

**UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN-TACNA**

**Facultad de Ciencias**

**Escuela Académico Profesional de Biología – Microbiología**

**“Evaluación de la presencia de hongos fitópagenos asociados  
a *Hylesinus oleiperda* (“barrenillo del Olivo”) en el cultivo del  
Olivo (*Olea europea*) en el valle de Tacna”**

**TESIS**

**Presentada por**

**Bach. Maricely Jove Vildoso**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE**

**BIÓLOGO - MICROBIÓLOGO**

**TACNA – PERÚ**

**2015**

**UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN -TACNA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**

**TESIS N° 265**

**TÍTULO PROFESIONAL DE:**  
**BIÓLOGO MICROBIÓLOGO**

El Secretario Académico Administrativo de la Facultad de Ciencias certifica que con Resolución de Facultad N°8304-2015-FACI-UNJBG ha designado como jurados para la sustentación de la tesis:

**“Evaluación de la presencia de hongos fitópagenos asociados a *Hylesinus oleiperda* (“barrenillo del Olivo”) en el cultivo del Olivo (*Olea europea*) en el valle de Tacna”**; el mismo que está conformado por:

**PRESIDENTE** : Mgr. DALADIER MIGUEL CASTILLO COTRINA

**SECRETARIO** : Dr. CÉSAR CEVALLOS COLUMBUS

**MIEMBRO** : Mgr. ISABEL ANCCO OLIVA

Para examinar y calificar la Tesis sustentada en acto público el día 24 de Noviembre del 2015.

Presentado por la Bachiller: **MARICELY JOVE VILDOSO**, de la Escuela Académica Profesional de Biología – Microbiología.

El jurado calificador, en forma secreta e individual se pronunció sobre el calificativo de la tesis expuesta y procedió a emitir el siguiente resultado:

Aprobada por Unanimidad, con el calificativo de SOBRESALIENTE (17).

Para ratificar lo detallado firma:



Mgr. DALADIER MIGUEL CASTILLO  
COTRINA



Dr. CÉSAR CEVALLOS COLUMBUS



Mgr. ISABEL ANCCO OLIVA

**DEDICATORIA:**

*Este trabajo va dedicado a  
mis amados padres, a mi  
hijo adorado y a mi familia*

## **AGRADECIMIENTOS**

Primero me gustaría expresar mi más sincero agradecimiento a mi asesora de tesis **Blga. Liduvina Sulca Quispe**, a quien debo la realización de la presente investigación en la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann y por creer en mí como futura investigadora.

A mis profesores de la escuela de Biología -Microbiología, gracias por sus enseñanzas, su metodología y por su disposición e incentivo continuo en mi formación como profesional.

Un agradecimiento especial al **Ing. Cesar Guerra** y al **Blgo. Saul Corrales**, por la colaboración, paciencia, apoyo brindados en el trabajo en campo.

Al **Ing. Avelino García**, por la valiosa cooperación, sin la cual me sería imposible realizar este trabajo.

Al Servicio Nacional de Sanidad Agraria (**SENASA**) y al Gobierno Regional de Tacna (**GRT**) por su apoyo brindado.

Finalmente, agradezco a las personas que, aunque no aparecen aquí con nombres y apellidos, han estado presentes de alguna forma durante el desarrollo de este trabajo.

## CONTENIDO

	Pág.
<b>RESUMEN</b>	
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1 Planteamiento del problema .....	2
1.2 Justificación del problema .....	2
1.3 Objetivo general .....	3
1.4 Objetivos específicos .....	3
1.5 Hipótesis .....	4
<b>II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	5
2.1 El olivo ( <i>Olea europaea</i> ) y su importancia.....	5
2.2 Clasificación taxonómica del olivo .....	6
2.3 Morfología del olivo .....	7
2.3.1 Aparato radical .....	8
2.3.2 Tronco .....	10
2.3.3 Ramas .....	10
2.3.4 Hojas .....	11

2.3.5	Inflorescencia .....	12
2.3.6	Flores .....	13
2.3.7	Fruto .....	13
2.3.8	La semilla y el embrión .....	16
2.4	Ciclo de desarrollo y fase fenológica .....	17
2.4.1	Reposo vegetativo .....	17
2.4.2	Inducción floral .....	19
2.4.3	Diferenciación floral .....	20
2.4.4	Crecimiento del brote .....	21
2.4.5	Floración .....	23
2.4.6	Polinización y fecundación .....	23
2.4.7	Cuajado y crecimiento del fruto .....	24
2.4.8	Maduración .....	25
2.5	Principales plagas y enfermedades del olivo .....	26
2.6	Los insectos como vectores de enfermedades de plantas .....	27
2.6.1	Antecedentes .....	27
2.6.2	Transmisión de enfermedades fúngicas .....	30
2.7	Asociación entre insectos y hongos fitopatógenos .....	31
2.8	Los escarabajos barrenadores o Scolitidos .....	35
2.9	Interacción de escolítidos y hongos fitopatógenos .....	36

2.10 El Barrenillo del olivo <i>Hylesinus oleiperda</i> .....	45
2.10.1 Origen .....	45
2.10.2 Aspectos morfológicos .....	46
2.10.3 Ciclo de vida .....	47
2.10.4 Daños .....	49
2.11 Manejo y control del barrenillo del olivo .....	50
2.12 Hongos fitopatógenos .....	51
2.12.1 Antecedentes .....	51
2.12.2 Hongos fitopatógenos .....	52
2.12.3 Mecanismos de infección de los hongos fitopatógenos .....	53
2.12.4 Hongos vasculares .....	63
2.12.5 La Verticilosis del olivo .....	65
2.13 Hongos de pudrición .....	74
2.13.1 Antecedentes .....	74
2.13.2 Tipos de pudrición de la madera .....	76
2.13.3 Colonización de los hongos .....	80
2.13.4 Hongos de Mohos ( <i>Ascomycetes</i> y <i>Deuteromycetes</i> ) .....	82
2.13.5 Hongos Cromógenos del azulado ( <i>Ascomycetes</i> y <i>Deuteromycetes</i> ) .....	85
2.13.6 Pudrición blanda ( <i>Ascomycota</i> y <i>Deuteromycota</i> ).....	87
2.14 Enfermedades del tronco y las ramas .....	88

2.14.1 Antecedentes .....	88
2.14.2 <i>Phaeoacremonium spp.</i> asociadas con la necrosis en madera .....	89
2.14.3 <i>Phaeoacremonium aleophilum</i> (W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & L. Mugnai) .....	91
2.14.4 <i>Phaeomoniella chlamydospora</i> (W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & L. Mugnai) Crous & W. Gams .....	93
<b>III.MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>97</b>
3.1 Selección y ubicación de las unidades de muestreo .....	97
3.2 Tipo y diseño de investigación .....	98
3.3 Población y muestra .....	98
3.4 Muestreo del material vegetal afectado .....	99
3.5 Zonificación del área de muestreo .....	99
3.6 Características climáticas de las zonas de muestreo .....	102
3.7 Materiales y equipos .....	103
3.8 Metodología .....	105
3.8.1 Fase de campo .....	105
3.8.2 Fase de laboratorio .....	107
3.8.3 Fase de invernadero .....	110
<b>IV.RESULTADOS.....</b>	<b>116</b>
<b>V.DISCUSIÓN .....</b>	<b>187</b>

<b>VI.CONCLUSIONES .....</b>	<b>203</b>
<b>VII.RECOMENDACIONES .....</b>	<b>205</b>
<b>VIII.REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>207</b>
<b>IX.ANEXOS .....</b>	<b>225</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
<b>Cuadro 1.</b> Duración del ciclo biológico de <i>H.oleiperda</i> .....	48
<b>Cuadro 2.</b> Distribución de las zonas de muestreo en Tacna .....	97
<b>Cuadro 3.</b> Evaluación del número total de colonias fúngicas obtenidas en las tres zonas de muestreo .....	117
<b>Cuadro 4.</b> Análisis de varianza del número de colonias fúngicas aisladas en las zonas de Magollo, Asentamiento 4 y el Asentamiento 5 y 6 para el primer muestreo .....	118
<b>Cuadro 5.</b> Prueba de significación de Duncan del número de colonias fúngicas aisladas de las tres zonas evaluadas para el primer muestreo .....	119
<b>Cuadro 6.</b> Análisis de varianza del número de colonias aisladas en las zonas de Magollo, Asentamiento 4 y el Asentamiento 5 y 6 para el segundo muestreo .....	121
<b>Cuadro 7.</b> Prueba de significación de Duncan del número de colonias fúngicas aisladas en zonas de Magollo, Asentamiento 4 y el Asentamiento 5 y 6 para el segundo muestreo .....	122
<b>Cuadro 8.</b> Análisis de varianza del número de colonias fúngicas	

	aisladas en las zonas de Magollo, Asentamiento 4 y el Asentamiento 5 y 6 para el tercer muestreo .....	124
<b>Cuadro 9.</b>	Prueba de significación de Duncan del número de colonias fúngicas aisladas en zonas de Magollo, Asentamiento 4 y Asentamiento 5 y 6 para el tercer muestreo .....	125
<b>Cuadro 10.</b>	Relación entre el grado de infestación de <i>Hylesinus oleiperda</i> y el número de colonias fúngicas en los tres muestreos .....	131
<b>Cuadro 11.</b>	Prueba de significación de Duncan para el grado de infestación de <i>Hylesinus oleiperda</i> en las zonas evaluadas para el primer muestreo .....	135
<b>Cuadro 12.</b>	Prueba de significación de Duncan para el grado de infestación de <i>Hylesinus oleiperda</i> en las zonas evaluadas para el segundo muestreo .....	138
<b>Cuadro 13.</b>	Prueba de significación de Duncan para el grado de infestación de <i>Hylesinus oleiperda</i> en las zonas evaluadas para el tercer muestreo .....	141
<b>Cuadro 14.</b>	Relación de especies de hongos aislados en las zonas de Magollo, Asentamiento 4 y el Asentamiento 5 y 6 .....	143
<b>Cuadro 15.</b>	Descripción morfológica de las especies fúngicas aisladas de las muestras de olivo con <i>Hylesinus oleiperda</i> .....	149

<b>Cuadro 16.</b> Longitud de las lesiones causadas por cepas de <i>Phaeoacremonium</i> y <i>Phaeomoniella chlamydospora</i> en las ramas de plantones de olivo a los 42 días después de la inoculación .....	164
<b>Cuadro 17.</b> Análisis de varianza de la longitud media de las lesiones para <i>Phaeoacremonium aleophyllum</i> .....	165
<b>Cuadro 18.</b> Prueba de significación de Duncan de la longitud de lesiones para <i>Phaeoacremonium aleophyllum</i> .....	166
<b>Cuadro 19.</b> Análisis de varianza de la longitud media de las lesiones para <i>Phaeomoniella clamydospora</i> .....	168
<b>Cuadro 20.</b> Análisis de varianza de la longitud media de las lesiones para <i>Phaeoacremonium viticola</i> .....	170
<b>Cuadro 21.</b> Prueba de significación de Duncan de la longitud de lesiones para <i>Phaeoacremonium viticola</i> .....	171
<b>Cuadro 22.</b> Análisis de varianza de la longitud media de las lesiones para <i>Phaeoacremonium sp</i> .....	173
<b>Cuadro 23.</b> Prueba de significación de Duncan de la longitud de lesiones para <i>Phaeoacremonium sp</i> .....	174
<b>Cuadro 24.</b> Número de colonias fúngicas obtenidos de los meses de muestreo en las diferentes zonas evaluadas .....	191

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág.
<b>Gráfico 1.</b> Porcentaje de las especies fúngicas asociadas a <i>Hylesinus oleiperda</i> aisladas en la zona de Magollo, Tacna.....	145
<b>Gráfico 2.</b> Porcentaje de las especies fúngicas asociadas a <i>Hylesinus oleiperda</i> aisladas en la zona del Asentamiento 4, Tacna.....	146
<b>Gráfico 3.</b> Porcentaje de las especies fúngicas asociadas con <i>Hylesinus oleiperda</i> aisladas en la zona Asentamiento 5 y 6 de Tacna. ....	147
<b>Gráfico 4.</b> Desarrollo de <i>Phaeoacremonium aleophilum</i> en los plantones de olivo sobre la herida de inoculación en cada tratamiento.....	167
<b>Gráfico 5.</b> Desarrollo de <i>Phaeomoniella chlamydospora</i> en los plantones de olivo sobre la herida de inoculación en cada tratamiento.....	169

<b>Gráfico 6.</b>	Desarrollo de <i>Phaeoacremonium viticola</i> en los plantones de olivo sobre la herida de inoculación en cada tratamiento.....	172
<b>Gráfico 7.</b>	Desarrollo de <i>Phaeoacremonium sp.</i> en los plantones de olivo sobre la herida de inoculación en cada tratamiento.....	175
<b>Gráfico 8.</b>	Regresión lineal temperatura vs número de colonias fúngicas obtenidas en la zona de Magollo .....	180
<b>Gráfico 9.</b>	Regresión lineal temperatura vs número de colonias fúngicas obtenidas en la zona del Asentamiento 4.....	181
<b>Gráfico 10.</b>	Regresión lineal temperatura vs número de colonias fúngicas obtenidas en la zona del Asentamiento 5 y 6.....	183
<b>Gráfico 11.</b>	Regresión lineal humedad relativa vs número de colonias fúngicas obtenidas en la zona de Magollo.....	184
<b>Gráfico 12.</b>	Regresión lineal humedad relativa vs número de colonias fúngicas obtenidas en la zona del Asentamiento 4.....	185
<b>Gráfico 13.</b>	Regresión lineal humedad relativa vs número de colonias fúngicas obtenidas en la zona del Asentamiento 5 y 6.....	186

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1.</b> Adultos de <i>Hylesinus oleiperda</i> .....	46
<b>Figura 2.</b> Ciclo biológico anual de <i>Hylesinus oleiperda</i> .....	48
<b>Figura 3.</b> Galerías de <i>Hylesinus oleiperda</i> .....	50
<b>Figura 4.</b> Corte transversal de una planta joven con vasos necrosados y producción de una goma negra.....	93
<b>Figura 5.</b> Variación del número de colonias fúngicas en las zonas evaluadas para el primer muestreo.....	120
<b>Figura 6.</b> Variación del número de colonias fúngicas aisladas de las zonas evaluadas para el segundo muestreo.....	123
<b>Figura 7.</b> Variación del número de colonias fúngicas aisladas de las zonas de Magollo, Asentamiento 4 y el Asentamiento 5 y 6 para el tercer muestreo.....	126
<b>Figura 8.</b> Relación entre el grado de infestación de <i>Hylesinus oleiperda</i> y el número de colonias fúngicas de los tres muestreos.....	132
<b>Figura 9.</b> Frecuencias de aislamientos de las especies fúngicas asociadas a las pudriciones y manchas de ramas de olivo con galerías de <i>Hylesinus oleiperda</i> .....	144
<b>Figura 10.</b> Variación del número de colonias de hongos en Magollo, Asentamiento 4 y Asentamiento 5 y 6 a través del tiempo.....	178

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
<b>Anexo 1.</b> Procedencia de las muestras procesadas.....	226
<b>Anexo 2.</b> Características climáticas de las zonas de muestreo.....	247
<b>Anexo 3.</b> Zonificación de las áreas de de muestreo.....	236
<b>Anexo 4.</b> Vista panorámica de las zonas de muestreo.....	237
<b>Anexo 5.</b> Muestras macroscópicas de los síntomas externos de las ramas de olivo procesadas asociados con <i>Hylesinus oleiperda</i> .....	240
<b>Anexo 6.</b> Medios de cultivo para realizar los aislamientos de las especies fúngicas asociadas con <i>Hylesinus oleiperda</i> en olivo.....	245
<b>Anexo 7.</b> Procesamiento de las muestras en el laboratorio.....	246
<b>Anexo 8.</b> Medios de cultivo empleados en los aislamientos de las especies fúngicas asociadas con <i>Hylesinus oleiperda</i> en olivo.....	247
<b>Anexo 9.</b> Identificación morfológica de los hongos aislados de las galerías de <i>Hylesinus oleiperda</i> en olivo.....	248
<b>Anexo 10.</b> Proceso de inoculación de la prueba de patogenicidad de los hongos fitopatógenos asociados a <i>Hylesinus oleiperda</i> .....	249

<b>Anexo 11.</b> Reaislamientos fúngicos obtenidos de los plantones de olivo inoculados.....	250
<b>Anexo 12.</b> Identificación de hongos asociados galerías de <i>Hylesinus oleiperda</i> .....	251
<b>Anexo 13.</b> Evaluación de la patogenicidad de los hongos seleccionados.....	265
<b>Anexo 14.</b> Plantones de olivo inoculados con las cepas fúngicas patógenas aisladas de las muestras con barrenillo del olivo.....	266
<b>Anexo 15.</b> Escala de evaluación del grado de infestación del árbol de olivo atacado por <i>Hylesinus oleiperda</i> “barrenillo del olivo”.....	271
<b>Anexo 16.</b> Características climáticas de las zonas de muestreo.....	272
<b>Anexo 17.</b> Características climáticas de las zonas de muestreo (zona 1: Magollo, zona 2: Asentamiento 4, zona 3: Asentamiento 5 y 6).....	273

## RESUMEN

El Olivo, *Olea europea*, es un cultivo de importancia económica y está extendido en toda la zona sur de nuestro país; sin embargo, en los últimos años, las plantaciones están siendo afectadas severamente por la plaga del “barrenillo del olivo” *Hylesinus oleiperda* causando daños en las ramas como orificios de entrada y galerías; asociados a estos daños se observan síntomas aéreos de marchitez, pudrición de las ramas y muerte regresiva del olivo producidos por la presencia de hongos fitopatógenos. Los objetivos en el presente trabajo fueron determinar la presencia de hongos fitopatógenos asociados a las galerías de *Hylesinus oleiperda* en el olivo y evaluar su patogenicidad. Se aislaron 14 hongos, que corresponden a las siguientes especies fúngicas patógenas: *Phaeoacremonium aleophilum*, *Phaeomoniella chlamydospora*, *Phaeoacremonium sp.*, *Pm. viticola*, *Sporothrix sp.*, *Fusarium solani* y *Geotrichum candidum*. Los hongos saprófitos con mayor incidencia asociados al barrenillo fueron *Gliocladium viride* y *Gliocladium virens*. Los factores ambientales determinantes fueron la temperatura °C y la humedad relativa en la proliferación las especies fúngicas aisladas. Las pruebas de patogenicidad demostraron que *Pm. aleophilum* y *Pa. chlamydospora* poseen un mayor potencial patogénico seguidas por *Phaeoacremonium sp.* y *Pm. viticola*, manifestados por la presencia de lesiones necróticas con un cambio de color marrón en el punto de inoculación.

**Palabras clave:** Olivo, *Hylesinus oleiperda*, *Pm. aleophilum*, Patogenicidad.

## I. INTRODUCCIÓN

Los insectos y microorganismos son dos grupos de seres vivos de gran importancia en los ecosistemas, debido a su diversidad y amplia gama de funciones que cumplen en el medio.

El olivo ha pasado por muchos años una época de apacible prosperidad a otra, donde es el motivo de grandes preocupaciones sociales y económicas, como el ataque de plagas entre los cuales se menciona al barrenillo *Hylesinus sp.*, *Orthezia sp.* (queresas), Virosis, *Verticillium sp.* y *Meloidogyne sp.* (Casilla, 2004).

El barrenillo del olivo, *Hylesinus oleiperda*, es una de las principales plagas del olivo, cuyo foco de infestación está concentrado en la zona media del valle de Tacna, siendo Magollo la zona desde donde se ha ido diseminando para otras zonas olivícolas. No obstante al haber realizado campañas para su control, la poca sensibilización de los productores para cumplir con las recomendaciones técnicas permitió el avance de la plaga afectando a la producción de aceituna, siendo necesario investigar a las asociaciones microbiológicas del barrenillo (hongos fitopatógenos) con el fin de dar una solución al control del barrenillo, al ser una plaga de importancia socioeconómica para el cultivo de olivo en Tacna.

## **1.1 Planteamiento del problema**

Uno de los mayores problemas en las principales zonas productivas de Tacna son las plagas que afectan directamente a la producción de aceituna. Según SENASA el “barrenillo del olivo” es una plaga de amplia distribución, causada por la especie *Hylesinus oleiperda* causante de daños en el olivo provocando orificios de entrada y galerías en las ramas. Los síntomas y signos asociados a este daño son la pudrición, decaimiento, caída del fruto y finalmente la muerte del olivo. Concretamente, el barrenillo es el portal para el desarrollo de otras plagas y enfermedades en el olivo; al actuar como agentes de diseminación de hongos que introducen en sus galerías. En Tacna no se han registrado estudios e investigaciones relacionadas a la asociación de hongos fitopatógenos con *Hylesinus oleiperda*. En tal sentido, se plantea la siguiente interrogante:

¿Qué especies fúngicas patógenos asociados a *Hylesinus oleiperda* “barrenillo del olivo” afectan a los cultivos de olivo en el valle de Tacna?

## **1.2 Justificación e importancia de la investigación**

El presente trabajo se enmarca en el aporte al conocimiento de la existencia de los hongos fitopatógenos asociados a *Hylesinus oleiperda* y a la influencia que tienen los factores ambientales en el patógeno y cómo

afecta a la producción en el valle de Tacna, para la toma de decisiones de manejo, control biológico y de políticas, como contribución al desarrollo agrícola.

### 1.3 Objetivo general

Evaluar la presencia de hongos fitopatógenos asociados al barrenillo del olivo *Hylesinus oleiperda* Fabricius, en plantaciones de olivo del valle de Tacna.

### 1.4 Objetivos específicos

- a) Aislar e identificar las especies de hongos obtenidos de muestras con galerías que presenten manchas y pudrición en olivos afectados por *Hylesinus oleiperda* Fabr. “**barrenillo del olivo**”, en el valle de Tacna.
- b) Demostrar la patogenicidad de las especies de hongos fitopatógenos aislados de olivo que presentan galerías con manchas y pudrición por *Hylesinus oleiperda* Fabr. “**barrenillo del olivo**”, en el valle de Tacna.
- c) Establecer la relación entre los factores ambientales y el número de colonias de hongos aislados.

## 1.5 Hipótesis

En el presente estudio se ha omitido formular hipótesis por ser una investigación descriptiva simple, en estos estudios que tienen un enfoque cualitativo generalmente no se plantea una hipótesis (Hernández, Fernández y Baptista, 2006).

## 1.6 Determinación de la variable

Hongos fitopatógenos

## 1.7 Operalización de la variable

VARIABLE	DIMENSIONES	INDICADOR	ESCALA
<b>Hongos fitopatógenos</b>	Factores ambientales	-Temperatura -Humedad relativa	°C %
	“Barrenillo del olivo”	-Grado de infestación	Severidad

## **II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 El olivo y su importancia**

El olivo es un árbol de la familia de las oleáceas, muy apreciado desde la antigüedad por sus frutos (aceitunas) y la calidad de su aceite.

El olivo es originario de la región geográfica, que va desde el sur del Cáucaso hasta las planicies de Irán, Palestina, y la zona costera de Siria, se extendió luego por Chipre hacia Anatolia y a través de Creta hacia Egipto hasta poblar todos los países de la cuenca del Mediterráneo. Con el descubrimiento de América pasó y se extendió por el nuevo mundo y actualmente se cultiva también en Sudáfrica, China, Japón y Australia.

El olivo está ligado a las tradiciones culturales y sociales de cada país incluso de cada región. Es un cultivo de importancia socioeconómico, ya que muchas familias viven de los ingresos que

perciben directamente de los productos del sector: aceitunas de mesa en sus diversas formas, aceite y otros derivados.

El olivo, *Olea europea* L. en el Perú, cuenta con una superficie cosechada de 16 444 hectáreas con una producción de 52 123 toneladas. La producción de aceituna de concentra principalmente en Tacna, que abarca más del 60 % de la producción nacional, donde las áreas de cultivo se encuentran en proceso de expansión incentivadas por el incremento de las ventas al exterior. En la región de Tacna se cultiva alrededor de 14 161,35 hectáreas de olivo, según el SENASA; de las cuales 13 046,01 hectáreas se localizan en el valle de Tacna, 1 078,96 en el valle de Sama, 35,94 en Locumba y 0,44 en los valles interandinos.

## **2.2 Clasificación taxonómica del olivo**

**Reino:** *Eucariota*

**División:** *Spermatophyta*

**Clase:** *Magnolictae* (Dicotyledoneae)

**Orden:** *Oleales* (Ligustrales)

**Familia:** *Oleaceas*

**Género:** *Olea*

**Especie:** *Olea europea sativa*

El olivo, cuyo nombre científico es *Olea europaea* L., pertenece a la familia botánica *Oleaceae*, ampliamente distribuida por las regiones templadas y tropicales del mundo. Las plantas de esta familia son en su mayoría árboles y arbustos y pertenecen a ella 29 géneros y más 600 especies.

### **2.3 Morfología del olivo**

La revisión de literatura para este estudio se realizó sobre las investigaciones de morfología, fenología y fisiología para el olivo en ambiente mediterráneo.

El árbol de olivo es una planta arbórea siempre verde que puede alcanzar hasta quince metros de altura, con un tronco cuyo radio llega medidas superiores a los cien centímetros, dependiendo de la edad, que puede ser de más de cien años encontrándose reporte de plantas con cerca de 900 años en el sur de Italia, España. Es una de las plantas cultivadas más antiguas, cuyos orígenes como cultivo son de 4000-3000 a.C. en la zona de Palestina. Actualmente, el 95 % del área mundial cultivada se encuentra en el Mediterráneo (Barranco et al., 2008).

El olivo, pertenece a la familia botánica *Oleaceae*, que comprende especies de plantas distribuidas por las regiones tropicales y templadas del mundo. Las plantas de esta familia son mayormente árboles y arbustos. Hay unas 35 especies en el género *Olea*. Incluida la especie *Olea europea* L. única de la familia *Oleaceae* con fruto comestible (Barranco et al., 2008).

### **2.3.1 Aparato radical**

En el olivo se distinguen: raíz principal conductora y raíz secundaria de transición y absorción; diferente por la edad, grado de suberificación y función. El 20 % lo conforman las dos primeras que aseguran el anclaje y la continuidad vascular con el tallo, el 80 % restante lo constituyen la porción más fina entre ellos los pelos absorbentes.

La parte más activa para absorber agua y nutrientes corresponde a la porción sub-apical, aumentada por la presencia de cortos pelos radicales que se forman en las células de la epidermis. Las raíces más jóvenes son primero de color blanco perla con un diámetro generalmente inferior a

2 mm, y entre 2 y 10 cm de largo dependiendo de la condición ambiental; su color cambia con la suberificación. Otra función de la raíz es la síntesis hormonal (citoquininas y giberelinas) el almacenamiento temporal de sustancias de reserva (almidón, carbohidratos solubles, proteínas y aminoácidos). Estas funciones son importantes en la fisiología de la relación tronco raíz, por ejemplo las giberelinas y citoquininas sintetizadas en los ápices radicales son utilizadas en el control de la actividad vegeto productiva de todo el árbol, mientras que las sustancias de reserva acumuladas son esenciales para el desarrollo de yemas y flores en la primera fase de la actividad vegetativa después del reposo.

### **2.3.2 Tronco**

El árbol tiene un crecimiento libre, por lo que asume formas muy irregulares con una copa bastante densa formada por varios tallos que tienen origen directamente de la base o tronco, que obra como eje principal de la planta, proviene de un meristemo que se desarrolla erecto y luego se ramifica; su corteza es de color gris verdusca que luego se vuelve gris; su

crecimiento irregular le da formas muy particulares con protuberancias de su leño debido a la permanente actividad de crecimiento lateral.

### **2.3.3 Ramas**

La estructura de la copa en el olivo es muy articulada y convencionalmente distribuida en ramas de primero, segundo y tercer orden. La rama principal y el tronco constituyen la estructura permanente del árbol, las ramas secundarias de menor diámetro pueden ser permanentes porque soportan las ramas terciarias donde esta la fructificación.

### **2.3.4 Hojas**

Son de tipo simple y persistente, pudiendo permanecer hasta tres años en la planta; presenta consistencia coriácea, margen entero, y forma elíptica o lanceolada. El color en el haz es verde oscuro, brillante por la presencia de cera y con tendencia al gris opaco; mientras que por el envés son color blanco plata, recubierto de tricomas, que le sirven para

controlar la pérdida de agua por los estomas, así como de filtros de luz para la fotosíntesis. El limbo es plano y termina en micrón, la curvatura del limbo puede generar hojas hiponásticas o epinásticas según la posición que estas tomen. El largo varía entre 30 y 80 mm, el área foliar puede oscilar entre 2-3 cm<sup>2</sup> y un máximo de 7 – 10 cm<sup>2</sup> (Barone et al., 1993; Cimato et. al 1997). La nervadura central es muy marcada y las secundarias poco aparentes. El peciolo es muy corto, llegando apenas a medio centímetro de longitud. En general, las dimensiones pueden variar dependiendo del cultivar, edad de la planta, vigor del ramo, momento de desarrollo.

Las hojas del olivo presentan un elevado peso seco por unidad de superficie y por unidad de volumen, a causa de: mesófilo compacto, abundancia de elementos esclerenquimáticos y del contenido de agua relativamente bajo respecto a otras especies (Gucci, 2003).

### **2.3.5 Inflorescencia**

Las flores del olivo se disponen en inflorescencias (racimos) compuestas de 10 a 40 flores, según la variedad. También es llamada miñola, es de color verde y luego blanca por la presencia de los pétalos, tiene un eje central (raquis) con diversas ramificaciones donde se ubican varias flores, puede medir de 10 a 70 mm y contener entre 10 y 40 flores; sin embargo, las inflorescencias insertas en los extremos proximal y distal del ramo son de dimensiones más pequeñas (Lavee, 1996). El desarrollo de la inflorescencia dura de 30 a 45 días y está influenciado por factores ambientales y nutricionales. El estrés hídrico y el estrés nutritivo, ocurridos unas seis semanas antes de la época de floración son causas que provocan la disminución del número de flores por inflorescencia e incrementan los abortos ováricos (Tombesi, 1995).

### **2.3.6 Flores**

Son de color blanco amarillento, con un cáliz, formado de cuatro sépalos reunidos en forma de copa, de tipo persistente, manteniéndose unidos a la base del ovario después de la caída de la corola, cuyo color varía del blancuzco al amarillento. El gineceo constituido por un ovario supero bicarpelar y bilocular con estilo corto y estigma bifido, una pared inclinada y células alargadas para conservar el polen, la forma del estigma es muy variable distinto en cada cultivar. El androceo está constituido de dos estambres cortos y opuestos que sostienen dos anteras amarillas de gran dimensión, dehiscentes longitudinalmente cuando maduran.

### **2.3.7 Fruto**

Es una drupa de forma elipsoidal a globosa, mide entre 1 y 4 cm de longitud y de 0,6 a 2 cm de diámetro. En madurez es negra, negro violáceo o rojizo, antes de este color siempre es verde. Es un fruto con una sola semilla compuesto por tres tejidos principales: endocarpo, mesocarpo y exocarpo, el

conjunto de estos tres tejidos se denomina pericarpo y tiene su origen en la pared del ovario. Los tejidos del fruto se desarrollan del ovario por los procesos de división, expansión y diferenciación celular, a partir de la fecundación y del cuajado inicial (Barranco 2008).

El endocarpo o hueso empieza a crecer a partir de la fecundación y aumenta en tamaño durante los dos meses siguientes. Estas deben su dureza a la deposición de una gran pared secundaria con un alto contenido de lignina. En el ovario en floración existe un anillo de haces vasculares marcando la separación entre el endocarpo y el mesocarpo. Con la conversión del ovario en fruto, los haces vasculares aumentan de tamaño y desarrollan muchas conexiones entre sí con el fin de importar agua y sustancias para formar el fruto. Los surcos que aparecen en el hueso del fruto maduro se forman alrededor de los haces y son característicos de cada cultivar.

El mesocarpo es el tejido carnoso, que empieza a desarrollarse a partir de la fecundación y crece hasta la

maduración. Sus células son parenquimáticas con una gran capacidad de crecimiento, son isodiamétricas y forman una malla bastante compacta. Durante el desarrollo del mesocarpo las células parenquimáticas aumentan en tamaño y, simultáneamente, la formación de notables espacios intercelulares. El almacenamiento de aceite ocurre en las vacuolas de las células parenquimáticas del mesocarpo (Barranco 2008).

El exocarpo o epicarpo es la capa exterior y más fina del fruto que está fuertemente soldada al mesocarpo. Es un tejido compuesto por la epidermis monoestratificada con su cutícula. En el estado inicial de desarrollo del fruto el tejido contiene estomas que permiten una cierta actividad fotosintética de parte del mismo fruto (Tombesi, 1994) que luego se convierten en lenticelas en el fruto maduro, que pueden resultar más o menos visibles en función de la variedad o del grado de maduración. El número, tamaño y disposición se utilizan en el reconocimiento del cultivar.

### **2.3.8 La semilla y el embrión**

Esta se deriva del desarrollo de uno de los óvulos del ovario, está formada de un tegumento externo del endospermo, que deriva de la unión del segundo núcleo del polen con el núcleo polar del saco embrionario que se desarrolla del cigoto. El embrión completa su desarrollo cinco meses después de la floración, ocupa gran parte del volumen de la semilla, presenta cotiledones grandes radícula y plúmula corta (Rapaport, 1998), está situada en el extremo inferior del eje embrionario y corresponde al sistema radical. Entre los cotiledones hay una plúmula pequeña, el órgano de donde se desarrolla el tallo (Barranco et al., 2008).

El endospermo rico en almidón, rodea y alimenta el saco embrionario consumiéndose rápidamente mientras que este último completa su desarrollo (Barone y Di Marco, 2003). A los cinco meses el embrión está completamente formado y es capaz de germinar; sin embargo, en los últimos meses de maduración del fruto ocurren cambios fisiológicos en la semilla que inducen su latencia (Barranco et al., 2008).

## **2.4 Ciclo de desarrollo y fase fenológica**

### **2.4.1 Reposo vegetativo**

Esta fase puede ser definida como una suspensión o reducción de la actividad de los órganos vegetativos; en especies como el olivo la identificación del reposo es compleja; la presencia de un reposo de la actividad vegetativa, en efecto está estrechamente ligada con las condiciones ambientales, régimen térmico e hídrico que puede inducir una suspensión del desarrollo incluso en el verano. Pero estas especies muestran actividad incluso en el verano, aunque reducida, pero que contribuye con las actividades fisiológicas predominantes: fotosíntesis, transpiración y respiración, en la medida en que las condiciones ambientales le sean favorables (Deidda et al 2003).

Se reconocen tres causas o formas de latencia: para latencia ocasionada por la presencia de otras estructuras que inhiben el crecimiento de la yema; endolatenia o reposo, que

consiste en la incapacidad de la propia estructura para crecer aunque las condiciones ambientales le sean favorables y ecolatencia o quiescencia debida a condiciones ambientales desfavorables.

Al respecto, Dos Santos Ramos (2000) estudió la morfología de las yemas y la brotación en ramos con hojas y defoliados que procedían de árboles de cosechas abundantes o escasas, colocados en condiciones favorables a la brotación (20-22 °C), encontrando que las yemas de los árboles con buena cosecha tienden a crecer durante el otoño, mientras que en árboles con poca producción la brotación se establece progresivamente, es decir, ocurre endolatenia; de otra parte, ocurre paralatenia durante el invierno en las yemas de los árboles en carga inhibidas por las hojas y parecen no necesitar frío para brotar vegetativamente, mientras que las yemas de los árboles con poca producción experimentan además, un periodo de reposo, endolatenia, que requiere una fase de acumulación de frío para su brotación, que es reproductora. Son las conocidas necesidades de frío en otras especies frutales.

### **2.4.2 Inducción floral**

Es el proceso por el cual las yemas experimentan cambios fisiológicos que conducen a la formación de yemas de flor. En las axilas de las hojas se forman consecutivamente las yemas que completan su crecimiento y desarrollo en las seis semanas siguientes al inicio de su formación, desde que se localiza en el ramo portador, a partir de ese momento la morfología de la yema no se modifica hasta el comienzo de su brotación en la primavera siguiente, permaneciendo latente con independencia de la causa que lo determine (Rubio et al., 2007).

El destino de cada yema, floral o vegetativo, es decir, la inducción floral o ausencia, depende de los estímulos que ésta recibe antes de completar su desarrollo como: defoliación escalonada intensidad de la luz, eliminación de frutos, suministro de sustancias hormonales y nutritivas (Tombesi, 2003; Barranco et. al., 2008).

### **2.4.3 Diferenciación floral**

Corresponde a la modificación de la condición de una yema tras la inducción floral que se percibe por cambios histoquímicos o morfológicos en el correspondiente meristema, los cambios morfológicos asociados con la diferenciación floral se distinguen visualmente a partir de finales de febrero, en el hemisferio norte. La formación de las flores se va completando desde mediados de febrero hasta plena floración (Gómez del Campo y Rapaport, 2008).

Según algunos autores, parece ser que hay un periodo (desde octubre hasta febrero) de reversibilidad del proceso, en el que yemas inducidas a flor pueden revertir a vegetativas si no pasan suficiente frío o les faltan azúcares o sustancias elaboradas por las hojas (Tombesi, 2003). Las yemas inducidas a flor precisan pasar frío para salir de la latencia invernal (Rallo y Cuevas, 2004) y continuar con el proceso de diferenciación de las estructuras de flor (Lavee, 1996).

Dependiendo de las variedades, las necesidades de frío de las yemas de flor son variables, en contra de lo que sucede con las yemas vegetativas que no necesitan frío para brotar (Rallo y Cuevas, 2004).

#### **2.4.4 Crecimiento del brote**

Esta fase tiene momentos sucesivos acompañado de modificaciones morfológicas extremas de la yema que se engruesa, se alarga y da origen al nuevo brote; esto tanto en la yema lateral como en la apical y resulta condicionado del ambiente cultural. En condiciones controladas puede ser inducido en cualquier momento del año. En ambiente Mediterráneo ocurre cerca de la brotación primaveral, una sucesiva emisión de nueva vegetación es seguida en el verano. La brotación está estrechamente ligada a factores que regulan la variabilidad del régimen térmico y de la geografía de un territorio latitud y altitud. La poda puede determinar aparición de brotes en la época de brotación. Las yemas vegetativas brotan al comienzo de la primavera (final de marzo en el hemisferio Norte), algo más tarde que las yemas

florales. El crecimiento vegetativo de primavera dura hasta la mitad de julio, pero también puede ocurrir entre septiembre y mitad de octubre, este crecimiento se puede afectar por la cosecha presente que acapara la mayor parte de los asimilados (Rallo y Cuevas, 2008).

**A. Hinchazón botones florales.**-Los botones florales se redondean al hincharse y se sitúan con un corto pecíolo, brácteas situadas en su base se separan del eje floral.

**B. Apreciación de los estambres.**-La separación del cáliz y de la corola se hace visible. Los pedicelos se alargan separando los botones florales del eje "racimo". Se aprecian los estambres en el fondo.

### **2.4.5 Floración**

La antesis comprende diversos estadios de desarrollo que inician con la apertura de la corola, cuando se hace visible el aparato reproductor y se concluye con la caída de estambres y de pétalos, seguido del proceso de fecundación.

El proceso dura pocos días en cada flor, 5 a 6, pero en la planta puede durar hasta 20 días en función de diversos factores que modifican las condiciones ambientales y la fisiología de la planta. Esta variabilidad determina un anticipo de la floración es provocado por elevadas temperaturas meses anteriores a la antesis, al mismo tiempo que se reduce si este aumento se manifiesta durante la fase. En plena floración la mayoría de las inflorescencias están abiertas y hay abundante polen en el ambiente.

### **2.4.6 Polinización y fecundación**

En el olivo se requiere polinización cruzada, y el vector para el transporte del polen es el viento, teniendo en cuenta que las plantas florecen abundantemente la producción de

polen es suficiente dado que la planta no puede sostener toda las flores y muchas de ellas no son viables, pero cuando se desarrollan sin la polinización sus frutos carecen de semilla por lo que en el olivo se presentan frutos partenocarpicos. La emisión del polen en las flores del olivo se da un día después de la dehiscencia de la antera y termina en 24 a 48 horas, pero dada la escalaridad de las flores dentro de la miñola y en la planta se tiene polen viable hasta 3 o 4 días después de la floración asegurando la llegada de esta a los estigmas receptivos (Barranco et al., 2008; Tombesi, 2003).

#### **2.4.7 Cuajado y crecimiento del fruto**

La fecundación y determinación del óvulo funcional y el desarrollo y crecimiento de éste estimulan el crecimiento del ovario para formar el fruto y determinan el cuajado de este fruto. El cuajado y principio del crecimiento de unos ovarios desencadena el proceso de abscisión de los ovarios no fecundados y algunos fecundados, pero menos desarrollados. El fruto deriva su desarrollo del ovario que crece bajo

estímulos hormonales del endosperma de la semilla; el crecimiento inicial es caracterizado de una difusa e intensa multiplicación celular que en cuatro semanas llega a la identificación de tres porciones: exocarpo, mesocarpo y endocarpo. Tiene un crecimiento y aumento de peso fuerte hasta los 45 días después de la floración para detenerse llegando 18 a los 90 días, pero tiene nuevamente un incremento en el peso que continua por dos meses (Tombesi, 2003).

#### **2.4.8 Maduración**

Es la fase final del crecimiento del fruto, durante la cual la evolución de sus componentes físicos, químicos y organolépticos constituyen un referente necesario para definir el periodo de recolección. Los colores del fruto varían del verde intenso, a violeta rojo oscuros y negros por la desaparición de la clorofila y la síntesis de carotenoides, flavonoides y antocianinas. El periodo de cambio de color es propio de la variedad influenciado por la carga de frutos y condiciones ambientales (Tombesi, 2003). El periodo de

maduración es variable, pero en general el cambio de color con algunas excepciones permite establecer los índices de madurez como el propuesto por Ferreira (1979). El tipo de aprovechamiento de la aceituna determina el grado de madurez idóneo para su recolección.

## **2.5 Principales plagas y enfermedades del olivo**

Los principales problemas fitosanitarios del olivo que se han acentuado en las principales zonas productivas del valle de Tacna, son las plagas que afectan directamente a la producción de aceituna. Información obtenida por el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA – Tacna), indica que el “barrenillo del olivo” es una plaga considerada clave y de amplia distribución, es causado por la especie *Hylesinus oleiperda* Fabricus (Coleóptera: Scolytidae) atacando a los olivares que no presenten una eficiente conducción técnica del cultivo, siendo el vigor del olivo, decisivo para establecer el impacto de la plaga; donde el olivar marginal sujeto a estrés hídrico o con deficiencias nutricionales, sufre con mayor intensidad el ataque del barrenillo, siendo considerado como una plaga de importancia económica en el olivo (Lozano, et al., 1998). Los

síntomas y signos asociados a este daño son la pudrición del tronco, la muerte de las ramas, caída del fruto y finalmente, la muerte descendente de la planta de olivo en casos de infecciones muy avanzadas.

Se han registrado 14 especies de insectos fitófagos y 30 especies de insectos controladores. Las especies fitófagas son 8 especies de queresas diaspididas, 3 queresas blandas, 2 lepidópteros, 1 coleóptero y 1 díptero. Los mayores daños son causados por las queresas y el ataque del barrenillo (Aguilar et al., 1980).

## **2.6 Los insectos como vectores de enfermedades de plantas**

### **2.6.1 Antecedentes**

Las plagas dañan las plantas en diversas formas, producen daños directos cuando destruyen sus órganos (raíces, tallos, hojas, yemas, flores, frutos o semillas) en forma parcial o total, o las debilitan reduciendo su capacidad de producción. También provocan daños indirectos que pueden ser de gran importancia, por ejemplo, cuando participan en la propagación de microorganismos que causan enfermedades en las plantas. Muchos insectos actúan como

agentes dispersores de patógenos por el hecho de posarse en tejidos enfermos y después en plantas sanas, llevando a los agentes patógenos adheridos a sus apéndices. A este proceso se le denomina transmisión mecánica del patógeno y no supone ninguna asociación estrecha (Ejm: mutualismo de *Ophiostoma ulmi*, causante de la grafiosis del olmo tiene una relación estrecha entre el insecto y el patógeno) (Agrios, 2005).

En otras enfermedades, los insectos quedan impregnados con varias clases de bacterias o con esporas pegajosas de ciertos hongos cuando visitan a las plantas, transportándolas por vía externa de planta a planta, depositándolas sobre su superficie o en las heridas que ocasionan cuando se alimentan de ellas, como es el caso de las pudriciones blandas bacterianas, las antracosis y el cornezuelo del centeno (Agrios, 2005). Otros insectos, provocan lesiones en los tejidos vegetales y de esta manera facilitan la entrada de agentes patógenos, preferentemente hongos y bacterias causantes de podredumbres, que de otro modo no podrían afectar a los tejidos. Algunos ejemplos son

las perforaciones causadas por el barrenillo de la caña de azúcar, *Diatraea saccharalis*, que favorece la entrada del hongo *Fusarium moniliforme* Sheldon, causante de la podredumbre colorada; o la del hongo *Ceratocystis paradoxa* Seynes, que produce la podredumbre negra o “corazón negro” de la caña (Ayquipa et al., 1979).

