

■ Eficacia fungicida en el control de *Lasiodiplodia theobromae* en plantas de palto (*Persea americana*) con el uso del bioestimulante a base de algas marinas Fertimar®

L.A. Álvarez

Departamento de Sanidad Vegetal, Facultad de Agronomía. Universidad Nacional San Luis Gonzaga. Ica - Perú

RESUMEN

Lasiodiplodia theobromae es un hongo fitopatógeno que afecta severamente al cultivo de Palto en cualquier estado de desarrollo, causando infecciones en la zona de inserción patrón-injerto de plantas jóvenes, “muerte descendente” de ramas, formación de chancros y necrosis del pedúnculo de los frutos. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto inductor de defensa de distintas dosis de Fertimar (200, 300 y 400 g/200L) frente a infecciones por *L. theobromae* A3 bajo condiciones controladas. Se utilizaron plantas de palto var. Hass sobre patrón Zutano de 1.5 años de edad. Tanto la variedad como el patrón fueron inoculados mediante una herida, colocando un disco de 8 mm de PDA colonizado con el patógeno aislado en contacto directo con el cambium. Se evaluaron dos estrategias de aplicación. De manera preventiva, se realizaron 3 aplicaciones foliares de Fertimar cada 7 días, siendo la inoculación del patógeno 5 días después de la última aplicación. De forma curativa, primero se inoculó el patógeno y luego de 5 días se realizaron 3 aplicaciones consecutivas de Fertimar. Se utilizó el programa de análisis de imagen ASSESS 2.0 para determinar el área de lesión (cm²) desarrollada una vez finalizados los ensayos. Las aplicaciones preventivas de Fertimar controlaron en un 80-84% las lesiones de *L. theobromae* a nivel de variedad; sin embargo, a nivel de patrón no se presentaron diferencias significativas. De igual manera, como método curativo las aplicaciones de Fertimar controlaron en un 35-42% en el caso de la variedad, no observándose diferencias para el caso del patrón. El uso de Fertimar a dosis de 300g/200L y 400g/200L limitó las infecciones por *L. theobromae* en plantas de palto de forma preventiva y curativa respectivamente, evidenciando su efecto elicitor y mostrándose como una alternativa frente a los fungicidas sintéticos utilizados actualmente para el control de este patógeno.

INTRODUCCIÓN

En el Perú se siembran aproximadamente 25 598 has (MINAG, 2013), de las cuales un área importante es variedad Hass. Dentro de los problemas fitosanitarios de las plantaciones establecidas, principalmente de la variedad Hass, uno de los más relevantes es el asociado a la “muerte regresiva” de ramas, chancros en ramas, “pudrición del pedúnculo”, cuyo agente causal es *Lasiodiplodia theobromae*. En plantaciones jóvenes un problema frecuente es el asociado a las infecciones en la zona de injerto por este patógeno, y que puede ocasionar una alta mortandad de plantas. *Lasiodiplodia theobromae* es un hongo endófito y parásito facultativo que generalmente afectan a sus hospedantes penetrando a través de heridas y tejidos en descomposición (Muhammad, 2009). Su estado sexual o teleomorfo es *Botryosphaeria rhodina*, que pertenece a la clase Ascomycetes (Orden Dothideales, Familia Botryosphaeriaceae).

La fuente principal de infección de este patógeno se da por la presencia de plantas enfermas y restos de poda que quedan tirados en el campo. La diseminación mecánica se realiza por la utilización de herramientas contaminadas, tales como tijeras, sierras y machetes (Fraedrich, 1999), es favorecida por altas temperaturas, lluvias y humedad proporcionada por el riego, este factor ayuda a que las esporas sean expulsadas fuera de los picnidios, y se acumulen en la atmósfera que rodea el cultivo y suelo (Muhammad, 2009; Cibrián, 2007).

La importancia de las enfermedades ocasionadas por este patógeno radica en su complejo manejo de las infecciones. El control químico, principal medida de represión, tiene un efecto muy limitado además de los problemas que podrían ocasionar sus residuos en la fruta.

En los últimos años, la tendencia de manejo de este tipo de infecciones en palto y otros cultivos es mediante la utilización de productos que activan diferentes rutas metabólicas asociadas a los sistemas de defensa de las plantas. El objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar la eficacia de control de Fertimar, un producto a base algas marinas, en el control de infecciones por *L. theobromae* bajo condiciones controladas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en un invernadero de las instalaciones del Departamento de Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga en Ica, Perú. Las condiciones de temperatura estuvieron entre 22-26 °C y un 60 - 70% de humedad relativa.

