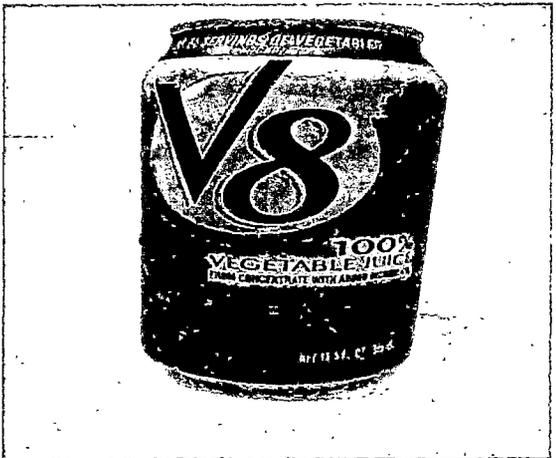
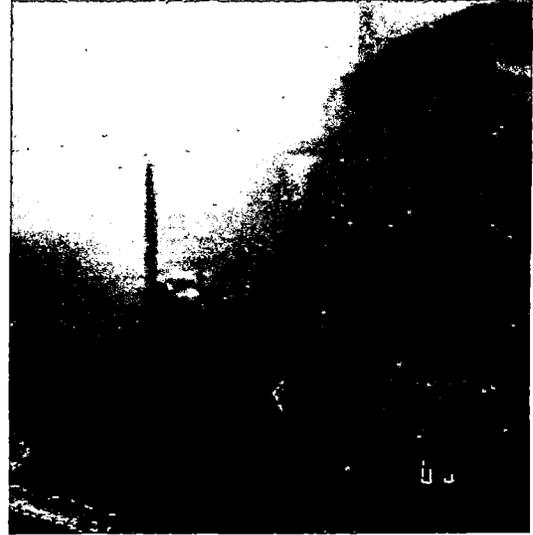
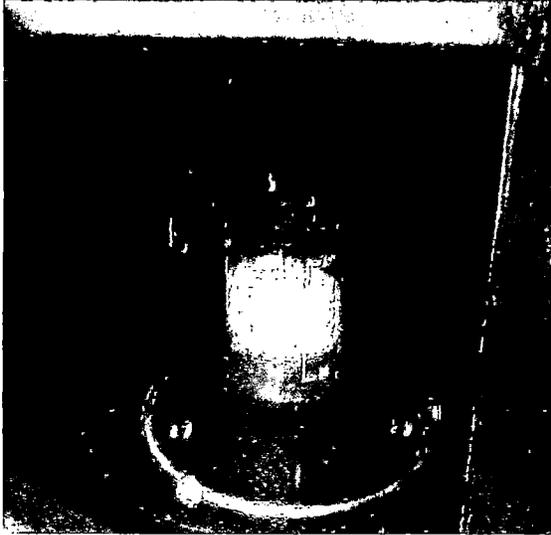


FOTO 07: Materiales e insumos para la preparación de los medios: PDA, CMA, OMA Y Jugo V8. 1. Placas Petri, alcohol, papel toalla, mechero, film, pinzas, algodón, sacabocado, 2. Agar agar, 3. Caldo de papa, 4. Pesaje de glucosa, 5. Maíz fresco y avena, 6. Jugo V8.



FOTO 08: Preparación de medios: PDA, OMA, CMA y Jugo V8. 1. Pesaje de agar-agar, 2. Mezcla de agar, 3. Dilución del agar en horno microondas, 4. Preparación del medio CMA



5. Agar disuelto, 6. Mezcla de agar + caldo de papa + glucosa, 7 y 8. Llenado de botellas con PDA y jugo V8 respectivamente



9. Preparación de los medios para su esterilización, 10. Esterilización de los diferentes medios, 11. Medios listos para el plaqueo, 12. Plaqueo de medios en cámara aséptica.



FOTO 09: 1. Siembra del patógeno en medio PDA, 2. Crecimiento del patógeno en medio PDA, 3. Llenado total del patógeno, 4. Cultivo puro en placa petri y tubos de ensayo para la identificación de género y especie del patógeno.



FOTO 10: 1. Traslado de plántulas de café al vivero, **2.** Acomodo de las plántulas de café en el vivero Facultad de Ciencias Agrarias Tropicales - UNSAAC (Sede Quillabamba).



FOTO 11: 1 y 2. Ordenamiento de los tratamientos y repeticiones de las plántulas de café cultivar Catimor.



FOTO 12: 1. Fungicidas seleccionados en laboratorio para utilizar a "nivel de vivero", **2.** Aplicación de los diferentes fungicidas.



FOTO 13: 1. Raspado de la placa conteniendo al patógeno con ayuda de una bagueta para levantar las esporas, **2.** Suspensión de conidias listo para la inoculación.