Asimismo, las heridas hechas por el curculiónido *Pissodes nemorensis* y la polilla *Rhyacionia subtropica* ayudan al establecimiento de *Fusarium circinatum* en *Pinus radiata*, ya que las esporas presentes en el aire infectan las heridas frescas (Gordon et al., 2001). En estos casos los insectos no son verdaderos vectores de la enfermedad, aunque contribuyen a su dispersión e incidencia.

Morse y Blanchette (2002) mencionan a *F. solani* como el principal colonizador de heridas frescas en *Acer negundo*, aunque no como el agente causal del manchado rojo, por la incapacidad del hongo para reproducir la lesión. Por el contrario, se atribuyen las áreas localizadas del manchado rojo, generalmente distribuidas alrededor de la herida, al

producto de la oxidación de las células del árbol donde se producen fenoles.

### **2.6.2 Transmisión de enfermedades fúngicas**

Sin duda, una gran cantidad de enfermedades fúngicas de las plantas se debe a la implicancia de los insectos que sirven como vectores de las esporas producidas por hongos, pero esta participación es en muchos casos de muy poca relevancia. En cualquier caso, existen algunas enfermedades fúngicas en las que la diseminación del hongo depende terminantemente de los insectos.

Debido a que el objeto de estudio de esta tesis trata de la implicancia de algunos hongos fitopatógenos asociados al barrenillo, donde el papel de los insectos, en la dispersión de enfermedades fúngicas, en el caso del olivo es importante, en los epígrafes siguientes de este trabajo se menciona, de forma detallada, la asociación entre los insectos y hongos, particularmente de los grupos de insectos a los cuales pertenecen las especies que afectan a este cultivo.

## **2.7 Asociación entre insectos y hongos fitopatógenos**

La asociación, particularmente mutualista, entre insectos y microorganismos ha jugado un papel importante en el éxito del proceso evolutivo y ecológico de la clase Insecta (Janson et al., 2008). La más frecuente está representada por las bacterias en el intestino, pero también la simbiosis insectos-hongos está extendida en varios grupos de insectos (escarabajos, hormigas, mosquitos). En base a registros de fósiles, se sabe que los insectos se han asociado con hongos durante cientos de millones de años (Brock, 1974; Borror et al., 1976).

Estas asociaciones han podido ocurrir desde casualmente, hasta de forma simbiótica en función de los beneficios evolutivos del hongo, del insecto, o de ambos. En esta asociación, el insecto usa al hongo normalmente como fuente de alimentación y a cambio el primero dispersa al segundo o fomenta su auto cruzamiento (Heath y Stireman, 2010). Sin embargo, en una asociación insecto-hongo, el hongo puede beneficiarse de otras diversas maneras. El insecto puede trasladar al hongo a una ubicación conveniente; facilitar su entrada en una planta huésped rompiendo la barrera por

el daño que produce en el huésped; servir de anfitrión para el hongo, ya sea como un patógeno comensal (beneficiando uno pero no dañando al otro) o una relación simbiótica.

La asociación también puede beneficiar al insecto. Por ejemplo, como se ha dicho antes, el hongo puede servir como alimento al insecto, en tanto que algunos hongos pueden resultar más nutritivos para los insectos que el material vegetal debido a los niveles relativamente altos de proteínas o esteroides de éstos (Southwood, 1973).

El hongo también puede realizar modificaciones del material vegetal que beneficien a la alimentación del insecto. Por ejemplo, la degradación del material vegetal que producen las larvas de las avispas de madera (Kukor y Martin, 1983). Otro ejemplo es el de la relación del escarabajo de la savia y los hongos toxigénicos en maíz (Dowd, 1992). En este caso el insecto, al ser portador de un hongo productor de toxina, podría excluir a otros insectos competidores de la fuente de alimentación, siempre que el insecto vector fuera resistente a la toxina. También en otros casos se han mencionado insectos como vectores de hongos productores de toxinas en la

planta huésped, que podrían generar importantes problemas para la industria alimentaria. Por ejemplo, algunos estudios indican que el barrenillo del café, *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Scolytidae), podría ser un vector de hongos toxigénicos en las plantaciones de café (Vega et al., 1999).

La simbiosis entre insectos y hongos ocurre ampliamente en la naturaleza y sus mecanismos e interacciones han sido de considerable interés ecológico. Por ejemplo, los escarabajos ambrosiales, concretamente los escolítidos, tienen estructuras especializadas llamadas micangias que emplean para llevar a esporas de hongos específicos. Sus larvas se alimentan principalmente de los hongos que son introducidos en la madera desde la micangia (Beaver, 1989; Kajimura y Hiji, 1992).

De forma similar, las avispas de madera inoculan el hongo *Amylostereum* sp. en la madera con sus huevos. Sus larvas pueden hacer uso de celulosa descompuesta por las enzimas digestivas que son derivados de sus hongos simbioses (Kukor y Martin, 1983). Las hormigas cultivan hongos basidiomycetos como fuente de alimento principal en su nido (jardín de hongos) que realizan en diversos

sustratos (Quinlan y Cherrett, 1978; Cherrett et al., 1989; Mueller et. al., 2001).

Existe otro hongo que causa la podredumbre rosa de las palmeras: *Gliocladium vermoeseni*, se trata de un hongo de distribución cosmopolita que afecta a bastantes especies de palmeras más susceptibles como *Phoenix canariensis*, *Phoenix dactylifera*, está presente de forma natural en palmeras, pero puede, en ocasiones, convertirse en parásito oportunista que puede acabar con la vida de las palmeras.

La entrada del hongo se produce a través de heridas como, las de poda. Los ataques de *Gliocladium spp.* van muy asociados al ataque del picudo de las palmeras *Rhynchophorus ferrugineus* y a situaciones de estrés o en plantas que se encuentran débiles. Este hongo se desarrolla preferentemente en climas húmedos y fríos. *Gliocladium* invade las heridas producidas al cortar las hojas. Los síntomas aparecen como manchas necróticas de color marrón en la base de los peciolo de las hojas y exudados gomosos (Massogarden, 2013). En condiciones de alta humedad el hongo esporula profusamente y aparece un polvillo rosa sobre el tejido

atacado y las hojas más viejas mueren. Otros síntomas son muerte prematura de hojas, folíolos cloróticos. Esta enfermedad puede producir la muerte de la planta (Massogarden, 2013).

## **2.8 Los escarabajos barrenadores o escolítidos**

Los escolítidos (*Coleóptera: Scolytidae*) constituyen un grupo de coleópteros xilófagos de gran importancia biológica y económica, por cuanto son el origen de algunas plagas y enfermedades forestales. Se trata de insectos perforadores que, conceptuados como parásitos secundarios de árboles debilitados, en determinadas condiciones pueden constituirse en parásitos primarios capaces de atacar masas en buen estado fitosanitario. Sin embargo, algunas especies actúan como parásitos primarios sobre árboles sanos o son vectores de hongos patógenos muy dañinos (Torres, 1975)

Los escolítidos tienen dos tipos de daños: directos e indirectos. Los daños directos se basan fundamentalmente en la construcción de sistemas bajo la corteza del árbol, como galerías para alimentarse y reproducirse, alterando el flujo floemático. Los daños

indirectos, se debe a la inoculación de micelios o fragmentos miceliares de hongos fitopatógenos (López, et al, 2007).

## **2.9 Interacción de escolítidos y hongos fitopatógenos**

La familia *Scolytidae* está representada por coleópteros en su mayoría fitófagos, que se encuentran distribuidos por todos los continentes y están asociados a la casi totalidad de las especies vegetales. Estos ocasionan graves perjuicios a los huéspedes que colonizan debido fundamentalmente a la realización de galerías de puesta que provocan la destrucción o disfunción del xilema y/o floema.

Dicho agravio se acentúa al ser vectores de numerosos hongos patógenos que provocan enfermedades en los vegetales que colonizan, así como por los daños ocasionados en las partes verdes del vegetal por aquellas especies primarias que realizan alimentaciones de maduración sexual (Fernández, 1997).

En condiciones de bajos niveles poblacionales, los escolítidos mantienen el equilibrio en el ecosistema forestal, participando en la

descomposición de la materia orgánica acumulada en el bosque, en la eliminación de los árboles moribundos, así como realizando labores de poda natural. Son además los pioneros en el asentamiento de otros grupos de insectos secundarios del ecosistema forestal. La situación de plaga se desencadena al romperse este equilibrio, generalmente, cuando los niveles poblacionales aumentan o bien cuando disminuye la capacidad de defensa del huésped (Fernández, 1997).

Los insectos de la familia *Scolytidae* son muy poco conocidos, especialmente por su tamaño pequeño (rara vez sobrepasan los 5 mm); además, pasan su vida dentro de ramas, troncos, peciolo de hojas, e incluso semillas. Construyen galerías de formas curiosas, tan características que por ellas se puede deducir la identidad de una tribu o género en particular (Gil et al., 2004).

Muchas especies de la familia *Scolytidae* atacan a una sola parte muy particular del huésped (conos o frutos de árboles, ramas delgadas, troncos pequeños, corteza, raíces o troncos recién caídos). Sin embargo, otras son muy agresivas y logran afectar tejidos sanos y vivos. Generalmente, los árboles que crecen en

condiciones desfavorables son más susceptibles al ataque de este grupo de barrenillos (Wood, 1992).

En base a los hábitos de alimentación en la familia *Scolytidae* se conocen especies espermófogas (se alimentan de semillas o de la cubierta más externa que las cubre), mielofagas (se alimentan de la médula de enredaderas), fleófagas (infestan el floema), xylófagas (incluye a aquellas que viven y se alimentan del xilema o tejidos leñosos), o xilomicetófagas (barrenillos de madera que utilizan relaciones simbióticas y cultivo de hongos del grupo ambrosía). Estos últimos representan el grupo más especializado en cuanto a la selección del huésped, debido a que inicialmente se alimentan de la madera y luego de las esporas del hongo ambrosía que crecen en las galerías hechas por el insecto adulto. Por lo tanto, la relación simbiótica hongo/huésped determina un crecimiento apropiado del hongo dentro de las galerías (Beaver, 1989).

Los hongos *Ceratocystis* y *Fusarium* se han encontrado asociados al ataque de muchos insectos ambrosiales, especialmente de la familia *Scolytidae*. Estas dos especies ocasionan marchitamientos, manchados vasculares y chancros. Un ejemplo es

la muerte descendente en *Juglans nigra*, nogal negro, enfermedad atribuida a *Fusarium lateritium* y *Fusarium oxysporum*, asociados al escarabajo ambrosial *Xylosandrus germanus* (Bonello et al., 2001).

Por su parte, *Fusarium circinatum* causa la enfermedad del chancro resinoso en *Pinus radiata*, en la que se han identificado como insectos vectores escarabajos del género *Pityophthorus* (Coleoptera: Scolytidae). Rojas y colaboradores (1999) aislaron a *Fusarium solani* (Martius) de hembras adultas del barrenillo del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) de dos poblaciones distintas, una de América (México) y la otra de África (Benín).

También se logró aislar de esta misma especie de escolítidos distintos hongos saprofitos y entomopatógenos, entre cuyos géneros se identificaron las especies: *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium sp.*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium brevicompactum*, *Verticillium sp.*, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces farinosus*, y *Paecilomces lilacinus* (Vega et al., 1999).

Asimismo, investigaciones realizadas en Colombia descubrieron una nueva especie del genero *Corthylus* que atacaba a las plantaciones de aliso, *Alnus acuminata*, y que estaba asociada en simbiosis con varios hongos como *Fusarium solani*, *Fusarium sp.* , *Ceratocystis sp.* y una levadura (Gil et al., 2004). También se han asociado otros escolítidos a los hongos; *Ips typographyies* y *Ceratocystis polonica* en *Picea abies*, los cuales producen muerte de árboles por ataque en los haces vasculares y cambium, ocasionando un manchado azul (Krokene y Solheim, 1998).

Asimismo, *Ceratocystis fimbriata* produce ataques en cacao, mango y eucalipto que están asociados a insectos perforadores de la madera como *Xyleborus sp.*, y que ocasionan la muerte descendente en los arboles (Wingfield et al., 1993). Por último, se pueden mencionar a las especies de *Dendroctonus frontalis* y *Dendroctonus brevicomis*, que se hayan asociadas a los hongos *Entomocorticium dendroctoni*, *Ceratocystiopsis sp*, *Ophiostoma minus* y *O. nigracarpum*, habiéndose encontrado estos dos últimos adheridos externamente a la cutícula del insecto (Paine et al., 1997).

El funcionamiento de los ecosistemas se basa en las interacciones que se establecen entre los organismos que ocupan los diferentes niveles tróficos y su medio abiótico. Es consabido que los insectos fitófagos y los hongos influyen en el crecimiento, reproducción y supervivencia de las plantas; sin embargo, existen pocos estudios que examinen contemporáneamente la interacción entre estos tres niveles tróficos.

En la naturaleza se encuentra tres tipos de asociaciones simbióticas: mutualismo, comensalismo y parasitismo. El mutualismo es un tipo de simbiosis que se refiere a la asociación de dos organismos vivos en el cual ambos se benefician; el comensalismo, es una asociación entre dos organismos que viven juntos en el cual uno se beneficia y el otro no resulta ni beneficiado ni perjudicado, mientras que el parasitismo es una asociación en el cual un organismo se beneficia a expensas del otro (Barbosa y Wagner, 1989).

Para *Hylecoetus* y formas relacionadas para *Ipps spp.*, *Corthylus spp.*, y *Platypus spp.* (Graham, 1967) y endosimbiosis la que puede ocurrir intra o extracelularmente en micetomas juntas al

intestino medio de las larvas, estas se han encontrado en algunos anobidos, pero en pocos cerambicidos, en ambos casos su función es asistir a la digestión de los componentes más complejos de la madera, como son las celulosas y quizá la de sintetizar algunas sustancias esenciales parecidas a las vitaminas, entre ellas los esteroides (Crowson, 1984).

Hay muchas enfermedades fungosas que ingresan a las plantas por las heridas causadas por los insectos. Los escarabajos descortezadores adultos son portadores de muchos microorganismos, incluyendo hongos, levaduras y bacterias. Otros insectos barrenadores, provocan lesiones en los tejidos vegetales y de esta manera facilitan el ingreso de agentes patógenos, preferentemente hongos. Por lo que es motivo de alerta sobre el potencial patogénico de las especies de la familia *Scolytidae* la posibilidad de que interactúen sinérgicamente con hongos patógenos del medio ambiente.

Los daños producidos por los escolítidos son directos e indirectos. Los daños directos se basan fundamentalmente en que algunas especies al construir sistemas de galerías bajo la corteza

del árbol para reproducirse y alimentarse, pueden alterar el flujo vascular floemático. En menor medida, también son reseñables los casos de aquellas especies que atacan las ramas terminales de los árboles (*Tomicus* spp.) ya que pueden producir una reducción del crecimiento si la pérdida de ramas y follaje resulta severa (López, 2009).

Por otro lado, los daños indirectos se deben a la inoculación de esporas y/o fragmentos miceliares de hongos fitopatógenos. Ejemplo de estas enfermedades son el chancro resinoso, causado por el hongo *Fusarium circinatum*, así como el complejo fúngico del azulado de la madera (López, 2009).

La importancia ecológica de esta plaga es la relación hongo-insecto barrenador que radica en la capacidad que tienen muchas especies de insectos, que debido a sus hábitos pueden infectar árboles vivos y vigorosos con hongos, los que potencialmente pueden provocar la muerte al árbol (Reyes y Capurro, 2007).

Los escarabajos de corteza pueden ser agentes de diseminación de estos hongos. La habilidad de los escarabajos de

corteza para desarrollar explosiones poblacionales repentinas, su comportamiento críptico, su capacidad de dispersión y su capacidad para diseminar agentes patógenos han sido los puntos clave en el éxito de estas especies (Gómez, 2012). El papel de dicho grupo de insectos en la vectorización diferencial de hongos fitopatógenos integrantes del complejo del azulado de la madera (*Ascomycetes: Ophiostomatales*) y asociados al chancro resinoso causado por *Fusarium circinatum* (*Sordariomycetes: Hypocreales*).

En lo que respecta a los hongos responsables del azulado de la madera, se ha visto que muchos escolítidos actúan como vectores íntimamente asociados a las especies fúngicas involucradas (Viiri, 2002). Este estrecho vínculo está relacionado con el hecho de que tanto las estructuras sexuales o telomórficas (peritecios) como asexuales o anamórficas (conidióforos) tienen una forma erecta en la que quedan embebidas en un líquido mucilaginoso tanto las ascosporas como los conidios. De esta manera, la transmisión por insectos es más fácil, debido a que se facilita el contacto con el vector, prescindiendo prácticamente de la dispersión anemocórica (López, 2009).

## 2.10 El barrenillo del olivo *Hylesinus oleiperda*

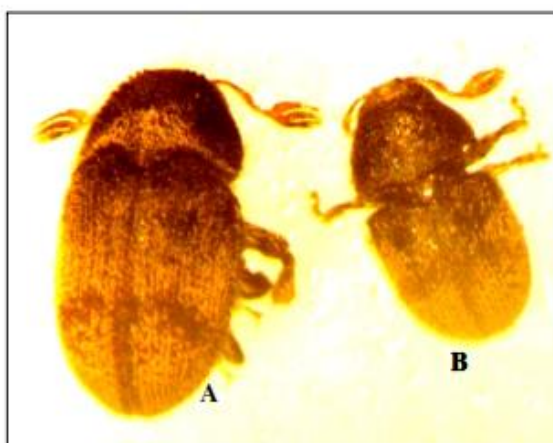
### 2.10.1 Origen

El barrenillo del olivo *Hylesinus oleiperda* Fabricius es un coleóptero originario de la zona Mediterránea, se extiende hasta oriente medio, Dinamarca, en Europa Septentrional. Su principal hospedero es *Olea europeae*, además, puede dañar a *Ligustrum*, *Syringa* y *Fraxinus* (Arambourg, 1984; Bonnemaïson, 1965).

*Hylesinus oleiperda* (Coleóptera: Scolytiidae)  
“Barrenillo del olivo”, fue detectado por primera vez el año 1962 en el departamento de Tacna; y en el año 1976 se tuvieron los primeros reportes sobre la presencia de este insecto plaga en el fundo La Agronómica, atacando plantaciones de olivo afectando su productividad hasta en el 50 % (Chambilla, 2005).

### 2.10.2 Aspectos morfológicos

**Adulto.-** Es un escarabajo pequeño de color marrón oscuro o negro, con una longitud entre 2,5 y 3,5 mm, cubierto con abundante pilosidad fina, dándole un aspecto aterciopelado, antenas y patas rojizas. Antenas terminan en un mazo segmentado. Poseen mandíbulas fuertes con los cuales perforan las ramas y producen galerías. El momento de la infestación la inicia por las yemas axilares de la rama, realizando una pequeña perforación, donde luego colocará sus huevos al entorno del orificio realizado por la hembra.



**Fuente:** Alfaro ,2005.

**Figura 1.** Adultos de *Hylesinus oleiperda*. **A.**Hembra y **B.**Macho.

### 2.10.3 Ciclo de vida

Según Canales y Valdivieso (1999), es como sigue:

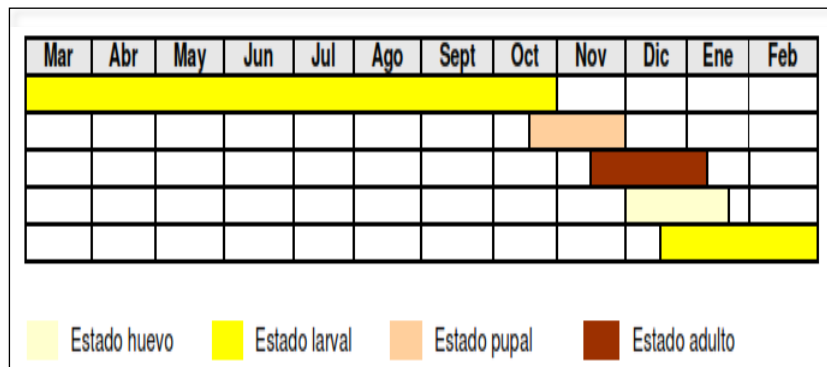
- A. Huevos.-** Son esféricos de 1 a 2 mm de tamaño, de color blanquecino recién colocados y se oscurecen conforme avanza el proceso de incubación. La duración de la incubación en promedio es de 7 días, pudiendo llegar a 10 días. Cada hembra pone hasta 18 huevos.
- B. Larvas.-** Recién emergidas empiezan a barrenar la corteza de las ramas, para luego dirigirse en diversos sentidos en la parte leñosa o xilema del olivo. Son de color blanco traslucido y se van tornando color blanco cremoso o lechoso conforme desarrollan. Inicialmente son de 0,5 mm de tamaño luego alcanzan los 3 a 5 mm. son arqueadas y apodas con la zona del tórax mas engrosada. La duración de este estado es de 300 días en promedio.
- C. Pupas.-** Miden de 2 a 2,5 mm de tamaño. Se localizan en cámaras pupales dentro de las ramas. Este estado pasa por 22 días.

El ciclo completo del barrenillo en el valle de Tacna es anual, transcurriendo en dos medios diferentes: (a) Dentro de la corteza: huevo, larva, pupa; y (b) En el espacio aéreo el adulto (Deza y Guerra, 1989).

**Cuadro 1.** Duración del ciclo biológico de *H.oleiperda*

Estado de desarrollo	Duración de Ciclo Biológico (Días)		
	Mínimo	Máximo	Promedio
Huevo (a)	6	10	7
Larva (a)	300	300	300
Pupa (a)	16	28	22
Adulto (b)	35	55	45
Ciclo completo	356	393	374

**Fuente:** Deza y Guerrero ,1989.



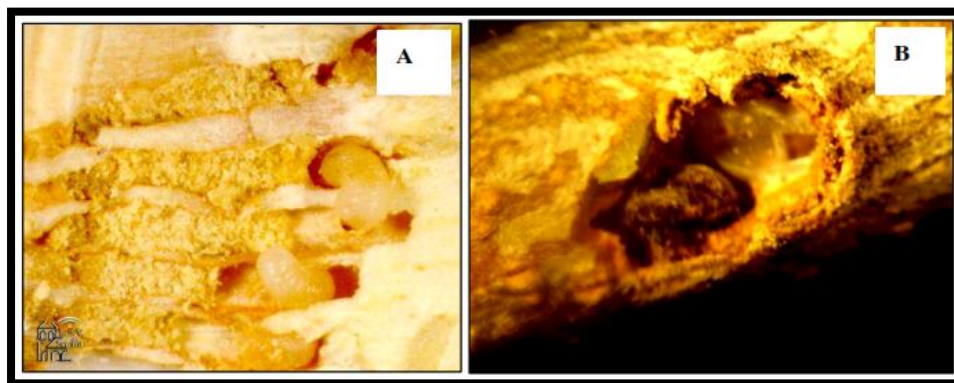
**Fuente:** Holgado, 2007.

**Figura 2.** Ciclo biológico anual de *Hylesinus oleiperda*.

#### **2.10.4 Daños**

El adulto se traslada a los árboles y abre galerías nutricias en las ramitas de uno a tres años, tanto en ramillas florales como en las que tienen fruto. Estas galerías interrumpen el paso de la savia y provocan la seca y posterior caída de hojas, frutos y ramitas productivas, por lo que la cosecha de años sucesivos resulta afectada y el desarrollo vegetativo del árbol es deficiente (Benazoun, 1992; Humanes y Civantos, 1992; González y Campos, 1994).

Las larvas barrenan las ramas entre la corteza y el xilema, realizando galerías longitudinales, como consecuencia las ramas pierden su capacidad de transporte de agua hacia el follaje, provocando que las hojas se tornen de color marrón, luego se sequen y mueran. Otros daños colaterales del ataque de este insecto ocurren al favorecer el desarrollo de otras plagas y enfermedades, como el arañuelo y la tuberculosis (Arambourg, 1984 y 1986; Civantos, 1999; Alberte, 2006).



**Fuente:** Alfaro ,2005.

**Figura 3.** Galerías de *Hylesinus oleiperda*. **A.** Reproducción y **B.** Alimentación.

### 2.11 Manejo y control del barrenillo del olivo

En el olivo se han registrado cerca de 14 especies de insectos fitófagos y 30 especies de insectos controladores. Entre los controladores biológicos, dos fueron introducidos *Scutellista cyanea* y *Metaphys helvolus* y han tenido un éxito sorprendente en el control de la queresa coccidas (*Saissetia oleae* Bern.) y (*Saissetia coffeae* Walk.), respectivamente. Además se menciona, que el control biológico, siempre es ayudado por otras formas de control como el control mecánico (lavados con agua a presión), control cultural (podas, distanciamientos adecuados, eliminación de malas hierbas) y el control químico (eliminación de hormigas) (Aguilar et al, 1980).

## **2.12 Hongos fitopatógenos**

### **2.12.1 Antecedentes**

A nivel mundial los hongos fitopatógenos originan pérdidas que ascienden a miles de millones de dólares al año (Rodríguez, 1980). El daño que ocasionan no sólo se refiere a las pérdidas de producción económica, sino también a las pérdidas en la producción biológica, es decir, a la alteración que existe en el crecimiento y desarrollo de las plantas hospederas atacadas por estos microorganismos. En cuanto a las pérdidas económicas, estas pueden ser de tipo cuantitativo y/o cualitativo (sabor, textura, color y forma) (Agris, 1988).

De los diversos microorganismos fitopatógenos que atacan a las plantas, como pueden ser los virus, hongos, bacterias, nemátodos, fitoplasmas y viroides, son los hongos el grupo que más enfermedades ocasiona y por lo tanto, sobre el que más investigación se ha realizado. Se sabe que

más de 8 000 especies de hongos pueden causar enfermedades en las plantas (Agrios, 1988).

Los plaguicidas sintéticos dirigidos a combatir los hongos fitopatógenos han generado beneficios en la producción agrícola; sin embargo, el empleo inadecuado de los mismos, expresado en términos de tipo, toxicidad, número de aplicaciones y dosificación han producido contaminaciones que afectan al suelo, agua, aire y productos agrícolas, por la acumulación de residuos potencialmente dañinos a la salud humana y de los animales (Dinham, & Malik, 2003).

### **2.12.2 Hongos fitopatógenos**

Los hongos son pequeños organismos productores de esporas, generalmente microscópicos, eucarióticos, ramificados y a menudo filamentosos que carecen de clorofila y que tienen paredes celulares que contienen quitina, celulosa, o ambos componentes y se alimenta de organismos fotosintéticos (Agrios, 1991). Todas las plantas

superiores pueden ser infectadas y dañadas por más de una especie de hongo fitopatógeno, así como una especie de hongo fitopatógeno puede atacar a más de una especie de planta (Agrios, 1988).

Algunos géneros y especies presentan una gran capacidad de adaptación y se encuentran ampliamente distribuidos, mientras que otros presentan características de adaptación más limitadas o bien son sumamente especializados, lo cual restringe su distribución (Cook, & Baker, 1983). La cantidad de estudios e investigaciones en algunos grupos depende en gran parte de la importancia económica de los cultivos o plantas que dañan.

### **2.12.3 Mecanismos de infección de los hongos fitopatógenos**

La mayoría de las aproximadamente 100 000 especies de hongos conocidas son saprófitas; sólo 8 000 pueden causar enfermedades en una o más especies vegetales. Muchos hongos patógenos muestran una

especificidad hacia el órgano al cual se unen, de forma que normalmente no atacan a todas las partes de la planta hospedadora; algunos colonizan partes aéreas mientras que otros infectan zonas situadas por debajo del suelo (Agris, 1991).

El desarrollo de la enfermedad es el resultado de su interacción con las plantas, según una secuencia de etapas denominadas patogénesis. Algunas de estas etapas, cruciales para el establecimiento de la patogénesis, son las siguientes.

#### **A. Unión a la superficie de la planta**

Los hongos patógenos emplean diferentes mecanismos para unirse a la superficie de la planta hospedadora. En cualquier caso, la penetración del hongo en la planta precisa del contacto y la adherencia de las esporas y/o de la primera hifa que resulta de su germinación (tubo germinativo) a la superficie vegetal.

Los mecanismos por los cuales este proceso se consigue han sido poco estudiados. Un posible mecanismo consiste en la excreción por parte del hongo de enzimas tales como quinasas y esterases que alteran la superficie vegetal facilitando la adherencia (Alexopoulos, 1985).

## **B. Germinación superficial y formación de estructuras de infección**

En la mayoría de los hongos, la germinación de las esporas se produce de forma directa, emitiendo uno o varios tubos germinativos. No obstante los hongos zoospóricos germinan de forma indirecta mediante la formación y liberación de zoosporas, o tras la germinación directa de oosporas y zigosporas. El proceso de germinación de las esporas fúngicas se inicia, al igual que en las semillas de las plantas, con la hidratación y aumento de volumen de la espora, la hidrólisis de las reservas energéticas endógenas y la síntesis de proteínas y materiales estructurales de

membrana y pared necesarios para la formación y elongación de los tubos germinativos. La germinación de las esporas se ve afectada por una serie de factores endógenos y exógenos. En muchas ocasiones las esporas se encuentran en un estado de reposo metabólico, en el que la germinación se ve impedida por varios factores físicos o bioquímicos propios de la espora (Agrios, 1991).

La germinación de las esporas que no se encuentran sujetas al estado de reposo metabólico se ve influida por el agua, la temperatura, la luz, la actividad microbiana y los inhibidores y estimulantes de origen diverso. Las esporas se desplazan hacia la zona de penetración, siendo en muchos casos estos movimientos orientados quimiotácticamente; tal desplazamiento finaliza con el enquistamiento de la espora y su adherencia a la superficie vegetal. Un proceso similar sucede en la elongación del tubo germinativo de muchos hongos fitopatógenos, que manifiesta una orientación en respuesta a estímulos químicos (quimiotropismo) o de

contacto superficial (tigmotropismo). El crecimiento orientado del tubo germinativo requiere su adherencia a la superficie del vegetal, lo cual tiene lugar mediante la producción de una matriz extracelular de polisacáridos o glicoproteínas (Agrios, 1991).

### **C. Penetración en el huésped**

El siguiente paso en el establecimiento de la infección supone la penetración de los hongos patógenos en sus hospedadores. La penetración puede tener lugar de diferentes maneras:

- **De forma mecánica**

Dentro de este mecanismo se pueden distinguir a su vez diferentes tipos. Existen algunas especies de hongos que penetran en la planta hospedadora a través de heridas causadas por procesos naturales (caída de hojas, formación de

raíces secundarias, etc.) prácticas agrícolas (poda, recolección, etc.) o ataques por insectos. Otros hongos fitopatógenos penetran directamente a través de la superficie intacta de la planta por medio de los tubos germinativos, por medio de apresorios o agregados hifales más complejos que reciben el nombre de cojines de infección (Agrios, 1991).

- **Por digestión enzimática**

La penetración también puede producirse por digestión enzimática de la cutícula y la pared celular. La producción de cutinasas por parte de determinados hongos juega un papel determinante en la invasión de las plantas, lo que ha quedado demostrado mediante la inhibición de esta enzima con anticuerpos o inhibidores químicos, que ocasionan una reducción de la virulencia del hongo (Alexopoulos, 1985).

- **A través de aberturas naturales**

Algunos hongos penetran en las plantas a través de aberturas naturales como las lenticelas en tallos y frutos y los hidátodos y estomas en las hojas, siendo esta última la ruta más común. La penetración de la cutícula es seguida por un crecimiento subcuticular o intramural, que puede en ocasiones verse interrumpido dando lugar a infecciones latentes. Para el crecimiento activo del hongo tras la invasión del tejido es necesario que se establezca una relación parasitaria continuada con el huésped (infección) (Agrios, 1991; Alexopoulos, 1985).

- **Colonización de los tejidos del huésped**

A partir de la hifa que penetra en la planta se desarrollan las hifas primarias y varias hifas secundarias filamentosas, que son las encargadas de colonizar el tejido del vegetal por crecimiento

intercelular y/o intracelular. La colonización del tejido huésped por crecimiento intercelular de las hifas ramificadas es propio de los hongos biótrofos (mildius, royas, etc.), mientras que el crecimiento intracelular, que a menudo ocasiona la muerte de las células del huésped mediante la secreción de enzimas pectolíticas y de toxinas, es característico de los hongos necrótrofos (Tejeda, 2003).

#### **D. Principales síntomas y signos de enfermedades causadas por hongos**

Las enfermedades causadas por hongos producen en sus hospederos una amplia variedad de síntomas. Entre los que podemos mencionar manchas cloróticas y necróticas, cribados, canchros, tizones, podredumbres húmedas o secas, momias, agallas, abolladuras, costras, ahogamientos, marchitamientos y pústulas (Agrios, 1991).

- **Efecto de los hongos fitopatógenos sobre la translocación del agua a través del xilema**

Los hongos que ocasionan ahogamiento en los almácigos, pudriciones del tallo y canchales, llegan a los vasos xilémicos a nivel de la zona de infección y, en caso de que las plantas infectadas sean inmaduras, producen su destrucción y desintegración, como *Plasmodiophora brassicae*, hongo causante de las raíces romas. Las numerosas células proliferantes y alargadas que se encuentran cerca del xilema o en torno a él ejercen cierta presión sobre los vasos xilemáticos, los cuales se comprimen y dislocan, se tornan menos eficientes para el transporte del agua en la planta.

Sin embargo, la alteración más típica y notable del xilema con respecto a la translocación del agua se observa en los marchitamientos vasculares que ocasionan los hongos de los géneros *Ceratocystis*, *Fusarium* y *Verticillium*. Estos

patógenos invaden el xilema de las raíces y tallos, y producen enfermedades que interfieren fundamentalmente sobre el flujo ascendente del agua a través del xilema.

La mayoría de las plantas que han sido infectadas por estos patógenos, el flujo del agua a través del xilema del tallo disminuye hasta un valor que va del 2 al 4 % del que fluye a través del tallo de las plantas sanas. Es evidente que las alteraciones vasculares en los marchitamientos se deben a más de un factor, algunos de los factores responsables del síndrome de esta provienen directamente del patógeno, mientras que otros los origina el hospedante en respuesta al patógeno. Este último disminuye el flujo de agua al encontrarse en el xilema en forma de micelio, esporas o células bacterianas, o al producir grandes moléculas (polisacáridos) en los vasos.

## **E. Identificación de los hongos fitopatógenos**

Para la identificación de hongos fitopatógenos es necesario la observación de sus estructuras somáticas y reproductivas. Mediante la técnica de cámara húmeda y/o aislamiento es posible la aparición de estas estructuras.

La observación de las características de las estructuras producidas y el uso de las claves taxonómicas necesarias para determinar el género y la especie del hongo patógeno (Singleton y Rush, 1993).

### **2.12.4 Hongos vasculares**

Los hongos productores de enfermedades vasculares, son relativamente frecuentes y causan daños importantes sobre el sistema radical, como: *Armillaria mellea*, *Rosellina necatrix*, *Heterobasidion annosum*, *Phytophthora spp.*, *Fusarium spp.* o *Verticillium spp.* (Saiz de Omeñaca, s.f.).

Las principales enfermedades de mayor incidencia en el olivar producidas por hongos son:

**A. Enfermedades principales:** *Spilocaea oleaginae* “Repilo”; *Verticillium dahliae* “Verticilosis”; *Colletotrichum gloesporioides* “Aceitunas jabonosas”.

**B. Enfermedades Secundarias:** *Capnodium*, *Limacinula*, *Aureobasidium*, etc. “Negrilla”; *Camarosporium dalmaticum* “Escudete”; *Mycocentrospora cladosporioides* “Emplomado”; *Phyctema vagabunda* “Antracnosis”; *Armillaria mellea*, *Rosellinia necatrix*, *Corticium rolfsii* y *Phytophthora spp.* producen podredumbres radicales y pueden ocasionar desecación de ramas, chancros en raíces y cuellos, pérdida de vigor y muerte de los árboles afectados. Los hongos vasculares se instalan en vasos conductores e impiden la circulación de savia (verticilosis y fusariosis).

En esas condiciones el micelio invade la planta a través de estomas, lenticelas, heridas, e incluso atravesando la epidermis (contaminación). Con un medio

adecuado, el hongo se multiplica asexualmente extendiéndose por el vegetal y alimentándose de éste. Durante un tiempo, no existen síntomas que denoten la presencia interna del hongo (incubación). Después de esta fase normalmente aparecen las fructificaciones externas del hongo, capaces de producir nuevas infecciones (Montalvá y Toledo, 2002).

#### **2.12.5 La verticilosis del olivo**

La verticilosis del olivo (VO), causada por el hongo *Verticillium dahliae* Kleb, es una de las enfermedades más importantes que amenaza al olivar en los países cultivadores de aceituna (López Escudero, 2012).

En esta enfermedad se distinguen dos complejos sintomatológicos denominados “Apoplejía” y “Decaimiento lento”. La apoplejía consiste en la muerte rápida de ramas o de la planta completa; el decaimiento lento consiste en la desecación y momificado de las inflorescencias, que

permanecen adheridas, en tanto que las hojas se desprenden. Es necesario para confirmar su presencia realizar el aislamiento y posterior identificación del patógeno (Gutiérrez y Fernández, 2009).

La producción de heridas en el sistema radicular del olivo favorece la invasión de la planta de manera que el laboreo con cuchillas o discos aumenta la incidencia de verticilosis en las plantaciones. Una vez alcanzados los vasos xilemáticos, el hongo se extiende a lo largo del eje de la planta mediante crecimiento hifal, así como por esporas transportadas por la corriente transpiratoria que facilitan el posterior y extenso crecimiento fúngico en el xilema aéreo que precede al desarrollo de los síntomas de la verticilosis (Landa y col. 2009).

El crecimiento preferente del hongo en los vasos xilemáticos invadidos, que adquieren una coloración castaño-oscura y la pronunciada sectorialización vascular del olivo, con conexión directa entre haces vasculares de las raíces y los brotes, hace que los síntomas se puedan

presentar distribuidos sectorialmente en la copa del árbol y que presumiblemente la extensión de aquellos corresponda al número de raíces de la planta infectadas (Landa y col. 2009).

En el suelo, los microesclerocios del patógeno germinan y producen infecciones en las raíces del olivo, iniciando la colonización de los tejidos que conducirá al patógeno a los vasos del xilema. El hongo produce micelio y nuevos conidios, colonizando longitudinalmente y transversalmente el xilema de la planta. Esta traqueomicosis interrumpe el transporte de agua y, posteriormente, produce la marchitez y la muerte del árbol (Schnathorst, 1981; Trapero y Blanco López, 2010).

**A. Influencia del barrenillo del olivo *Hylesinus oleiperda* Fabr. en la dispersión de verticilosis causada por *Verticillium dahliae* Kleb.**

Algunas de las principales causas de la prevalencia de la Verticilosis son el uso de suelos infestados, debido al cultivo anterior de huéspedes susceptibles al patógeno, y la infestación de los suelos con inóculo proveniente de varias fuentes externas. Se han descrito una serie de medios de dispersión del patógeno en las zonas de cultivo del olivo, principalmente relacionados con el movimiento de las estructuras infecciosas y de supervivencia (microesclerocios) (López Escudero et al., 2012). Igualmente los insectos podrían actuar como posibles vectores del patógeno *V. dahliae*, aunque la información disponible a este respecto es muy escasa.

Se sabe que varias especies de hongos causantes de enfermedades en plantas leñosas pueden ser transmitidas eficientemente por insectos xilófagos,

especialmente coleópteros de la familia *Scolytidae* (Webber y Gibbs, 1989). Una característica de los escolítidos es su amplia asociación con hongos, siendo algunas de las más notables las interacciones con especies del género *Ophiostoma* (Ascomycota), hongos responsables de la decoloración de la madera y causantes de graves enfermedades de árboles (Wingfield et al., 1993, Kirisits, 2004). No obstante, sólo en unos pocos casos se ha mostrado que estos insectos estén asociados directamente con las enfermedades vasculares. El ejemplo más representativo de una enfermedad vascular causada por un hongo transmitido por escolítidos es la enfermedad del olmo holandés, causada por *Ophiostoma ulmi*, que se transmite por *Scolytus spp.* (Webber, 2004).

Los adultos del insecto transportan los conidios del patógeno al quedar pegados a sus cuerpos cuando abandonan las galerías de apareamiento en los olmos enfermos, dirigiéndose a árboles sanos para hacer galerías de alimentación. En cualquier caso, este hecho

está reconocido como una relación mutualista entre el escolítido y el hongo.

En el caso de *V. dahliae* existe muy poca información sobre su transmisión por insectos. En una antigua referencia, Jimenez et al. (2012) señalaron que *V. dahliae*, causante de la verticilosis de albaricoque, podría transmitirse por el escarabajo de la corteza de fruta *Scolytus rugulosus*.

Además, curiosamente, Tiberi y Ragazzi (1998) demostraron la transmisión de *V. dahliae* por los insectos vectores xilófagos *Scolytus intricatus* Ratz. y *Xyleborus dispar* F., cuando estudiaban las causas del decaimiento del roble en Italia. Sin embargo, el roble no es un huésped común de *V. dahliae*. Otro caso de excepción es la alfalfa, en donde ciertos insectos como el pulgón del guisante, el gorgojo de la alfalfa, algunos saltamontes migratorios, o la abeja cortadora de hojas pueden actuar como vectores para la transmisión eficaz de *Verticillium albo-atrum* (Huang, 2003).

El escolítido *Hylesinus oleiperda*, conocido como “barrenillo del olivo”, está considerado como una de las plagas principales que atacan el olivar en la zona Mediterránea (Alvarado et al., 2010). El insecto xilófago presenta un ciclo biológico similar al de otros escolítidos xilófagos asociados a hongos fitopatógenos. Aunque no se tienen evidencias de transmisión por insectos de la verticilosis, la naturaleza vascular de las infecciones de *V. dahliae* en el olivo y el ciclo de vida de *Hylesinus oleiperda* podría propiciar una interacción entre los dos organismos con respecto a la propagación del patógeno (probablemente conidios) desde árboles afectados por verticilosis a otros sanos. Esta hipótesis se apoya en observaciones de campo en olivares con daños causados por ambos organismos en varios cultivos de Tacna.

Por lo tanto, la posible relación entre *Hylesinus oleiperda* “barrenillo del olivo” como vector de transmisión de *V. dahliae*, el agente causal de la verticilosis del olivo corrobora la explicación de la

frecuencia de encontrar viejos olivares (más de 60 años) afectados por verticilosis, cuando estos olivares se establecieron en un suelo libre del patógeno y, aparentemente, fuera de la influencia del aporte externo de inóculo de *V. dahliae* por cualquiera de los medios de dispersión conocidos.

#### **B. Micoflora presente en la rizósfera de plantaciones de olivo con muerte regresiva**

El Olivo, *Olea europea*, es un cultivo que en los últimos años, las plantaciones están siendo afectadas por la pudrición radicular por *Armillaria mellea*, mostrando síntomas aéreos de marchitez y muerte lenta, afectando su producción. Los hongos del suelo tienen un crecimiento saprofítico competitivo y compiten exitosamente con otros organismos del suelo en la colonización y el metabolismo de la materia orgánica. Los componentes de la micoflora en la rizósfera

de plantaciones de olivo con muerte regresiva corresponden a las siguientes especies:

Hongos aislados de la rizósfera y suelo rizosférico, se describen ocho géneros, contienen especies que son fitopatógenos, tales son: *Cylindrocarpon destructans*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Macrophomina phaseolina*, *Phyalophora*, *Curvularia*, *Rhizoctonia solani* y *Armillaria mellea*.

El resto de hongos aislados corresponde a especies que son saprofitos obligados, tales como: *Gliocladium spp.*, *Penicillium spp.*, *Paecylomyces spp.*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Trichoderma spp.*, *Nigrospora spp.* y *Rhizopus spp.*

La presencia de determinados hongos en un área determinada depende del factor climático, tipo de cultivo y presencia de materia orgánica. *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum*, son especies de hongos de suelos

mejor caracterizados en términos de distribución geográfica, son ubicuas y considerados como cosmopolitas. Los microorganismos de la rizósfera se caracterizan por ser organismos saprofitos y patógenos, también definidos como organismos alóctonos. Maximizan su tasa de crecimiento a costa de su supervivencia cuando escasea la fuente de alimento.

## **2.13 Hongos de pudrición**

### **2.13.1 Antecedentes**

La pudrición es considerada una enfermedad porque causa un deterioro progresivo de las paredes celulares y de la resistencia de la madera y puede interrumpir el flujo de savia en la albura cuando las células mueren o reaccionan al avance de la pudrición. Algunos hongos xilófagos son conocidos como chancros de pudrición ya que pueden matar la corteza y el cambium tanto como con la madera podrida.