Se utilizaron plantas en maceta de aproximadamente 1 año de edad del cultivar Hass injertadas sobre patrón Zutano. Para las inoculaciones, se utilizó un aislado de *L. theobromae* (Las A-3). En los ensayos se utilizaron los siguientes tratamientos: T0: Testigo (sin aplicación); T1: Fertimar: 0,2 kg/200 L; T2: Fertimar: 0,3 kg/200 L y T3: Fertimar: 0,4 kg/200 L.

El producto se aplicó mediante pulverización foliar. Previamente se realizó el cálculo de gasto de agua, y finalmente se aplicó un volumen promedio de 120 ml de caldo fungicida por planta, utilizando una mochila pulverizadora hidráulica de presión previa.

Estrategias de evaluación de la eficacia de los productos

Se evaluaron dos estrategias de aplicación en el control de las infecciones por *L. theobromae*.

A. Estrategias preventivas:

Para este ensayo se utilizaron grupos de diez plantas de palto por cada tratamiento (dosis de Fertimar). Se realizaron tres aplicaciones consecutivas de cada tratamiento en intervalos de 7 días. El grupo de plantas testigo se aplicó en los mismos intervalos con agua sola. Cinco días después de la última aplicación se inocularon las plantas de cada tratamiento con el aislado de *L. thebromae*. Las plantas se inocularon al centro del tallo en la zona del patrón, y en la parte más ancha del brote en la zona de la variedad. El objetivo de estas inoculaciones fue evaluar el efecto de los productos evaluados en aplicaciones previo a la infección, y asimismo como afectaban las aplicaciones foliares en el área de lesión por el patógeno en el patrón o la variedad.

B. Estrategias curativas:

Grupos de plantas de cada tratamiento se inocularon previamente con el aislado de *L. thebromae*. Cinco días después de la inoculación se realizaron tres aplicaciones consecutivas en intervalos de 7 días entre aplicaciones a los diferentes tratamientos. Similar a lo descrito anteriormente, las plantas se inocularon en la zona del patrón y de la variedad, y se realizaron aplicaciones de plantas vía foliar.

Proceso de inoculación de plantas

La corteza del tallo en la zona del patrón y de la zona de la variedad, se desinfectaron superficialmente con alcohol etílico al 96°. De esta zona se extrajo un disco de corteza mediante un sacabocados estéril de 8 mm de diámetro. En la herida se colocó en contacto directo con el cambium expuesto, un disco de PDA de similar diámetro colonizado con el micelio del aislado de *L. thebromae*, y la herida se tapó con el disco de corteza extraído. La zona de inoculación se humedeció con unas gotas de agua estéril, se envolvió con una cinta de parafilm para proteger la zona inoculada de la desecación.

Evaluación de resultados

Tres semanas después de la inoculación se eliminó cuidadosamente la corteza de cada planta inoculada alrededor de la zona de la herida. El área de la lesión resultante se delineó sobre una lámina de plástico transparente, se transfirió a una hoja de papel en blanco, y se digitalizó. Mediante el programa Assess (American Phytopathological Society, St. Paul MN), se cuantificó el área de la lesión de cada tratamiento mediante el análisis de imagen. El tamaño del área de la herida de inoculación se sustrajo del área total obtenida para calcular el tamaño real de la lesión. Para confirmar que las lesiones eran causadas por *L. thebromae*, se hicieron siembras de los tejidos afectados en medio PDA de al menos dos plantas de cada tratamiento.

Adicionalmente, se incluyó los valores promedios del porcentaje de control de cada tratamiento. Este dato se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Control} = 100 - [(\text{Área de lesión} \times 100) / \text{Área de lesión del testigo}].$$

Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como área de lesión en cm² por tratamiento; se puso especial énfasis en las áreas de lesión tanto de la zona de la variedad así como del patrón en ambas estrategias de evaluación desarrolladas. Las áreas de lesión de los factores en estudio se sometieron a un análisis de la varianza (ANOVA), fijando el nivel de significación en $P < 0,05$.