Las causas de pudrición de la madera de cualquier consecuencia en los árboles vivos son por hongos. Hay dos grupos principales de hongos xilófagos; aquellos incluidos en la división *Basidiomycota*, comúnmente llamados basidiomicetos, y aquellos incluidos en la división Ascomycota, o ascomicetos (Salbarriaga y Pineda, 2001).

Los basidiomicetos son de manera abrumadora la causa más común de la pudrición de la madera. Los hongos de este grupo son familiares para la mayoría de los arbolistas, como las setas y champiñones que esporulan en los troncos, cimales, y/o los fijados a las raíces de los árboles. Los ascomicetos son conocidos, mayormente, como causantes de chancros foliares, marchitamientos, y desecamientos, pero varios ascomicetos son muy importantes como pudridores de madera (Salbarriaga y Pineda, 2001).

### **2.13.2 Tipos de pudrición de la madera**

Los hongos pudridores de madera pueden ser agrupados en tres tipos de pudrición provocadas por hongos: pudrición blanda, pudrición blanca y pudrición parda según la forma en la cual pudren la madera. La madera del olivo está constituida básicamente por lignina, celulosa, hemicelulosa y compuestos fenólicos; sustancias que pueden ser atacadas por protozoos, bacterias y hongos de diferentes grupos taxonómicos (Salbarriaga y Pineda, 2001).

#### **A. Pudrición blanda**

Ocurre cuando el daño causado por el microorganismo es muy superficial. La madera pierde fuerza mecánica y se toma húmeda y esponjosa (Dix y Webster, 1995). Los hongos de pudrición blanca tienen un sistema de enzimas celulasa y lignasa que le permiten degradar todos los componentes de las paredes celulares de la madera. Algunos, sin embargo,

remueven lignina más rápido. Es causada por *ascomycetes* y *deuteromycetes*, e inicialmente puede caracterizarse por cadenas de cavidades longitudinales con puntos cónicos en la capa de la pared celular (Savory, 1954). Un ejemplo de hongos que causan este daño es *Aspergillus sp.* También existen hongos de pudrición blanda que hacen que la madera se quiebre con facilidad, como *Ustilina deusta*; dado que éste es el hongo de pudrición blanda más importante en la práctica de la arboricultura. Las hifas que intervienen en la pudrición blanda crecen dentro de la pared celular y en la dirección de las microfibrillas de celulosa (Savory 1954; Courtois 1963; Liese 1964).

## **B. Pudrición parda o cúbica**

Es la más grave y peligrosa, por lo que también se le llama pudrición destructiva. Son hongos basidiomicetos que afectan a la celulosa y dejan a la lignina sin daño. Crecen principalmente en la pared celular, pero también pueden estar en el lumen. La madera dañada es de color marrón oscuro y se agrieta

perpendicular y transversalmente, formando estructuras prismáticas o laminares.

La pudrición marrón es un tipo de pudrición causada exclusivamente por hongos basidiomicetos, una clase que contiene muchas familias, si bien la inmensa mayoría de ellos pertenecen a la familia de las Poliporáceas. Resulta interesante comprobar que, según los datos de que se dispone en la actualidad, sólo el 6 % de todos los hongos de pudrición de la madera que se conocen causan pudrición marrón. Salvo unos pocos, todos están asociados a las coníferas, mientras que los hongos de pudrición blanca se asocian con los árboles de hoja ancha (Gilbertson 1980; Watling 1982).

Las especies que producen este daño son de la clase de los basidiomicetos y las más importantes son: *Serpula lacrimans* (syn. *Meriulus lacrymans*), *Poria spp.* y *Coniophora puteana* (syn. *Coniophora cerebella*) (Salvadori, 2000).

### **C. Pudrición blanca**

La pudrición blanca remueve la lignina antes o al mismo tiempo que remueve el componente de celulosa de la madera. Ya que la lignina es marrón o de color oscuro, su degradación deja la madera de un blanco pálido o decolorado aspecto en los últimos estadios del proceso de pudrición. Los hongos que causan pudrición blanca cuentan con representantes de todos los grupos principales de los Basidiomicetos y de algunos de los Ascomicetos, en especial las Xilariáceas (Sutherland y Crawford 1981).

Los índices relativos de degradación de la lignina y la celulosa, junto con otros constituyentes de la pared celular, varían (a veces de manera considerable) en función de la especie de hongo y de las condiciones que predominen en la madera. A pesar de la gran diversidad que presenta la pudrición de madera causada por los hongos de pudrición blanca, en general se reconocen dos importantes formas de este tipo de degradación, a

saber: la deslignificación selectiva y la pudrición simultánea (Blanchette 1984; Fisher et al., 1992). Los hongos de pudrición blanca y pudrición café, según la coloración que genere el ataque a la madera. Provocan el deterioro de la madera al alimentarse de los componentes de la pared celular (Wendt, 1983; Rodríguez, 1998).

### **2.13.3 Colonización de los hongos**

El proceso de descomposición de la madera desarrollado por los hongos es complejo y responde a interpretaciones físicoquímicas y bioquímicas. El hongo al establecerse en la madera, desarrolla hifas de 1 a 2  $\mu\text{m}$  de diámetro, colonizando rápidamente las paredes y lúmenes celulares, produciendo una transformación bioquímica con proyección física (Kirk y Cullen, 1998). Esto causa un menor porcentaje de lignina en el tronco, una lignina que es modificada cualitativamente y una madera más porosa (Wainwright, 1995).

Es posible establecer una secuencia en la colonización:

1. El ataque de los hongos tiene una sucesión o secuencia, primero actúan los mohos y hongos cromógenos, para posteriormente, actuar los hongos de pudrición, degradando así la madera (Butcher, 1968).
2. La pudrición empieza cuando la hifa o el hongo de la pudrición penetra la madera, inicia la colonización, y libera las enzimas. En esta fase de colonización, el daño es limitado y aún no hay evidencias visibles. Esta etapa es llamada incipiente.
3. A medida que se desarrolla el proceso de pudrición aparecen pequeños cambios en el color, en la textura de la madera, y pueden aparecer fibras quebradizas; estos cambios constituyen la fase temprana, cuando la pudrición es detectable, pero no obvia.
4. A medida que el proceso de pudrición continúa a la fase intermedia, hay evidentes cambios de color y textura en la madera, pero el grosor de la estructura permanece aún intacto.

5. La fase tardía es cuando hay un rompimiento total de la estructura de la madera y la madera residual se vuelve blancuzca y de mala calidad (Zabel y Morrell, 1992).

Antes de que el hongo pueda colonizar la madera, requiere de cuatro condiciones: suministro de oxígeno, temperatura adecuada, suministro de humedad adecuada, sustrato como fuente de alimento. La eliminación de algunos de estos requerimientos puede prevenir el ataque a la madera, siendo el más usado el riego por aspersión, mediante el cual se satura la madera, impidiendo la presencia de oxígeno (Rodríguez, 1998).

#### **2.13.4 Hongos de mohos (Ascomycetes y Deuteromycetes)**

Los conocidos como mohos de la humedad, se destacan porque producen coloraciones vistosas; sin embargo, generalmente no son considerados organismos manchadores debido a que su crecimiento es superficial y generalmente no decoloran el tejido de la madera (Seifert, 1993).

Estos dan la apariencia algodonosa sobre la superficie de la madera, con coloraciones que van desde el blanco hasta el negro, no influyendo sobre las propiedades de la madera (Juacida, 1992). También presentan variaciones del azul verdoso a amarillento o rojizo. Estas tonalidades se deben al hecho que las esporas y micelio de estos organismos se colorean cuando están expuestos libremente al aire y a la luz; ocasionando manchas que se pueden eliminar a través de un cepillado de la madera (Aguilar, 1985).

Estas manchas fungosas, de menor importancia que la mancha azul, atacan en forma superficial a las maderas, produciendo proliferaciones fungosas, de colores verde azulado, verde, amarillo, rojo y negro. La iniciación y extensión de estas manchas, depende de temperaturas favorables y de la presencia de abundante humedad, como ocurre cuando se apila madera verde sin suficiente aireación. Además, su presencia y propagación en condiciones favorables de humedad y temperatura,

pueden servir de base para el ataque de hongos de pudrición (Juacida, 1992).

Dentro del complejo patogénico de organismos causantes de biodeterioro de la madera aserrada de pino insigne, sobresale la importancia del moho verde, causado por *Trichoderma*, organismo que se destaca por su rapidez en el desarrollo y su resistencia a numerosos fungicidas (Williams, 1991). Son incapaces de alimentarse de los principales componentes de la pared celular (celulosa y lignina), por lo que no producen pérdidas significativas en la resistencia de la madera. Debido a su crecimiento superficial son fáciles de eliminar con un trapo o mediante medios mecánicos. Aunque no resultan peligrosos por su mínima acción degradadora, crean las condiciones para el desarrollo de los hongos de pudrición (Williams, 1991).

Los hongos de mohos no afectan considerablemente las propiedades físico-mecánicas ni pudren a la madera. La temperatura óptima de desarrollo de los mohos se encuentra entre 24 y 28 °C, con posibles variaciones. El contenido de

humedad oscila entre el 30 % y el 150 %. Los hongos típicos que producen los hongos de mohos son de las especies de *Penicillium spp.*, *Trichoderma spp.*, *Gliocladium spp.*, *Fusarium spp.*, *Aspergillus spp.* y *Torula spp.* (Williams, 1991).

#### **2.13.5 Hongos cromógenos del azulado (Ascomycetes y Deuteromycetes)**

Actualmente, la lista de hongos capaces de producir variaciones en el color de la madera incluye más de 100 especies, pero los cuales no alteran en gran medida sus características físicas y mecánicas. La mancha azul puede ser producida por hongos de los géneros *Ceratocystis*, *Alternaria*, *Cadophora*, *Diplodia*, *Discula*, *Graphium*, *Hormodendron*, *Hormonema*, *Leptographium*, *Sclerophoma*, *Shaeropsis* y *Trichosporium*. La mayoría de los hongos que afectan la madera consisten de una fina red de hifas, las cuales se ramifican extensivamente dentro del sustrato con un crecimiento continuo, lo que forma un micelio (Ridout, 2000).

El micelio de estos hongos produce una decoloración azul negro azulada de la albura causada por la penetración profunda de hifas de hongos pigmentadas a lo largo de los rayos medulares, y que no causa deterioro (Gibbs, 1993; Seifert, 1993).

Las manchas producidas en la albura de las especies forestales son causadas por diversos organismos, en su mayoría hongos ascomicetos. Han sido muy estudiadas, no solo por causa de manchas en la madera, sino porque también incluyen especies responsables de marchitamientos vasculares (*Ophiostoma ulmi*, *Ceratocystis fimbriata*, *Ceratocystis fagacearum*) o pudriciones de raíz (*Leptographium wagneri*). Esta mancha puede afectar también la madera de árboles en pie, como resultado de la infección llevada bajo la corteza por coleópteros (Gibbs, 1993).

### 2.13.6 Pudrición blanda (Ascomycota y Deuteromycota)

Producida por hongos ascomicetes y deuteromicetes (hongos imperfectos), cuyas hifas se desarrollan no sólo en el lumen, sino también en el interior de la pared celular secundaria, realizando su daño (cavidades). Se alimentan principalmente de la celulosa.

Es muy parecida a la pudrición parda y se diferencia de esta porque la madera se siente al tacto muy blanda o esponjosa, y cuando se seca se resquebraja formando cubos pequeños. Se produce cuando existe alta humedad, tanto en el ambiente como en la madera y en las zonas muy húmedas en contacto con el muro o la pared. Está causada por un amplio rango de hongos ascomicetos de los géneros *Chaetomium*, *Xylaria*, *Hypoxylon*; y de deuteromicetos como los *Alternaria*, *Coniothyrium*, *Humicola*, *Stemphylium* y *Stysanus* (Moore y Landecker, 1996).

Ocorre cuando el daño causado por el microorganismo es muy superficial. La madera pierde fuerza mecánica y se torna húmeda y esponjosa. Es causada por Ascomycetes y Deuteromycetes, e inicialmente puede caracterizarse por cadenas de cavidades longitudinales con puntos cónicos en la capa de la pared (Saldarriaga 2001). Alrededor de las hifas se genera una destrucción localizada, formando una cavidad en la pared secundaria. Algunos de los hongos causantes de este tipo de pudrición son *Chaetomium globosum* y *Daldinia concentrica* (Moore y Landecker, 1996).

## **2.14 Enfermedades del tronco y las ramas**

### **2.14.1 Antecedentes**

Las enfermedades del tronco constituyen un grupo caracterizado por varias sintomatologías causadas por hongos, que afectan a la madera de distintos órganos en la planta: raíces, tronco, ramas. Un ejemplo de las dolencias se denominan la enfermedad de Petri y tienen como

consecuencia la pérdida de vigor vegetativo, disminución de la capacidad fotosintética y eventualmente la muerte de la planta de vid. En los cortes transversales de la madera se observan exudados gomosos y elementos de bloqueo en los vasos del xilema que actúan como mecanismos de defensa de las plantas frente a la invasión de hongos y bacterias. Varios hongos han sido considerados como responsables de los síntomas típicos de cada enfermedad como *Phaeomoniella chlamydospora* y *Phaeoacremonium*, principalmente *Phaeoacremonium aleophilum*.

#### **2.14.2 *Phaeoacremonium* spp. asociadas con la necrosis en tejido xilemático**

Crous et al. (1996) resituaron a los aislados de *Cephalosporium* y *Phialophora* procedentes de vid dentro de un nuevo género que denominaron *Phaeoacremonium*, en el que incluyeron las especies *Phaeoacremonium inflatipes*, *Pm. chlamydosporum*, *Pm. aleophilum*, y *Pm. angustius*. Actualmente *Pm. aleophilum* y *Pm. angustius* son considerados como sinónimos (Larignon et al., 2000), recientemente, dentro de este género se ha añadido una

nueva especie, *Phaeoacremonium viticola*, que también afecta a vid y otros arboles frutales (Dupont et al., 2000).

Se han asociado con infecciones humanas, llamados phaeohyphomycosis, así como, síntomas de la enfermedad de un número de leñosas que acoge a varios hospedantes, especialmente con la vid, como la enfermedad de Petri (Pascoe et al., 2004).

*Phaeoacremonium parasítica* se aisló del marchitamiento de árboles de *Prunus armeniaca* en Túnez (Hawksworth et al. 1976).

Se describe a *Phaeoacremonium parasiticum* como agente causal de la muerte regresiva en cerezos en distintos lugares de Grecia, donde se encontraron varios cultivos de cerezo a ser susceptibles a la enfermedad presentando síntomas como caída de hojas, marchitamiento y la decoloración de la madera. Estos hongos están estrechamente asociados con el escarabajo de corteza de la familia *Scolytidae* y escarabajos perforadores

de madera pertenecientes a la familia *Buprestidae*. *Phaeocremonium parasiticum* causa lesiones del xilema en los arboles de cerezo, albaricoque de olivo y melocotón (Rumbos 1986).

Se han aislado dos especies *Phaeocremonium* de *Prunus spp.* y *Phaeocremonium aleophilum* (*T. minima*) se reportó sobre *Prunus pennsylvanica* en Canadá (Hausner et al. 1992) y *Prunus arménica* en Sudáfrica (Mostert et al. ,2006).

#### **2.14.3 *Phaeocremonium aleophilum* (W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & L. Mugnai)**

Es una especie que tiene diversidad de hospedantes como el olivo y la vid. Se ha reportado en Argentina, Australia, Austria, Canadá, Chile, Francia, Irán, Italia, España, Sudáfrica, Turquía, Estados Unidos (Scheck et al., 1998; Mugnai et al., 1999; Dupont et al., 2002; Mostert et al., 2006 Carlucci et al., 2008). Se asocia con *Phaeomoniella chlamydospora* de la yesca en la

plantación de vides maduras y disminución de viñas jóvenes (enfermedad de Petri), siendo dos tipos de enfermedades del tronco de la vid.

#### **A. Clasificación taxonómica**

**Reino** : *Fungi*

**División:** *Ascomycota*

**Clase:** *Sordariomycetes*

**Subclase:** *Sordariomycetidae*

**Orden** : *Diaporthales*

**Familia:** *Togniniaceae*

**Género:** *Phaeoacremonium*

**Especie** : *Phaeoacremonium aleophilum*

**B. Huéspedes.-** Vid, cerezos, olivo entre otros afectando principalmente a plantas jóvenes de 2 a 3 años de edad.

**C. Sintomatología.-** Se trata de uno de los hongos asociados a la “enfermedad de Petri” en la vid, caracterizada por la aparición de retrasos en la brotación, entrenudos cortos, escaso desarrollo de los brotes y clorosis foliar. En la

madera de la parte aérea y zonas basales se observa, al realizar cortes transversales, el pardeamiento de los vasos xilemáticos que en ocasiones emiten una exudación gomosa de color oscuro.



**Fuente:** Del Rio et al., 2004.

**Figura 4.** Corte transversal de una planta joven con vasos necrosados y producción de una goma negra.

#### **2.14.4 *Phaeomoniella chlamydospora* (W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & L. Mugnai) Crous & W. Gams**

*Phaeomoniella chlamydospora* está considerado como el principal patógeno asociado a la enfermedad de Petri debido a su predominancia en las plantas afectadas

(Ridgway et al., 2005) y a su mayor virulencia (Retief et al., 2006).

Aislado por vez primera en 1959, de vides con síntomas de Yesca, Chiarappa le clasificó como *Cephalosporium. Phaeomoniella chlamydospora* pertenece a los Ascomycota; y fue descrito por Crous y Gams (2000). Hasta ese momento formaba parte del género *Phaeocremonium* considerándolo como *Phaeocremonium chlamydosporum*. Trabajos basados en las secuencias ADN, así como en características morfológicas llevaron a Crous y Gams (2000) a considerar que las diferencias existentes entre este hongo y los miembros del género *Phaeocremonium* eran suficientes como para considerarlo un nuevo género.

En cultivos de más de un mes en las hifas se diferencian células que se recubren de una pared gruesa formando las clamidosporas características de la especie. El micelio es de un color verde más o menos claro con un borde blanco. Al igual que *P. aleophilum* se transmite por madera infectada y suelo, aunque, a diferencia de aquél, su

diseminación aérea se produce durante todo el año, por lo que puede penetrar por las heridas de la poda, entre otras vías (Crous y Gams ,2000).

#### **A. Clasificación taxonómica**

**Reino :** *Fungi*

**División:** *Ascomycota*

**Clase:** *Eurotiomycetes*

**Subclase:** *Chaetothyriomycetidae*

**Orden:** *Chaetothyriales*

**Familia:** *Herpotrichiellaceae*

**Género:** *Phaeomoniella*

**Especie:** *Phaeomoniella chlamydospora*

**B. Huéspedes.-** Vid, principalmente y huéspedes alternos como cerezos, olivo entre otros afectando principalmente a plantas jóvenes de 2 a 3 años de edad.

**C. Sintomatología.-** Los síntomas externos que muestran las plantas afectadas por la enfermedad de Petri incluyen reducción del desarrollo, acortamiento de entrenudos, hojas pequeñas con clorosis internervial, tallos y ramas más

pequeños y un decaimiento general que acaba con la muerte de la planta (Retief et al., 2006).

Los síntomas internos son fácilmente apreciables en el tronco y en los brazos. Si se corta el tronco transversalmente se observan manchas negras y necróticas en el xilema (Oliveira et al., 2004) y si lo cortamos longitudinalmente esa decoloración marrón oscura-negra se extiende a lo largo de los vasos del xilema (Mostert et al., 2006), junto a la formación de tilosas (Retief et al., 2006). Es frecuente observar exudados de savia de color negro procedentes de los vasos del xilema cuando se corta un brazo afectado (Mostert et al., 2006). Aunque la enfermedad de Petri puede causar un colapso rápido y muerte de plantas jóvenes, lo normal es que el decaimiento sea lento y progresivo, produciéndose el amarilleamiento de las hojas, la muerte de alguna rama y la reducción del crecimiento a partir del primer año después de la plantación (Ridgway et al., 2005).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Selección y ubicación de las unidades de muestreo

La presente investigación se realizó en dos de las principales zonas productoras de olivo atacado con *Hylesinus oleiperda* barrenillo del olivo en Tacna. Las zonas de muestreo seleccionadas fueron los sectores de Magollo (Lateral 16) y la Yarada: Asentamiento 4 y el Asentamiento 5 y 6.

**Cuadro 2.** Distribución de las zonas de muestreo en Tacna

Procedencia	Sectores	Meses	Superficie agrícola Nº Hectáreas
<b>MAGOLLO</b>	Lateral 16	Junio	3
<b>LA YARADA</b>	Asentamiento 4	Julio	3
	Asentamiento 5 y 6	Agosto Setiembre	3

**Fuente:** Elaboración propia

## **3.2 Tipo y diseño de investigación**

### **3.2.1 Tipo de investigación**

En el presente estudio la investigación es descriptiva simple, el enfoque de esta investigación fue dirigido a la evaluación de la presencia de hongos fitopatógenos asociados a *Hylesinus oleiperda* “barrenillo del olivo”.

### **3.2.2 Diseño de la investigación**

Esta investigación presenta un diseño no experimental longitudinal, porque se realizó sin la manipulación deliberada de la variable de la investigación (Hongos fitopatógenos) donde se observó a los hongos fitopatógenos en ramas con galerías de *Hylesinus oleiperda* en olivo y es longitudinal ya que se recolectó las muestras en distintas zonas en diferentes tiempos.

## **3.3 Población y muestra**

### **3.3.1 Población**

Olivos adultos de las zonas de Magollo, Asentamiento 4 y el Asentamiento 5 y 6.

### **3.3.2 Muestra**

Ramas de olivo con presencia hongos patógenos asociados a el “barrenillo del olivo”.

### **3.4 Muestreo de material vegetal afectado**

Para el muestreo, se evaluó cinco árboles en una hectárea de cultivo, seleccionados con un muestreo por conveniencia (Hernández et al., 2006). Se tomaron muestras de las ramas con presencia de hongos patógenos asociados a galerías del barrenillo del olivo evidenciando manchas y pudrición de 8 a 15 cm de longitud. Se llevó un registro de toda la información de campo como: edad, síntomas y grado de infestación del olivo (Anexos 1 y 2).

### **3.5 Zonificación del área de muestreo**

#### **A. Zona 1**

El alcance de este estudio se realizó en Magollo en la zona ubicada en el Lateral 16 de Sector Medio, Subsector B, de propiedad de la Sra. Norma Avendaño Cacilla (Anexo 3). Las coordenadas geográficas son:

Latitud sur : 18° 09' 62''

Longitud oeste : 70° 28' 08,15''

Altura : 95 msnm

- **Descripción de la zona 1**

Es un campo de olivo con una superficie de cuatro hectáreas. Los olivos tienen una edad aproximada de 20 años, al inicio de la investigación se observó a las plantas infestadas por el barrenillo en grado de infestación 3 a 4. Así mismo, con un fuerte ataque de la queresa blanca *Orthezia olivicola* (Anexo 4).

## **B. Zona 2**

El alcance de este estudio se realizó en la zona de la Yarada, en el Asentamiento 4, parcela 30, Pozo IRHS 112, en el fundo “Los Pécanos” de propiedad del Sr. Luis Cornejo Vargas (Anexo 3). Las coordenadas geográficas son:

Latitud sur : 19° 10' 41”

Longitud oeste : 71° 56' 18,03”

Altura : 95 msnm

- **Descripción de la zona 2**

Es un campo de olivo con una superficie de cinco hectáreas. Los olivos pertenecen a la variedad sevillana y tienen una edad aproximada de 20 años, posee un sistema de riego a gravedad; al inicio del muestreo se observó a los árboles infestados por el barrenillo en grado de infestación 1 a 3 (Anexo 4).

### **C. Zona 3**

La presente investigación se realizó en el sector asentamiento 5 y 6, La Yarada, Pozo 3 lote 16- G, de propiedad de Sr. Antolín Calizaya Calizaya (Anexo 3).

Ubicación geográfica:

Latitud sur : 18° 11' 03,43''

Latitud oeste : 70° 26'' 06,58''

Altitud : 103 m.s.n.m.

- **Descripción de la zona 3**

Es un campo de olivo con una superficie de ocho hectáreas. Los olivos pertenecen a la variedad sevillana y tienen una edad aproximada de 20 años, posee un sistema de riego a gravedad; al inicio del muestreo se observó a los árboles infestados por el barrenillo en grado de infestación 2 a 3 (Anexo 4).

### **3.6 Características climáticas de las zonas de muestreo**

El clima ideal para el cultivo del olivo es el templado cálido, sin grandes variantes de temperatura, sin fuertes vientos y excesiva humedad, sobre todo durante la época de la floración de junio y agosto (Anexos 16 y 17).

**a) Temperatura:** Las temperaturas varían entre 15 a 20 °C en los meses de junio y julio, con una máxima de 20 °C en el mes de setiembre.

**b) Humedad:** El olivo es refractario a la humedad, tanto atmosférica como del suelo. La humedad relativa varía en promedio de 43 a 67 % en los meses de junio a setiembre (SENASA).

### **3.7 Materiales y equipos**

#### **a. Material biológico**

El material biológico consistió de ramas frescas infestadas por el barrenillo, con los síntomas de los daños realizados por las larvas de *Hylesinus oleiperda*; recolectadas en las zonas de muestreo (Anexo 5).

#### **b. Materiales y equipos de campo**

Los materiales utilizados en el campo fueron:

- Tijeras de podar
- Arco de sierra
- Cooler para almacenar muestras
- Papel toalla
- Cinta de plástico rojo
- Etiquetas
- Ficha de evaluación
- Cinta de empaque
- Alcohol yodado
- Termómetro de máximas y mínimas

**c. Materiales y equipos de laboratorio**

- Placas petri de 15 x 10 mm.
- Pizeta
- Mechero de alcohol
- Matraz erlenmeyer de 500 ml.
- Láminas porta objetos
- Láminas cubreobjetos.
- Cámara húmeda
- Autoclave
- Estufa de incubación
- Microscopio binocular compuesto
- Microscopio simple
- Estereoscopio.

**d. Reactivos**

- Agar Papa Dextrosa (PDA)
- Agar Extracto de Malta (AEM)
- Solución de hipoclorito de sodio al 2 %
- Alcohol de 96 %

## **3.8 Metodología**

### **3.8.1 Fase de campo**

#### **a. Selección y toma de muestras**

El muestreo de campo consistió en una inspección y muestreo de campo con el fin de recoger material vegetal de plantaciones de olivo de árboles afectados por ataques de barrenillo, mostrando evidentes orificios en la corteza de las ramas correspondientes a orificios de entrada (galerías de puesta) de *Hylesinus oleiperda*. A su vez, los árboles afectados debían hallarse asociados a hongos fitopatógenos, que mostrarán claros síntomas de decaimiento lento, marchitez o pudrición en el orificio de entrada del insecto.

La toma de muestras en los campos seleccionados se realizó durante el periodo 2013, específicamente desde los meses de junio a setiembre respectivamente. En cada campo se utilizó el método de muestreo por conveniencia seleccionando cinco árboles de olivo con barrenillo por hectárea. Cada unidad de muestreo o árbol de olivo con barrenillo se tomaron de 1 a 2 ramas infestadas de las cuales

se seleccionaron porciones de rama con los síntomas de los daños del insecto plaga (Anexo 5).

Cada árbol fue identificado y rotulado. Las muestras de las ramas con los síntomas de los daños del insecto plaga fueron cubiertos con papel toalla para evitar pérdida de humedad del material colectado y luego confinados a una caja hermética para ser trasladados al laboratorio de Micología de la FACI-UNJBG-Tacna para el aislamiento e identificación de las especies fúngicas (Anexo 6).

La toma de muestras fue relacionado con el grado de infestación del árbol, para ello se tomó como referencia la escala de grados seguidos por Deza y Guerra, (1987) (Anexo 15).

### **3.8.2 Fase de laboratorio**

#### **a. Aislamiento de hongos**

La infección por hongos patógenos en el material vegetal recogido se confirmó mediante aislamientos microbiológicos, empleando el medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA) y el Agar Extracto de Malta (AEM). Se eligieron 1 a 3 ramas que procedían de los cinco árboles de olivares con aparentes síntomas de pudrición, marchitez, se descortezaron y se cortaron de cada rama tres trozos de pequeño tamaño que se lavaron con agua corriente durante 20 minutos

Cada uno de ellos, a su vez, se dividió en trozos más pequeños con la ayuda de un bisturí, se seccionó en trozos de tejido, la zona de avance de las lesiones, desinfectándose en una solución de hipoclorito de sodio al 2 % durante 5 minutos y se enjuagó durante tres veces en agua destilada estéril y se procedió a secar al ambiente colocándolos sobre papel toalla estéril. Una vez secos, se sembraron en PDA y AEM, se

incubaron a 24 °C y se observaron a partir del quinto o sexto día al microscopio óptico (Anexo 7).

Para la siembra, se utilizaron dos placas Petri por ambos medios de cultivo, en cada uno de los cuales se colocaron cinco trozos de ramas infestadas ubicándolos en forma equidistante sobre la superficie del medio de cultivo. Se efectuaron un total de 20 aislamientos en el medio PDA y 20 aislamientos en el medio AEM. Luego las placas con el material aislado, fueron llevadas a incubación en una estufa de cultivo a 24 °C por siete días (Anexo 8).

Se registró en una base de datos los tipos de colonias fungosas desarrolladas en cada uno de los aislamientos realizados por cada medio de cultivo utilizado, realizando con estos resultados tablas y gráficos de frecuencia.

Todas las colonias fúngicas desarrolladas fueron purificadas, repicándolas a un nuevo medio de cultivo equivalente al cual fueron aisladas originalmente (PDA o AEM). Una vez obtenidos los cultivos puros, estos se almacenaron a 4 °C para su conservación hasta el momento en que se procedió a realizar su identificación mediante claves taxonómicas.

#### **b. Identificación de los hongos**

Para la identificación de los hongos fitopatógenos se realizaron preparaciones microscópicas para verificar la presencia de estructuras reproductivas que permitieron la identificación taxonómica a partir de los cultivos puros en PDA y MEA (Anexo 9).

La identificación de los cultivos fue en base a las características morfológicas macro y microscópicas de las estructuras reproductivas asexuales que presentaron las colonias. Se utilizó las claves taxonómicas de

Barnett y Hunter (1998); Mostert et al. (2006); Webster y Lomas (1975); Watanabe (2010); Burgess et al. (2006); Montealegre et al. (2003); Crous et al. (2006).

### **3.8.3 Fase de invernadero**

Para comprobar si alguno de los hongos aislados a partir de tejidos de olivo afectados por “barrenillo del olivo” *Hylesinus oleiperda*, eran los causantes de los síntomas asociados al problema, se realizaron pruebas de patogenicidad en el laboratorio de botánica de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohman.

En el invernadero se utilizaron plantones de olivo de 1 a 2 años de edad. El material vegetal provino del Vivero Viorca S.A. de Tacna. Como sustrato de la planta se empleó una mezcla de suelo agronómico, arena de río y humus estéril en una proporción de 2:1:1 (Bernstein y col. 1995).

## **a. Prueba de patogenicidad**

Se han realizado diversos estudios para determinar la capacidad de los hongos aislados para infectar y producir daños en el olivo. Se realizó inoculaciones de los hongos fitopatógenos en plantones de olivo demuestran que son capaces de producir infección (Anexo 10).

### **1. Preparación del inóculo y características del ensayo**

Se utilizaron tres cepas de *Phaeoacremonium* y una cepa de *Phaeomoniella*, las que fueron rotuladas como cepa MP1E1C2, MP1E1C1, P3S1A, y la cepa P5E1A procedentes de la zona de Magollo.

El inóculo utilizado correspondió a dos tipos: uno sólo con micelio y otro con una concentración conocida de conidias. El primer inóculo se obtuvo de

cultivos del hongo en agar extracto de malta almacenados en estufa de cultivo a 25 °C por 20 días, de esta manera se logró tiempo preciso para conseguir la esporulación de los cultivos, para realizar el ensayo.

El segundo tipo de inóculo correspondió a una concentración conocida de conidias, la cual se obtuvo realizando un barrido con agua destilada estéril sobre las colonias desarrolladas en agar extracto de malta y PDA, la suspensión conidial se recolectó en un tubo estéril, se agregó 10 ml de agua destilada estéril, posteriormente, se filtró para separar el micelio y obtener una solución de las conidias (Anexo 10).

## **2. Métodos de inoculación**

La inoculación de las plantas se realizó mediante dos métodos: micelio y suspensión de conidias. El primer método consistió en inocular las plantas con un trozo de micelio, para lo cual se utilizó un sacabocado y se desinfectó con una solución de

alcohol en la zona de inoculación y se realizó una herida de aproximadamente 5x3 mm simulando una ventanilla que se denominó herida “a”, luego se tomó una sección de 5 mm de diámetro de colonia (micelio) con agar para introducirlo en la herida, se cubrió la incisión con papel absorbente que fue humedecido con agua destilada estéril y sellado con Parafilm .

El segundo método correspondió a la inoculación con concentración de conidias, en este caso la herida se realizó en forma tangencial al eje del tallo de la planta, a la altura media de ésta con una longitud de 3 mm, y que se denominó herida “b”. En esta herida se introdujo con una pipeta 0,5 ml de la suspensión de conidias, posteriormente, la herida fue sellada con un trozo de Parafilm (Anexo 10).

Luego de las inoculaciones, las plantas fueron rotuladas y establecidas en bandejas plásticas, bajo

condiciones ambientales controladas de temperatura y humedad.

El ensayo tuvo una duración de seis semanas, durante el 15 de setiembre y 30 de octubre del año 2013. Las plantas se mantuvieron bajo evaluación a temperatura ambiente y con un fotoperiodo de 10 horas luz. El riego fue cada cinco días durante el periodo de ensayo.

La evaluación del ensayo se realizó diariamente, observando la presencia de síntomas característicos de la enfermedad, y midiendo la lesión en el caso de que ésta se estuviera produciendo.

Al final del ensayo se realizaron reaislamientos del patógeno de todas las plantas (Dick, 2005), cumpliendo de esta forma con los postulados de Koch, determinando el desarrollo del patógeno en las plantas. El método utilizado para los reaislamientos, consistió en seccionar la parte del tallo y éste en

trozos de 1 cm del área del punto de inoculación (Anexo 11).

Posteriormente, este trozo se pasó por protocolo de desinfección (Molina, 2010), para ser seccionado en trozos de 1 cm y sembrarlos en agar extracto de malta (Anexo 11). Por último, las placas se mantuvieron en estufa de cultivo a 25 °C por siete días, para proceder a evaluar el desarrollo de la infección de *Phaeoacremonium* y *Phaeomoniella* en las plantas.

El procesamiento de datos se realizó mediante análisis de varianza para comprobar la existencia de diferencias significativas de los tratamientos (Sokal y Rohlf, 1980; Morales, 2005). La identificación de los tratamientos que tuvieron diferencias significativas entre sí, se realizó por medio de la prueba de análisis de varianza y prueba de significación de Duncan. El software utilizado para esto fue Statgraphics Plus versión 5.1. en español.

#### IV. RESULTADOS

Se evaluó la presencia de hongos fitopatógenos asociados a las galerías de alimentación y apareamiento de *Hylesinus oleiperda* “barrenillo del olivo”, aislándose especies fúngicas patógenas para el olivo, trabajándose en tres zonas de muestreo (tratamientos) y tres repeticiones. Los tres muestreos fueron realizados en los campos de **Magollo, Asentamiento 4 y Asentamiento 5 y 6**, en la que se evaluaron el número de colonias fúngicas aisladas en cada zona.

Los resultados obtenidos en los diferentes muestreos realizados han sido agrupados en cuadros y figuras para una mejor interpretación de los resultados que se detallan a continuación (Anexo 12).

**Cuadro 3.** Evaluación del número total de colonias fúngicas obtenidas en las tres zonas de muestreo

ZONAS	Muestreos			
	1°	2°	3°	TOTAL (UFC)
Magollo	73	90	58	<b>221</b>
Asentamiento N°4	63	49	30	<b>142</b>
Asentamiento N° 5 y 6	66	59	41	<b>166</b>

**Fuente:** Elaboración propia

En el cuadro 3 se muestran los resultados obtenidos a partir de la investigación con un total de 221 aislamientos fúngicos en la zona de Magollo, en la zona del Asentamiento 4 con un total de 142 aislamientos fúngicos y en la zona del Asentamiento 5 y 6 con un total 166 aislamientos fúngicos.

Se realizaron tres repeticiones (muestreos) para la evaluación de las zonas, en los muestreos realizados se encontró una mayor incidencia de las especies fúngicas aisladas en la zona de Magollo, en segundo lugar, se encuentra el Asentamiento 5 y 6 y por último, el Asentamiento 4.

**Cuadro 4.** Análisis de varianza del número de colonias fúngicas aisladas en las zonas de **Magollo, Asentamiento 4 y el Asentamiento 5 y 6** para el primer muestreo

<b>Fuentes de variabilidad</b>	<b>G.L.</b>	<b>S.C</b>	<b>C.M.</b>	<b>F.C.</b>	<b>p-valor</b>
Zonas	2	3,279	1,639	7,570	0,0075 *
Error experimental	12	2,599	0,216		
Total	14	5,878			

CV: 2,94% \* significativo datos transformados  $\sqrt{x}$

**Fuente:** Elaboración propia

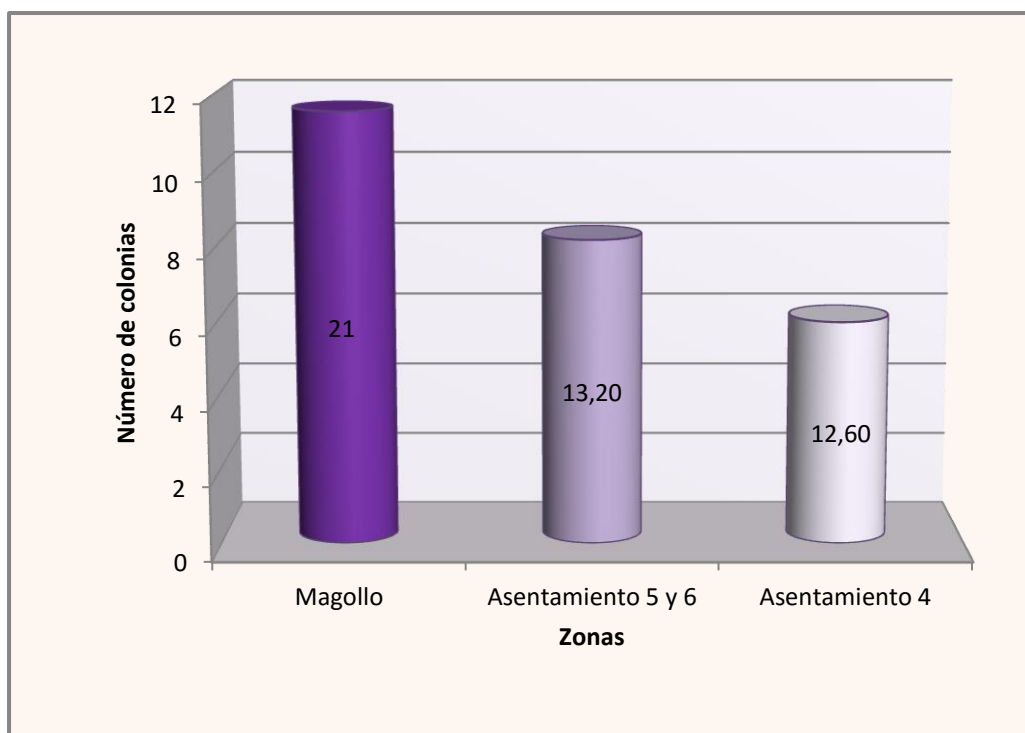
El cuadro 4 del análisis de varianza del número de colonias fúngicas para el primer muestreo señala que existen diferencias estadísticas significativas entre las zonas de muestreo con un nivel de confianza de 95 %, su coeficiente de variabilidad es de 2,94 % y es un indicador estadístico que mide la precisión en el ensayo.

**Cuadro 5.** Prueba de significación de Duncan del número de colonias fúngicas aisladas en las tres zonas evaluadas para el primer muestreo

O.M.	Zonas	Promedio	Significación
1	Magollo	21,00	a
2	Asentamiento 5 y 6	13,20	b
3	Asentamiento 4	12,60	b

**Fuente:** Elaboración propia

En el cuadro 5 de la prueba de significación de Duncan señala que la zona de Magollo obtuvo el mayor promedio con 21,0 colonias fúngicas aisladas superando a las demás zonas. En segundo lugar se ubicó el Asentamiento 5 y 6 con 13,2 y en el tercer lugar, se encuentra el Asentamiento 4 con 12,6 colonias fúngicas aisladas.



**Fuente:** Elaboración propia

**Figura 5.** Variación del número de colonias fúngicas en las zonas evaluadas para el primer muestreo.

En la figura 5 se observó los promedios de cada una de las zonas de estudio donde se determinó que el mayor promedio se obtuvo en la zona de Magollo que alcanzó un promedio de 21,0. Los promedios más bajos corresponden a las zonas de los Asentamientos 4 y el Asentamiento 5 y 6 con 13,20 y 12,60 respectivamente, para el primer muestreo.

**Cuadro 6.** Análisis de varianza del número de colonias fúngicas aisladas en las zonas de **Magollo, Asentamiento 4 y el Asentamiento 5 y 6** para el segundo muestreo

<b>Fuentes de variabilidad</b>	<b>G.L.</b>	<b>S.C</b>	<b>C.M.</b>	<b>F.C.</b>	<b>p-valor</b>
Zonas	2	3,185	1,592	12,948	0,0016 *
Error experimental	12	1,475	0,122		
Total	14	4,660			

CV: 2,657 % \* significativo datos transformados  $\sqrt{x}$

**Fuente:** Elaboración propia

En el cuadro 6 del análisis de varianza del número de colonias fúngicas para el segundo muestreo señala que existen diferencias estadísticas significativas entre las tres zonas de muestreo con un nivel de confianza de 95 %. El coeficiente de variabilidad fue de 2,657 % y es un indicador estadístico que mide la variabilidad de los resultados de una investigación, por lo tanto, hay precisión en el ensayo.

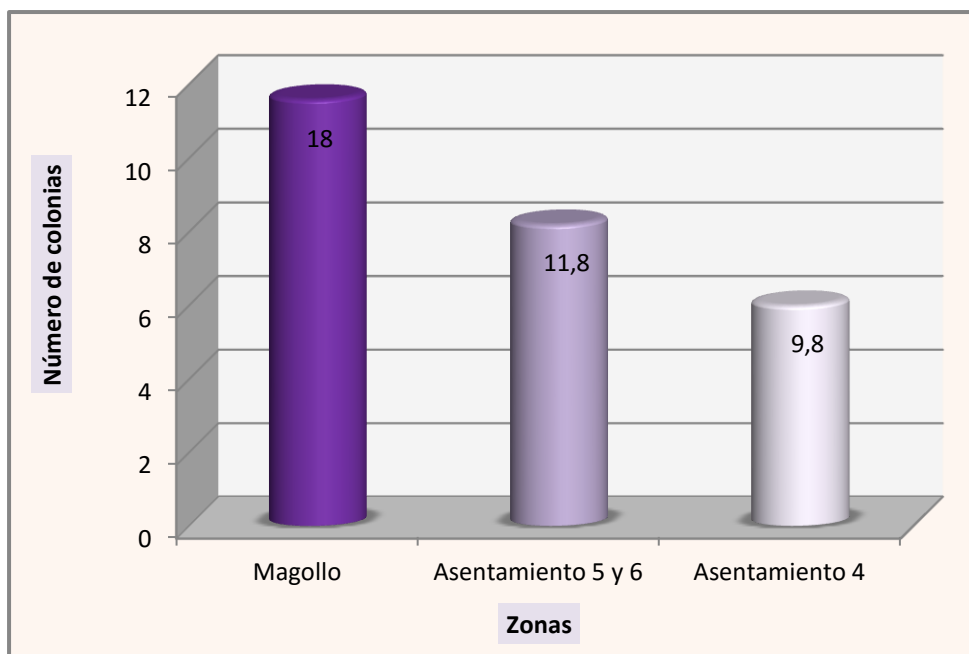
**Cuadro 7.** Prueba de significación de Duncan del número de colonias fúngicas aisladas en las zonas de **Magollo, Asentamiento 4 y el Asentamiento 5 y 6** para el segundo muestreo

O.M.	Zonas	Promedio	Significación
1	Magollo	18	a
2	Asentamiento 5 y 6	11,80	b
3	Asentamiento 4	9,80	c

Letras iguales no difieren estadísticamente  $p < 0,05$

**Fuente:** Elaboración propia

En el cuadro 7 de la prueba de significación de Duncan, se aprecia los promedios de las colonias fúngicas aisladas donde se observó que hubo diferencias significativas en las tres zonas de muestreo, donde la zona de Magollo obtuvo el mayor promedio con 18 colonias fúngicas aisladas, superando a las demás zonas. En segundo lugar, se ubicó el Asentamiento 5 y 6 con 11,8 y en el tercer lugar, se ubicó el Asentamiento 4 con 9,8 colonias fúngicas aisladas.



**Fuente:** Elaboración propia

**Figura 6.** Variación del número de colonias fúngicas aisladas de las zonas evaluadas para el segundo muestreo

En la figura 6 se observó el promedio del número de colonias fúngicas aisladas de cada zona de estudio donde se determinó que el mayor promedio lo obtuvo la zona de Magollo con 18. Los promedios más bajos corresponden a las zonas de los Asentamientos 5 y 6 y el Asentamiento 4 con 11,80 y 9,80 respectivamente para el segundo muestreo.

**Cuadro 8.** Análisis de varianza del número de colonias fúngicas aisladas de las zonas de **Magollo, Asentamiento 4 y el Asentamiento 5 y 6** para el tercer muestreo

<b>Fuentes de variabilidad</b>	<b>G.L.</b>	<b>S.C</b>	<b>C.M.</b>	<b>F.C.</b>	<b>p-valor</b>
Zonas	2	2,429	1,214	11,489	0,0016 *
Error experimental	12	1,268	0,105		
Total	14	3,697			

CV: 3,781 % \* significativo datos transformados  $\sqrt{x}$

**Fuente:** Elaboración propia

En el cuadro 8 del análisis de varianza del número de colonias fúngicas para el tercer muestreo señala que existen diferencias estadísticas significativas entre las zonas de muestreo con un nivel de confianza de 95 %. El coeficiente de variabilidad fue de 3,781 % y es un indicador estadístico que mide la variabilidad de los resultados de una investigación, por lo tanto, hay precisión en el ensayo.

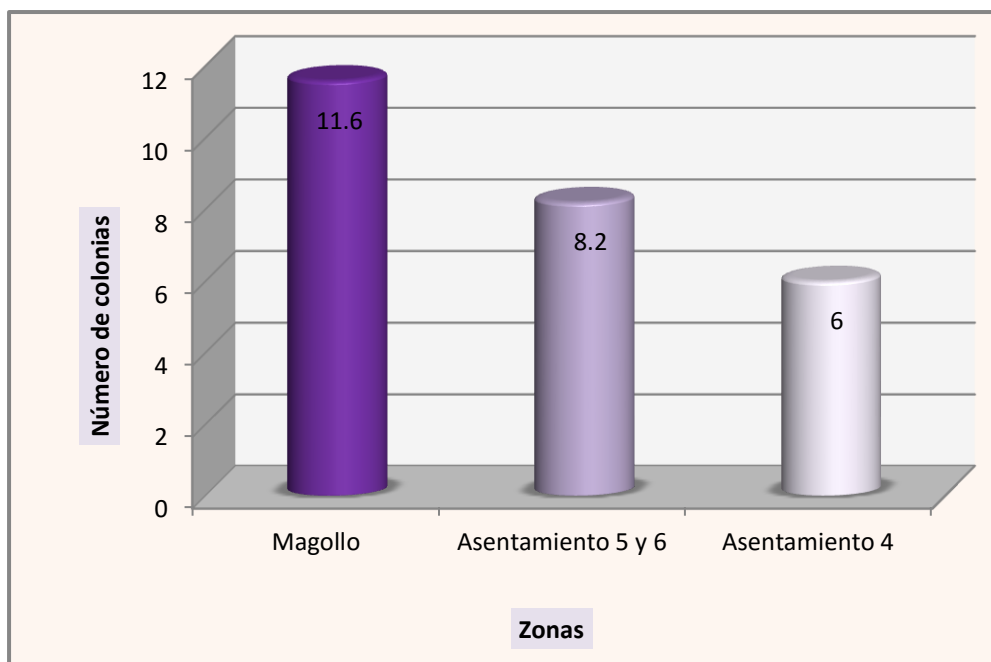
**Cuadro 9.** Prueba de significación de Duncan del número de colonias fúngicas aisladas de las zonas de **Magollo, Asentamiento 4 y el Asentamiento 5 y 6** para el tercer muestreo

O.M.	Zonas	Promedio	Significación
1	Magollo	11,60	a
2	Asentamiento 5 y 6	8,20	b
3	Asentamiento 4	6,0	c

Letras iguales no difieren estadísticamente  $p < 0,05$

**Fuente:** Elaboración propia

En el cuadro 9 de la prueba de significación de Duncan se aprecia los promedios de las colonias fúngicas aisladas, donde se observó que hubo diferencias significativas en las tres zonas de muestreo. En la zona de Magollo se obtuvo el mayor promedio con 11,60 colonias fúngicas aisladas, en segundo lugar, se ubicó el Asentamiento 5 y 6 con 8,20 y en el tercer lugar, se ubicó el Asentamiento 4 con 6,0 colonias fúngicas aisladas.



**Fuente:** Elaboración propia

**Figura 7.** Variación del número de colonias fúngicas aisladas de las zonas de Magollo, Asentamiento 4 y el Asentamiento 5 y 6 para el tercer muestreo.

En la figura 7 se observó los promedios de cada una de las zonas evaluadas donde se determinó que el mayor promedio lo obtuvo la zona de Magollo con un promedio de 11,60. Los promedios más bajos corresponden a las zonas de los Asentamientos 5 y 6 y el Asentamiento 4 con 8,20 y 6,0 respectivamente para el segundo muestreo.

#### **4.1 Caracterización de los síntomas externos de las muestras de olivo asociadas a galerías de *Hylesinus oleiperda* en las tres zonas evaluadas**

Las muestras procesadas presentaban galerías producidas por el barrenador *Hylesinus oleiperda* y en los puntos donde se desarrollan las galerías (base de las ramas), se observaron grietas, pudrición y la corteza tomaba una coloración rojiza asociadas a la galería.

Estos daños se registraron a través de fotografías (Anexo 5), encontrándose que en las zonas donde el grado de infestación del barrenillo era de 3 – 4 (50 % de avance en el olivo), las muestras presentaron necrosis en las ramas, manchas y pudrición, en los tejidos se observaron una coloración amarillenta blanquesina. Asimismo, se registraron muestras con una infestación de grado 2-3 (25 % de avance en el olivo) que tuvieron en forma conjunta manchas y en menor proporción pudrición en las galerías de *Hylesinus oleiperda*.

Sin embargo, en el caso de las muestras correspondientes a olivos donde el grado de infestación del barrenillo era de grado 1 – 2 (20 % de avance en el olivo) mostraron solo manchas y se observó un cambio en la coloración de la rama presentando un tono negro a rojizo.

#### **4.1.1 Hongos aislados en ramas de olivo con pudrición, sintomatología asociada a galerías de *Hylesinus oleiperda***

En las muestras que presentaron daños de pudrición, la estructura física de la madera se veía alterada, ya que se observó una coloración amarillenta o blanca (Anexo 5). En las muestras se encontró a *Hylesinus oleiperda* en su fase larval dentro de la galería como parte del estadio propio de su ciclo biológico. Los resultados mostraron que en las muestras con pudrición se obtuvieron el mayor promedio de los aislamientos en la zona de Magollo. Dentro de las muestras que presentaban manchas y pudrición en las galerías, el 57 % de ellas estaban asociadas al género *Gliocladium* y el 37 % a varias especies de los géneros de *Phaeoacremonium* y *Phaeomoniella* considerados como los

principales componentes del hongo asociados a enfermedades de pudrición en arboles frutales; mientras que la totalidad de aquellas muestras donde no presentaron síntomas de mancha o pudrición, estaban asociadas al género *Penicillium* .

#### **4.1.2 Hongos aislados en ramas de olivo con manchas, sintomatología asociada a galerías de *Hylesinus oleiperda***

En el caso de las muestras que poseían sólo manchas, la corteza de la rama se veía afectada nada más que en su coloración, conocida como “mancha de hierro” presentando un tono azulado o negro. En este tipo de daño la mayor cantidad de éstas muestras fueron reportadas de la zona de Asentamiento 5 y 6 con un grado de infestación de 1-2 menor a las demás zonas muestreadas, a partir de los aislamientos se obtuvo en un 56 % al género *Gliocladium* y un 14 % al género *Geotrichum* y *Chaetomiun* .

#### **4.1.3 Hongos aislados en ramas de olivo con pudrición y manchas, sintomatología asociadas a galerías de *Hylesinus oleiperda***

Del total de muestras de olivo hubo un menor porcentaje de muestras que presentaron síntomas asociados a manchas y pudrición. Dentro de las muestras que presentaban manchas y pudrición en las galerías el 27,3 % de ellas estaban asociadas a hongos del género *Gliocladium*, el 18,2 % al género *Aspergillus* y con 9,1 % del género *Geotrichum* y el género *Phaeoacremonium*.

#### **4.2 Número de colonias fúngicas en relación al grado de infestación causado por *Hylesinus oleiperda***

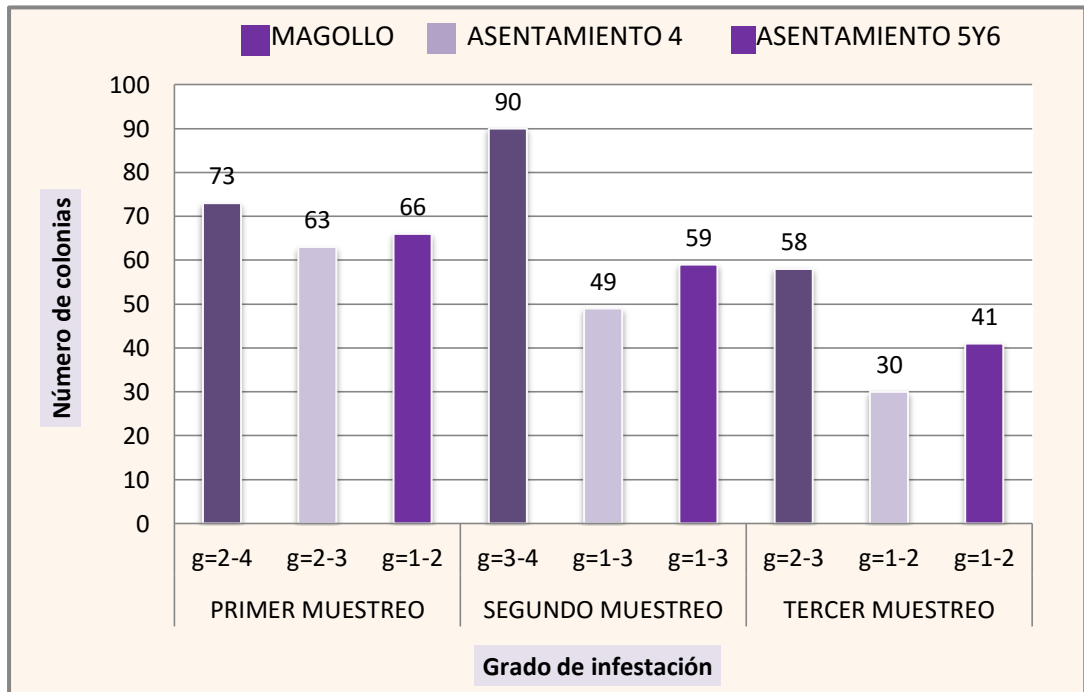
Se evaluó el número de hongos aislados y la relación que presentan con el grado de infestación de las zonas de muestreo Magollo, Asentamiento 4 y Asentamiento 5 y 6.

**Cuadro 10.** Relación entre el grado de infestación de *Hylesinus oleiperda* y el número de colonias fúngicas en los tres muestreos

ZONAS	Muestreo					
	1º		2º		3º	
	Grado de infestación	Nº colonias	Grado de infestación	Nº de colonias	Grado de infestación	Nº colonias
Magollo	g=2-4	73	g=3-4	90	g=2-3	58
Asentamiento N° 4	g=2-3	63	g=1-3	49	g=1-2	30
Asentamiento N° 5 y 6	g=1-2	66	g=1-3	59	g=1-2	41

**Fuente:** Elaboración propia

En el cuadro 10 los resultados señalan que en la zona de Magollo se obtuvo el mayor grado de infestación de barrenillo de las tres zonas evaluadas. En el primer muestreo presentó una infestación de grado 2-4 con 73 colonias fúngicas, para el segundo muestreo se obtuvo un grado de infestación de 3-4 con 90 colonias fúngicas y en el tercer muestreo con un grado de infestación de 2-3 con 53 colonias fúngicas. Las zonas con menor grado de infestación de barrenillo fueron el Asentamiento 4 con grado de infestación de 1-2 con 30 colonias fúngicas aisladas y el Asentamiento 5 y 6 con un grado de infestación de 1-2 con 41 colonias fúngicas.



Fuente: Elaboración propia

**Figura 8.** Relación entre el grado de infestación de *Hylesinus oleiperda* y el número de colonias fúngicas de los tres muestreos.

En la figura 8 la zona de Magollo presentó un mayor grado de infestación (3-4), por lo que se obtuvo el mayor porcentaje de aislamientos fúngicos, en segundo lugar, la zona del Asentamiento 5 y 6 con un grado de infestación moderado (2-3) y el tercer lugar, el Asentamiento 4 con el menor grado de infestación (1-2).

#### 4.3 Prueba de kruskal - (xr2) para el grado de infestación de *Hylesinus oleiperda* en muestras de olivo para el primer muestreo

Se evaluó estadísticamente el grado de infestación en el daño que causa *Hylesinus oleiperda* en las tres zonas de muestreo. La unidad experimental fue las muestras de olivo con *Hylesinus oleiperda*. Los resultados obtenidos por la prueba de Kruskal Wallis para el primer muestreo en las zonas de Magollo, Asentamiento 4 y el Asentamiento 5 y 6, arrojan los siguientes resultados:

**H<sub>0</sub>:** La evaluación de las zonas de muestreo son idénticas para el grado de infestación *Hylesinus oleiperda*.

**H<sub>a</sub>:** Por lo menos una zona de muestreo es diferente en el grado de daño de infestación *Hylesinus oleiperda*.

$\alpha$ : 0,05

#### Estadística de prueba

$$H = \frac{12}{N(N+1)} \sum \frac{I_i^2}{n_i} - 3(N+1)$$

### Región crítica

Se rechaza la  $H_0$  si:  $x_r^2 > x_\alpha^2$

$$\chi^2_{(0,05)} (2 \text{ gl}): 5,991$$

### Cálculo de la estadística de prueba

$$H = \frac{12}{15(15+1)} \cdot (11,6^2 + 5,6^2 + 6,8^2) - 3(15+1) = 6,533$$

El estadístico de prueba  $H = 6,533$ . El valor de la tabla para un nivel de significación del 5 % es  $\chi^2_{(0,05)} (2 \text{ gl}) = 5,991$  como el estadístico de prueba resulta mayor que el valor de la tabla se rechaza la  $H_0$ . Existe suficiente evidencia estadística para señalar que las zonas de muestreo presentan un grado de infestación diferente.

**Cuadro 11.** Prueba de significación de Duncan para el grado de infestación de *Hylesinus oleiperda* en las zonas evaluadas para el primer muestreo

O.M.	Zonas	Promedio	Significación $\alpha$ 0,05
1	T1 : Magollo	3,60	a
2	T2 : Asentamiento 5-6	2,80	b
3	T3 : Asentamiento 4	2,60	b

Letras iguales no difieren estadísticamente  $p < 0,05$

**Fuente:** Elaboración propia

El cuadro 11 de la prueba de Duncan para el grado de infestación de *Hylesinus oleiperda* señala que la zona de Magollo obtuvo el mayor promedio con 3,6 de daño de infestación, para las demás zonas no hubo diferencias estadísticas, se observó en las zonas del Asentamiento 4 y el Asentamiento 5 y 6 un promedio menor con 2,6 y 2,2 de daño de infestación, siendo estadísticamente similares en sus respectivos promedios.

#### 4.4 Prueba de kruskall - ( $\chi^2$ ) para el grado de infestación de *Hylesinus oleiperda* en muestras de olivo para el segundo muestreo

**Ho:** La evaluación de las zonas de muestreo son idénticas para el grado de infestación *Hylesinus oleiperda*.

**Ha:** Por lo menos una zona de muestreo es diferente en el grado de daño de infestación *Hylesinus oleiperda*.

$\alpha$ : 0,05

##### Estadística de prueba

$$H = \frac{12}{N(N+1)} \sum \frac{r_i^2}{n_i} - 3(N+1)$$

##### Región crítica

Se rechaza la  $H_0$  si:  $\chi^2 > \chi^2_{\alpha}$

$$\chi^2(0,05)(2 \text{ gl}): 5,991$$

##### Cálculo de la estadística de prueba

$$H = \frac{12}{15(15+1)} \cdot (4,8^2 + 7,42^2 + 11,82^2) - 3(15+1) = 7,491$$

El estadístico de prueba  $H = 7,491$ . El valor de la tabla de para un nivel de significación del 5 % es  $\chi^2_{(0,05)}(2 \text{ gl}) = 5,991$ , como el estadístico de prueba resulta mayor que el valor de la tabla se rechaza la  $H_0$ .

Por lo tanto, existe suficiente evidencia estadística para señalar que las zonas de Magollo, Asentamiento 4 y Asentamiento 5 y 6 presentaron un grado de infestación diferente con un nivel de confianza del 95 %.

**Cuadro 12.** Prueba de significación de Duncan para el grado de infestación de *Hylesinus oleiperda* en las zonas evaluadas para el segundo muestreo

O.M.	Zonas	Promedio	Significación $\alpha$ 0,05
1	T1 : Magollo	3,4	a
2	T2 : Asentamiento 5-6	2,6	b
3	T3 : Asentamiento 4	2,2	b

Letras iguales no difieren estadísticamente  $p < 0,05$

**Fuente:** Elaboración propia

El cuadro 12 de la prueba de Duncan para el grado de infestación de *Hylesinus oleiperda* señala que no hubo diferencias estadísticas significativas para las zonas del Asentamiento 4 y Asentamiento 5 y 6, se observó un promedio menor con 2,6 y 2,2 al daño de infestación de *Hylesinus oleiperda*, siendo estadísticamente similares en sus respectivos promedios. La zona de Magollo alcanzó el mayor promedio con 3,4 de daño de infestación presentando diferencias estadísticas significativas con las otras zonas.

#### 4.5 Prueba de kruskall - (xr2) para el grado de infestación de *Hylesinus oleiperda* en muestras de olivo para el tercer muestreo

**Ho:** La evaluación de las zonas de muestreo son idénticas para el grado de infestación *Hylesinus oleiperda*.

**Ha:** Por lo menos una zona de muestreo es diferente en el grado de daño de infestación *Hylesinus oleiperda*.

$\alpha$ : 0,05

##### Estadística de prueba

$$H = \frac{12}{N(N+1)} \sum \frac{r_i^2}{n_i} - 3(N+1)$$

##### Región crítica

Se rechaza la  $H_0$  si:  $x_r^2 > x_\alpha^2$

$$\chi^2_{(0,05)} (2 \text{ gl}): 5,991$$

##### Cálculo de la estadística de prueba

$$H = \frac{12}{15(15+1)} \cdot (4,2^2 + 7,5^2 + 12,3) - 3(15+1) = 10,055$$

El estadístico de prueba  $H = 10,055$ . El valor de la tabla para un nivel de significación del 5 % es  $\chi^2_{(0,05)}(2 \text{ gl}) = 5,991$ ; como el estadístico de prueba resulta mayor que el valor de la tabla se rechaza la  $H_0$ . Existiendo suficiente evidencia estadística para señalar que las zonas de Magollo, Asentamiento 4 y Asentamiento 5 y 6 tienen grado de infestación diferente con un nivel de confianza del 95 %.

**Cuadro 13.** Prueba de significación de Duncan para el grado de infestación de *Hylesinus oleiperda* en las zonas evaluadas para el tercer muestreo

O.M.	Zonas	Promedio	Significación $\alpha$ 0,05
1	T1 :Magollo	2,8	a
2	T2 :Asentamiento 5-6	2,0	b
3	T3 :Asentamiento 4	1,4	c

Letras iguales no difieren estadísticamente  $p < 0,05$

**Fuente:** Elaboración propia

Según el cuadro 13 de la prueba de Duncan para el grado de infestación de *Hylesinus oleiperda*, señala que existen diferencias estadísticas significativas para el tercer muestreo. Para la zona de Magollo obtuvo el mayor promedio de 2,8; seguido del Asentamiento 4 con un promedio de 2,0 y en último lugar, el Asentamiento 5 y 6 con 1,4 de promedio.

#### **4.6 Aislamiento e identificación de las especies fúngicas asociadas a *Hylesinus oleiperda* en muestras de olivo**

Se aislaron en promedio 176 colonias fúngicas de las muestras de olivo asociadas a *Hylesinus oleiperda*, sembrados en los medios de cultivo Agar Extracto de Malta y Agar Papa Dextrosa (PDA y AEM); distribuidos de la siguiente manera: en la zona de Magollo se aislaron en promedio 73,6 aislados fúngicos, en el Asentamiento 4 con 47,1 aislados fúngicos y el Asentamiento 5 y 6 con 55,3 aislados fúngicos. Siendo los géneros más frecuentes: *Gliocladium* con 3 especies, *Phaeoacremonium* con 3 especies, *Phaeomoniella* con 1 especie, *Penicillium* con 1 especie, *Aspergillus* con 2 especies, *Geotrichum* con 1 especie, *Fusarium* con 1 especie, *Sporothrix* con 1 especie, *Chaetomiun* con 1 especie.

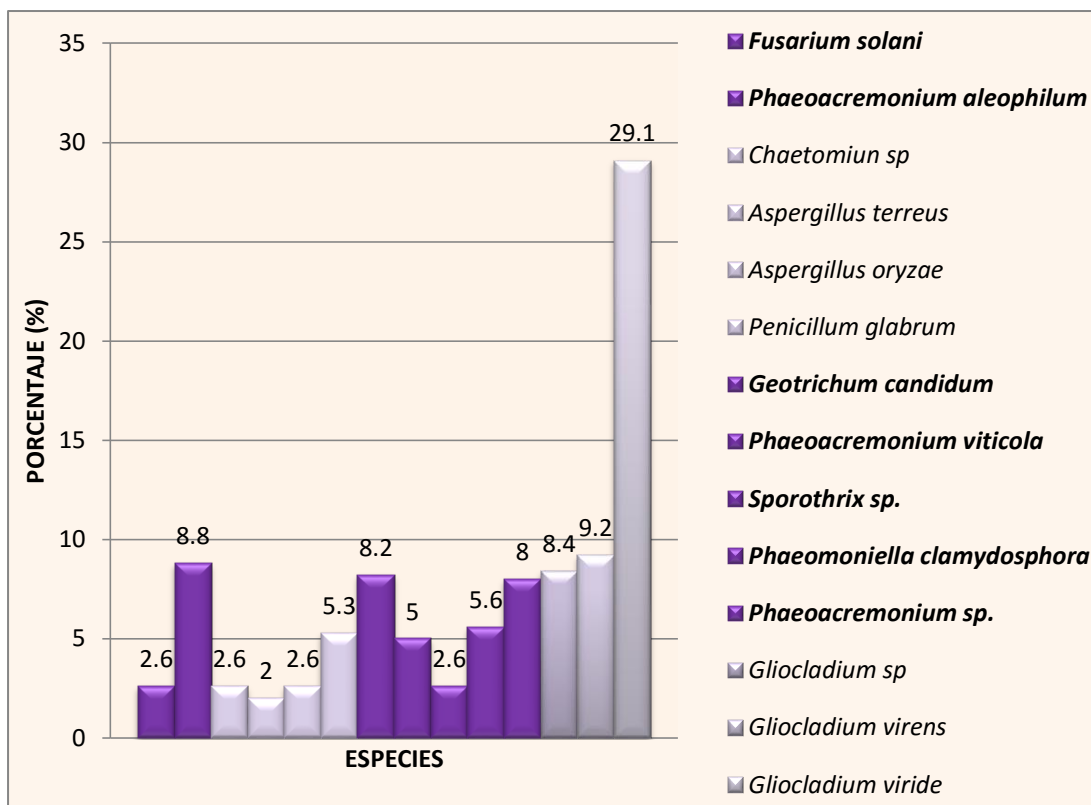
**Cuadro 14.** Relación de especies de hongos aislados en las zonas de **Magollo, Asentamiento 4** y el **Asentamiento 5 y 6**

Hongos Fitopatógenos	F	% N° A
<i>Phaeoacremonium aleophilum</i>	3,34	8,8
<i>Phaeoacremonium sp.</i>	3,04	8
<i>Phaeoacremonium viticola</i>	1,9	5
<i>Phaeomoniella chlamydospora</i>	2,12	5,6
<i>Geotrichum candidum</i>	3,12	8,2
<i>Fusarium solani</i>	0,98	2,6
<i>Sporothrix sp.</i>	0,98	2,6
Hongos Saprófitos	F	% N° A
<i>Gliocladium viride</i>	11,1	29,1
<i>Gliocladium sp</i>	3,2	8,4
<i>Gliocladium virens</i>	3,4	9,2
<i>Penicillium glabrum</i>	2,01	5,3
<i>Aspergillus oryzae</i>	0,98	2,6
<i>Aspergillus terreus</i>	0,76	2
<i>Chaetomiun sp</i>	0,98	2,6

**Fuente:** Elaboración propia

**F** : Frecuencia del número de aislamientos

**%N°A** : Porcentaje del número de aislamientos por especie.



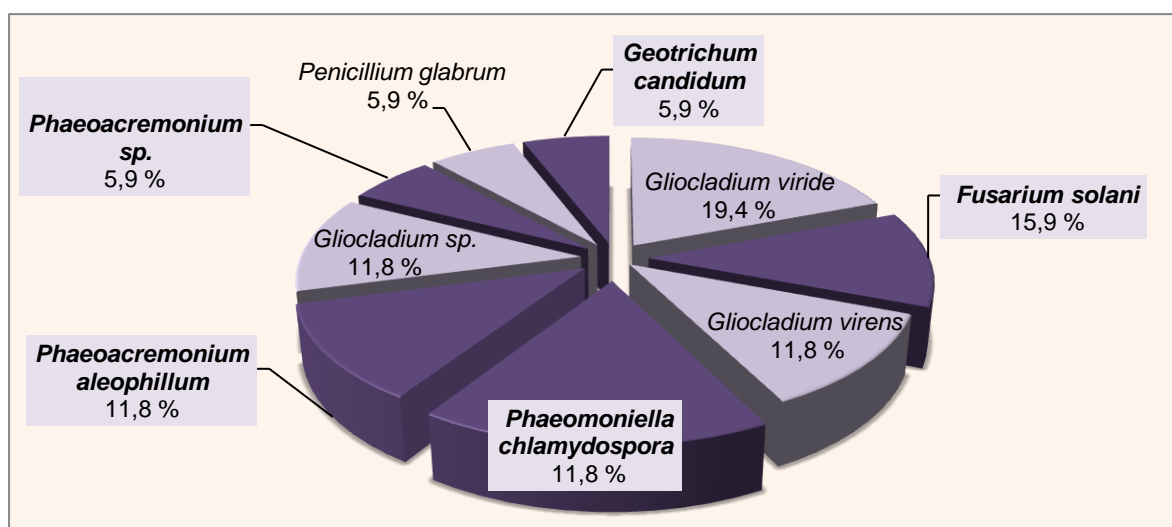
Fuente: Elaboración propia

**Figura 9.** Porcentaje de distribución de las especies fúngicas asociadas a galerías de *Hylesinus oleiperda*.

En la figura 9 se observa el porcentaje de distribución de las especies fitopatógenas que presentaron mayor incidencia, el 8,8 % para la especie *Phaeoacremonium aleophilum*, con 5,6 % para *Phaeomoniella chlamydospora*, 8 % para *Phaeoacremonium sp.* y *Phaeoacremonium viticola* con 5 % del total de aislamientos. Las especies saprófitas asociadas a las galerías de *Hylesinus oleiperda* que presentaron mayor frecuencia fueron *Gliocladium viride* con 29,1 % y *Gliocladium virens* con 9,2 %.

#### 4.6.1 Especies fúngicas asociadas a *Hylesinus oleiperda* en muestras de olivo de la zona de Magollo (Zona 1)

Se aislaron nueve especies fúngicas de la zona de Magollo. El porcentaje de distribución fue de 19,4% para la especie de *Gliocladium viride*, 15,9 % para *Fusarium solani*, 11,8 % para *Gliocladium virens*, 11,8 % para *Phaeomoniella chlamydospora*, 11,8 % a *Phaeocremonium aleophilum*, 11,8 % para *Gliocladium sp.*, 5,9 % para *Phaeocremonium sp.*, 5,9 % a *Penicillium glabrum*, 5,9 % a *Geotrichum candidum*, tal como se muestra en el gráfico 1.

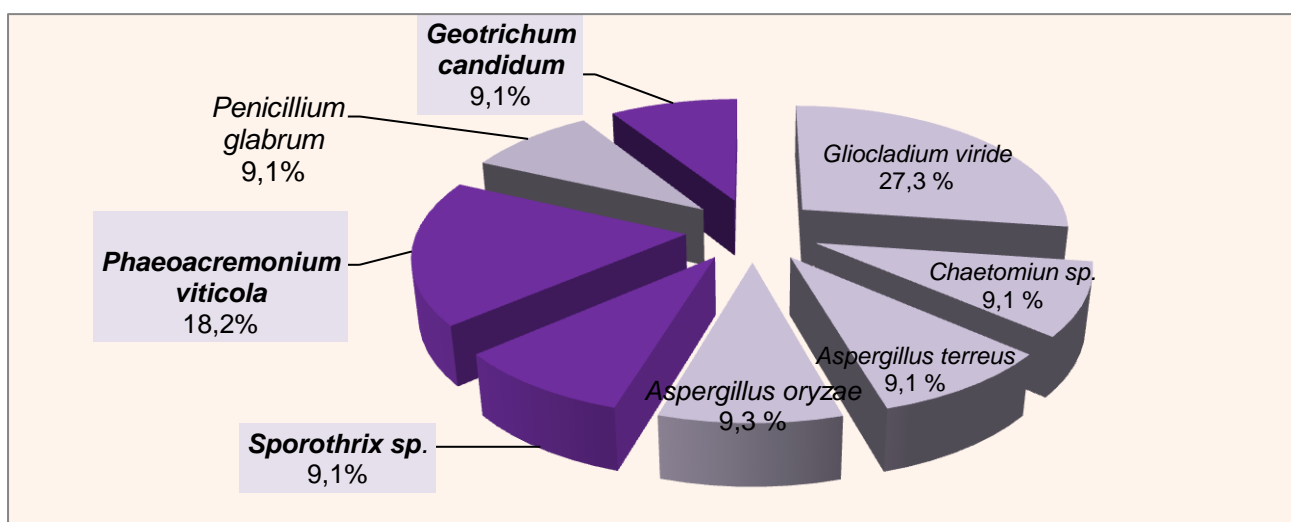


Fuente: Elaboración propia

**Gráfico 1.** Porcentaje de distribución de las especies fúngicas asociadas a *Hylesinus oleiperda* “barrenillo del olivo” en la zona de **Magollo**, Tacna.

#### 4.6.2 Especies fúngicas asociadas a *Hylesinus oleiperda* en muestras de olivo de la zona del Asentamiento 4 (Zona 2)

Se aislaron ocho especies fúngicas de la zona del Asentamiento 4. El porcentaje de distribución fue de 27,3 % para la especie de *Gliocladium viride*, 18,2 % para *Phaeoacremonium viticola*, 9,1 % para *Chaetomium sp.*, 9,1 % para *Aspergillus oryzae*, 9,1 % para *Aspergillus terreus*, 9,3 % para *Geotrichum candidum*, 9,1 % para *Sporothrix sp.* y 9,1 % a *Penicillium glabrum*, tal como se muestra en el gráfico 2.

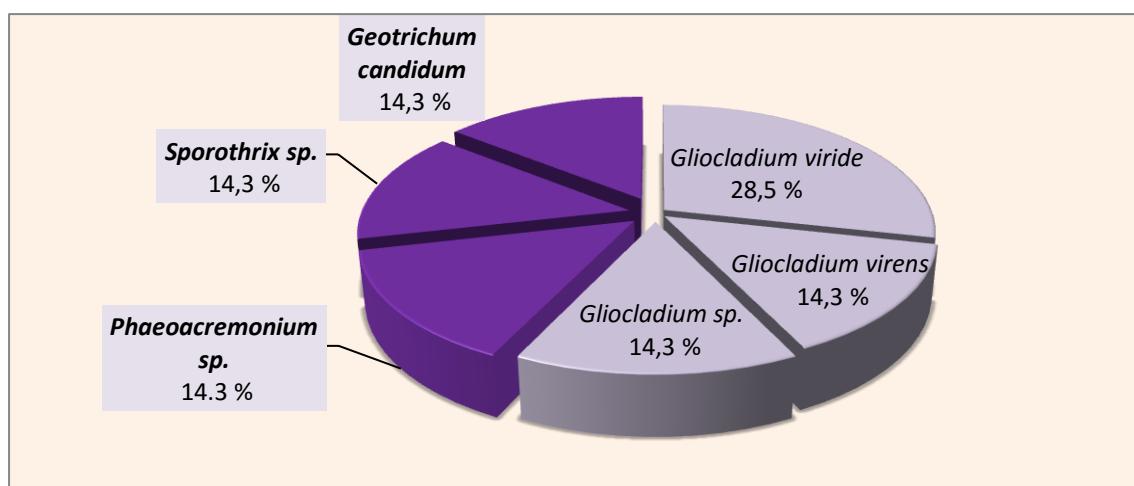


Fuente: Elaboración propia

**Gráfico 2.** Porcentaje de distribución de las especies fúngicas asociadas a *Hylesinus oleiperda* en la zona del Asentamiento 4, Tacna.

#### 4.6.3 Especies fúngicas asociadas a *Hylesinus oleiperda* en muestras de olivo de la zona del Asentamiento 5 y 6 (Zona 3)

Se aislaron seis especies fúngicas de la zona del asentamiento 5 y 6. El porcentaje de distribución fue de 28,5 % para la especie *Gliocladium viride*, 14,3 % para *Gliocladium sp.*, 14,3 % pertenece para *Gliocladium virens*, con 14,3 % para *Phaeoacremonium sp.*, 14,3 % para *Sporothrix sp.* y 14,3 % para *Geotrichum candidum*, tal como se muestra en el gráfico 3.



Fuente: Elaboración propia

**Gráfico 3.** Porcentaje de distribución de las especies fúngicas asociadas con *Hylesinus oleiperda* en la zona del Asentamiento 5 y 6 de Tacna.

#### **4.7 Descripción morfológica de las especies fúngicas aisladas**

La identificación de los hongos aislados se realizó mediante la caracterización morfológica microscópica de las estructuras reproductivas asexuales usando las siguientes claves taxonómicas Barnett y Hunter (1998); Mostert et al. , (2006); Webster y Lomas (1975); Watanabe (2010); Burgess et al. (2006); Montealegre et al., (2003); Crous y Gams. (2006); Dupont et al., (2000).

**Cuadro 15.** Descripción morfológica de las especies fúngicas aisladas de las muestras de olivo con *Hylesinus oleiperda*

Especies	Morfología
<p><b><i>Phaeoacremonium aleophilum</i></b></p>	<p><b>Características macroscópicas:</b></p> <p><i>Pm. aleophilum</i> presenta colonias de crecimiento lento (15 días) de aspecto pulverulento de superficie plana y tiene una ligera elevación en el centro de color beige. El reverso de la colonia también es de color beige con el centro marrón. Produce un pigmento amarillo en el medio de cultivo.</p> <p><b>Características microscópicas:</b></p> <p><i>Pm. aleophilum</i> presenta conidióforos simples, cortos, hialinos y mide 30 µm de longitud de forma cilíndrica y estrecha hacia el apice. Las conidias son producidas en cabezas húmedas, son hialinas, de forma oblonga a elipsoidal y miden de 2,5 µm x 1,5 µm de diámetro (Mostert et al., 2006).</p>

***Phaeomoniella  
chlamydospora***

**Características macroscópicas:**

*Pa. chlamydospora* presenta colonias de crecimiento lento ( 2,5 mm después de 21 días) de aspecto aterciopelado de textura plegada con estrías radiales que se extienden al margen de la colonia, de color blanco inicialmente y se torna a verde oliva con borde blanquecino. Reverso de la colonia es de color marrón.

**Características microscópicas:**

*Pa. chlamydospora* presenta conidióforos simples, cilíndricos con 3 septos y pigmentación verdosa a café, mide 50  $\mu\text{m}$  de longitud. Las conidias están agrupadas en cabezas húmedas, son subhialinas a verdes de forma elipsoidal a avooides de 3  $\mu\text{m}$  x 1,5  $\mu\text{m}$  de diámetro. Presenta clamidosporas de forma subglobular de color verde oliva en cadena y miden 7  $\mu\text{m}$  de longitud (Crous y Gams, 2000).

<p><b><i>Phaeoacremonium viticola</i></b></p>	<p><b>Características macroscópicas</b></p> <p><i>Phaeoacremonium viticola</i> presenta colonias de crecimiento lento (3,6 cm en 20 días) de aspecto aterciopelado con la zona central algodonosa de superficie plana de color blanco amarillento, a los 16 días su coloración se torna roja con halo amarillento. Reverso de la colonia es violeta amarronado.</p> <p><b>Características microscópicas</b></p> <p><i>Phaeoacremonium viticola</i> presenta conidióforos simples, cortos de forma cilíndrica estrechándose hacia el ápice y miden 11 <math>\mu\text{m}</math> de longitud. Las conidias son producidas en cabezas húmedas y miden de 2 <math>\mu\text{m}</math> x 1 <math>\mu\text{m}</math> de diametro (Mostert et al., 2006).</p>
---	--

<p><b><i>Phaeoacremonium</i> sp.</b></p>	<p><b>Características macroscópicas</b></p> <p><i>Phaeoacremonium</i> sp. presenta colonias de crecimiento lento (8 mm después de 12 días) de aspecto pulverulento y al margen filamentosos de superficie plana con halos concéntricos de color blanco cremoso. Reverso de la colonia es de color beige.</p> <p><b>Características microscópicas</b></p> <p>Presenta conidióforos hialinos, cortos no ramificado, con 2 septos de forma cilíndrica ensanchado en la base, se atenua hacia el ápice y mide 5 µm de longitud. Conidios hialinos, oblongo-elipsoidal, 1,5 x 1 µm de diámetro (Mostert et al., 2006) ;( Dupont et al., 2000).</p>
--	---

<p><b><i>Sporothrix sp.</i></b></p>	<p><b>Características macroscópicas</b></p> <p><i>Sporothrix sp.</i> presenta colonias de crecimiento rápido (8 días), de aspecto pulverulento margen filamentoso, de textura plegada con superficie finamente radiada de color blanco, cuando envejece torna un color morado. Reverso de la colonia es de color negro, produce pigmento rojo.</p> <p><b>Características microscópicas</b></p> <p><i>Sporothrix sp.</i> presenta conidiforo delgados septado y miden 3 µm de longitud. Las conidias son de forma piriforme dispuestas en forma de “pétalos de margarita o flor de durazno” (simpoduloconidios); 1,5 µm x 1 µm de diametro (Watanabe ,2010) ;( Webster y Lomas,1975).</p>
-------------------------------------	--

<p><b><i>Chaetomiun sp.</i></b></p>	<p><b>Características macroscópicas</b></p> <p><i>Chaetomiun sp.</i> presenta crecimiento rápido (7 días) las colonias presentan una coloracion amarillo pálido a beige, reverso es de color mostaza.</p> <p><b>Características microscópicas</b></p> <p><i>Chaetomiun sp.</i> presenta un Ascoma (peritecios) de forma esférica a ovoide y mide 180 <math>\mu\text{m}</math> de longitud con numerosos pelos o ascas, no ramificado, ondulado y enrollado de color marrón y miden hasta 500 <math>\mu\text{m}</math> de longitud. Las acosporas son de forma subglobosa (Barnett y Hunter ,1998); ( Webster y Lomas, 1975).</p>
-------------------------------------	--

<p><b><i>Gliocladium viride</i></b></p>	<p><b>Características macroscópicas</b></p> <p>Las colonias son de crecimiento rápido alcanzan un diámetro de 73 mm en 5 días. Las colonias tienen apariencia algodonosa de color blanco y se torna en verde amarillento, reverso mostaza.</p> <p><b>Características microscópicas</b></p> <p>Hifas hialinas de pared lisa 240 µm de longitud, conidióforos son hialinos, erecto, simple o ramificado con 3 septos y miden 201,5 µm de longitud x 3,7 µm de ancho, las fialides son delgadas se forman sobre la métulas de 14 x 2,7 µm. Presenta masas de esporas que miden 65 µm de diámetro. Las conidias son hialinas de forma oval y elipsoidal, unicelular de 3,0 x 1,8 µm de diámetro (Watanabe, 2010).</p>
---	---

<p><b><i>Gliocladium virens</i></b></p>	<p><b>Características macroscópicas</b></p> <p><i>Gliocladium virens</i> presenta un crecimiento rápido (5 cm en 7 días) son de aspecto algodonoso de color amarillento. Reverso de la colonia es beige</p> <p><b>Características microscópicas</b></p> <p>Los conidióforos hialinos, erectos, simples o ramificados, tabicados de 158 µm de longitud, las fiálides son ampuliformes y miden 4,5 x 2,5 µm de diametro, presenta masas de esporas de 42 µm de diámetro. Las conidias son subhialinas, verdes de forma elipsoidal o subglobosas, unicelular y miden 4 x 2.2 µm. Las clamidosporas son de forma globosa o subglobosas de 7,2 µm de diámetro (Watanabe, 2010).</p>
---	--

<p><b><i>Gliocladium sp.</i></b></p>	<p><b>Características macroscópicas</b></p> <p>Las colonias son color crema con manchas dispersas de color amarillo reverso crema amarillento a marron, flocosas la superficie con anillos concentricos de color marron.</p> <p><b>Características microscópicas</b></p> <p>Los conidióforos ramificados, 50-125 <math>\mu\text{m}</math> de largo. Presenta ramas primarias de 15 - 20 x 3,5 - 4,0 <math>\mu\text{m}</math>; fialides cilindricas subulada de 10 - 20 <math>\mu\text{m}</math> de largo. Presenta una masa de conidias de 10-100 <math>\mu\text{m}</math> de diámetro Las conidias son elípticas, de 3,5 - 5 <math>\mu\text{m}</math> x 1,5- 2 <math>\mu\text{m}</math>. (Barnett y Hunter, 1998); (Watanabe, 2010).</p>
--------------------------------------	--

***Geotrichum  
candidum***

**Características macroscópicas**

Las colonias muestran crecimiento rápido (5 cm en 3 días) las colonias son de color blanco cremoso, reverso color marrón de aspecto aterciopelado, presenta borde color blanco con el margen algo fimbriado.

**Características microscópicas**

Las hifas son hialinas septadas, presentan ramificación dicotómica 7µm de longitud que van fragmentandose en artroconidias rectangulares, en forma de barril, subglobosas, unicelular de 4 µm x 5 µm de diámetro dispuestas una tras otra, que con el tiempo redondean sus ángulos y semejan levaduras ovals (Burguess et al. ,2006); (Watanabe, 2010).

***Penicillium  
glabrum***

**Características macroscópicas**

Las colonias de *Penicillium glabrum* crecieron en ambos medios con aspecto aterciopelado de color verde, con un borde de color amarillo a naranja en los días de incubación en PDA y AEM a 25 °C.

**Características microscópicas**

Microscópicamente presentaron conidióforos de paredes lisas y rugosas, fiálides de 4 a 7, conidios globosos y subglobosos, lisos dispuestos en columnas (Barnett y Hunter, 1998); (Watanabe, 2010).

<p><b><i>Aspergillus oryzae</i></b></p>	<p><b>Características macroscópicas</b></p> <p>Las colonias en agar PDA Y AEM alcanzan un diámetro de 2,5 cm en 7 días. Superficie densamente aterciopelada, verde claro - amarillo. Micelio joven de color blanco, textura algodonosa, reverso blanco - crema. No presenta exudación.</p> <p><b>Características microscópicas</b></p> <p>Los conidióforos de paredes rugosas, hialinos. Vesículas subglobosa de 80 µm de diámetro. Las fialides a menudo crecen sobre las vesículas o sobre las métulas midiendo 15 x 3 µm. Métulas miden 8 x 5 µm. Conidios globosos a subglobosos 3,5 µm, de color verde (Barnett y Hunter, 1998); (Watanabe, 2010).</p>
---	---

<p><b><i>Aspergillus terreus</i></b></p>	<p><b>Características macroscópicas</b></p> <p>Las colonias en agar PDA y AEM de color parduzco, aterciopeladas, alcanzan un diámetro de 3,5 - 5 cm en 7 días a 25 °C. Reverso amarillo tornándose café. Exudado incoloro, produce pigmento amarillo difusible en el medio.</p> <p><b>Características microscópicas</b></p> <p>Cabezas conidiales columnares, conidióforos lisos hialinos. Vesícula subglobosa de 20 µm de diámetro, métula mide de 5 x 1,5 µm de diámetro y fiálides miden de 7 x 1,5 µm. Conidios hialinos a amarillentos, globosos 2,5 µm de diámetro (Barnett y Hunter, 1998); (Watanabe, 2010).</p>
--	--

***Fusarium solani***

**Características macroscópicas**

Presenta crecimiento rápido (cobertura total de la placa entre 4 días) las colonias de aspecto algodonoso y flocoso de color blanco, crema, reverso mostaza; se observa cambios de coloración (blanco, blanco-amarillo, crema) y consistencia suave. Presenta pigmentos color amarillo.