Dado que los valores registrados no tuvieron una distribución normal, se realizó una transformación de los datos originales a \sqrt{x} para estabilizar la varianza. Con estos valores se realizó un test de separación de medias utilizando el análisis de Fisher de la mínima diferencia significativa (LSD). El programa estadístico utilizado para los análisis fue SAS 9,0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se evaluaron dos estrategias de aplicación de Fertimar, aplicaciones de forma preventiva (Tablas 1 y 2) y aplicaciones curativas (Tablas 3 y 4). Los resultados obtenidos indican que mejores resultados se obtuvieron mediante las aplicaciones preventivas, pues los promedios de área de lesión generada por *L. thebromae*, en general, fueron considerablemente menores comparadas con las áreas de lesión registradas para las aplicaciones curativas.

Las áreas de lesión en la zona de la variedad (Tablas 1 y 3) fueron considerablemente mayores que en la zona del patrón (Tablas 2 y 4). Esto indica que hay un efecto varietal de la especie que incide en que las infecciones por *Lasioidiplodia* sean mayores en la variedad Hass. Este comportamiento se ha observado consistentemente en campo evidenciando la susceptibilidad de la variedad Hass a las infecciones por *Lasioidiplodia* en nuestras condiciones, y con otros teleomorfos de *Botryosphaeria* sobre Hass a nivel mundial (Hartill, 2002).

En el hemisferio norte, este tipo de enfermedades tradicionalmente se asociaron a *Dothiorella* gregaria (teleomorfo: *Botryosphaeria dothidea*), y actualmente reclasificado en *Fusicoccum aesculi*. En los últimos años, nuevas especies *Botryosphaeria* (*Neofusicoccum australe*, *B. dothidea*, *N. luteum*, and *N. parvum*) se han encontrado en diferentes zonas productoras de palto (McDonald *et al.*, 2009).

Aunque las áreas de lesión fueron mayores en los diversos tratamientos en aplicaciones curativas, los resultados mostraron que el área de lesión desarrollada fue menor en los tratamientos con Fertimar comparado al Tratamiento Testigo sin aplicación, registrándose diferentes estadísticas significativas entre el Testigo y los tratamientos.

Dado que el producto Fertimar no es un producto fungicida porpiamente dicho, sin embargo, las aplicaciones preventivas y curativas lograron limitar las infecciones en la zona de la variedad por *Lasioidiplodia*, evidencia un efecto promotor de defensa de las plantas. Fertimar es un producto que tiene como base las algas marinas, con un gran contenido de aminoácidos. Los aminoácidos son de una vital importancia en el metabolismo de los seres vivos, desde su condición de ser las unidades estructurales de las proteínas; intervienen en la regulación endógena del crecimiento y desarrollo vegetal. Muchos aminoácidos son componentes principales de compuestos nitrogenados o alcaloides (Croteau *et al.* 2000) que son metabolitos secundarios relacionados a procesos fisiológicos asociados a los sistemas de defensa de las plantas.

El uso de aminoácidos en agricultura se ha usado en forma extensiva para el manejo de estreses en plantas. Los resultados de este estudio evidencian que el uso de los aminoácidos de Fertimar puede utilizarse en el manejo de este hongo en palto, convirtiéndose por tanto en una alternativa al manejo de este tipo de infecciones.

CONCLUSIONES

Todas las dosis evaluadas de Fertimar disminuyeron las áreas de lesión por *L. theobromae*. En términos generales no se registraron diferencias estadísticas significativas entre los diversos tratamientos de Fertimar; no obstante, la mejor eficacia de dosis en el control de las lesiones por el patógeno se obtuvieron con las dosis a 0,3 kg/200 L y 0,4 kg/200 L.

AGRADECIMIENTOS

El autor agradece a PSW Perú por su apoyo en el soporte de este trabajo de investigación.