**Características microscópicas**

Presenta conidióforos no ramificados, largos, reducidos a una simple fiálide más o menos cilíndrica 165 x 4,3  $\mu\text{m}$  de diametro. Las macroconidios son hialinos en masas mucosas con 1 a 5 septos, ligeramente curvados, fusiformes, pero con extremos redondeados 50 x 6  $\mu\text{m}$ . Las microconidias son hialinos, lisos, curvados, con 1 a 5 septos y miden 40  $\mu\text{m}$  de longitud y entre 5  $\mu\text{m}$  de diametro. Clamidosporas globosas, con diámetro de 6,2  $\mu\text{m}$ . (Barnett y Hunter, 1998); (Watanabe, 2010).

**Fuente:** Elaboración propia

#### 4.8 Prueba de patogenicidad

Los primeros síntomas se observaron a los 28 días a partir de la inoculación manifestándose como manchas marrones sobre las ramas. A los 42 días se observó la siguiente sintomatología: presencia de lesiones en la corteza, manchas marrones, pudrición y marchitez en la planta. *Phaeomoniella chlamydospora* presento un daño mas severo ocasionando lesiones necróticas marrones de 4 a 6,1 cm. *Phaeoacremonium aleophilum* causó lesiones significativas en las ramas de olivo como necrosis de color marrón de 4 a 4,6 cm. *Pm. viticola* y *Phaeoacremonium sp.* causaron lesiones cortas en el tejido del olivo como manchas de color marrón de 4 cm y 3,4 cm (Cuadro 16). Todas las *Phaeoacremonium spp.* y *Phaeomoniella chlamydospora* fueron capaces de causar marchitamiento y decaimiento de los plantones de olivo y se reaisló a partir de tejidos sintomáticos, cumpliendo así con los postulados de Koch (Anexos 13 y 14).

**Cuadro 16.** Longitud de las lesiones causadas por cepas de *Phaeoacremonium* y *Phaeomoniella chlamydospora* en las ramas de plántones de olivo a los 42 días después de la inoculación

CEPAS	PLANTA HUÉSPED OLIVO		
	Tratamientos		
	A	B	C
	Herida "a" micelio (cm)	Herida "b", inóculo de conidias (cm)	Testigo inóculo Agua estéril (cm)
<i>Phaeoacremonium aleophyllum</i> MP1E1C2	4	3,6	0
	4,6	3.8	0
	4,2	3.4	0
<i>Phaeomoniella chlamydospora</i> MP1E1C1	5,6	3.8	0
	6,1	4.5	0
	4,2	4	0
<i>Phaeoacremonium viticola</i> P3S1A	3,6	3.2	0
	3,4	2.8	0
	4	2.3	0
<i>Phaeoacremonium sp.</i> P5E1A	3,2	2.8	0
	3,4	2.7	0
	3,3	25	0

**Fuente:** Elaboración propia

**Cuadro 17.** Análisis de varianza de la longitud media de las lesiones para *Phaeoacremonium aleophyllum*

Fuentes de variabilidad	G.L.	S.C	C.M.	F.C.	p-valor
Entre grupos	1	0,666	0,666	10,00	0,0341 *
Intra grupos	4	0,266	0,066		
Total	5	0,932			

CV: 6,536 \* significativo

**Fuente:** Elaboración propia

El cuadro 17 del análisis de varianza de la longitud media de las lesiones para la prueba de patogenicidad de las especies de *Phaeoacremonium* y *Phaeomoniella* evaluadas, señala que existen diferencias estadísticas significativas entre los grupos con un nivel de confianza de 95 %, su coeficiente de variabilidad de 6,536 % y es un indicador estadístico aceptable para las condiciones de ensayo.

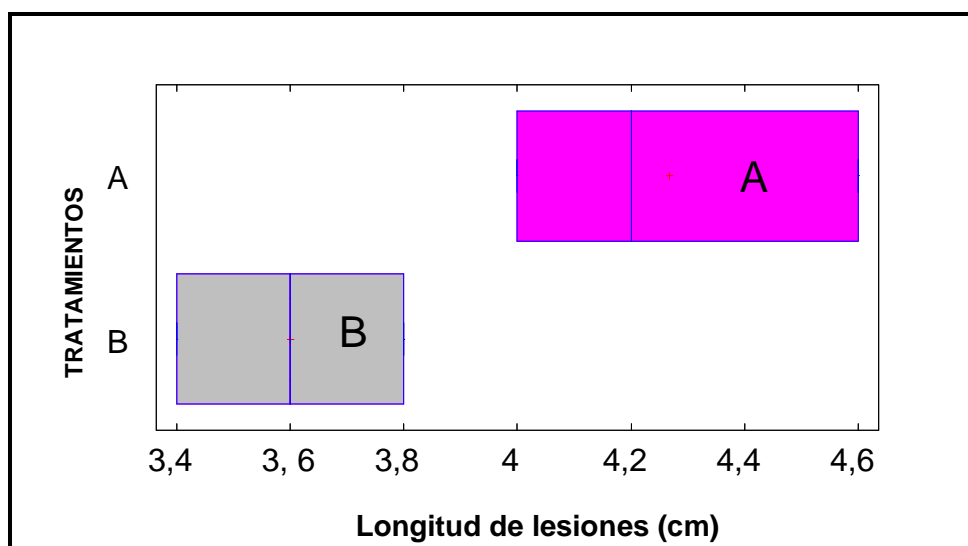
**Cuadro 18.** Prueba de significación de Duncan de la longitud de lesiones para *Phaeoacremonium aleophyllum*

O.M.	Tratamientos	Promedio	Significación
1	A	4,26	a
2	B	3,60	b

Letras iguales no difieren estadísticamente  $p < 0,05$

**Fuente:** Elaboración propia

En el cuadro 18 de la prueba de significación de Duncan se aprecia los promedios de las longitudes medias de las lesiones en las ramas de *Olea europea* inoculadas con *Phaeoacremonium aleophyllum*, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos A y B, donde el tratamiento A con 4,26 cm, obtuvo el mayor promedio superando estadísticamente al tratamiento B con 3,60 cm en promedio.



**Fuente:** Elaboración propia

**Gráfico 4.** Desarrollo de *Phaeoacremonium aleophyllum* en los plantones de olivo sobre la herida de inoculación en cada tratamiento.

En el gráfico 4 se observa la longitud de las lesiones causadas por *Phaeoacremonium aleophyllum*. Las letras A y B representan los métodos de inoculación empleados. La línea azul sobre las cajas indica el promedio estadístico de cada tratamiento. La longitud total que alcanzó el desarrollo del patógeno *Phaeoacremonium aleophyllum* fue de 4,6 cm para el tratamiento A, y para el tratamiento B no superó los 3,8 cm. existiendo diferencias significativas entre tratamientos.

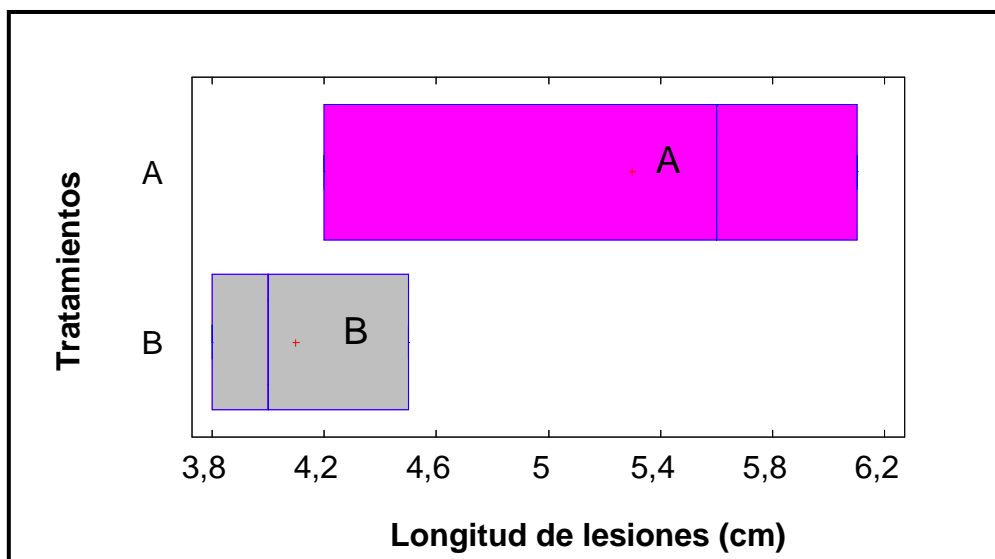
**Cuadro 19.** Análisis de varianza de la longitud media de las lesiones para *Phaeomoniella clamydospora*

<b>Fuentes de variabilidad</b>	<b>G.L.</b>	<b>S.C</b>	<b>C.M.</b>	<b>F.C.</b>	<b>p-valor</b>
Entre grupos	1	2,166	2,166	3,933	0,1186 NS
Intra grupos	4	2,220	0,555		
Total	5	4,386			

CV: 15,80 % \* significativo

**Fuente:** Elaboración propia

El cuadro 19 del análisis de varianza de la longitud media de las lesiones para la prueba de patogenicidad de *Phaeomoniella chlamydospora* señala que no existen diferencias estadísticas significativas entre los grupos, su coeficiente de variabilidad de 15,80 % es aceptable para la condiciones del ensayo.



Fuente: Elaboración propia

**Gráfico 5.** Desarrollo de *Phaeomoniella chlamydospora* en los plantones de olivo sobre la herida de inoculación en cada tratamiento.

En el gráfico 5 se observa la longitud de las lesiones causadas por *Phaeomoniella chlamydospora*. Las letras A y B representan los métodos de inoculación empleados. La línea azul sobre las cajas indica el promedio en centímetros de cada tratamiento. La longitud total que alcanzó el desarrollo del patógeno *Phaeomoniella chlamydospora* fue de 6,1 cm para el tratamiento A y para el tratamiento B no superó los 4,5 cm. No existen diferencias significativas entre tratamientos.

**Cuadro 20.** Análisis de varianza de la longitud media de las lesiones para *Phaeoacremonium viticola*

Fuentes de variabilidad	G.L.	S.C	C.M.	F.C.	p-valor
Entre grupos	1	1,215	1,215	8,19	0,0458 *
Intra grupos	4	0,593	0,148		
Total	5	1,108			

CV: 11.948% \* significativo

**Fuente:** Elaboración propia

El cuadro 20 del análisis de varianza de la longitud media de las lesiones para *Phaeoacremonium viticola* señala que existen diferencias estadísticas significativas entre los grupos con un nivel de confianza de 95 %, su coeficiente de variabilidad de 11,948 % y es un indicador estadístico aceptable para las condiciones de ensayo.

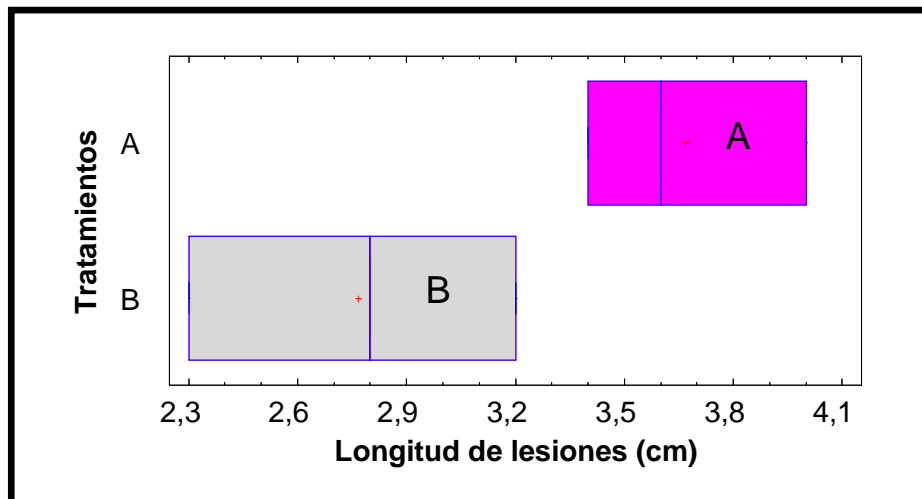
**Cuadro 21.** Prueba de significación de Duncan de la longitud de lesiones para *Phaeoacremonium viticola*

O.M.	Tratamientos	Promedio	Significación
1	A	3,66	a
2	B	2,76	b

Letras iguales no difieren estadísticamente  $p < 0,05$

**Fuente:** Elaboración propia

En el cuadro 21 de la prueba de significación de Duncan se aprecia los promedios de las longitudes medias de las lesiones en las ramas de *Olea europea* inoculadas con *Phaeoacremonium viticola*, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos A y B, señala que la mayor longitud de media se halló con el tratamiento A con 3,66 cm superando estadísticamente al tratamiento B que obtuvo 2,76 mm en promedio.



**Fuente:** Elaboración propia

**Gráfico 6.** Desarrollo de *Phaeoacremonium viticola* en los plantones de olivo sobre la herida de inoculación en cada tratamiento.

En el gráfico 6 se observa la longitud de las lesiones causadas por *Phaeoacremonium viticola*. Las letras A y B representan los métodos de inoculación empleados. La línea azul sobre las cajas indica el promedio estadístico de cada tratamiento. La longitud total que alcanzó el desarrollo del patógeno *Phaeoacremonium viticola* fue de 3,66 cm para el tratamiento A, y para el tratamiento B no superó los 2,76 cm. existiendo diferencias significativas entre tratamientos.

**Cuadro 22.** Análisis de varianza de la longitud media de las lesiones para *Phaeoacremonium sp.*

<b>Fuentes de variabilidad</b>	<b>G.L.</b>	<b>S.C</b>	<b>C.M.</b>	<b>F.C.</b>	<b>p-valor</b>
Entre grupos	1	0,601	0,601	36,10	0,0039 *
Intra grupos	4	0,006	0,016		
Total	5	0,667			

CV: 3,928 % \* significativo

**Fuente:** Elaboración propia

El cuadro 22 del análisis de varianza de longitud media de lesiones para *Phaeoacremonium sp* señala que existen diferencias estadísticas significativas entre los grupos con un nivel de confianza de 95 %, su coeficiente de variabilidad de 11,948 % es aceptable para la condiciones del ensayo.

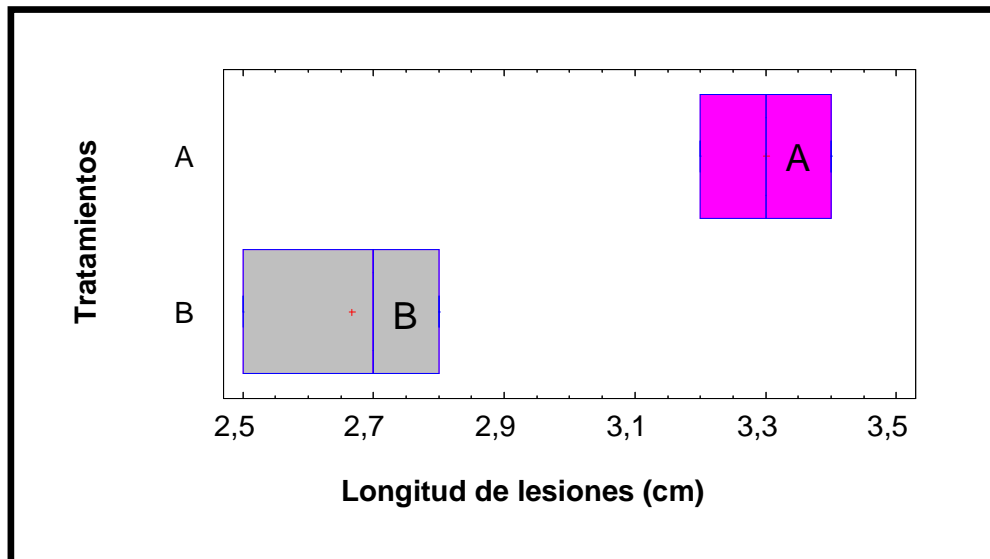
**Cuadro 23.** Prueba de significación de Duncan de la longitud de lesiones para *Phaeoacremonium sp.*

O.M.	Tratamientos	Promedio	Significación
1	A	3,30	a
2	B	2,66	b

Letras iguales no difieren estadísticamente  $p < 0,05$

**Fuente:** Elaboración propia

En el cuadro 23 de la prueba de significación de Duncan se aprecia los promedios de las longitudes medias de las lesiones en las ramas de *Olea europea* inoculadas con *Phaeoacremonium sp*, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos A y B, donde el tratamiento A con 3,30 cm, obtuvo el mayor promedio superando estadísticamente al tratamiento B con 2,60 cm en promedio.



**Fuente:** Elaboración propia

**Gráfico 7.** Desarrollo de *Phaeoacremonium sp.* en los plantones de olivo sobre la herida de inoculación en cada tratamiento

En el gráfico 7 se observa la longitud de las lesiones causadas por *Phaeoacremonium sp.* Las letras A y B representan los métodos de inoculación empleados. La línea azul sobre las cajas indica el promedio estadístico de cada tratamiento. La longitud total que alcanzó el desarrollo del patógeno *Phaeoacremonium sp.* fue de 3,30 cm para el tratamiento A y para el tratamiento B no superó los 2,66 cm existiendo diferencias significativas entre tratamientos.

#### **4.9 Efecto de los factores ambientales y los aislamientos fúngicos**

Se analizó la relación que existe entre los factores ambientales y las especies fúngicas aisladas en el presente estudio mediante una regresión lineal. Los valores promedio de los factores climáticos en las zonas de muestreo variaron de la siguiente manera: la temperatura presentó fluctuaciones entre 16 °C a 25,5 °C, la mayor temperatura se registró en setiembre y la menor temperatura en junio. La humedad relativa presentó fluctuaciones entre 43 % y 67 %, donde el mayor porcentaje de humedad se registró en los meses de agosto y setiembre (Anexo 6).

##### **4.9.1 Número de aislamientos fúngicos obtenidos en los meses de muestreo evaluados**

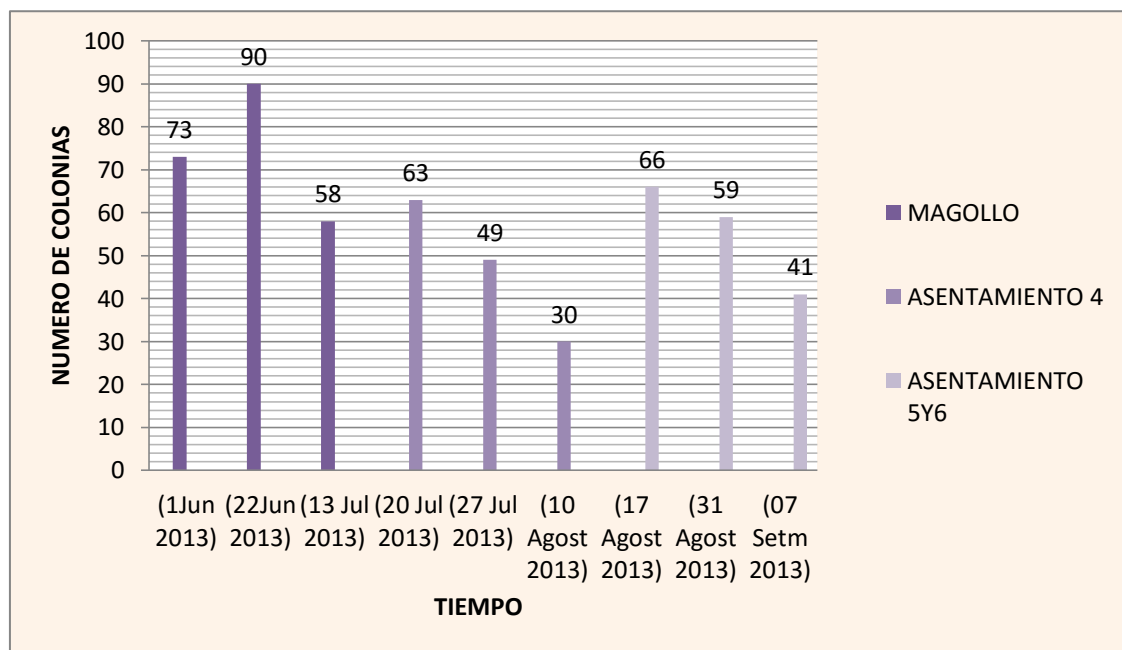
El mayor número de aislamientos fúngicos se registraron en los meses de junio, agosto y setiembre y una cantidad menor de aislamientos fúngicos se registraron en el mes de julio para las tres zonas de muestreo.

**Cuadro 24.** Número de colonias fúngicas obtenidos de los meses de muestreo en las diferentes zonas evaluadas

Zonas	Muestreo								
	1°	2°	3°	1°	2°	3°	1°	2°	3°
	1Jun 2013	22Jun 2013	13 Jul 2013	20 Jul 2013	27 Jul 2013	10 Agost 2013	17 Agost 2013	31 Agost 2013	07 Setm 2013
<b>Nº DE COLONIAS</b>									
MAGOLLO	73	90	58	-	-	-	-	-	-
ASENTAMIENTO 4	-	-	-	63	49	30	-	-	-
ASENTAMIENTO 5Y6	-	-	-	-	-	-	66	59	41

**Fuente:** Elaboración propia

En el cuadro 24 señala que los meses de evaluación fueron realizados desde junio a setiembre y el número de colonias fúngicas aisladas de las tres zonas muestreadas, tanto en el primer y segundo muestreo, se obtuvieron poblaciones significativamente mayores con respecto al tercero, realizado en los meses de junio con 90 aislamientos, agosto con 66 aislamientos y en menor porcentaje los aislamientos fúngicos de los meses de julio con 49 aislamientos y setiembre con 41 aislamientos.



**Fuente:** Elaboración propia

**Figura 10.** Variación del número de colonias de hongos en **Magollo, Asentamiento 4 y Asentamiento 5 y 6** a través del tiempo

En la figura 10 se observa en el primer muestreo de la zona de Magollo presenta un promedio de 73 y 90 colonias obtenidas en el mes de junio y con 58 colonias para el mes de julio. En la zona del Asentamiento 4 mostró el más bajo número de colonias, con 30 colonias que corresponde al mes de agosto Sin embargo en el Asentamiento 5 y 6 se observó que el promedio del número de colonias fue un poco más alto en los primeros muestreos del mes de agosto y descendió para el mes de setiembre con 41 colonias fúngicas.

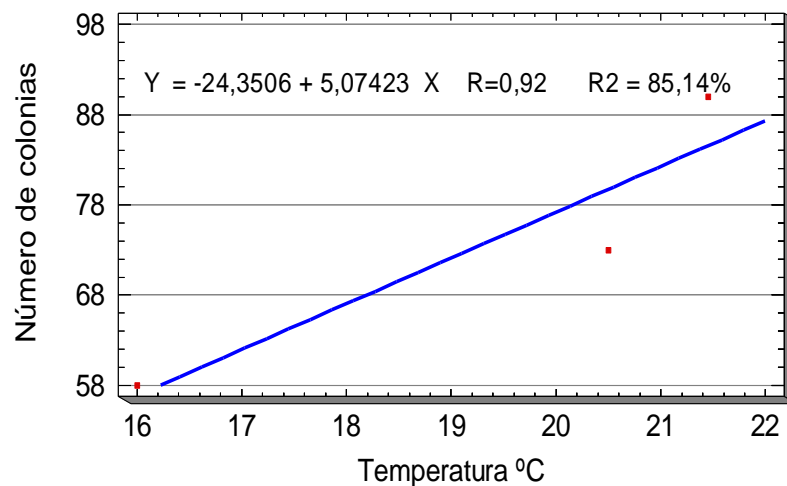
#### **4.9.2 Relación de los factores ambientales y los aislamientos fúngicos evaluados**

La temperatura y la humedad relativa son factores importantes en el aislamiento fúngico, debido a que estas condiciones son un punto de partida clave para estimular o inhibir el crecimiento de la flora de interés. El mayor porcentaje de aislamientos fúngicos se observó en un rango de temperatura entre 20 °C- 25,5 °C y humedad relativa entre 60-67 %. Se obtuvieron 6 regresiones lineales para evaluar el efecto de los factores climáticos: temperatura (°C) y humedad relativa (HR%) sobre los aislamientos fúngicos obtenidos de las zonas muestreadas.

##### **A. La temperatura y los aislamientos fúngicos**

A continuación, se analiza la influencia de la temperatura en los aislamientos fúngicos de las zonas de Magollo, Asentamiento 4 y el Asentamiento 5 y 6 para conocer si hubo influencia de la temperatura en el aumento del promedio en los aislamientos fúngicos obtenidos.

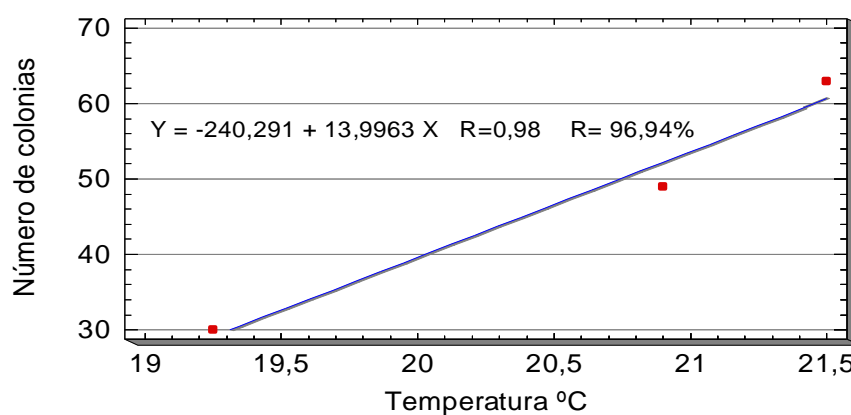
**Gráfico 8.** Regresión lineal temperatura vs número de colonias fúngicas obtenidas en la zona de **Magollo**



**Fuente:** Elaboración propia

En el gráfico 8 de regresión lineal muestra que existe una relación significativa entre la temperatura y el número de colonias, el coeficiente de correlación de Pearson  $R= -0,92$  indican que a mayor temperatura se incrementa el número de colonias, su coeficiente de determinación  $R^2$  indica que 85,14 % de la variación del número de colonias (Y) se explica por la variabilidad de temperatura (X), el valor de la pendiente de la ecuación de regresión indica que por cada grado que aumenta la temperatura, el promedio de aislamientos aumenta en 5,07 número de colonias .

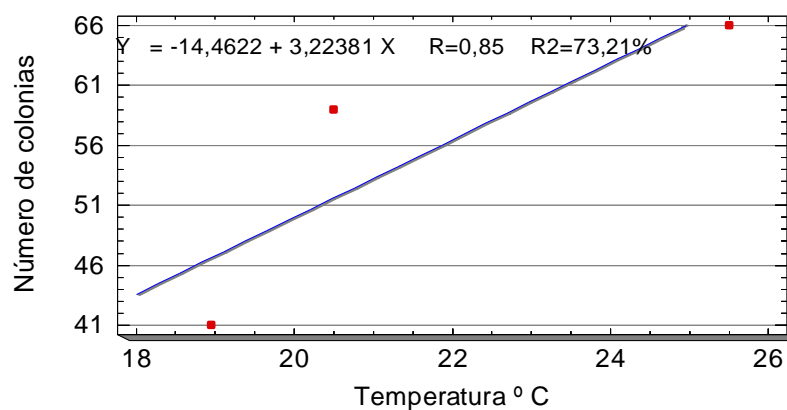
**Gráfico 9.** Regresión lineal temperatura vs número de colonias fúngicas obtenidas en la zona del **Asentamiento 4**



**Fuente:** Elaboración propia

En el gráfico 9 de regresión lineal muestra que existe una relación significativa entre la temperatura y el número de colonias fúngicas, el coeficiente de correlación de Pearson  $R = -0,98$  indican que a mayor temperatura se incrementa el número de colonias fúngicas, su coeficiente de determinación  $R^2$  indica que 96,94 % de la variación del número de colonias fúngicas (Y) se explica por la variabilidad de (X), el valor de la pendiente de la ecuación de regresión indica que por cada grado que aumenta la temperatura, el promedio de aislamientos aumenta en 13,99 número colonias fúngicas.

**Gráfico 10.** Regresión lineal temperatura vs número de colonias fúngicas obtenidas en la zona del **Asentamiento 5 y 6**



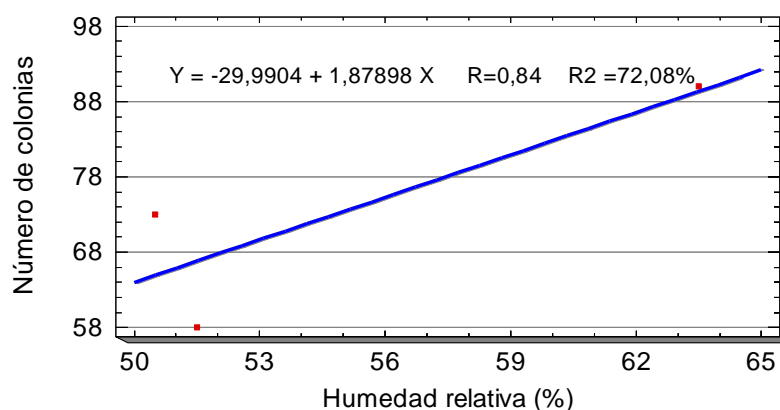
**Fuente:** Elaboración propia

En el gráfico 10 de regresión lineal muestra que existe una relación significativa entre la temperatura y el número de colonias, el coeficiente de correlación de Pearson  $R=0,85$  indica que a mayor temperatura se incrementa el número de colonias fúngicas, su coeficiente de determinación  $R^2$  indica que 73,21 % de la variación del número de colonias fúngicas (Y) se explica por la variabilidad de (X), el valor de la pendiente de la ecuación de regresión indica que por cada grado que aumenta la temperatura, el número de colonias de los aislamientos aumenta en 3,22 colonias fúngicas.

## **B. La humedad relativa (HR%) y los aislamientos fúngicos**

La humedad relativa evaluada de las zonas de muestreo fue un factor favorable para la proliferación de las especies fúngicas asociadas a *Hylesinus oleiperda* en plantas de olivo. La humedad relativa (%HR) es un factor directamente proporcional al incremento de las especies fúngicas.

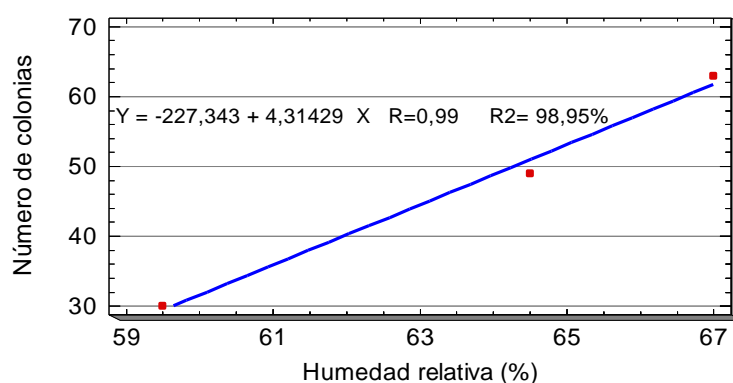
**Gráfico 11.** Regresión lineal humedad relativa vs número de colonias fúngicas obtenidas en la zona de **Magollo**



**Fuente:** Elaboración propia

En el gráfico 11 de regresión lineal muestra que existe una relación significativa entre la humedad relativa y el número de colonias, el coeficiente de correlación de Pearson  $R= -0,84$  indica que a mayor humedad relativa se incrementa el número de colonias fúngicas, su coeficiente de determinación  $R^2$  indica que 72,08 % de la variación del número de colonias fúngicas (Y) se explica por la variabilidad de la humedad (X), el valor de la pendiente de la ecuación de regresión indica que por cada unidad en porcentaje que aumenta la HR, el número de colonias fúngicas en promedio aumenta 1,88 colonias.

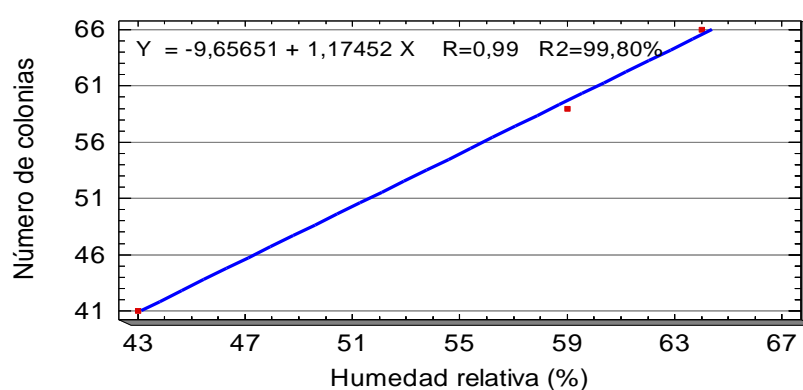
**Gráfico 12.** Regresión lineal humedad relativa vs número de colonias fúngicas obtenidas en la zona del **Asentamiento 4**



**Fuente:** Elaboración propia

En el gráfico 12 de regresión lineal muestra que existe relación significativa entre la humedad relativa y el número de colonias fúngicas, el coeficiente de correlación de Pearson  $R= 0,99$  señala que existe alta correlación significativa, indicando que a mayor humedad relativa existe mayor número de colonias fúngicas, su coeficiente de determinación  $R^2$  indica que a 98,95 % de la variación del número de colonias fúngicas (Y) se explica por la variabilidad de la HR (X), el valor b 4,31 de la ecuación de regresión indica que el aumento del número de colonias en promedio por cada unidad de HR, el número de colonias fúngicas en promedio aumenta 4,31 colonias.

**Gráfico 13.** Regresión lineal humedad relativa vs número de colonias fúngicas obtenidas en la zona del **Asentamiento 5 y 6**



**Fuente:** Elaboración propia

En el gráfico 13 de regresión lineal muestra que existe una relación significativa entre la humedad y el número de colonias fúngicas, el coeficiente de correlación de Pearson  $R= 0,99$  señala que existe una correlación significativa, indicando que a mayor HR existe mayor número de colonias fúngicas, su coeficiente de determinación  $R^2$  indica que 99,80 % de la variación del número de colonias fúngicas (Y) se explica por la variabilidad de la humedad relativa (X), el valor  $b = 1,174$  n de la ecuación de regresión, indica que por cada unidad en porcentaje que aumenta la HR en promedio aumenta 1,174 colonias fúngicas.

## V. DISCUSIÓN

El presente estudio es una nueva investigación dirigida a evaluar la presencia de especies fúngicas patógenas asociadas a galerías de *Hylesinus oleiperda* “barrenillo del olivo”, como vector potencial de hongos fitopatógenos causante de pudrición, manchas y decaimiento en el olivo, tomadas de las galerías de alimentación o apareamiento del coleóptero. La investigación se centró principalmente en los tejidos xilemático necróticos de las galerías de *Hylesinus oleiperda*, de los que se aislaron especies del género *Phaeoacremonium* resultando ser el de mayor predominancia, identificándose las especies de *Phaeoacremonium aleophyllum* con una frecuencia de 8,8 %, *Phaeoacremonium sp.* con 8 % y la especie de *Phaeoacremonium viticola* con una menor frecuencia de 5 % del total de aislamientos fúngicos en olivo.

Se han realizado nuevas investigaciones sobre la asociación de *Phaeoacremonium spp.* con *Hylesinus oleiperda* en olivo. En la reciente investigación por Guarino et al. (2014) “Complejo del decaimiento rápido del olivo” en Italia se reportaron los generos de *Phaeoacremonium* y *Phaeomoniella* que forman complejos causando muerte regresiva, decaimiento en olivo y que presentaban fuerte infestación de *Hylesinus*

*oleiperda* y *Phloeotribus scarabeoides*. Se identificaron las especies *Phaeoacremonium aleophilum*, *Pm. rubrigenun*, *Pm. alvesi*, *Pm. inflatipes* *Pm. mortoniae* y especies de *Phaeomoniella*, aisladas de las ramas con decaimiento y de larvas de la corteza del olivo.

Úrbez y Torres et al. (2013) reportaron a *Pm. aleophilum* por primera vez en los Estados Unidos en aislados de los troncos de olivo. En Italia, *Pm. aleophilum* ya ha sido reportado como patógeno de los olivos (Carlucci et al. 2013). Las especies de *Phaeoacremonium* son aisladas del tejido vascular con heridas o grietas profundas en los troncos y ramas formando complejos fúngicos para que en acción conjunta produzcan decaimiento en el olivo (Mostert et al., 2005).

El género *Phaeoacremonium spp.* son hongos que han demostrado estar relacionados con el estrés hídrico y estrés nutricional de las plantas causando daños vasculares en plantas leñosas. Estas especies parecen carecer de hospedante específico dado que un número de especies han sido previamente notificados al ser patógenos para *Prunus spp.*, *Vitis vinifera* y *Santalum alvum*; y encontrándose también en *Olea europea* olivo en esta investigación (Dupont et al., 2000).

Según indica el estudio “Especies *Phaeocremonium* asociadas con la marchitez de oliva y descenso en el sur de Italia” (Raimondo et al., 2014) se reportaron seis especies de *Phaeocremonium spp.* en madera sintomática de olivos (*Olea europea*) que se asocian por primera vez con la marchitez de las ramas, decadencia y muerte regresiva de los olivares. Se identificaron a las especies de *Phaeocremonium aleophilum*, *Phaeocremonium alvesii* y *Phaeocremonium parasiticum*, junto con otros tres *Phaeocremonium italicum*, *Phaeocremonium sicilianum* y *Phaeocremonium scolyti* causando decoloración, madera necrótico, y la muerte de los brotes del olivo.

Se aisló también la especie fúngica *Phaeomoniella chlamydospora*, con una frecuencia de 5,6 % del total de aislamientos obtenidos de las zonas de muestreo predominando en la zona de Magollo, según indica el trabajo “Comunidad fúngica asociada al tronco de la vid” (Abreo, 2011) se reportó a las especies de *Pa. chlamydospora* y *Pm. aleophilum* como los agentes causales de las principales enfermedades de la vid: a enfermedad de Petri y yesca de la vid. Resulta notorio la exclusividad de asociación de las especies de *Phaeocremonium aleophilum* y *Phaeomoniella chlamydospora* en relación a estas enfermedades.

Además, en la investigación realizada por Úrbez et al. (2013) “Ramas y muerte regresiva del olivo: etiología, incidencia y distribución en California” se aislaron 18 especies fúngicas de sintomatología de la madera del olivo (*Olea europaea*) afectadas por muerte regresiva de las ramas identificándose a *Phaeomoniella chlamydospora* y *Phaeoacremonium aleophilum* con 12 % y 9,4 % respectivamente de otras especies; siendo los hongos patógenos responsables de esta enfermedad del olivo en California.

En la presente investigación la especie de *Pa. chlamydospora* solo se aisló de Magollo (zona 1) y estuvo ausente en las demás zonas. La zona muestreada de Magollo era colindante con un extenso cultivo de vid; característica principal de la zona por tener cultivos mixtos principalmente vid, olivo. Esto indica que olivos y vid son huéspedes que representan fuentes de inóculo para las demás plantas, especialmente cuando los huertos de olivos y viñedos están muy cerca, como es frecuentemente también en el caso en Italia (Raimondo et al., 2014).

Según Troccoli, (2001) encontró que la colonización de tejidos por *Pa. chlamydospora* en cultivos de vid, es menos frecuente en la base de los tallos y ramas deduciendo que la colonización interna del hongo era lenta debido a mecanismos de defensa existentes en la planta. Úrbez et al. (2013) indica que la especie de *Phaeomoniella chlamydospora* fue aislada de olivares que se encuentran junto a cultivos de vid a lo largo de California. Las esporas de *Pa. chlamydospora* en campo infectan los troncos de la vid a través de las heridas de poda en invierno por la acción del viento y la lluvia, pero lo mismo no se observó en el caso de *Phaeoacremonium spp.* debido a la baja producción de esporas de esta especie en invierno (Damm et. al,2008).

Estos resultados indican que el material de propagación contaminado podría ser el principal medio de dispersión de *Phaeoacremonium spp.*, mientras que la dispersión y prevalencia de *Pa. chlamydospora* en campo podría deberse a los factores ambientales y el material de propagación contaminado que facilitan su dispersión en campo. Esto fortalece la explicación de la ausencia de *Pa. chlamydospora* en las zonas del Asentamiento 4 y el Asentamiento 5 y 6; debido a encontrarse en mejores condiciones que en la zona muestreada de Magollo y al presentarse asociada a cultivos de vid en Magollo.

También se aisló a *Geotrichum candidum* con un 14,3 % en la zona del Asentamiento 5 y 6; en la zona de Magollo con un 5,9 % y en la zona del asentamiento 4 con un 9,1 % en las muestras de olivo con galerías. Este es un hongo saprófito que se encontró en las galerías de *Hylesinus oleiperda*; según el trabajo “Población epífita de *Geotrichum candidum* en post cosecha de duraznos” (Castelli, 2010), *Geotrichum candidum* es el agente causal de la podredumbre amarga o “sour rot” que produce la pudrición ácida en plantas de melocotón; estos hongos actúan a partir de heridas. Es decir, necesitan de una herida o lesión para poder penetrar e invadir los tejidos del fruto; siendo el género *Geotrichum* uno de los principales componentes de la micoflora que se encuentran en las hojas, ramas y frutos del olivo, en donde desarrolla una débil capacidad patogénica (Alonso, 2011).

Se observó también a la especie fúngica *Sporothrix sp.* con un 9,1 % en la zona de Asentamiento 4 y con un 14,3 % en la zona de Asentamiento 5 y 6. Según el trabajo realizado “Diagnóstico de enfermedades en el Pino” (Baltodano, 2009) la especie fúngica *Sporothrix* está asociada a las diferentes fases asexuales de *Ophiostoma* siendo sinanamorfo para esta especie. Los síntomas observados de los árboles extraídos fueron clorosis generalizada, presencia de galerías de insectos,

manchas oscuras y necrosis en los vasos xilémicos y las raíces. En los árboles, donde se colectó las muestras, se observaron severos ataques de coleópteros descortezadores y bajo condiciones adversas como alta densidad de árboles y suelos pobres. Estas características se asemejan a las mismas condiciones que presentaban los arboles de olivo muestreados en la presente investigación.

Según la tesis “Factores ambientales que influyen en el desarrollo de *Sporothrix spp.*” (Munguía et.al., 2008), este hongo habita en el suelo y plantas; sin embargo, aparentemente es más fácil aislarlo del suelo. En la presente investigación *Sporothrix sp.* se encontró en el Asentamiento 4 y el Asentamiento 5 y 6, mas no estuvo presente en la zona de Magollo. Las razones se deben a la ubicación de las zonas de muestreo, los dos Asentamientos son de cultivos colindantes mientras que la zona de Magollo esta más alejada a estas dos zonas y también a los factores ambientales (la variación de la humedad relativa, temperatura y a las características de los cultivos).

De la misma manera, se aisló a la especie de *Fusarium solani* en la zona de Magollo, con el 19,5 % de los aislamientos en esta zona. Parte de haber aislado a *Fusarium solani* colonizando dentro de las galerías de *Hylesinus oleiperda* se debe a que es una especie comúnmente asociada a algunos grupos de insectos como *Scolytidae* y *Platypodidae*, familias que tienen como hospedero a árboles leñosos mencionando a *Fusarium solani* como un hongo ambrosial primario asociada con especies de *Xyleborus* (Gil et al., 2004).

*Fusarium solani* parece estar asociada al barrenillo del olivo dentro de tejido xilemático asociados a manchas y pudrición; según el trabajo "Isolation and pathogenicity of fungi associated to ambrosia borer (*Euplatypus segnis*) found injuring pecan (*Carya illinoensis*) wood", indica que la especie *Fusarium solani* actuó como el agente principal de gomosis en los árboles de pecana, en el interior de los tallos se observaron inicialmente áreas marrones y cuando estas áreas fueron cortadas transversalmente, se observó que el hongo patógeno invade completamente los vasos conductores causando síntomas generalizados de marchitez y muerte en el árbol (Alvidrez et al., 2007).

Estos resultados se asemejan consistentemente con los datos obtenidos en la presente investigación, los resultados se asocian a la sintomatología que se observaron en los campos de olivo; en la zona de Magollo, los olivos muestreados mostraron los mismos síntomas de decaimiento de las ramas y otros daños asociados a *Hylesinus oleiperda*. La especie de *Corthylus sp.* (Coleoptera: Scolytidae) causa daños en el aliso (*Alnus acuminata*) presentando síntomas como pudrición de las ramas, raíces y marchitez, sintomatología asociada a la presencia de hongos como *Fusarium solani*, *Fusarium sp.*, *Ceratocystis sp.*, *Verticillium sp.* (Gil et al., 2004).

Como hongos saprófitos asociados a las galerías de *Hylesinus oleiperda* se aislaron 3 especies del género *Gliocladium*, presentando a *Gliocladium viride* con un 19,4 % en la zona de Magollo; en la zona del Asentamiento 4 con un 27,3 % y en la zona del Asentamiento 5 y 6 con un 28,5% de muestras con galerías de barrenillo. *Gliocladium viride* tuvo el mayor porcentaje de aislamiento ya que es la especie fúngica saprófita más frecuente aislada a partir de las muestras de olivo con galerías presentes en las tres zonas. También se aisló a *Gliocladium virens*, con un 14,3% en la zona del Asentamiento 5 y 6 y en la zona de Magollo, con un 11,8% de las muestras con galerías con

barrenillo. Asimismo, se aisló a la especie de *Gliocladium sp.* con un 11,8 % en la zona de Magollo en la zona del Asentamiento 5 y 6 con un 14,3 % .

Según el trabajo “Aislamiento e identificación de Hongos asociados a esclerocios de *Sclerotium cepivorum*, causante de la pudrición blanca de la cebolla en la zona alta de Cartago, Costa Rica” (Granados, 2005) hay varios hongos asociados a *Gliocladium* como *Alternaria spp*, *Fusarium spp*, *Penicillium spp*, que causan enfermedades en las plantas como la pudrición blanca. La acción de *Gliocladium* es señalada con la capacidad de inhibir el crecimiento de hongos fitopatógenos como *Sclerotium cepivorum* y los hongos antes mencionados. Según el trabajo “Identificación de microorganismos antagonistas de fitopatógeno del suelo en especies hortícolas” (Capuz, 2009), las especies de *Gliocladium* es común encontrarlas en asociación con otras especies fitopatógenas en forma natural y es descrito como un hongo entomopatógeno micoparásito de hifas y esclerocios y competencia de nutrientes y nichos en las plantas. Comprobándose en la presente investigación que las especies de *Gliocladium* también actúan como antagonista de *Phaeocremonium* y *Pa. chlamydospora* dentro de las ramas del olivo.

Además, se aislaron a la especie de *Penicillium glabrum* con un 5,9 % en la zona de Magollo y con 9,1 % en la zona del Asentamiento 4, la presencia de *Penicillium spp.* se da cuando aparecen las esporas, en forma de pelusa blanquecina dentro de la superficie de las galerías. Asociados a estos hongos se identificó a *Aspergillus oryzae* con un 9,1 %; *Aspergillus terreus* con un 9,1 % de los aislamientos fúngicos. En el estudio realizado por Carlucci et al. (2013), "*Pleurostomophora richardsiae*, *Neofusicoccum parvum* and *Phaeoacremonium aleophilum* associated with a decline of olives in southern Italy" se reportaron especies saprófitas asociadas a hongos fitopatógenos en olivo como *Penicillium spp.* con 3,6 %, *Aspergillus spp.* con 5.4% de los aislamientos.

También se identificó a *Chaetomium sp* con un 9,1 % en la zona del Asentamiento 4. Según el trabajo "Isolation and pathogenicity of fungi associated to ambrosia borer (*Euplatypus segnis*) found injuring pecan (*Carya illinoensis*) wood", indica que el decaimiento y muerte regresiva en cultivos de mango en la India, están relacionados con la presencia de *Chaetomium sp.*, *Botryodiplodia theobromae*, *Alternaria alternata*, *Fusarium moniliforme*, *Cephalosporium sp.*, *Aspergillus ellipticus*, *A. niger* y *Penicillium sp.*, asociados al ataque de escarabajos barrenadores que causan daños mecánicos en el tronco y ramas.

La especie de *Chaetomium sp.* es un hongo celulolítico, endófito que asociado a hongos fitopatógenos puede llegar a causar enfermedades como pudrición blanda en la madera de las planta. En el estudio “Asociación de hongos con insectos xilófagos presentes en muestras de maderas” se reportó a *Chaetomium sp* y *Penicillum sp.* entre otras especies aisladas de madera de árboles forestales que presentaban sintomatología de manchas y pudriciones asociados a galerías de insectos, indicando que estos hongos llegaron como contaminantes a través del aire y no se encontró una asociación simbiótica con el insecto (Reyes, 2007) .

En la investigación “Micobiota endófito asociada a estadios preflorales del guayabo (*Psidium guajava* L.) y al ácaro plano (*Brevipalpus phoenicis*)” se identificaron a las especies fúngicas de *Alternaria sp.*, *Cladosporium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Lasiodiplodia sp.*, *Penicillium sp.* y *Trichoderma sp.* como antagonistas a patógenos foliares en diferentes cultivos frutales (Salazar et al. 2005); mientras que las especies: *Colletotrichum gloesporioides*, *Chaetomium globosum*, *Alternaria alternata*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Phoma sp.*, *Drechslera sp.*, *Phomopsis citri* y *Fusarium spp.* son considerados agentes patógenos para las plantas (Alfieri et al. 1994).

Los resultados de las pruebas de patogenicidad se demostraron a los 42 días de inoculación. Las cuatro especies analizadas fueron *Phaeoacremonium aleophilum*, *Pm.viticola*, *Phaeoacremonium sp.* y *Phaeomoniella chlamydospora* son patógenos de los olivos. La presencia de síntomas en los olivos inoculados fue clara, demostrando la capacidad del patógeno de producir lesiones sobre la herida de inoculación. Las especies de *Phaeoacremonium aleophilum* y *Phaeomoniella chlamydospora* son consideradas más agresivas ya que causaron lesiones significativamente más largas que las demás especies. *Phaeoacremonium sp.* y *Phaeoacremonium viticola* también se aislaron de las ramas de olivo, aunque en frecuencias relativamente bajas causando síntomas leves que consisten en pequeñas lesiones de color marrón.

Esta sintomatología es similar a los resultados obtenidos en el trabajo de Carlucci et al. (2013), donde se realizaron inoculaciones con las especies de *Phaeoacremonium aleophyllum*, *Phaeoacremonium sicilianum* y *Phaeoacremonium scolyti* en olivo, observando síntomas luego de ocho semanas del ensayo. El desarrollo del patógeno en las plantas inoculadas genera un avance lento de la lesión, presentando pudrición marrón a lo largo del punto de inoculación de las ramas y una línea oscura que define la demarcación entre los tejidos infectados y sanos.

En la investigación “Especies de *Phaeoacremonium* asociadas con la marchitez del olivo y decaimiento en el sur de Italia” se aplicaron las pruebas de patogenicidad con las especies de *Phaeoacremonium aleophilum*, *Pm. alvesii*, *Pm. italicum* donde se describieron síntomas similares como presencia de tejidos marrones y áreas enmohecidas situadas en el xilema de las ramas de los olivos. Según Úrbez et al. (2013) reportaron resultados de las pruebas de patogenicidad efectuadas en los brotes jóvenes de olivo con las especies de *Pl. richardsiae*, *Phaeoacremonium aleophilum* entre otros, causando vetas o líneas de color marrón en la madera del olivo considerándolos como la causa principal del decaimiento de los olivos asociados a daños de coleópteros en olivos adultos.

En los resultados de las pruebas de patogenicidad, *Pm. aleophilum* causó lesiones necróticas de aproximadamente 4 a 4,6 cm de largo, se observó necrosis marrón en el tejido cortical y profundizan hasta el xilema desde el sitio de la inoculación, mostraron marchitamiento, el avance lento de la enfermedad. *Phaeomoniella chlamydospora* también causó lesiones necróticas de 4,2 a 6,1 cm siendo la especie más agresiva que las demás especies patógena evaluadas. Estos resultados se asemejan al trabajo de Úrbez et al. (2013) señalando a *Pm. aleophilum* como un patógeno de

crecimiento lento, causando lesiones a los 60 días después de la inoculación; se observaron regiones marrones de 5,1 cm, indicando que este hongo puede infectar y colonizar el tejido del olivo. Para la especie de *Pa. chlamydospora* causó lesiones de 8,1 cm en los olivos. Asimismo, en el estudio desarrollado por Carlucci et al. (2013), el *Phaeoacremonium* spp más agresivo era *Pm. sicilianum*, también *Pm. aleophilum* mostró una gravedad similar, se observó lesiones marrones de 14,8 cm después de 180 días de la inoculación. Todas las especies *Phaeoacremonium* probados fueron capaces de causar marchitamiento de los brotes por 180 días después de la inoculación.

Los promedios de las mediciones longitudinales de las lesiones en las ramas de olivo inoculados indican que existen diferencias significativas en los tratamientos A (con micelio ) y B (con inóculo), la diferencia de los promedios de cada tratamiento se debe a que al introducir la suspensión de conidias al olivo, parte de esta suspensión pudo haber escurrido por el tallo durante el sellado de la herida con Parafilm, produciendo que un bajo porcentaje de éstas quede al interior de la herida en el olivo. Por otro lado, las conidias necesitan germinar y luego infectar los tejidos (Agrios 2005), lo que puede retrasar el tiempo de colonización y desarrollo interno en la planta, a diferencia de lo que sucede con el micelio, que al introducirlo en

la herida comienza de inmediato con la infección y luego colonización de los tejidos, requiriendo un menor tiempo que las conidias, siendo este método más efectivo y rápido en producir lesiones en las plantas. A través de los reaislamientos se pudo comprobar que las especies tomadas en el muestreo fueron las mismas al momento del desarrollo de la inoculación, observándose las mismas características culturales y morfológicas que fueron idénticas al aislamiento original.

Al evaluar los factores ambientales como la temperatura y la humedad relativa de las zonas muestreadas nos ayudan explicar de mejor manera la proliferación de las especies fúngicas encontradas, donde se encontró que la regresión de la temperatura y humedad relativa son factores directamente proporcionales a la proliferación de las especies fúngicas. De los factores evaluados, la temperatura (°C) es la que mayor impacto tiene en la proliferación de hongos con el valor de la pendiente de la ecuación de regresión de 13,99 números de colonias fúngicas por grado de temperatura. Asimismo, la humedad relativa según la regresión indica que por cada unidad que aumenta la (HR%) el número de colonias fúngicas en promedio aumenta 4,31 colonias. La influencia de los factores ambientales se podría explicar en el comportamiento del patógeno, lo que podría favorecer su desarrollo.

## VI. CONCLUSIONES

- Se evaluó la presencia de hongos fitopatógenos asociados a *Hylesinus oleiperda* “barrenillo del olivo”, comprobándose que las especies fúngicas fitopatógenas aisladas del olivo corresponden a cinco géneros en las zonas de Magollo, Asentamiento 4 y el Asentamiento 5 y 6 de Tacna.
- Se aislaron e identificaron morfológicamente los hongos fitopatógenos que corresponden a las especies de *Phaeoacremonium aleophyllum*, *Phaeoacremonium viticola*, *Phaeoacremonium sp.*, y *Phaeomoniella chlamydospora* que presentaron mayor incidencia en las muestras de olivo asociadas a *Hylesinus oleiperda* y con menor incidencia las especies fitopatógenas de *Fusarium solani*, *Sporothrix sp.* y *Geotrichum candidum*. Asimismo, se aislaron hongos saprófitos asociados a *Hylesinus oleiperda* que corresponden a las especies de *Gliocladium viride*, *Gliocladium virens*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus terreus*, *Penicillium glabrum* y *Chaetomiun sp.*

- Se demostró la capacidad de patogenicidad de los aislamientos fúngicos con mayor incidencia como *Phaeoacremonium aleophyllum*, *Pm. viticola*, *Phaeoacremonium sp.* y *Phaeomoniella chlamydospora* en los dos tratamientos inoculados. El tratamiento "A" (inoculación con micelio) fue el método más efectivo en producir mayor porcentaje de plantones de olivo con síntomas y longitud de lesión. El tratamiento "B" (con inóculo de conidias) resultó menos efectivo que el tratamiento "A".
- Se estableció la relación entre los factores ambientales donde se evaluó la humedad relativa (%HR) y la temperatura (°C), siendo esenciales en el momento de realizar el muestreo. En cuanto a la temperatura es la que mayor impacto tiene en la proliferación de especies fúngicas con 13,99 número colonias fúngicas por grado de temperatura; la humedad relativa indicó que el número de colonias fúngicas en promedio aumentó 4,31 colonias por unidad de % HR.

## VII. RECOMENDACIONES

- De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio se recomienda tomar los estudios realizados como base para futuras investigaciones orientadas a la elaboración de nuevas estrategias eficaces de control como la aplicación de hongos biocontroladores y generar métodos de control integrado, efectivos para esta asociación (*Hylesinus oleiperda* - complejo de hongos) que viene generando pérdidas y gastos en la producción de aceituna en las principales zonas de cultivo de olivo en Tacna.
- En base a los análisis y resultados obtenidos en el presente estudio se hace necesario considerar en las futuras investigaciones el mejoramiento en la metodología de identificación de especies fúngicas utilizando la identificación molecular (PCR) para una mejor identificación de estas especies fitopatógenas.

- Para las pruebas de patogenicidad se sugiere utilizar olivos jóvenes y en edad productiva (mayores a 10 años) y ampliar el periodo de evaluación de la patogenicidad de los hongos fitopatógenos identificados; también, se sugiere efectuar evaluaciones de la capacidad antagonista de especies entomopatógenas frente a los hongos fitopatógenos aislados.
- Se recomienda evaluar otros factores que influyan en el muestreo de campo como el análisis del suelo, factores climatológicos y las condiciones culturales en que se encuentran los olivares y su relación con cultivos aledaños. Los factores ambientales de las zonas olivaderas son importantes al momento de ejercer algún estudio de biocontrol para el barrenillo del olivo.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **ALFIERI, S. A., LANGDON, K. R., KIMBROUGH, J. W., ELGHOLL, N. E. y WEHLBURG, C. 1994.** Diseases and disorders of plants in Florida. Bulletin N° 14. 1114p.
2. **ADASKAVEG J.E, GILBERTSON R.L. 1986.** In vitro decay studies of selective delignification and simultaneous decay by the whiterot fungi *Ganoderma lucidum* and *Ganoderma tsugae*. Canadian Journal of Botany 64: 1615–1629
3. **AGRIOS. 2005.** Manual de enfermedades de las plantas. México: Limusa.
4. **AGUILAR, F. P.; SALAZAR, T.J.; NUÑEZ, E. 1980.** Apuntes sobre el control biológico y el control integrado de las plagas agrícolas del Perú. El cultivo del Olivo. Revista Peruana de Entomología. Vol 23(1): 93-110.
5. **ALEXOPOULUS, C.J. 1985.** Introducción a la micología. Barcelona: Omega
6. **ALVARADO, P., MANJON, J.L., MATHENY, P.B., RAVENTOS, F. 2010.** *Tubariomyces*, a new genus of *Inocybaceae* from the Mediterranean region *Mycologia*, 102 (2010), pp. 1389–1397.

7. **ALVIDREZ, R., HERNANDEZ, D., GARCÍA, O., MENDOZA, R. 2012.** Isolation and pathogenicity of fungi associated to ambrosia borer (*Euplatypus segnis*) found injuring pecan (*Carya illinoensis*) wood. Department of Basic Sciences, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, México
8. **ARAMBOURG, I. 1984.** La Entomología del Olivo. *Olivae* 4. 14-21.
9. **AYQUIPA, A, SIRLOPU, J. 1979.** Crianza masiva de *Diatraea saccharalis* Fabricuis; en dieta artificial; para propagación del parasitoide *Paratheresia claripalpis*. Wulf. En: Revista Peruana de Entomologia. Vol. 02 N° 21. Pag. 55-56.
10. **BALTODANO, I. 2009.** Diagnóstico de enfermedades en pino (*Pinus* spp) en fincas del municipio de San Fernando en Nueva Segovía. Ingeniería thesis, Universidad Nacional Agraria, UNA. - See more at: <http://repositorio.una.edu.ni/2127/#sthash.mg7DZmfu.dpuf>
11. **BARBOSA, P., WAGNER, Y M. 1989.** Symbiotic Association of forest insect, microorganism and trees. Capítulo 5. In: Barbosa, P. and Wagner, M. Introduction to Forest and Shade Tree Insects. USA, Academic Press. Pp 119 a 149.
12. **BARONE, E. y DI MARCO, L. 2003.** Capítulo 2: Morfología e ciclo di sviluppo. Pp 13-33. Fiorino Piero Edagricole. Trattato di olivicoltura. Bologna, 461.

13. **BARRANCO, D. 2008.** El cultivo del olivo, sexta edición, Ediciones Mundi –PrensaMadrid, 846.
14. **BARRANCO D., FERNÁNDEZ-ESCOBAR R. y RALLO L. 2008.** El Cultivo del Olivo. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, Spain, 846 pp.
15. **BARRANCO D., RUIZ N., GÓMEZ-DEL CAMPO M. 2008.** Frosttolerance of eight olive cultivars. HortScience 40: 558-560.
16. **BEAVER, R. A. 1989.** Insect-fungusrelationships in thebark and ambrosia beetles. En: Wilding, FL; Collins N. M.; Hammond R M.; Webber J. F. (eds.) Insect - Fungusinteractions. AcademicPress, New York, Chap. 5, p. 121-143.
17. **BENAZOUN, A. 1992.** Contribution to the biologicalstudy of the olive barkborer, *Phloeotribus scarabaeoides* Bern. (Col., Scolytidae) in olive trees in theTaroudant region of Morocco. Olivae, 40: 26-36
18. **BLANCHETTE, R. A. 1992.** Anatomical responses in xylemtoinjury and invasionbyfungi. Pages 76-95 in: Defense Mechanisms of Woody Plants Against Fungi. R. A. Blanchette and A. R. Biggs, eds. Springer-Verlag, New York.
19. **BONELLO, R; MCNEE, W. R.; STORER, A. J.; WOOD, D. L.; GORDON, T. L. 2001.** The role of olfactorystimuli in thelocation of weakened hosts bytwig-infesting *Pityophthoru ssp.* EcologicalEntomology 26 (1): 8-15.

20. **BONNEMAISON, L.1965.** Enemigos animales de las plantas cultivadas y forestales. Tomo II. Edic. Occidente. Barcelona, España. 222 p.
21. **BORROR, D.J., DELONG, D. M. AND TRIPLEHORN, C. A. 1976.** An Introduction to the Study of Insects. Holt, Rinehart and Winston, New York.
22. **BROCK,T.D. 1974.** Biology of Microorganisms. Prentice Hall, EnglewoodCliffs, NJ.
23. **CANALES, C. A y VALDIVIESO, L. 1999.** Manual de control biológico para la conducción del cultivo del olivo. Servicio Nacional de Sanidad Agraria, Programa Nacional de Control Biológico. Lima.
24. **CAPUZ E., ROLANDO J.2009.** Identificación de microorganismos antagonistas de fitopatógenos de suelo y su efecto *in vitro* e invernadero en especies hortícolas. Universidad de Guayaquil. 80 p.
25. **CARLUCCI, A., RAIMONDO, ML, CIBELLI, F., PHILLIPS, AJL. 2013.** Pleurostomophora richardsiae, Neofusicoccum parvum y Phaeoacremonium aleophilum asociado con una disminución de la aceituna en el sur de Italia. Phytopathologia Mediterranea, 52, 517-527.

26. **CASTELLETI, E.2010.**Poblaciones epífitas de *Geotrichum candidum* Link ex Pers. en postcosecha de duraznos y validación de un sistema de pronóstico temprano de la pudrición ácida
27. **CIVANTOS, M. y SÁNCHEZ, M. 1993.** Control integrado en el olivar español y su influencia en la calidad. *Agricultura*, LXII: 854-858.
28. **COOK, R.J., & BEAKER, K.F. 1983.** *The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens*. St. Paul, Minn: APS Press.
29. **CROWSON, R.1984.** The associations of coleóptera with ascomicetes. Chapter 11. In. Wheeler, Q. and Blackwell, M. (eds.) *Fungus-Insects Relationships*. New York, Columbia University Press, pp. 256-285.
30. **CUEVAS J, POLITO V.S. 2004.** The role of staminateflowers in the breeding system of *Olea europaea* (Oleaceae): anandromonoecious, wind-pollinatedtaxon. *Annals of Botany* **93**, 547–553.
31. **CHAMBILLA, C.I. 2005.** Capacitación y Asistencia Técnica en prevención y control integrado del *Hylesinusoleiperda* y *Orthezia olivícola* en el cultivo del olivo en la Región Tacna. Gobierno Regional de Tacna. Nº 3. Primera Edición, Tacna. 216 pp.

- 32. DAMM U, CROUS PW, FOURIE PH. 2007.** *Botryosphaeriaceae* como posibles agentes patógenos de las especies de *Prunus* en Sudáfrica, con descripciones de africana *Diplodia* y *Lasiodiplodia plurivora* spp .*Mycologia* noviembre 99: 664-680 [. PubMed]
- 33. DEIDA, P. 2003.** Capítulo 4: La Fenología. Pp 57-73. Fiorino Piero Edagricole.Trattato di olivicoltura. Bologna, 461.
- 34. DEZA, Q.J.E. y GUERRA, T.C. 1989.** Morfología, biología y distribución de *Hylesinusoleiperda* F. (Coleóptera: Scolytidae) plaga clave del olivo, en el valle de Tacna. XXXII Convención Nacional de Entomología "J.E. Wille". PROGRAMA Y RESÚMENES. Lima – Perú.
- 35. DIX, N. y WEBSTER, J. 1995.** *Fungal Ecology*. Chapman y Hall, Boundary Row, Londres SE1 8 HN, UK, p: 549.
- 36. DOWD, P. F. 1992.** Insectfungalsymbionts: A promising source of detoxifying enzymes. *Journal of Industrial Microbiology* 9:149–161.
- 37. DUPONT, J., LALOUI, J., MAGNIN, S., LARIGNON, P., ROQUEBERT M.F.2000.** *Phaeoacremonium viticola*, a new species associated with Esca disease of grapevine in France. *Mycologia* 92, 499–504.
- 38. FERNÁNDEZ. R.1998.** Diagnóstico del estado nutritivo y fertilización del olivar. *Phytoma España* 102: 54-55.

39. **FISHER, PJ, PETRINI, O., PETRINI, LE, Y DESCALS, E. 1992.** Un estudio preliminar de los hongos que habitan en el xilema y todo proviene de *Olea europaea*. *Sydowia*, 44, 117-121.
40. **GRAMAJE, D., ARMENGOL, J., MOHAMMADI, H., BANIHASHEMI, Z., Y MOSTERT, L. 2009.** Especies *Phaeoacremonium* novedosos asociados con la enfermedad de Petri y esca de la vid en Irán y España. *Mycologia*, 101, 920 a 929.
41. **GRANADOS, M.M. 2005.** Amy Aislamiento e identificación de hongos asociados a esclerocios de *Sclerotium cepivorum*, causante de la pudrición blanca de la cebolla, en la zona alta de Cartago, Costa Rica *Agronomía Costarricense*, vol. 29, núm. 1, enero-junio, 2005, pp. 57-66
42. **GIBBS, J. N. 1993.** The biology of ophiostomatoid fungi causing in trees and freshly cut logs. In: WINGFIELD, M. J., SEIFERT, K. A.; WEBBER, J. F. (eds.), *Ceratocystis and Ophiostoma. Taxonomy, Ecology, and Pathogenicity*. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. pp. 153-160.
43. **GIL, P. Z.; Bustillo, A.E.; Gómez, D.E. y Marín, M.P. 2004.** *Corthylus* sp. (Coleoptera: Scolytidae), plaga del aliso en la cuenca de río Blanco en Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*. 30 (2):171-178.

44. **GÓMEZ DEL CAMPO M., RAPOPORT H. 2008.** Descripción de la iniciación floral, floración, cuajado, caída de frutos y endurecimiento del hueso. Dossier agricultura. Pg. 400-406.
45. **GÓMEZ, D. 2012.** Escarabajos de corteza en Uruguay: Situación actual y perspectivas (en línea). REVISTA INIA URUGUAY N°30: 48-51 .Consultado 15 de mar. 2013. Disponible en <http://www.inia.org.uy/online/site/publicación-ver.php?id=2602>.
46. **GONZÁLEZ, R. y CAMPOS, M.1994.** A preliminary study of theeffect of attacks by *Phloeotribuss carabaeoides* (Bern.) (Col., Scolytidae) ontheproductivity of the olive tree (*Olea europea* L.). Bull. Soc. Entomol. Suisse, 67: 67-75.
47. **GORDON, T. L.; STORER, A. J.; WOOD, D. L. 2001.** The pitch cankerepidemic in California. *PlantDiseases* 85 (11): 1128-1139.
48. **GRAHAM, K. 1967.** Fungal-Insects mutualism in trees and timber. *Annual Review of Entomology* 12. 105-126.
49. **GUCCI R., MANCUSO S., SEBASTIANI L. 2003.** Resistenzaagli stress ambientali. In: Fiorino P. (ed.). *Olea. Trattato di Olivicoltura*, pp. 91-111. Edagricole, Bologna, Italy.
50. **GUTIÉRREZ PAULANO, F. y Fernández Hernández, A. 2009.** Control de plagas y enfermedades del olivo. Jaén, ES. Andaluz de Investigación y Formación Agraria, Pesquera, Agroalimentaria y de

la Producción Ecológica nº 918 (en línea).s.n.t. Consultado 23 mar. 2013.

51. **HARTMANN, H.T., BROWN J.G.1953.** The effect of certain mineral deficiency on the growth, leafappearance, and mineral content of young olive trees. *Hilgardia* 22: 119-130.
52. **HAUSNER, A., REID, J., y KLASSEN, G. R. 1998.** Do galeateas cosporemembers of the Cephaloascaceae, Endomycetaceae and Ophiostomata
53. **HEATH, J.J. y STIREMAN, J.O. III. 2010.** Dissecting the association between a gallmidge, *Asteromyiacarbonifera*, and it ssymbiotic fungus, *Botryos phaeriadothidea*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 137, 36–49
54. **HUANG, C.H., LIANG, M.F., KAM, Y.C. 2003.** The fat tyacidcomposition of oophagoustadpoles (*Chirixaluseoffingeri*) fed conspecificor chick enegyolk.*Comparative Biochemistry and Physiology* 135, 329–336.
55. **JANSON, E.M., PEEDEN, E.R., STIREMAN, J.O. y ABBOT, P. 2008.** Symbiont-mediated phenotypic variation without co-evolution in aninsect–fungus association. *Journal of EvolutionaryBiology*, 23, 2212–2228.

56. **JIMÉNEZ, R.M., CIRULLI, M., BUBICI, G., ANTONIOU, P.P., y ELEFThERIOS, CT .2012.** Marchitez por *Verticillium*, una amenaza importante para la producción de aceitunas: Estado actual y perspectivas de futuro para su gestión *Plant Disease*, 96, 304-329.
57. **JUACIDA, P; QUINTANAR, J.1992.** Protección de la madera: - Agentes causales de degradación. – Durabilidad natural. Publicación docente N°37. Universidad Austral de Chile.
58. **KIRK TK, CULLEN, D. 1998.** Enzymology and molecular genetics of wood degradation by white-rot fungi. *Environment all friendly technologies for the pulp and paperindustry*. Wiley, Hoboken
59. **KROKENE P, SOLHEIM H, 1997.** Growth of four bark beetle-vectored blue-stainfungi in relation to the induced wound response in Norwayspruce. *Canadian Journal of Botany* **75**, 618–25.
60. **KUKOR, J.J, MARTIN, M.M .1983.** Adquisición de enzimas digestivas por Wood was pssiricid de sus simbioses fúngicos.
61. **LANDA, C.B. DEL.; JIMÉNEZ, D.R. Y NAVAS, C.J. 2009.** Sostenibilidad de la producción de olivar en andalucía: control de enfermedades causadas por microorganismos (en línea). Andalucía, España. Junta de andalucía. consultado 25 de mar. 2013. Disponible en [http://www.ias.csic.es/gomez\\_calero\\_jose.htm](http://www.ias.csic.es/gomez_calero_jose.htm).

- 62. LARIGNON P, DUBOS B. 2000.** Preliminary studies on the biology of *Phaeoacremonium*. *Phytopathologia Mediterranea* 39, 184–9
- 63. LAVEE S., RALLO I., RAMOS A.1996.** Efecto de la defoliación, de la carga del árbol y de la acumulación de frío en la brotación forzada de yemas de estacas de olivo. *Actas de horticultura* vol. 15 pp. 97-102.
- 64. LÓPEZ, R L. 2007.** Los escolítidos de las coníferas del País Vasco: guía práctica para su identificación y control. Lur 11 .1ª ed. Vitoria-Gasteiz. Consultado 27 de mar. 2013. Disponible en <http://www.avisosneiker.com/wp-content/uploads/2011/02/Guia-practica-de-identificacion-y-control-de-los-escol%C3%ADtidos-de-las-coniferas-del-Pais-Vasco.pdf>
- 65. LOPEZ, R.S.; ROMON, O.P.; ITURRONDOBEITIA, B.J.C.; GOLDARAZENA, L.A.2011.** Los escolítidos de las coníferas del Pino Vasco. Guía Práctica para su identificación y control. Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco.
- 66. LOZANO, C; BENAZOUN, A.; KIDD, N. & CAMPOS, M. 1998.** Primeros estudios sobre dinámica de poblaciones de *Phloeotribuss carabaeoides* (Bernard, 1788) (Coleóptera: Scolytidae) en Marruecos. *Boletín de la Asoc. Española de Entomología*, Vol. 22(3-4): 149-157.

67. **MONTALVÁ G, J. y Toledo P, J. (2002).** Manual para la Obtención del Carné de Manipulador de Plaguicidas de Uso Fitosanitario: Alteraciones de las Plantas Cultivadas (en línea). España. Generalitat Valenciana, Consultado 25 de mar. 2013. Disponible en <http://www.ivia.es/sdta/pdf/libros/n54.pdf>
68. **MOORE ,LANDECKER, E. 1996.** Fundamentals of theFungi. Prentice Hall International Inc., New Jersey.
69. **MASSOGARDEN.2013.** Hongo de la podredumbre rosa de las Palmeras, Nalanthamala (*Gliocladium Vermoesenii*).
70. **MORSE, A.; BLANCHETTE, R. 2002.** Etiology of red stain in boxelderAcer negundo. Department of plantpathology. University of Minnesota, St. Paul, Plant Management Network, 17 September, 2002.
71. **MOSTERT, L., PW CROUS, JZ GROENEWALD, W. GAMS, y R. SUMMERBELL. (2006).** Togninia(Calosphaerales) se confirma como teleomorfo de Phaeoacremonium por medio de la morfología, la compatibilidad sexual, y la filogenia del ADN Mycologia 95: 646 - 659.

- 72. OLIVEIRA, C.G, FERRAZ, L.B., MONTEIRO, A.R, FENTON, B., NEILSON, R.2004.** Molecular and morphometric analyses of *Xiphidorus* species (Nematoda: Longidoridae). *Nematology* 6:715–727.
- 73. PAINE TD, RAFFA KF, HARRINGTON TC, 1997.** Interactions among scolytid bark beetles, their associated fungi, and live host conifers. *Annual Review of Entomology* 42, 179–206.
- 74. PESTAÑA, N.M. 2010** Interacciones ecológicas entre insectos y hongos en *Pinus pinaster* Ait. Tesis para Doctorado. España.-
- 75. RAPOPORT, H.F.2008.** Botánica y morfología. El cultivo del olivo. (Eds D Barranco, R Fernández-Escobar, L Rallo) pp. 37–62. (Mundi-Prensa: Madrid)
- 76. RAYNER, A.D.M., BODDY, L., 1988.** Fungal Decomposition of Wood. Wiley, Great Britain
- 77. RAIMONDO, ML, LOPS, F., Y CARLUCCI, A. (2014).** *Phaeoacremonium italicum* sp. nov. una nueva especie asociados con Yesca de la vid en el sur de Italia. *Micología*, 106, 1119-26.
- 78. RETIEF E., MCLEOD, A. y FOURIE, P.H. 2006.** Potential inoculum sources of *Phaeomoniella chlamydospora* in South African grape vine nurseries. *European Journal of Plant Pathology* 115, 331–339.

79. **REYES CAPURRO, M.** 2007. Asociación hongos-insectos xilófagos presentes en muestras de maderas ingresadas en el Laboratorio Regional del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) - Osorno. (Trabajo de titulación).Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Austral de Chile, 50 pp.
80. **RIDOUT, B.** 2000. Timber decay in Buildings, The conservation approach to treatment, London, Spon.
81. **RODRÍGUEZ J.**1998. Patología de la madera. Ediciones Mundi-Prensa. España: pp. 37-94.
82. **RODRÍGUEZ, D.E.; Barrero, A. y Bueno, M.P.** 1998. Barrenillos: *Hylesinus oleiperda* Fabricius, *Phloeotribuss carabaeoides* Bernard. Servicio de Sanidad Vegetal, ficha técnica N° 30.Disponible en: <http://aym.juntaex.es/servicios/boletin/>.
83. **RUBIO G., RALLO L., RAPOPORT H.** 2007. Crecimiento de brotes y yemas fructíferas de Olivo XI Congreso SECH Albacete Actas de horticultura nº 48
84. **SALAZAR, C. y M. CEPERO DE GARCÍA.** 2005. Aislamiento de hongos endófitos en rosa (*Rosa hybrida*) en Bogotá, Colombia. Rev. Iberoam Micol. 22: 99-101.

85. **SALDARRIAGA OSORIO y Pineda Gutiérrez, F. (2001).** Manual de Micología Aplicada. Medellín, CO. Ed. Universidad de Antioquía .6 p. (Colección Ciencia y Tecnología).
86. **SALVADORI, J. R. 2000.** Coró do trigo. Passo Fundo, Embrapa Trigo, 56p.
87. **SAVORY, J.G. 1954.** Breakdown of timberby Ascomycetes and fungiimperfects. Ann Appl. Biol.41: 336-347.
88. **SEIFERT, K.A. 1993.** Sapstain of commerciallumberbyspecies of Ophiostoma and Ceratocystis. In: Ceratocystis and Ophiostoma; Taxonomy, Ecology, and Pathogenicity. Eds. M.J. Wingfield, K.A. Seifert, J.F. Webber. American PhytopathologicalSociety, St. Paul, MN. pp. 141–151.
89. **SENASA (SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA, PE),** 2001. Seguimiento de plagas y enfermedades (monitoreo): Diagnóstico de plagas y enfermedades en el cultivo de olivo en los valles de Tacna. Ed. SENASA, PE. 67p.
90. **SENASA (SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA, PE),** 2004. Asistencia Técnica para Productores de Olivo en Manejo de Plagas y Enfermedades. Ed. PROYECTO UE-PERU/PENX.PE .3-4 p.

91. **SENASA (SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA, PE),** 2007. Sanidad vegetal y Control Biológico en los Valles de Tacna. Ed.Gobierno Regional de Tacna, PE.14340 p.
92. **SINGLETON, L., MIHAIL, J., y RUSH. 1993.** Methods fore search on soliborne phytopathogenic Fungi. (2da. ed.). Washington, DC.: APS Press.
93. **SOLHEIM H, SAFRANYIK L, 1997.** Pathogenicity of the spruce beetle associated blue-stain fungi, *Ceratocystis rufipenniand* *Leptographium abietinum*to Sitka spruce. Canadian Journal of Forest Research 27, 1336–41.
94. **SOUTHWOOD, T.R.E. 1973.** The insect plant relationship – an evolutionary perspective. In Insect/ Plant Relation ships, ed. by H.F. van Emden, pp. 3-30. Symposia of the Royal Entomological Society, 6, Blackwell Scientific Publications, Oxford.
95. **SULCA Q.L. 2007.** Estudio de la micoflora presente en la rizósfera de plantaciones de olivo, *olea europaea* l., con muerte regresiva en la zona la yarada del departamento de tacna.pp. 1-2.
96. **TEJEDA-RICARDEZ, J., VACA-GARCIA, C., BORREDON, M.E., 2003.** Design of a batch solvolytic liquefaction reactor for the vaporization of residues from the agricultural food stuff. Chem. Eng. Res. Des. 81, 1066–1070.

- 97. TIBERI R. AND RAGAZZI A.1998.** Association between fungi and xylophagous insects of declining goaks in Italy. *Redia*, 81, 83-91.
- 98. TOMBESI A.2003.** Biologia fiorale e di fruttificazione. In: Fiorino P. (ed.). *Olea. Trattato di Olivicoltura*, pp. 35-55. Edagricole, Bologna, Italy.
- 99. TORRES, J. 1975.** Principales enfermedades de nuestras especies forestales. E.T.S. de Ingenieros de Montes. Madrid, 255 pp.
- 100. TRAPERO, C., RALLO, L., BLANCO-LÓPEZ, M.A., LÓPEZ-ESCUADERO, F.J .2010.** Improvement of inoculation methods for screening olive genotypes for resistance to *Verticillium dahliae*. 10th Symposium, Book of Abstracts, Corfu Island, Hellas, p 70.
- 101. ÚRBEZ-TORRES, JR, PEDUTO, F., VOSSEN, PM, KRUEGER, WH, Y GUBLER, WD .2013.** Ramita de olivo y muerte regresiva rama: etiología, incidencia y distribución en California *Plant Disease*, 97.
- 102. VEGA, F. E., AND G. MERCADIER. 1998.** Insects, coffee, and ochratoxin A. *Florida Entomologist* 81:543-544.
- 103. VEGA, F. E., M. B. BLACKBURN, C. P. KURTZMAN, AND P. F. DOWD. 1999.** Identification of a coffee berry borer-associated yeast: Doesit break down caffeine *Entomologia Experimentalis et Aplicata* 107:19–24.

- 104. WAINWRIGHT M. 1995** an Introduction to Fungal Biotechnology. Wiley, Chichester.
- 105. WEBBER, J. F.; GIBBS, J. N. 1989:** Insect dissemination of fungal plant pathogens of trees. In: Insect-Fungus Interactions. Ed. by Wilding, N.; Collins, N. M.; Hammond, P. M.; Webber, J. F. London: Academic Press, pp 161–193.
- 106. WENDT S. B.E. 1983.** Efectos del almacenamiento de madera en rollizos en el rendimiento y resistencia de pulpa Kraft de pino insigne. Universidad de Concepción, Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Química. 134 p.
- 107. WILLIAMS J., A. KUBILIK, K. LIVAK, J. RAFALSKI AND S.TINGEY, 1991.** DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18(22), 6531–6535.
- 108. WINGFIELD, M.; SEIFERT, K.; WEBBER, J. 1993.** *Ceratocystis and Ophiostoma: Taxonomy, ecology and pathogenicity.* The American Phytopathological Society, Minnesota, 293 p.
- 109. WORRAL, J.; Anagnost, E. y Zabel, R.A. 1997.** Comparison of Wood decay among diverse lignicolous fungi. *Rev.Micologia* 89(2):199-219.