LITERATURA CITADA

- Cibrián, D, Alvarado, D, García, S, Colomo, I, Huerta, G, Holguin, F y Macias, J. 2007. *Lasiodiplodia theobromae* (pat.) Griffon & Maubl. (Sphaeropsidales, Sphaerioidaceae). En: Cibrián, D., Alvarado, D., García, S. Enfermedades forestales en México.
- Croteau, R, Kutchan, TM & Lewis, NG. 2000. Natural Products (Secondary Metabolites). En: Buchanan, Gruissem, Jones (editores). Biochemistry and Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists. Rockville, Maryland, USA.
- Fraedrich, S, Miller, T, y Zarnoch, S. 1994. Las semillas enfermas: estudiando el efecto del hongo *Lasiodiplodia theobromae* en las semillas de pino. Revista canadiense de recursos forestales, 24: 1717-1725.
- Hartill, WFT and Everett, KR. 2002. Inoculum sources and infection pathways of pathogens causing stem-end rots of 'Hass' avocado (*Persea americana*). New Zealand Journal of Crop Hortic. Sci. 30:249.
- McDonald, V, Lynch, S. & Eskalen, A. 2009. First report of *Neofusicoccum australe*, *N. luteum*, and *N. parvum* associated with avocado branch canker in California. Plant Disease 93(9):967.
- Ministerio de Agricultura y Riego. 2013. El Anuario de la Producción Agrícola 2013. 240 pp.
- Muhammad, S, Zafar, I, Ahmad, S & Muhammad, A. 2009. Association of *Lasiodiplodia theobromae* with different decline disorders in mango (*Mangifera indica* L.) Pak. J. Bot. 41(1):359-368.

ANEXOS: TABLAS

Tabla 1. Efecto de las aplicaciones foliares sobre el área de lesión por *L. theobromae* en la zona de la variedad. Evaluación de las estrategias preventivas

		Valor de P w			
Factor	Área de lesión en cm ²				
Efectos principales					
Tratamiento	<0,0001				
Tratamientos	Método de aplicación	Lugar de inoculación	Área de lesión (cm ²)		
T0: Testigo		Variedad	14,6 ^x	3,8 ^y	a ^z
T1: Fertimar: 0,2 kg/200 L	Foliar	Variedad	2,9	1,7	b
T2: Fertimar: 0,3 kg/200 L	Foliar	Variedad	2,3	1,5	b
T3: Fertimar: 0,4 kg/200 L	Foliar	Variedad	2,5	1,6	b
		Promedio	5,3	2,2	
		Coef. Variabilidad	10,6%		

*Valores de P>0,05 no son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de la mínima diferencia significativa (LSD). (**) Alta significación, (NS) No existe significación. x Cada dato es media de 10 valores (plantas), y hace referencia al área de lesión en cm² desarrolladas a partir de la zona de inoculación por infecciones por *Lasiodiplodia theobromae*; y datos originales convertidos a \sqrt{x} , z Números en columnas seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de LSD.

Tabla 2. Efecto de las aplicaciones foliares sobre el área de lesión por *L. theobromae* en la zona del patrón. Evaluación de las estrategias preventivas

	Valor de P w				
Factor	Área de lesión en cm2				
Efectos principales					
Tratamiento	0,3370				
Tratamientos	Método de aplicación	Lugar de inoculación	Área de lesión (cm2)		
T0: Testigo		Patrón	2,4x	1,5y	az
T1: Fertimar: 0,2 kg/200 L	Foliar	Patrón	2,6	1,6	a
T2: Fertimar: 0,3 kg /200 L	Foliar	Patrón	1,9	1,4	a
T3: Fertimar: 0,4 kg 200 L	Foliar	Patrón	2,2	1,5	a
		Promedio	2,1	1,5	
		Coef. Variabilidad	6,4%		

*Valores de $P > 0,05$ no son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de la mínima diferencia significativa (LSD). (**) Alta significación, (NS) No existe significación. x Cada dato es media de 10 valores (plantas), y hace referencia al área de lesión en cm2 desarrolladas a partir de la zona de inoculación por infecciones por *Lasiodiplodia theobromae*; ydatos originales convertidos a \sqrt{x} , z. Números en columnas seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de LSD.

Tabla 3. Efecto de las aplicaciones foliares sobre el área de lesión por *L. theobromae* en la zona de la variedad. Evaluación de las estrategias curativas

	Valor de P w				
Factor	Área de lesión en cm2				
Efectos principales					
Tratamiento	0,0056				
Tratamientos	Método de aplicación	Lugar de inoculación	Área de lesión (cm2)		
T0: Testigo		Variedad	12,7x	3,6y	az
T1: Fertimar: 0,2 kg/200 L	Foliar	Variedad	7,8	2,8	b
T2: Fertimar: 0,3 kg /200 L	Foliar	Variedad	8,2	2,9	b
T3: Fertimar: 0,4 kg 200 L	Foliar	Variedad	7,3	2,7	b
		Promedio	8,91	3,0	
		Coef. Variabilidad	8,2%		

wValores de $P > 0,05$ no son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de la mínima diferencia significativa (LSD). (**) Alta significación, (NS) No existe significación. x Cada dato es media de 10 valores (plantas), y hace referencia al área de lesión en cm2 desarrolladas a partir de la zona de inoculación por infecciones por *Lasiodiplodia theobromae*; ydatos originales convertidos a \sqrt{x} , z. Números en columnas seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de LSD.