## **IX. ANEXOS**

## Anexo 1. Procedencia de las muestras procesadas

<b>Ficha de campo para la evaluación de hongos fitopatógenos asociados al "barrenillo del olivo" en cultivos de olivo en el valle de Tacna Periodo mayo - setiembre del 2013</b>
--

<b>ZONA 1: MAGOLLO</b>
------------------------

**Datos Informativos**

<b>Nombre del Fundo:</b> Lateral 16 – E	<b>Área:</b> 1 Ha	<b>Dueño de la Finca:</b> Norma Avendaño
<b>Cacilla Zona/Sector:</b> Magollo	<b>Lugar:</b> Magollo B lateral 16 – B	
<b>Georeferenciación:</b> Latitud sur: 18º 09' 62'' Longitud oeste: 70º 28' 08,15''		
<b>Fecha de Evaluación:</b> 1 jun.	<b>Hora de inicio:</b> 10:00 am	<b>Hora final:</b> 12:00pm
<b>Edad del cultivo:</b> 20 años	<b>Variedad:</b> Sevillana	
		<b>Muestreo :</b> N°1

**Parámetros de evaluación**

N° de Planta	Cuadrante	Tejido sintomático	Escala de Grado de infestacion del Olivo	Caracterización de síntomas asociado a la enfermedad en campo			Total de muestras enfermas	Procedencia
				Manchas	Marchitez	Pudrición		
P 1	Oeste	4	rama	2	x	x	x	Magollo
	Sur	2	rama	3	x	x		Magollo
	Norte	1	rama	2	x	x	x	Magollo
	Este	2	rama	4	x	x		Magollo
P 2	Oeste	4	rama	4	x	x		Magollo
	Sur	2	rama	3	x		x	Magollo
	Norte	4	rama	2		x	x	Magollo
	Este	1	rama	3	x	x	x	Magollo
P 3	Norte	4	rama	3		x		Magollo
	Oeste	2	rama	4	x	x	x	Magollo
	Sur	2	rama	3	x	x	x	Magollo
	Este	3	rama	2	x	x		Magollo
P 4	Norte	2	rama	3	x		x	Magollo
	Oeste	5	rama	2		x	x	Magollo
	Sur	3	rama	3	x	x		Magollo
	Este	2	rama	2	x	x	x	Magollo
P 5	Norte	3	rama	3	x		x	Magollo
	Sur	4	rama	2	x	x	x	Magollo
	Este	5	rama	3		x		Magollo
	Oeste	2	rama	4	x		x	Magollo

## Anexo 1. Procedencia de las muestras procesadas (continuación)

### Datos Informativos

<b>Muestreo: N°2</b>		
<b>Fecha de Evaluación:</b> 22 jun.	<b>Hora de inicio:</b> 8:00 am	<b>Hora final:</b> 12:00pm

### Parámetros de evaluación

N° de Planta	Cuadrante	Tejido sintomático	Escala de Grado de infestacion del Olivo	Caracterización de síntomas asociado a la enfermedad en campo			Total de muestras enfermas	Procedencia
				Manchas	Marchitez	Pudrición		
P 1	Oeste	4	rama	3	x	x		Magollo
	Sur	4	rama	3		x	x	Magollo
	Norte	4	rama	3	x	x	x	Magollo
	Este	3	rama	3	x	x		Magollo
P 2	Oeste	3	rama	3		x	x	Magollo
	Sur	4	rama	3	x	x	x	Magollo
	Norte	4	rama	3		x		Magollo
	Este	2	rama	3	x	x	x	Magollo
P 3	Norte	3	rama	3	x	x	x	Magollo
	Oeste	4	rama	3		x	x	Magollo
	Sur	2	rama	3	x	x	x	Magollo
	Este	3	rama	3	x		x	Magollo
P 4	Norte	4	rama	3	x	x	x	Magollo
	Oeste	3	rama	3	x	x	x	Magollo
	Sur	3	rama	3	x	x		Magollo
	Este	3	rama	3	x		x	Magollo
P 5	Norte	3	rama	3	x	x	x	Magollo
	Sur	2	rama	3	x		x	Magollo
	Este	2	rama	3	x	x	x	Magollo
	Oeste	4	rama	3	x	x		Magollo

## Anexo 1. Procedencia de las muestras procesadas (continuación)

### Datos Informativos

<b>Muestreo: N°3</b>		
Fecha de Evaluación: 13julio	Hora de inicio: 9:00 am	Hora final: 12:00pm

### Parámetros de evaluación

N° de Planta	Cuadrante	Tejido sintomático	Escala de Grado de infestacion del Olivo	Caracterización de síntomas asociado a la enfermedad en campo			Total de muestras enfermas	Procedencia
				Manchas	Marchitez	Pudrición		
P 1	Sur	4	rama	3	x		x	Magollo
	Este	3	rama	4	x	x	x	Magollo
	Oeste	4	rama	3	x	x	x	Magollo
	Norte	4	rama	3	x	x		Magollo
P 2	Este	3	rama	3	x		x	Magollo
	Norte	2	rama	4		x		Magollo
	Sur	4	rama	3	x	x	x	Magollo
	Oeste	4	rama	4	x	x	x	Magollo
P 3	Sur	4	rama	3	x		x	Magollo
	Norte	3	rama	4	x	x	x	Magollo
	Oeste	2	rama	2		x		Magollo
	Este	3	rama	3	x	x	x	Magollo
P 4	Norte	4	rama	4	x	x	x	Magollo
	Oeste	5	rama	2	x	x		Magollo
	Sur	5	rama	3		x	x	Magollo
	Este	3	rama	4	x	x	x	Magollo
P 5	Oeste	4	rama	4	x		x	Magollo
	Sur	5	rama	3	x	x	x	Magollo
	Norte	3	rama	4	x	x		Magollo
	Este	4	rama	3		x	x	Magollo

**Anexo 1. Procedencia de las muestras procesadas (continuación)**

<b>Ficha de campo para la evaluación de hongos fitopatogenos asociados al "barrenillo del olivo " en cultivos de olivo en el valle de Tacna Periodo mayo - setiembre del 2013</b>
<b>Zona 2 : ASENTAMIENTO 4</b>

**Datos Informativos**

<b>Nombre del Fundo:</b> Los pecanos	<b>Área:</b> 1 Ha	<b>Dueño de la Finca:</b> Luis Cornejo Vargas
<b>Zona/Sector:</b> Asentamiento 4	<b>Lugar:</b> parcela 30, Pozo IRHS 112	
<b>Georeferenciación:</b> <b>Latitud sur:</b> 19º 10' 41'' <b>Longitud oeste:</b> 71º 56' 18,03''		
<b>Fecha de Evaluación:</b> 27 julio	<b>Hora de inicio:</b> 8:30am	<b>Hora final:</b> 12:00pm <b>Muestreo :</b> N°1
<b>Edad del cultivo:</b> 20 años	<b>Variedad:</b> Sevillana	

**Parámetros de evaluación**

N° de Planta	Cuadrante	Tejido sintomático	Escala de Grado de infestacion del Olivo	Caracterización de síntomas asociado a la enfermedad en campo			Total de muestras enfermas	Procedencia
				Manchas	Marchitez	Pudrición		
P 1	Sur	4	rama	3	x	x	x	Asemto 4
	Este	5	rama	1		x	x	Asemto 4
	Oeste	3	rama	2	x		x	Asemto 4
	Norte	3	rama	3	x	x	x	Asemto 4
P 2	Este	4	rama	3		x	x	Asemto 4
	Norte	3	rama	1	x	x		Asemto 4
	Sur	5	rama	2	x		x	Asemto 4
	Oeste	4	rama	2		x	x	Asemto 4
P 3	Sur	3	rama	2	x		x	Asemto 4
	Norte	2	rama	3	x	x	x	Asemto 4
	Oeste	4	rama	3		x		Asemto 4
	Este	3	rama	3	x	x	x	Asemto 4
P 4	Norte	4	rama	3		x	x	Asemto 4
	Oeste	4	rama	2	x	x	x	Asemto 4
	Sur	3	rama	1	x		x	Asemto 4
	Este	2	rama	2	x	x		Asemto 4
P 5	Oeste	2	rama	3	x	x	x	Asemto 4
	Sur	3	rama	1		x		Asemto 4
	Norte	3	rama	2	x		x	Asemto 4
	Este	4	rama	3	x	x	x	Asemto 4

## Anexo 1. Procedencia de las muestras procesadas (continuación)

### Datos Informativos

Muestreo: N°2

Fecha de Evaluación: 27 julio Hora de inicio: 8:30 am Hora final: 11:00pm

### Parámetros de evaluación

N° de Planta	Cuadrante	Tejido sintomático	Escala de Grado de infestacion del Olivo	Caracterización de síntomas asociado a la enfermedad en campo			Total de muestras enfermas	Procedencia
				Manchas	Marchitez	Pudrición		
P 1	Sur	3	rama	1	x	x	x	Asemto 4
	Este	4	rama	2				Asemto 4
	Oeste	1	rama	2	x		x	Asemto 4
	Norte	2	rama	1		x		Asemto 4
P 2	Este	2	rama	2		x	x	Asemto 4
	Norte	1	rama	2	x	x		Asemto 4
	Sur	2	rama	1			x	Asemto 4
	Oeste	3	rama	2		x	x	Asemto 4
P 3	Sur	3	rama	2			x	Asemto 4
	Norte	4	rama	2	x	x	x	Asemto 4
	Oeste	2	rama	1				Asemto 4
	Este	3	rama	2	x	x	x	Asemto 4
P 4	Norte	5	rama	2		x	x	Asemto 4
	Oeste	4	rama	1	x	x		Asemto 4
	Sur	3	rama	1	x		x	Asemto 4
	Este	3	rama	2	x	x	x	Asemto 4
P 5	Oeste	3	rama	2	x	x		Asemto 4
	Sur	2	rama	1		x	x	Asemto 4
	Norte	4	rama	1	x		x	Asemto 4
	Este	4	rama	1		x		Asemto 4

## Anexo 1. Procedencia de las muestras procesadas (continuación)

### Datos Informativos

<b>Muestreo: N°3</b>		
Fecha de Evaluación: 10 agosto Hora de inicio: 9:30 am Hora final: 12:00pm		

### Parámetros de evaluación

N° de Planta	Cuadrante	Tejido sintomático	Escala de Grado de infestacion del Olivo	Caracterización de síntomas asociado a la enfermedad en campo			Total de muestras enfermas	Procedencia
				Manchas	Marchitez	Pudrición		
P 1	Sur	4	rama	3	x	x	x	Asemto 4
	Este	4	rama	2		x	x	Asemto 4
	Oeste	4	rama	3	x		x	Asemto 4
	Norte	3	rama	3	x	x		Asemto 4
P 2	Este	4	rama	2	x	x	x	Asemto 4
	Norte	3	rama	3	x	x		Asemto 4
	Sur	3	rama	3			x	Asemto 4
	Oeste	3	rama	3	x	x	x	Asemto 4
P 3	Sur	5	rama	3			x	Asemto 4
	Norte	4	rama	2	x	x	x	Asemto 4
	Oeste	3	rama	2				Asemto 4
	Este	5	rama	3	x	x	x	Asemto 4
P 4	Norte	4	rama	3		x	x	Asemto 4
	Oeste	5	rama	3	x	x		Asemto 4
	Sur	4	rama	3	x		x	Asemto 4
	Este	4	rama	3	x	x	x	Asemto 4
P 5	Oeste	5	rama	3	x	x	x	Asemto 4
	Sur	5	rama	2		x	x	Asemto 4
	Norte	3	rama	2	x		x	Asemto 4
	Este	4	rama	3	x	x		Asemto 4

**Anexo 1. Procedencia de las muestras procesadas (continuación)**

<b>Ficha de campo para la evaluación de hongos fitopatogenos asociados al "barrenillo del olivo " en cultivos de olivo en el valle de Tacna Periodo mayo - setiembre del 2013</b>
<b>Zona 3 : ASENTAMIENTO 5 y 6</b>

**Datos Informativos**

<b>Nombre del Fundo:</b> Los pecanos	<b>Área:</b> 1 Ha	<b>Dueño de la Finca:</b> Antolín Calizaya Calizaya.
<b>Zona/Sector:</b> la Yarada	<b>Lugar:</b> lote 16- G ,Pozo 3	
<b>Georeferenciación: Latitud sur:</b> 18º 11' 03,43"	<b>Longitud oeste:</b> 70º 26' 06,58"	
<b>Fecha de Evaluación:</b> 17 agosto	<b>Hora de inicio:</b> 8:30am	<b>Hora final:</b> 12:00pm <b>Muestreo :</b> Nº1
<b>Edad del cultivo:</b> 20 años	<b>Variedad:</b> Sevillana	

**Parámetros de evaluación**

Nº de Planta	Cuadrante	Tejido sintomático	Escala de Grado de infestacion del Olivo	Caracterización de síntomas asociado a la enfermedad en campo			Total de muestras enfermas	Procedencia
				Manchas	Marchitez	Pudrición		
P 1	Sur	5	rama	3	x	x	x	Ast. 5 y 6
	Este	4	rama	1	x	x		Ast. 5 y 6
	Oeste	4	rama	2	x		x	Ast. 5 y 6
	Norte	3	rama	3		x	x	Ast. 5 y 6
P 2	Este	4	rama	2	x	x	x	Ast. 5 y 6
	Norte	4	rama	3	x	x		Ast. 5 y 6
	Sur	3	rama	1			x	Ast. 5 y 6
	Oeste	4	rama	2	x	x	x	Ast. 5 y 6
P 3	Sur	4	rama	3			x	Ast. 5 y 6
	Norte	3	rama	1	x	x	x	Ast. 5 y 6
	Oeste	2	rama	3				Ast. 5 y 6
	Este	3	rama	3	x	x	x	Ast. 5 y 6
P 4	Norte	4	rama	3	x	x		Ast. 5 y 6
	Oeste	4	rama	3	x	x	x	Ast. 5 y 6
	Sur	3	rama	2	x		x	Ast. 5 y 6
	Este	3	rama	2		x	x	Ast. 5 y 6
P 5	Oeste	4	rama	3	x	x	x	Ast. 5 y 6
	Sur	2	rama	2		x		Ast. 5 y 6
	Norte	4	rama	3	x		x	Ast. 5 y 6
	Este	3	rama	1	x	x	x	Ast. 5 y 6

## Anexo 1. Procedencia de las muestras procesadas (continuación)

### Datos Informativos

<b>Muestreo: N°2</b>	
<b>Fecha de Evaluación:</b> 31 agosto	<b>Hora de inicio:</b> 9:00 am <b>Hora final:</b> 11:00pm

### Parámetros de evaluación

N° de Planta	Cuadrante	Tejido sintomático	Escala de Grado de infestacion del Olivo	Caracterización de síntomas asociado a la enfermedad en campo			Total de muestras enfermas	Procedencia
				Manchas	Marchitez	Pudrición		
P 1	Sur	4	rama	1	x	x	x	Ast. 5 y 6
	Este	3	rama	3	x	x		Ast. 5 y 6
	Oeste	4	rama	2	x		x	Ast. 5 y 6
	Norte	3	rama	1		x	x	Ast. 5 y 6
P 2	Este	4	rama	3	x	x	x	Ast. 5 y 6
	Norte	4	rama	2	x	x	x	Ast. 5 y 6
	Sur	5	rama	3			x	Ast. 5 y 6
	Oeste	3	rama	1	x	x		Ast. 5 y 6
P 3	Sur	4	rama	1				Ast. 5 y 6
	Norte	3	rama	2	x	x	x	Ast. 5 y 6
	Oeste	4	rama	2			x	Ast. 5 y 6
	Este	4	rama	1	x	x	x	Ast. 5 y 6
P 4	Norte	5	rama	2		x		Ast. 5 y 6
	Oeste	5	rama	3	x	x	x	Ast. 5 y 6
	Sur	3	rama	3	x		x	Ast. 5 y 6
	Este	4	rama	1		x	x	Ast. 5 y 6
P 5	Oeste	5	rama	3	x	x	x	Ast. 5 y 6
	Sur	4	rama	2		x		Ast. 5 y 6
	Norte	3	rama	2	x		x	Ast. 5 y 6
	Este	4	rama	1	x	x	x	Ast. 5 y 6

## Anexo 1. Procedencia de las muestras procesadas (continuación)

### Datos Informativos

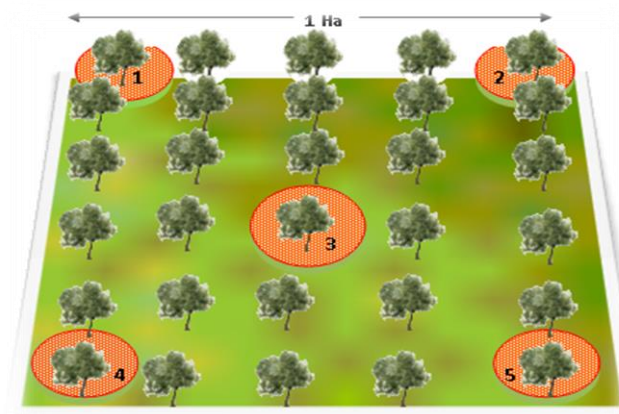
<b>Muestreo: N°3</b>		
Fecha de Evaluación: 07setiembre Hora de inicio: 8:00 am Hora final: 11:30pm		

### Parámetros de evaluación

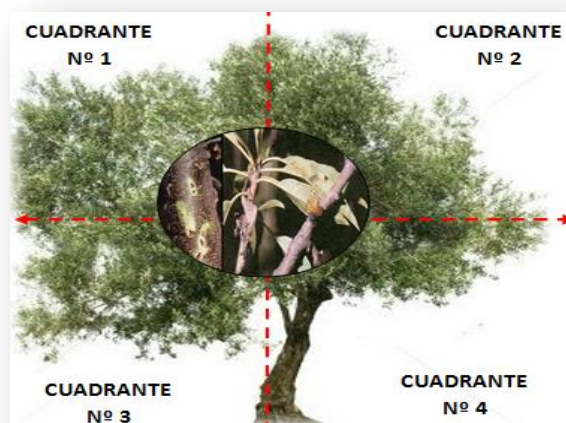
N° de Planta	Cuadrante	Tejido sintomático	Escala de Grado de infestacion del Olivo	Caracterización de síntomas asociado a la enfermedad en campo			Total de muestras enfermas	Procedencia
				Manchas	Marchitez	Pudrición		
P 1	Sur	5	rama	1	x	x	x	Ast. 5 y 6
	Este	4	rama	2			x	Ast. 5 y 6
	Oeste	4	rama	2	x	x	x	Ast. 5 y 6
	Norte	3	rama	1		x	x	Ast. 5 y 6
P 2	Este	4	rama	2		x	x	Ast. 5 y 6
	Norte	3	rama	2	x	x		Ast. 5 y 6
	Sur	3	rama	2	x	x	x	Ast. 5 y 6
	Oeste	2	rama	2	x	x		Ast. 5 y 6
P 3	Sur	3	rama	2	x	x		Ast. 5 y 6
	Norte	2	rama	1	x	x	x	Ast. 5 y 6
	Oeste	2	rama	1	x		x	Ast. 5 y 6
	Este	3	rama	1	x	x	x	Ast. 5 y 6
P 4	Norte	3	rama	2		x	x	Ast. 5 y 6
	Oeste	4	rama	1	x	x	x	Ast. 5 y 6
	Sur	4	rama	1	x			Ast. 5 y 6
	Este	3	rama	2	x	x	x	Ast. 5 y 6
P 5	Oeste	5	rama	1	x			Ast. 5 y 6
	Sur	5	rama	1	x	x	x	Ast. 5 y 6
	Norte	4	rama	1	x	x	x	Ast. 5 y 6
	Este	4	rama	2		x	x	Ast. 5 y 6

**Fuente:** Elaboración propia.

## Anexo 2. Selección de las muestras en campo



A



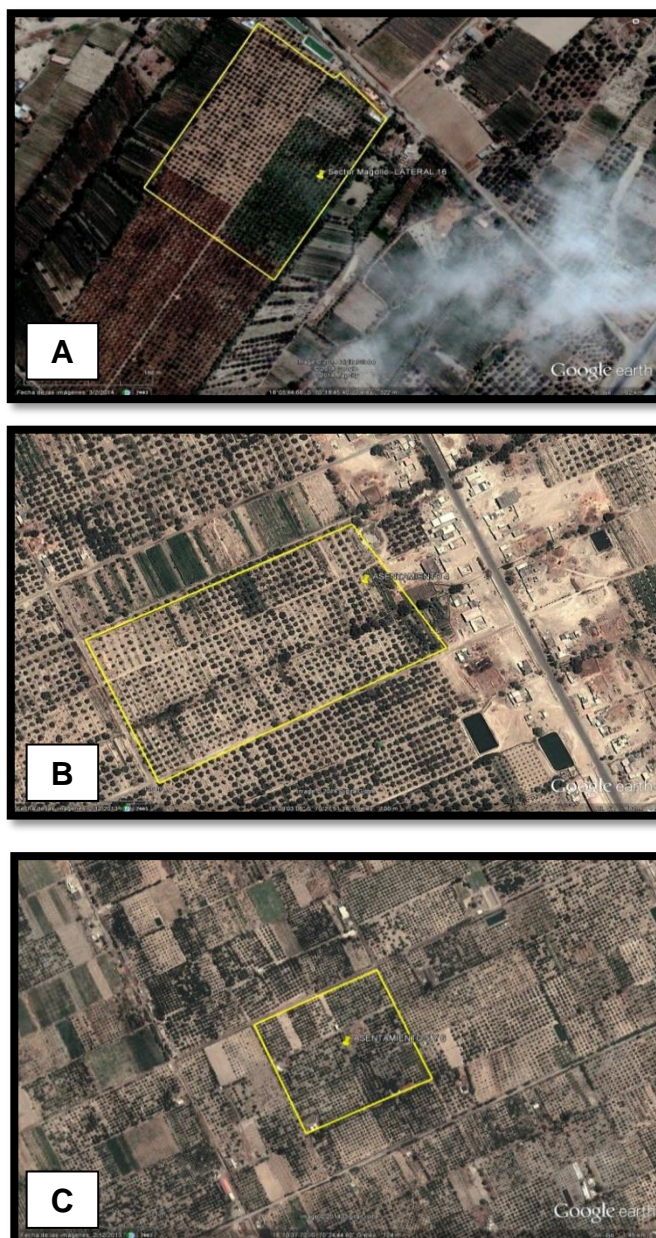
B

**Fuente:** Elaboración propia.

**A.** Toma de muestras de 5 árboles infectados con “barrenillo del olivo” por hectárea de olivo.

**B.** Muestra representativa ramas de olivo con sintomatología

### Anexo 3: Zonificación de las áreas de de muestreo



**Fuente:** Google Earth. 2014.

**A.** Vista satelital de la zona de Magollo, **B.** Asentamiento 4,  
**C.** Asentamiento 5 y 6.

#### Anexo 4. Vista panorámica de las zonas de muestreo



**A**



**B**

**Fuente:** Elaboración propia.

**A.** Zona de muestreo del Asentamiento 4.

**B.** Olivos muestreados atacados por *Hylesinus oleiperda*.

**Anexo 4. Vista panorámica de las zonas de muestreo**



**A**



**B**

**Fuente:** Elaboración propia.

**A y B.** Asentamiento 5 y 6. Olivos muestreados.

**Anexo 4. Vista panorámica de las zonas de muestreo**



**A**



**B**

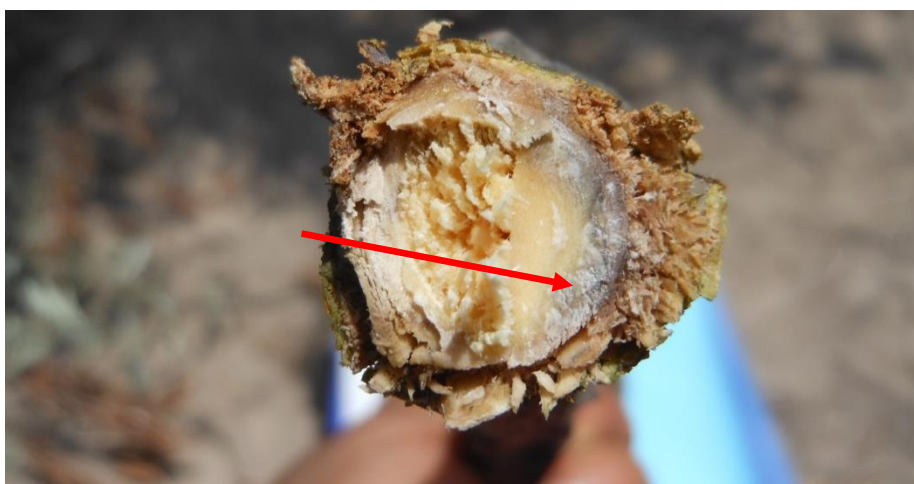
**Fuente:** Elaboración propia.

**A y B.** Magollo. Olivos muestreados afectados con *Hylesinus oleiperda*.

**Anexo 5.** Muestras macroscópicas de los síntomas externos de las ramas de olivo procesadas asociados con *Hylesinus oleiperda*



**A**



**B**

**Fuente:** Elaboración propia.

**A.** Zonas de las ramas afectadas exteriormente por *Hylesinus oleiperda*.

**B.** Corte transversal de la rama donde se observa el oscurecimiento por la presencia de hongos fitopatógenos asociados a *Hylesinus oleiperda*.

**Anexo 5.** Muestras macroscópicas de los síntomas externos de las ramas de olivo procesadas asociados con *Hylesinus oleiperda*



**A**



**B**

**Fuente:** Elaboración propia.

**A y B.** Zonas afectadas por los hongos fitopatógenos se observa zonas blanquesinas dentro de las galerías de *Hylesinus oleiperda*.

**Anexo 5.** Muestras macroscópicas de los síntomas externos de las ramas de olivo procesadas asociados con *Hylesinus oleiperda*



**A**



**B**



**C**

**Fuente:** Elaboración propia.

**A y C.** Zonas afectadas por los hongos fitopatógenos.

**B.** Manchas causadas por *Hylesinus oleiperda*.

**Anexo 5.** Muestras macroscópicas de los síntomas externos de las ramas de olivo procesadas asociados con *Hylesinus oleiperda*



**A**



**B**

**Fuente:** Elaboración propia.

**A.** Orificios de entrada a las galerías de *Hylesinus oleiperda*

**B.** Presencia de larvas dentro de galerías realizadas por *Hylesinus oleiperda*.

**Anexo 5.** Muestras macroscópicas de los síntomas externos de las ramas de olivo procesadas asociados con *Hylesinus oleiperda*



**A**



**B**

**Fuente:** Elaboración propia.

- A.** Zonas afectadas por los hongos fitopatógenos se observa en el corte interno de las galerías de *Hylesinus oleiperda*.
- B.** Presencia de larvas de *Hylesinus oleiperda* en las muestras.

**Anexo 6.** Procedimiento de la recolección de las muestras en campo



**Fuente:** Elaboración propia.

**A.** Recolección de las ramas de olivo atacados por *Hylesinus oleiperda* con síntomas de pudrición marchitez y decaimiento del árbol.

## Anexo 7. Procesamiento de las muestras en el laboratorio



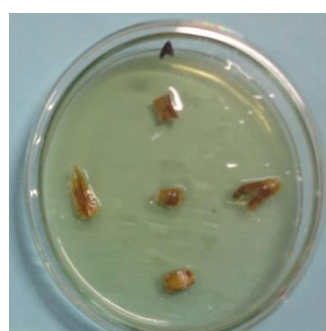
Fuente: Elaboración propia.

A y K. Siembra y aislamiento de los hongos presentes en las ramas de olivo atacadas por *Hylesinus oleiperda*.

**Anexo 8.** Medios de cultivo empleados en los aislamientos de las especies fúngicas asociadas con *Hylesinus oleiperda* en olivo



**A**



**B**



**C**



**D**

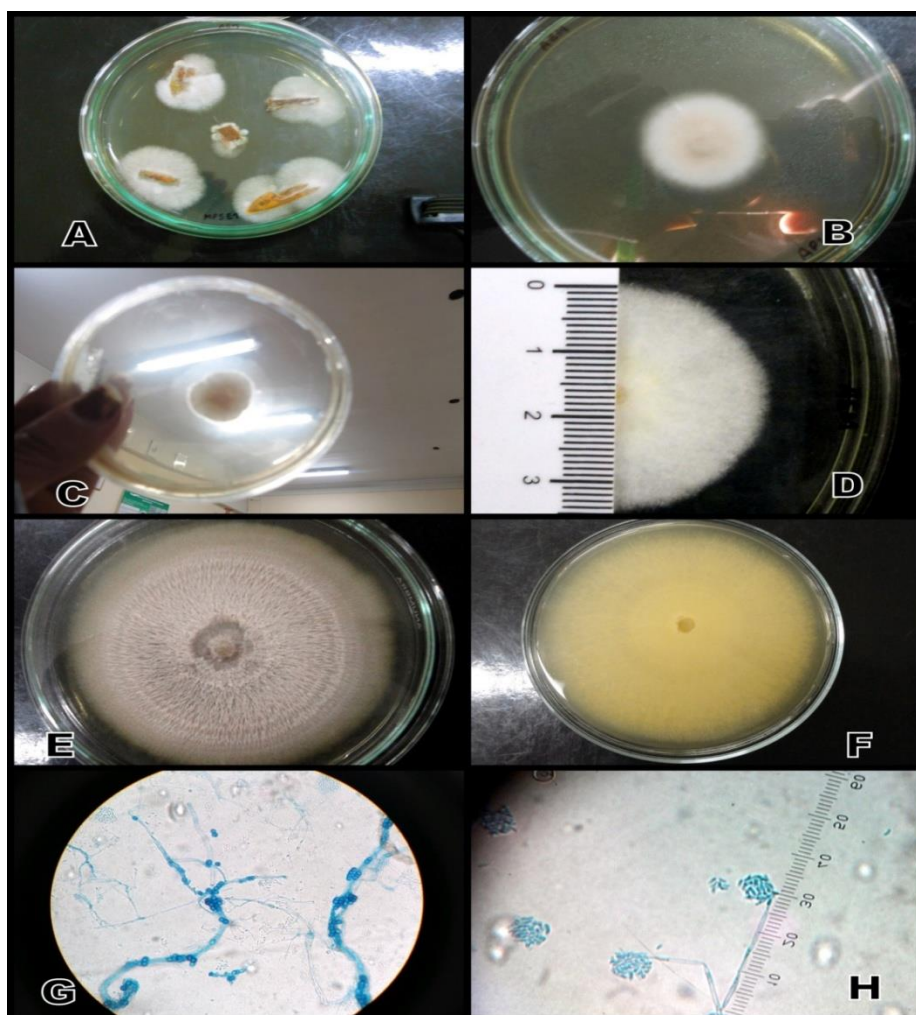


**E**

**Fuente:** Elaboración propia.

- A.** Trozos de tejido dañado sembrados en medio de cultivo PDA.
- B.** Trozos de tejido dañado sembrados en medio de cultivo AEM.
- C.** Colonias obtenidas a partir de trozos de tejido dañado
- D y E.** Colonias de *Phaeoacremonium* y *Gliocladium* purificadas

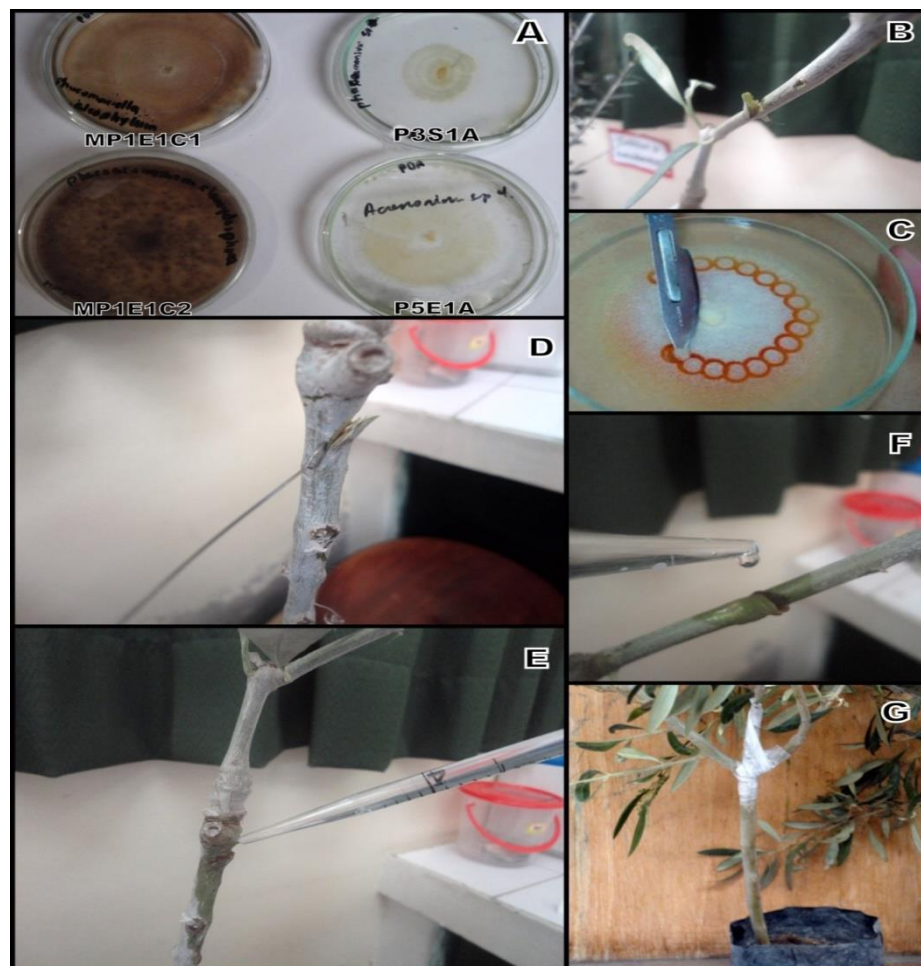
**Anexo 9.** Identificación morfológica de los hongos aislados de las galerías de *Hylesinus oleiperda* en olivo



**Fuente:** Elaboración propia

**A y H.** Caracterización macroscópico y microscópico de las colonias aisladas.

**Anexo 10.** Proceso de inoculación de la prueba de patogenicidad de los hongos fitopatógenos asociados a *Hylesinus oleiperda*



**Fuente:** Elaboración propia

**A)** Cultivos de las cepas **B)** Herida tipo “a”, forma de ventanilla **D)** Toma e introducción de inóculo en la planta. **E)** Introducción de inóculo por medio de una pipeta **F)** Se humedeció el corte con agua destilada estéril y sellado con papel absorbente y Parafilm.

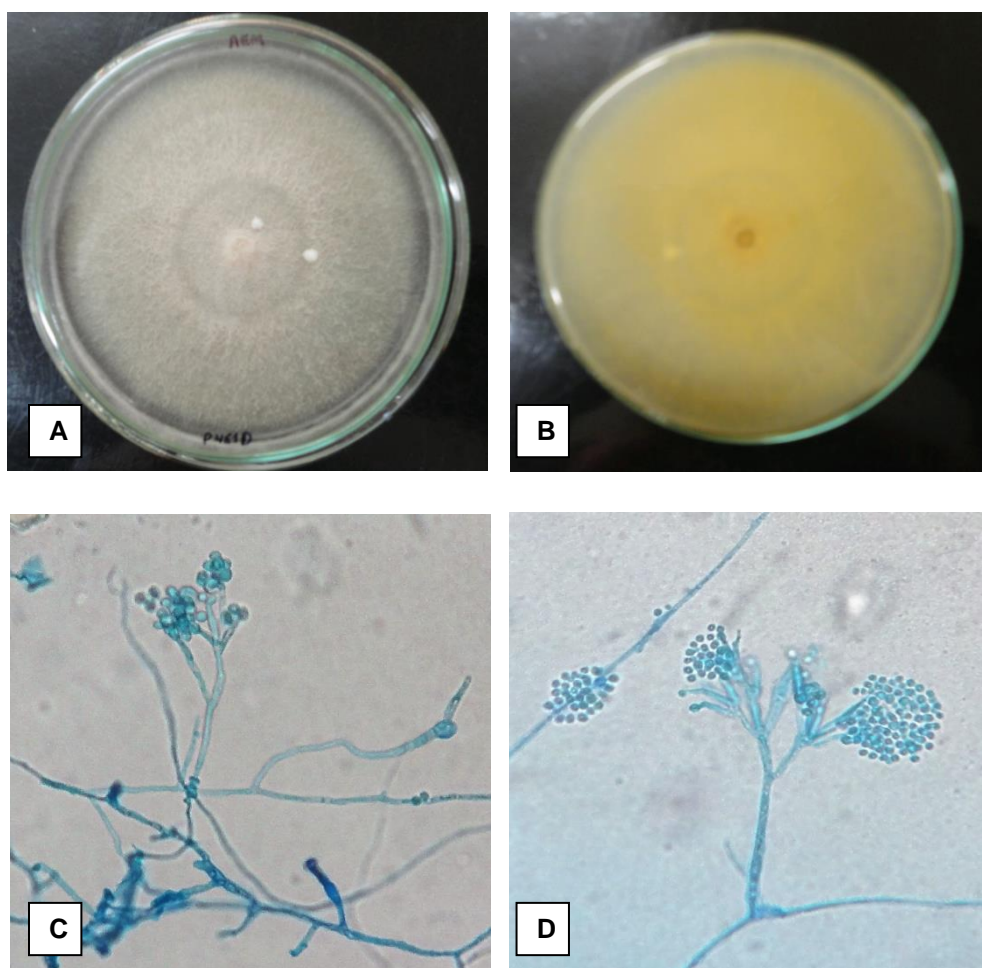
**Anexo 11.** Reaislamientos fúngicos obtenidos de los plantones de olivo inoculados



**Fuente:** Elaboración propia

- A. Plantones de olivo inoculados en evaluación.
- B. Reaislamientos de *Phaeoacremonium spp.* y *Phaeomoniella* obtenidos de tejido con lesiones provocadas en plantones de olivo inoculados.

**Anexo 12.** Identificación de hongos asociados galerías de *Hylesinus oleiperda*

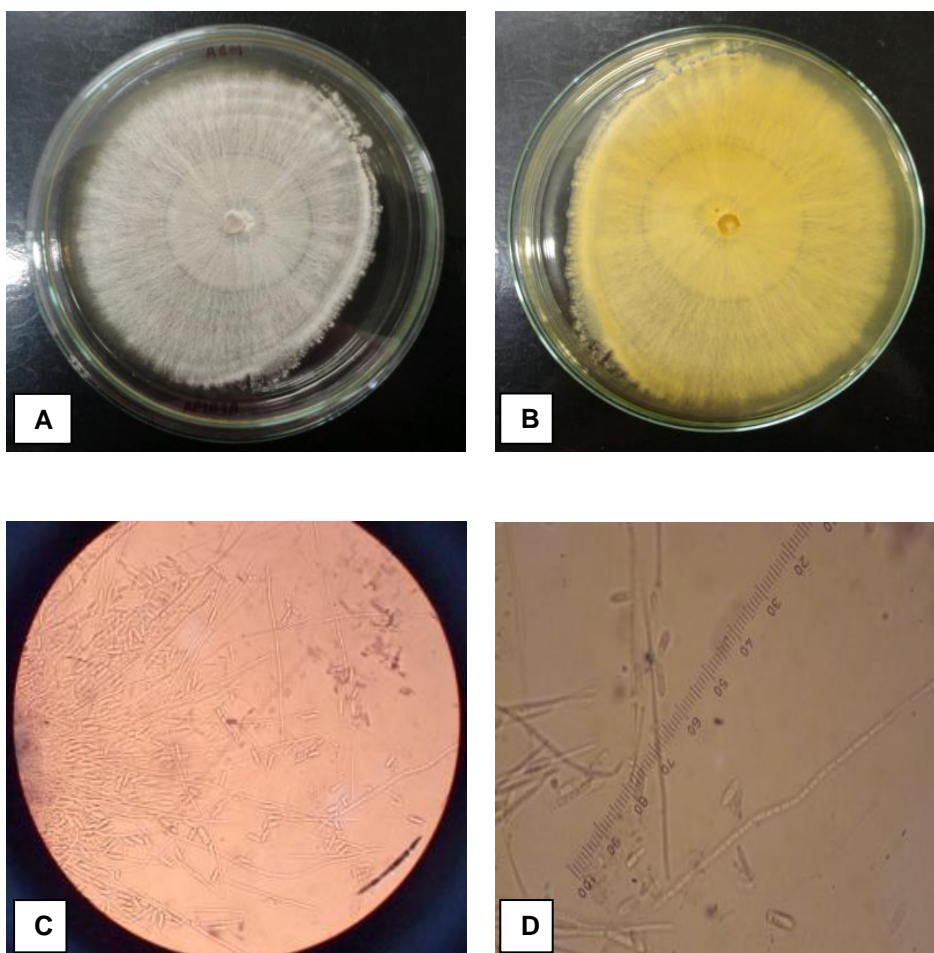


**Fuente:** Elaboración propia.

**A y B.** Colonia de *Gliocladium virens* en agar extracto de Malta.

**C y D.** Conidioforo verticilado recto, conidias subglobosas y presenta clamidosporas.

**Anexo 12.** Identificación de hongos asociados galerías de *Hylesinus oleiperda*

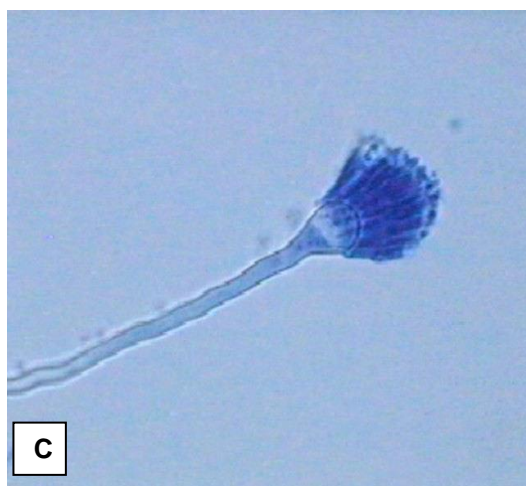
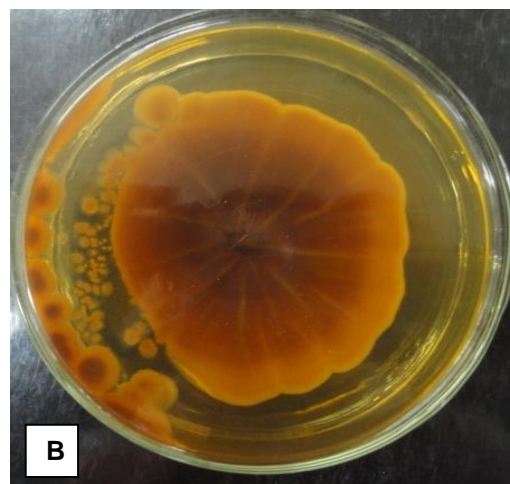
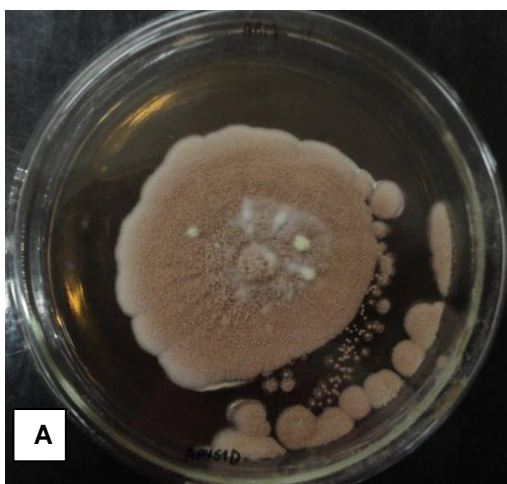


**Fuente:** Elaboración propia.

**A y B.** Colonia de *Geotrichum candidum* en agar extracto de Malta.

**C y D.** Conidias y conidióforos no pigmentados.

**Anexo 12.** Identificación de hongos asociados galerías de *Hylesinus oleiperda*

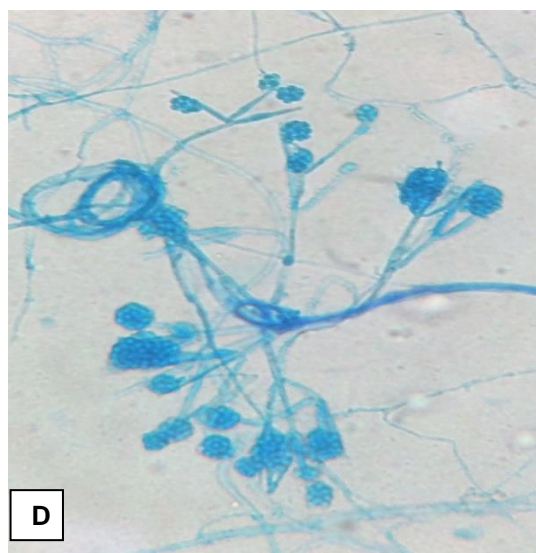
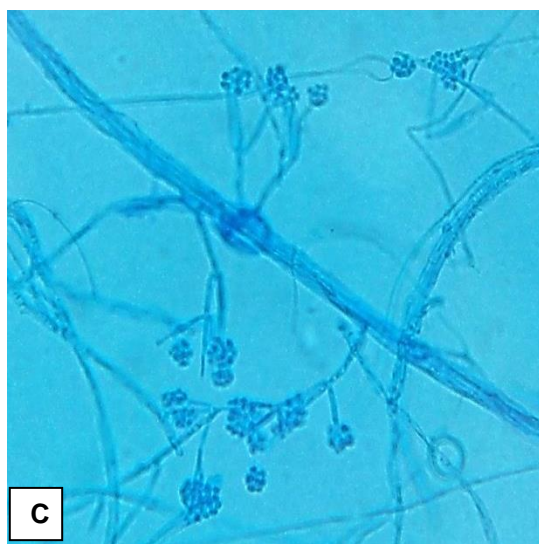
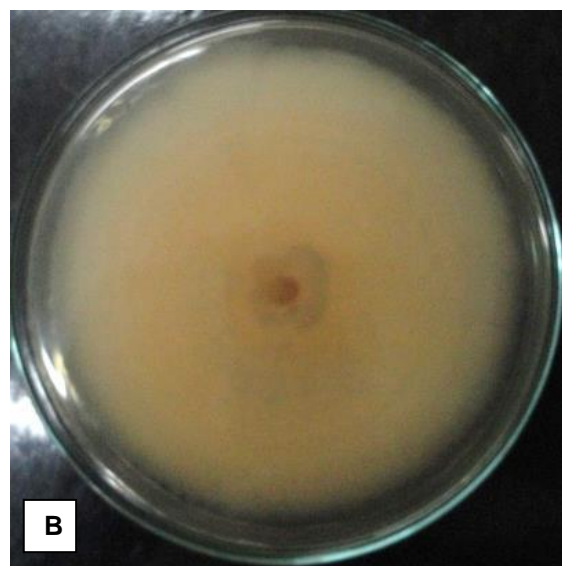
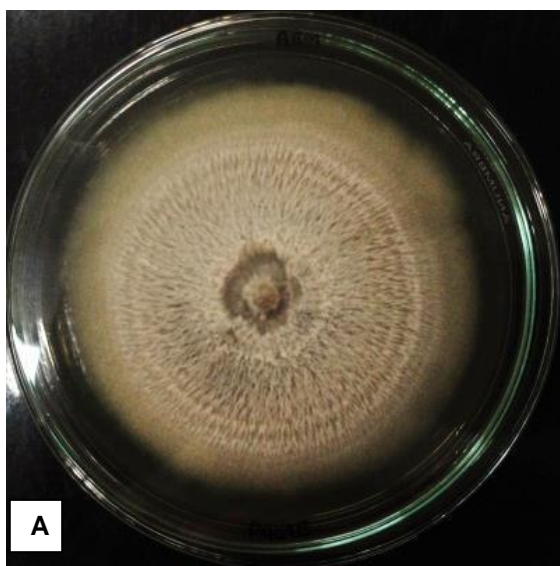


**Fuente:** Elaboración propia.

**A y B.** Colonia de *Aspergillus terreus* en agar extracto de Malta.

**C.** Conidióforo hialino, vesícula globosa y conidios globosos.

**Anexo 12.** Identificación de hongos asociados galerías de *Hylesinus oleiperda*

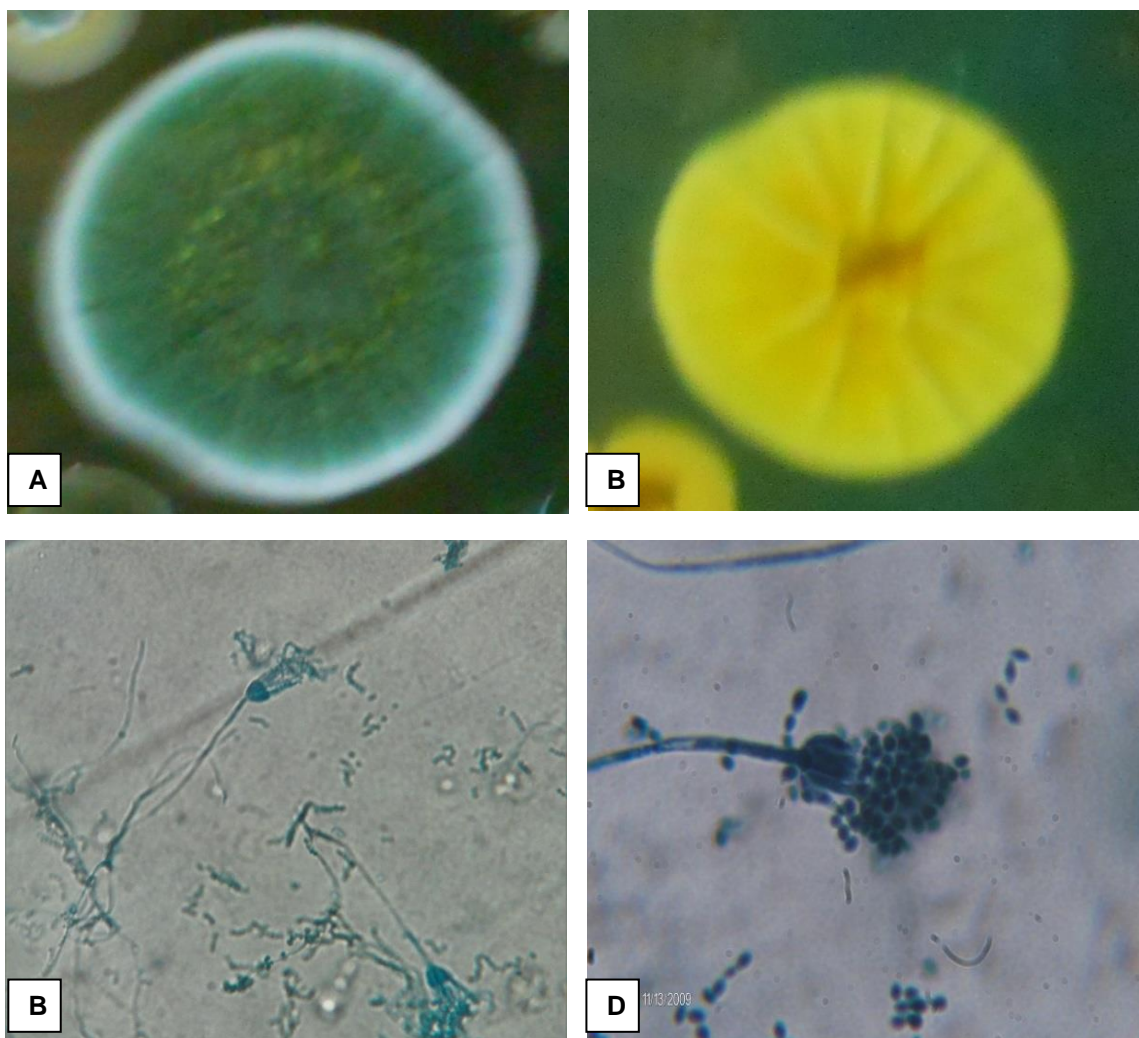


**Fuente:** Elaboración propia.

**A y B.** Colonia de *Gliocladium sp.* en agar extracto de Malta.

**C y D.** Conidias y conidióforos.

**Anexo 12.** Identificación de hongos asociados galerías de *Hylesinus oleiperda*

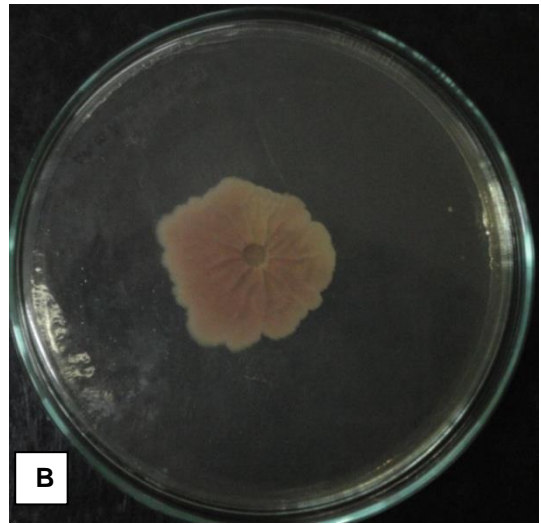
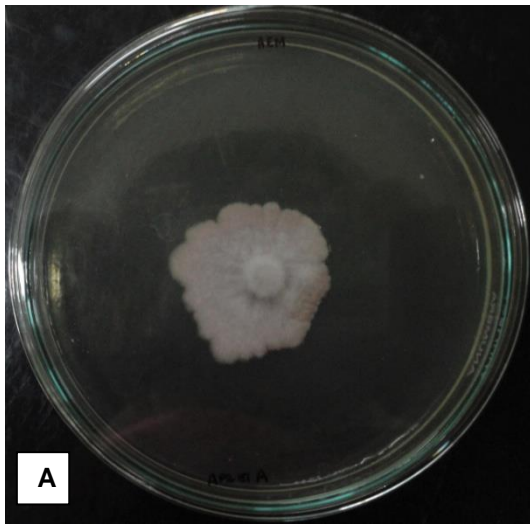


**Fuente:** Elaboración propia.

**A y B.** Colonia de *Penicillium glabrum* en agar extracto de Malta.

**C y D.** Presenta conidioforo hialino, fialides y conidias globosas en columnas.

**Anexo 12.** Identificación de hongos asociados galerías de  
*Hylesinus oleiperda*

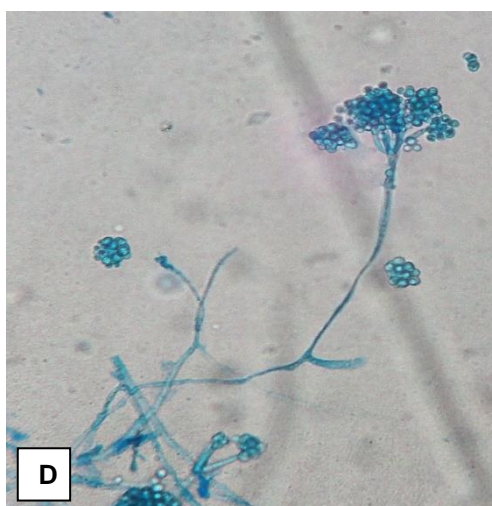
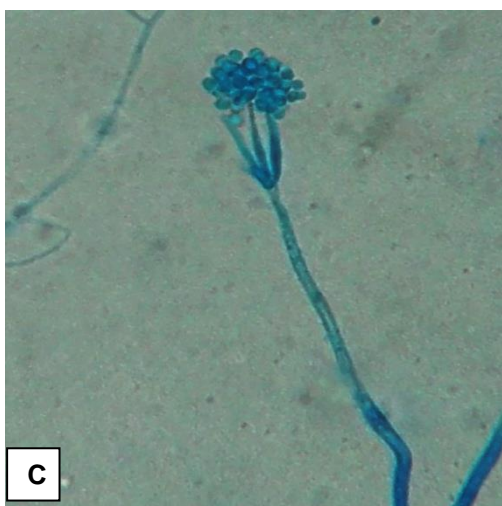
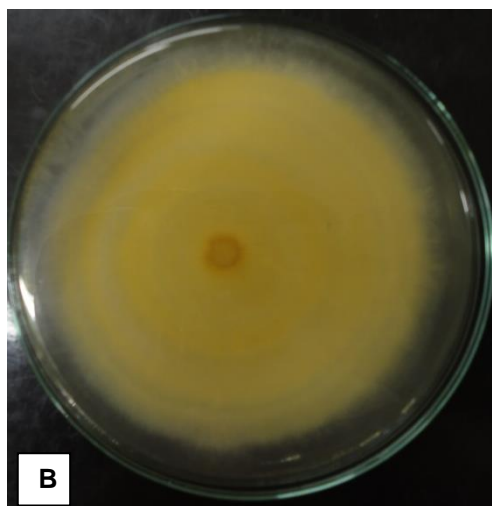
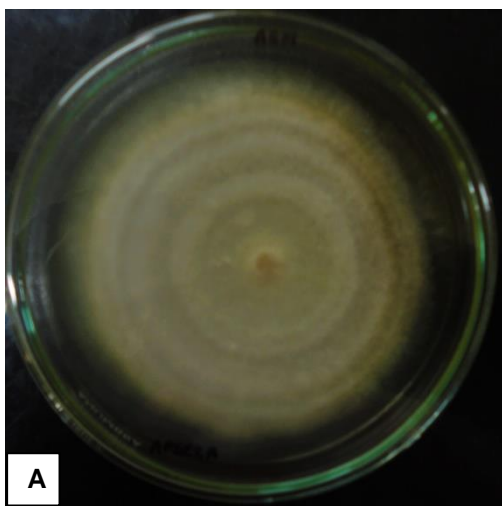


**Fuente:** Elaboración propia.

**A y B.** Colonia de *Chaetomiun sp* en agar extracto de Malta.

**C.** Peritecio con forma de botella de color marrón oscuro cubierto por pelos o setas presenta ascosporas globosas.

**Anexo 12.** Identificación de hongos asociados galerías de *Hylesinus oleiperda*

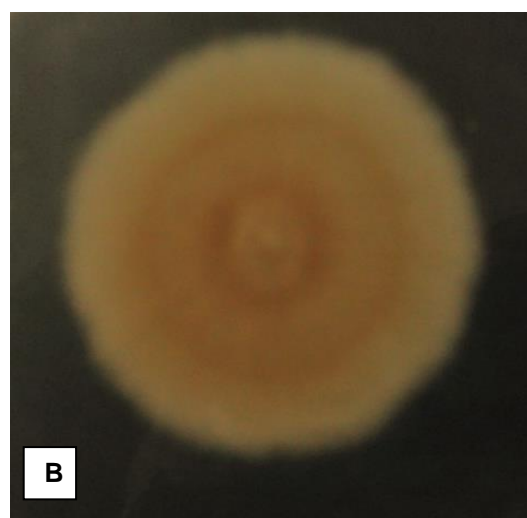
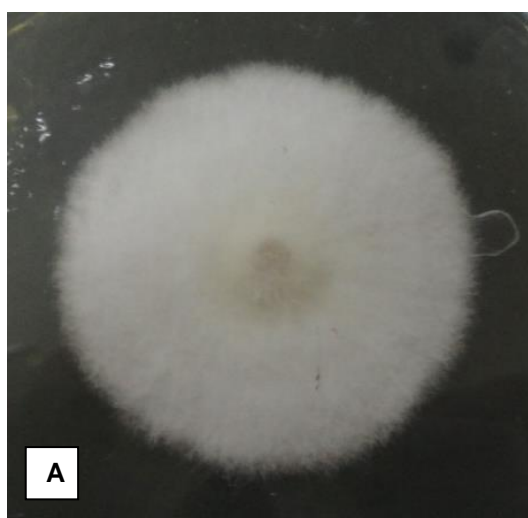


**Fuente:** Elaboración propia.

**A y B.** Colonia de *Gliocladium viride* en agar extracto de Malta.

**C y D.** Conidioforo hialino simple con 1-3 fialides conidias globosas.

**Anexo 12.** Identificación de hongos asociados galerías de *Hylesinus oleiperda*

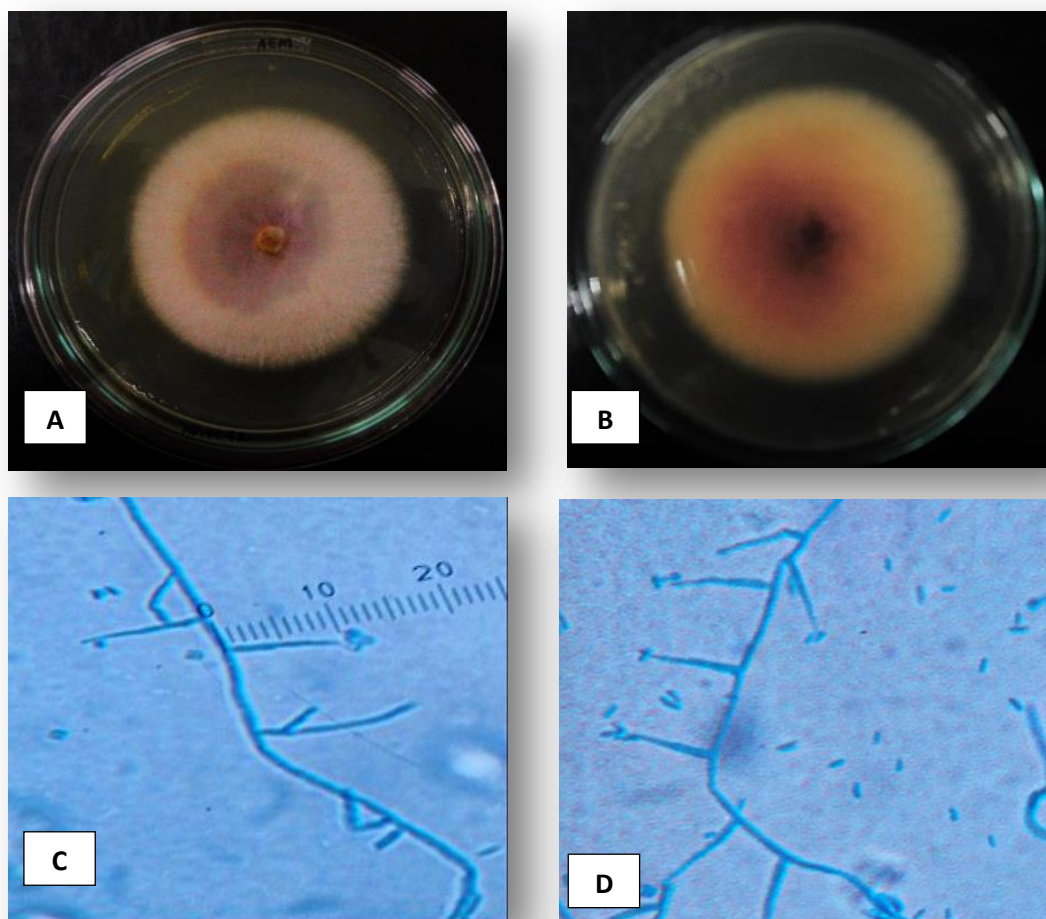


**Fuente:** Elaboración propia.

**A y B.** Colonia de *Aspergillus oryzae* en agar extracto de Malta.

**C.** Conidióforo rugoso hialino, vesícula subglobosa y presenta conidias globosas.

**Anexo 12.** Identificación de hongos fitopatógenos asociados a galerías de *Hylesinus oleiperda*

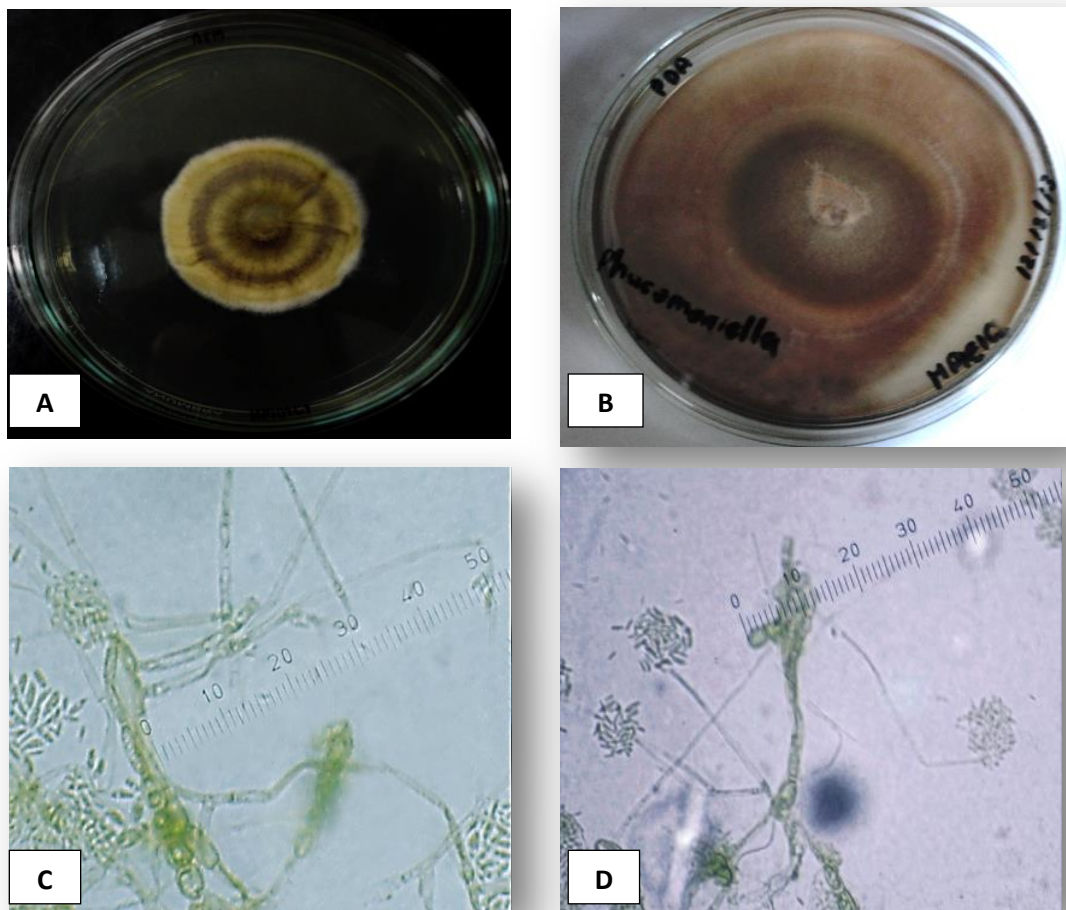


**Fuente:** Elaboración propia.

**A y B.** Colonia de *Phaeoacremonium viticola* en agar extracto de Malta.

**C y D.** Conidióforo simples, cortos subcilíndricas y conidias cilíndricas y ovadas.

**Anexo 12.** Identificación de hongos fitopatógenos asociados a galerías de *Hylesinus oleiperda*

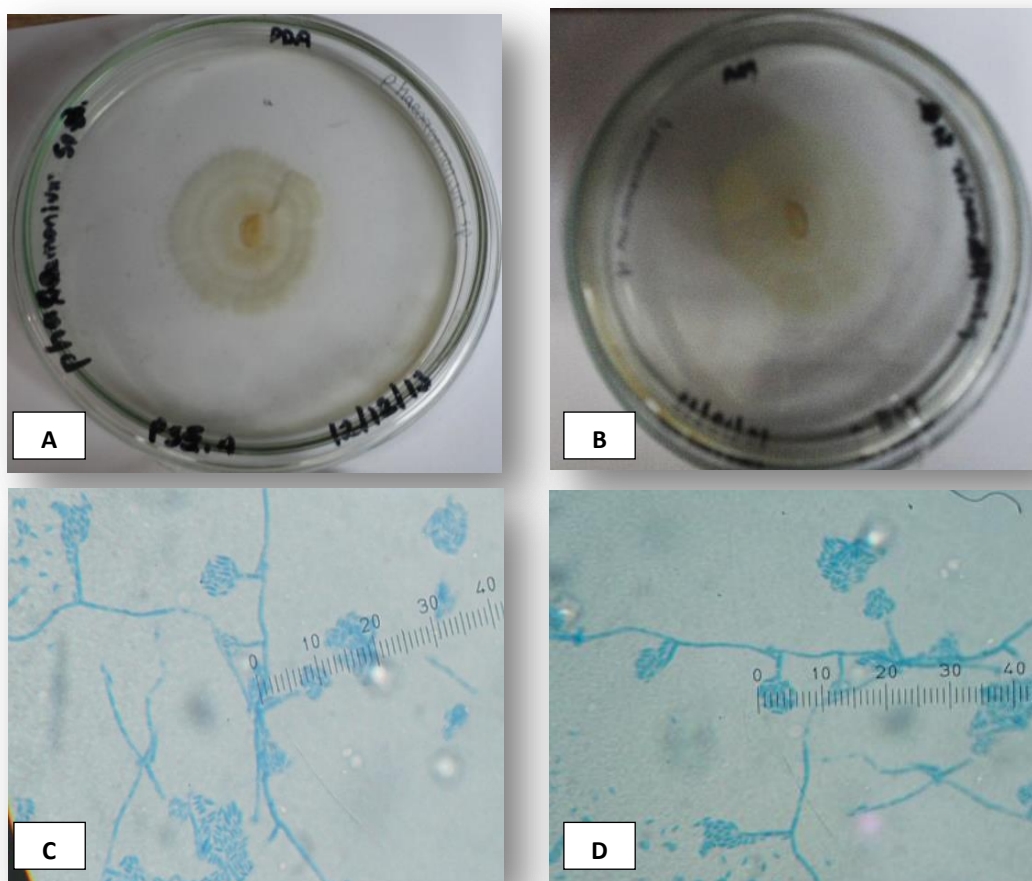


**Fuente:** Elaboración propia.

**A y B.** Colonias de *Phaeomoniella clamydospora* sembrados en medio de cultivo AEM y PDA.

**C y D.** Conidióforos con paredes verdes, largas y conidias unicelulares formadas en un glomérulo viscoso, presenta clamidosporas.

**Anexo 12.** Identificación de hongos fitopatógenos asociados a galerías de  
*Hylesinus oleiperda*

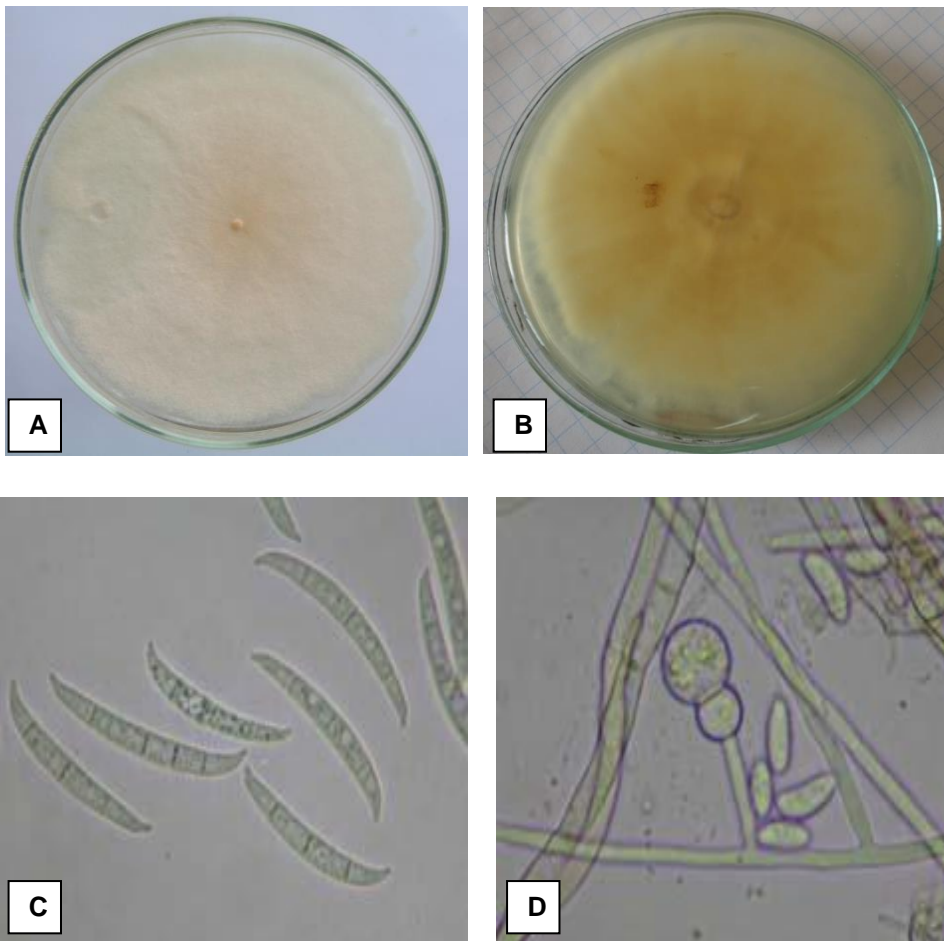


**Fuente:** Elaboración propia.

**A y B.** Colonia de *Phaeoacremonium sp.* sembrada en medio PDA.

**C y D.** Micelio hialino con conidióforos simples cortos no ramificado, fialides cortas, conidias hialinas de forma elipsoidal agrupadas en glomérulos viscosos.

**Anexo 12.** Identificación de hongos fitopatógenos asociados a galerías de  
*Hylesinus oleiperda*

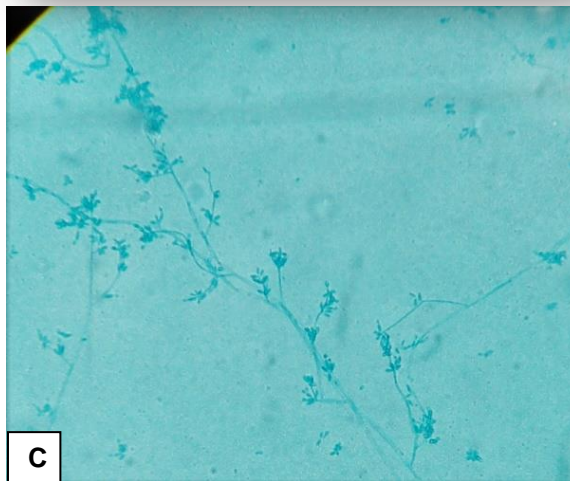
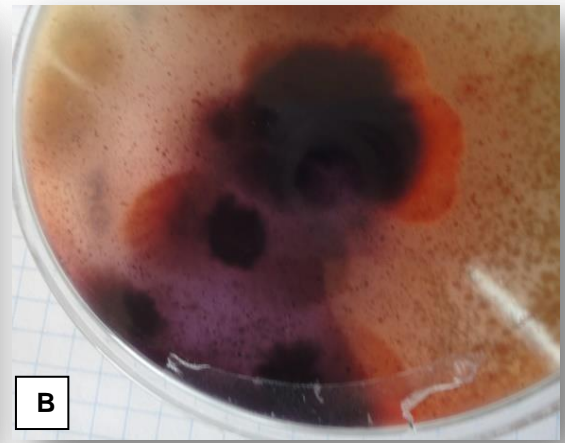


**Fuente:** Elaboración propia.

**A y B.** Colonia de *Fusarium solani* en agar extracto de Malta.

**C y D.** Conidias en forma de platanos presenta clamidospora globosa y conidióforos pigmentados

**Anexo 12.** Identificación de hongos fitopatógenos asociados a galerías de  
*Hylesinus oleiperda*

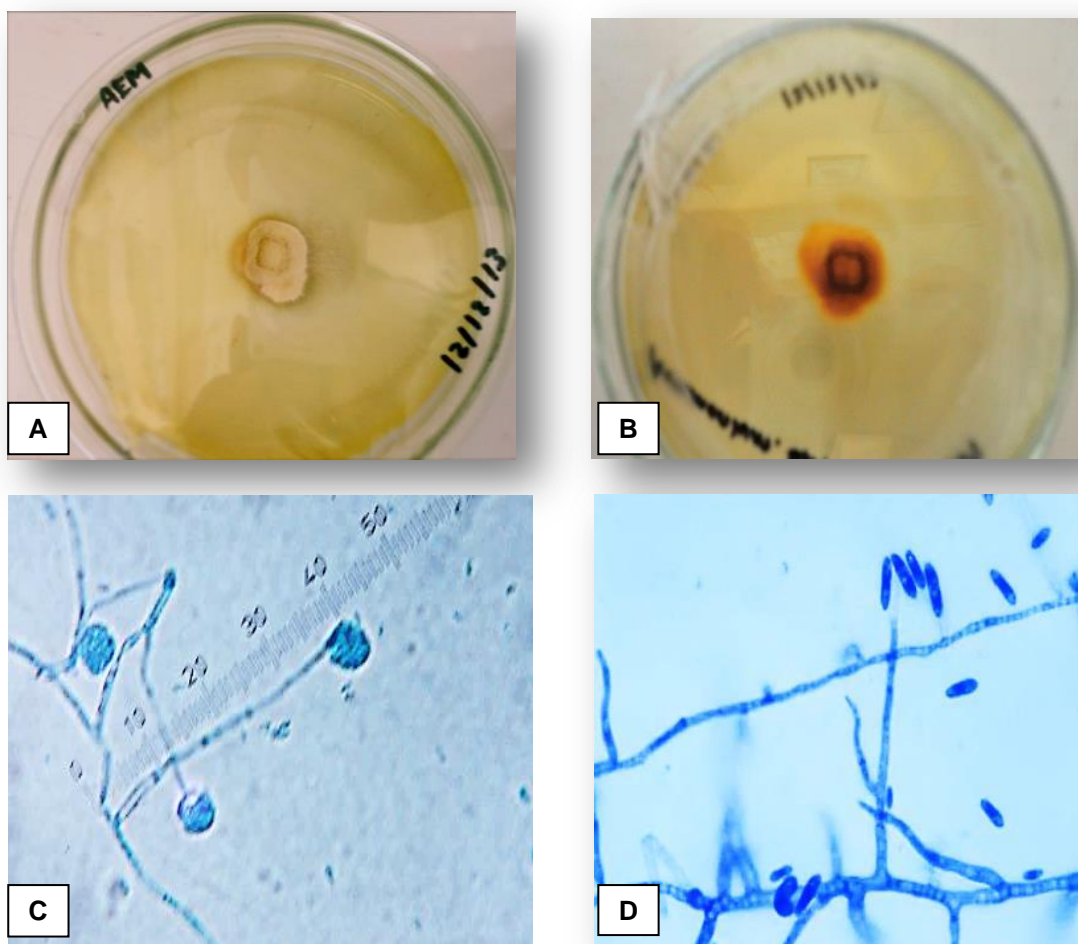


**Fuente:** Elaboración propia.

**A y B.** Colonia de *Sporothrix* sp. en agar extracto de Malta, presenta pigmento rojo.

**C y D.** Conidióforos cortos finos, conidios piriformes dispuestos en forma de “pétalos de margarita” (simpoduloconidios).

**Anexo 12.** Identificación de hongos fitopatógenos asociados a galerías de  
*Hylesinus oleiperda*



**Fuente:** Elaboración propia.

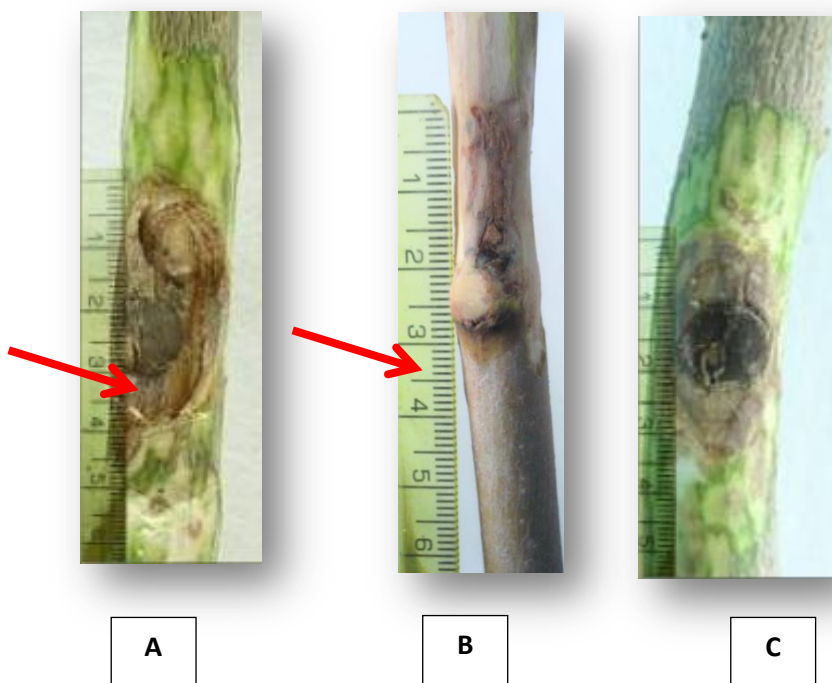
**A y B.** Colonia de *Phaeoacremonium aleophyllum* en agar extracto de Malta.

**C y D.** Conidióforos hialinos, largos y simples conidias hilainas de forma elipsoidal.

**Anexo 13.** Evaluación de la patogenicidad de los hongos seleccionados

Codigo Plantones de Olivo	Especie	Tratamiento (a)	EVALUACIONES de los sintomas								
			Semana 1 y 2			Semana 3 y 4			Semana 5 y 6		
			Ausencia Lesión	Presencia de Lesión	Longitud de lesión (cm)	Ausencia Lesión	Presencia de Lesión	Longitud de lesión (cm)	Ausencia Lesión	Presencia de Lesión	Longitud de lesión (cm)
1	1	A	x		0		x	3,2		x	4
2	1	A	x		0		x	4		x	4,6
3	1	A	x		0		x	3,8		x	4,2
4	1	B	x		0		x	3,2		x	3,6
5	1	B	x		0		x	2,9		x	3,8
6	1	B	x		0		x	2,7		x	3,4
7	1	C	x		0	x		0	x		0
8	1	C	x		0	x		0	x		0
9	1	C	x		0	x		0	x		0
10	2	A	x		0		x	4,7		x	5,6
11	2	A	x		0		x	5,3		x	6,1
12	2	A	x		0		x	3,3		x	4,2
13	2	B	x		0		x	2,9		x	3,8
14	2	B	x		0		x	3,6		x	4,5
15	2	B	x		0		x	2,9		x	4
16	2	C	x		0	x		0	x		0
17	2	C	x		0	x		0	x		0
18	2	C	x		0	x		0	x		0
19	3	A	X		0		x	2,2		x	3,6
20	3	A	X		0		x	2,5		x	3,4
21	3	A	X		0		x	3		x	4
22	3	B	X		0		x	2,4		x	3,2
23	3	B	X		0		x	1,9		x	2,8
24	3	B	X		0		x	1,6		x	2,3
25	3	C	X		0	x		0	x		0
26	3	C	X		0	x		0	x		0
27	3	C	X		0	x		0	x		0
28	4	A	X		0		x	2,2		x	3,2
29	4	A	X		0		x	2,3		x	3,4
30	4	A	X		0		x	2,1		x	3,3
31	4	B	X		0		x	2		x	2,8
32	4	B	X		0		x	1,8		x	2,7
33	4	B	X		0		x	1,4		x	2,5
34	4	C	X		0	x		0	x		0
35	4	C	X		0	x		0	x		0
36	4	C	X		0	x		0	x		0

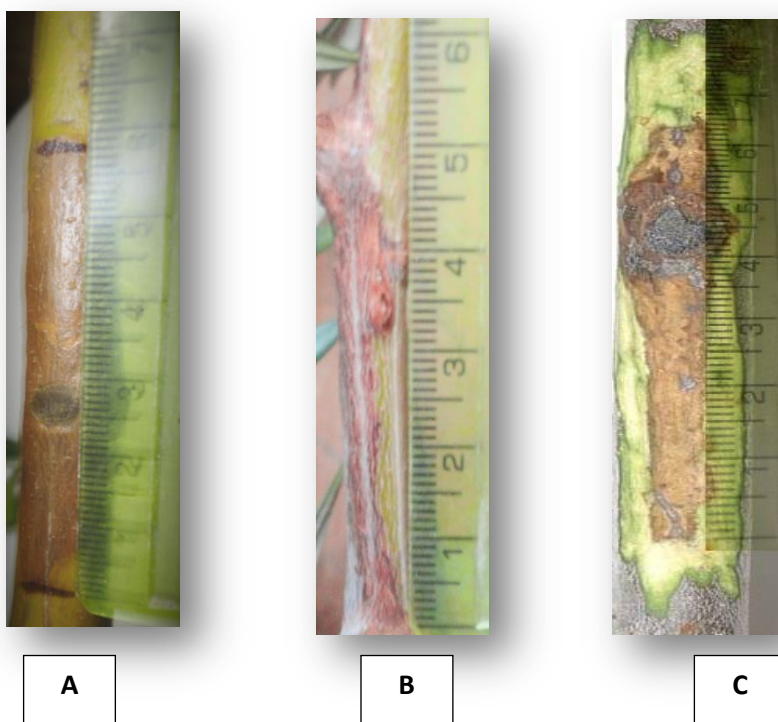
**Anexo 14.** Plantones de olivo inoculados con las cepas fúngicas patógenas aisladas de las muestras con barrenillo del olivo



**Fuente:** Elaboración propia.

- A. Plantones de olivo inoculados con el aislado MP1E1C2 (*Phaeoacremonium aleophilum*):** Tejido cortical necrótico claramente diferenciado del tejido sano, después de eliminar la corteza externa.
- B.** Pueden apreciarse las pequeñas lesiones corticales alrededor del punto de inoculación.
- C.** Se puede apreciar el tejido cortical necrótico alrededor del punto de inoculación claramente diferenciado de la zona sana.

**Anexo 14.** Plantones de olivo inoculados con las cepas fúngicas patógenas aisladas de las muestras con barrenillo del olivo (continuación)



**Fuente:** Elaboración propia.

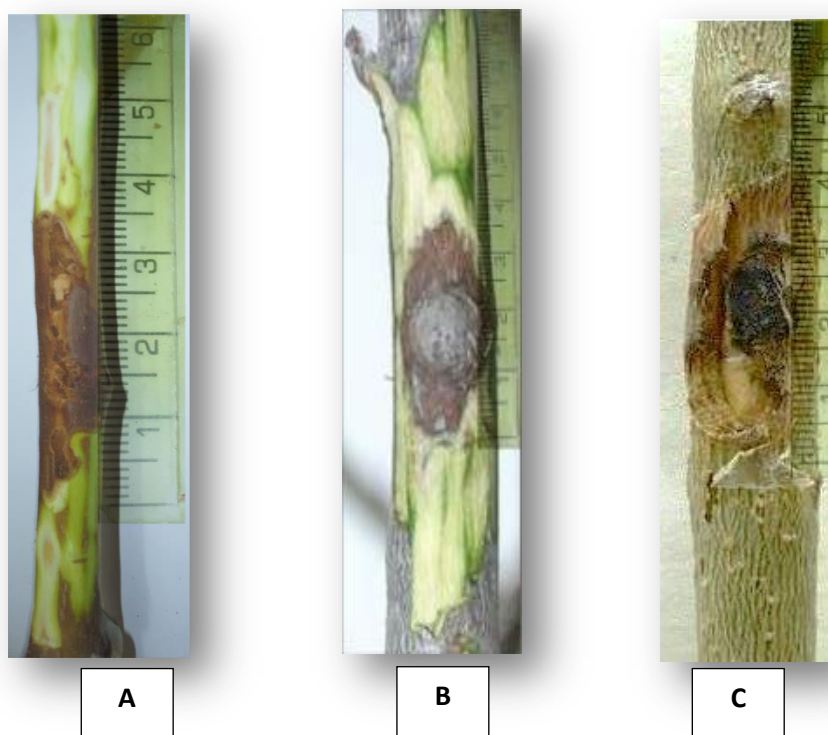
**A. Plantones de olivo inoculados con la cepa MP1E1C1**

**(*Pa. chlamydospora*):** Tejido cortical necrótico claramente diferenciado del tejido sano.

**B.** Pueden apreciarse manchas marrones alrededor del punto de inoculación que se distinguen del tejido sano.

**C.** Se puede apreciar el tejido cortical necrótico alrededor del punto de inoculación claramente diferenciado de la zona sana.

**Anexo 14.** Plantones de olivo inoculados con las cepas fúngicas patógenas aisladas de las muestras con barrenillo del olivo (continuación)



**Fuente:** Elaboración propia.

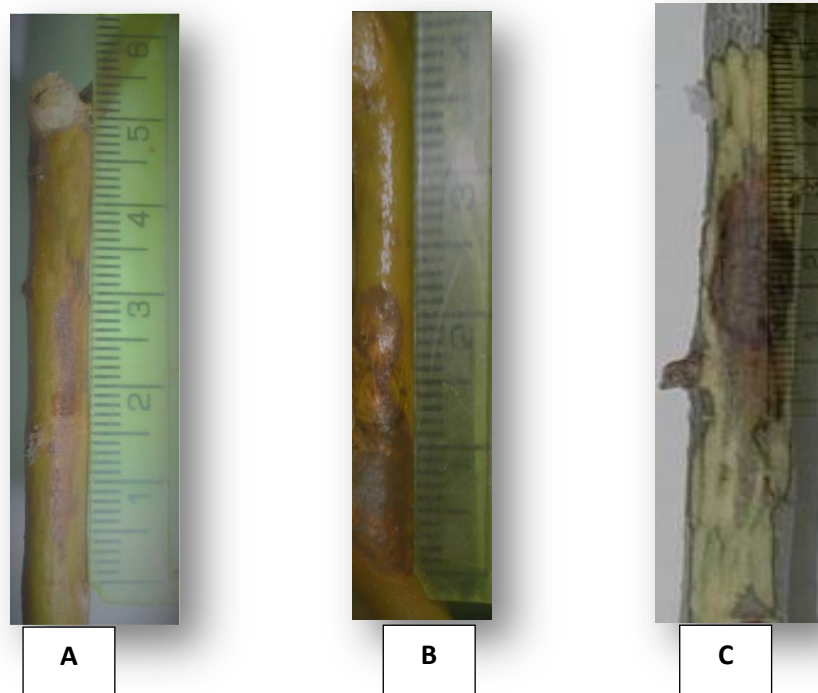
**A. Plantones de olivo inoculados con la cepa P3S1A**

**(*Phaeoacremonium viticola*):** Tejido cortical necrótico claramente diferenciado del tejido sano, después de eliminar la corteza externa.

**B.** Pueden apreciarse manchas marrones alrededor del punto de inoculación que se distinguen del tejido sano.

**C.** Se puede apreciar el tejido cortical necrótico alrededor del punto de inoculación claramente diferenciado de la zona sana.

**Anexo 14.** Plantones de olivo inoculados con las cepas fúngicas patógenas aisladas de las muestras con barrenillo del olivo (continuación)



**Fuente:** Elaboración propia.

- A. Plantones de olivo inoculados con la cepa P5E1A (*Phaeoacremonium sp.*):** Pueden apreciarse pequeñas lesiones corticales alrededor del punto de inoculación.
- B.** Lesión cortical a ambos lados del punto de inoculación.
- C.** Pequeña lesión cortical alrededor del punto de inoculación.

**Anexo 14.** Plantones de olivo inoculados con las cepas fúngicas patógenas aisladas de las muestras con barrenillo del olivo (continuación)



**A**

**Fuente:** Elaboración propia.

**A.** Planta de **olivo testigo** en la que no se aprecia tejido necrótico, manchas marrones o un borde oscuro más allá del punto de inoculación.

**Anexo 15.** Escala de evaluación del grado de infestación del árbol de olivo atacado por *Hylesinus oleiperda* “barrenillo del olivo”

<b>GRADO DE INFESTACION</b>	<b>Nº DE RAMAS ATACADAS/ARBOL</b>
0	Sin ramas atacadas
1	1 a 4 ramas atacadas
2	5 a 8 ramas atacadas
3	9 a 12 ramas atacadas
4	13 a 16 ramas atacadas
5	17 a todas las ramas atacadas

**Fuente:** SENASA.

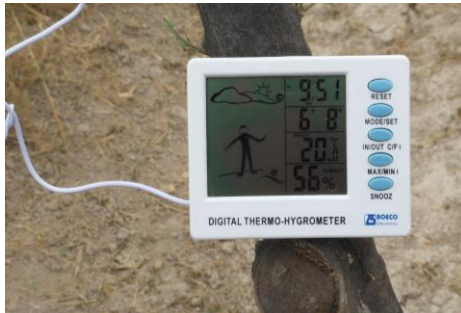
**Anexo 16.** Características climáticas de las zonas de muestreo

	<b>Fecha de Evaluación</b>	<b>Temperatura Mínima (°C)</b>	<b>Temperatura Máxima (°C)</b>	<b>Promedio</b>	<b>Humedad Relativa (%)</b>
<b>Zona 1 MAGOLLO</b>	01/06/2013	15	17	16	50,5
	22/06/2013	16	25	20,5	51,5
	13/07/2013	20	22,9	21,45	63,5
<b>Zona 2 ASENTAMIENTO 4</b>	20/07/2013	19,1	19,3	19,25	59,5
	27/07/2013	20,4	21,4	20,9	64,5
	10/08/2013	21,1	22	21,5	67
<b>Zona 3 ASENTAMIENTO 5 y 6</b>	17/08/2013	20	17	18,95	43
	31/08/2013	20	21	20,5	59
	07/09/2013	25	26	25,5	64

**Fuente:** Elaboración propia.

## Anexo 17. Características climáticas de las zonas de muestreo

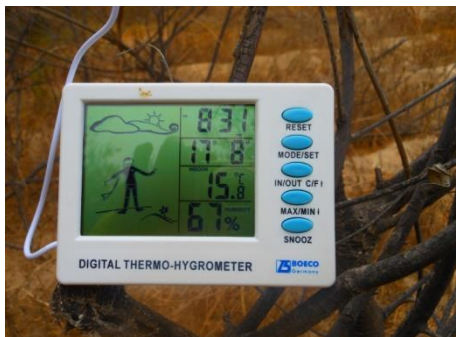
### Zona 1: Magollo



A



B



C



D



E



F

Fuente: Elaboración propia.

A y B. Temperatura y %HR del muestreo N°1, C y D. T °C y %HR del muestreo N°2, E y F. Temperatura y %HR del muestreo N°3.

## Anexo 17. Características climáticas de las zonas de muestreo

### Zona 2: Asentamiento 4



A



B



C



D

**Fuente:** Elaboración propia.

**A y B.** Medición de la temperatura inicial-final y la humedad relativa del muestreo N° 1

**C y D.** Medición de la temperatura inicial inicial-final y la humedad relativa del muestreo N° 2

**Anexo 17. Características climáticas de las zonas de muestreo**

**Zona 3: Asentamiento 5 y 6**



**A**



**B**



**C**



**D**




**E**



**F**

**Fuente:** Elaboración propia.

**A y B.** Temperatura y %HR del muestreo N°1, **C y D.** T °C y %HR del muestreo N°2, **E y F.** Temperatura y %HR del muestreo N°3.



---

Bach. MARICELY JOVE VILDOSO



---

Asesora Mblga. LIDUVINA SULCA QUISPE