Tabla 4. Efecto de las aplicaciones foliares sobre el área de lesión por *L. theobromae* en la zona del patrón. Evaluación de las estrategias curativas

	Valor de P w				
Factor	Área de lesión en cm2				
Efectos principales					
Tratamiento	0,6110				
Tratamientos	Método de aplicación	Lugar de inoculación	Área de lesión (cm2)		
T0: Testigo		Patrón	2,1x	1,4y	az
T1: Fertimar: 0,2 kg/200 L	Foliar	Patrón	2,4	1,5	a
T2: Fertimar: 0,3 kg /200 L	Foliar	Patrón	2,5	1,6	a
T3: Fertimar: 0,4 kg 200 L	Foliar	Patrón	2,2	1,5	a
		Promedio	2,3	1,5	
		Coef. Variabilidad	4,4%		

wValores de $P > 0,05$ no son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de la mínima diferencia significativa (LSD). (**) Alta significación, (NS) No existe significación. x Cada dato es media de 10 valores (plantas), y hace referencia al área de lesión en cm2 desarrolladas a partir de la zona de inoculación por infecciones por *Lasiodiplodia theobromae*; ydatos originales convertidos a \sqrt{x} , z. Números en columnas seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de LSD.

Tabla 5. Porcentaje de control de diferentes dosis de aplicaciones foliares de Fertimar frente a infecciones por Lasiodiplodia theobromae en palto. Evaluación de la eficacia de las aplicaciones preventivas

Tratamientos	Zona de inoculación	% control
T1: Fertimar: 0,2 kg/200 L	Variedad	80,1z
T1: Fertimar: 0,2 kg/200 L	Patrón	0,0
T2: Fertimar: 0,3 kg /200 L	Variedad	84,2
T2: Fertimar: 0,3 kg /200 L	Patrón	20,8
T3: Fertimar: 0,4 kg 200 L	Variedad	82,9
T3: Fertimar: 0,4 kg 200 L	Patrón	8,3

Z Cada dato es el resultado de la conversión de la fórmula: % control=100 - [(Área de lesión x 100) / Área de lesión del testigo].

Tabla 6. Porcentaje de control de diferentes dosis de aplicaciones foliares de Fertimar frente a infecciones por Lasiodiplodia theobromae en palto. Evaluación de la eficacia de las aplicaciones curativas

Tratamientos	Zona de inoculación	% control
T1: Fertimar: 0,2 kg/200 L	Variedad	38,6z
T1: Fertimar: 0,2 kg/200 L	Patrón	0,0
T2: Fertimar: 0,3 kg /200 L	Variedad	35,4
T2: Fertimar: 0,3 kg /200 L	Patrón	0,0
T3: Fertimar: 0,4 kg 200 L	Variedad	42,5
T3: Fertimar: 0,4 kg 200 L	Patrón	0,0

Z Cada dato es el resultado de la conversión de la fórmula: % control=100 - [(Área de lesión x 100) / Área de lesión del testigo].

ANEXOS: FIGURAS



Figura 1a y 1b. Área de lesión registrada en inoculaciones en la zona de la variedad (en flechas) en el tratamiento Testigo. Nótese el brote foliar afectado por el avance de la lesión e inicios de esporulación (3b).



Figura 1c y 1d. Área de lesión registrada en inoculaciones en la zona del patrón (1c) y de la variedad (1d) en Tratamientos con Fertimar en aplicaciones bajo estrategias curativas. Nótese el avance de las lesiones a partir del punto de inoculación.



Figura 1e y 1f. Área de lesión registrada en inoculaciones en la zona del patrón (1e) y de la variedad (1f) en Tratamientos con Fertimar en aplicaciones bajo estrategias preventivas. Nótese la restricción de las lesiones sólo al punto de inoculación.



ACTAS • PROCEEDINGS

VIII CONGRESO MUNDIAL DE LA PALTA 2015

del 13 al 18 de Septiembre. Lima, Perú 2015

www.wacperu2015.com

