



**UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO**

**FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE SANIDAD**

**VEGETAL**



**Eficacia de estrategias convencionales, químicas y biológicas para  
el manejo de *Phytophthora cinnamomi* en el cultivo de palto  
(*Persea americana* L.)**

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGRÓNOMO

Autores:

Bach. Arbulú Vergara Tulio Armando

Bach. Bances Rios Miguel Ángel

Asesora:

M.Sc. Ing. María Julia Jaramillo Carrión

**LAMBAYEQUE, PERÚ**

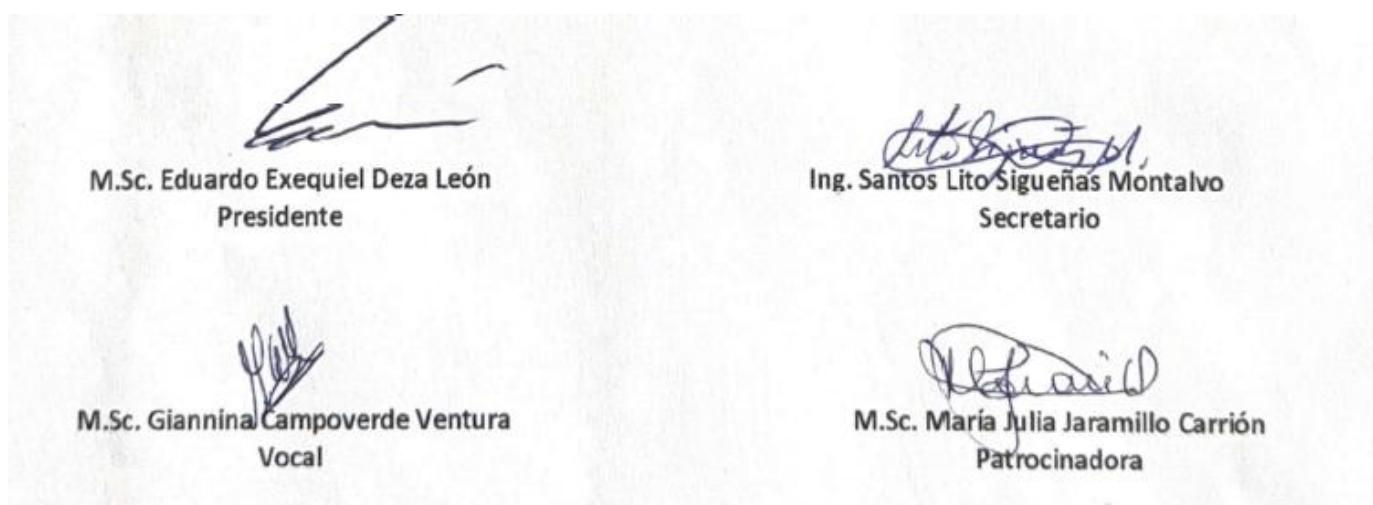
**2026**

**Eficacia de estrategias convencionales, químicas y biológicas para  
el manejo de *Phytophthora cinnamomi* en el cultivo de palto  
(*Persea americana* L.)**

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGRÓNOMO

**APROBADA POR:**



**LAMBAYEQUE, PERU**

**2026**



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO  
**FACULTAD DE AGRONOMÍA**  
**UNIDAD DE INVESTIGACIÓN**



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N°021-2026-D-FAG**

En la ciudad de Lambayeque a los cuatro días del mes de mayo del año dos mil veintiséis, siendo las diez de la mañana, se reunieron en el Auditorio de la Facultad de Agronomía los Miembros del Jurado evaluador de la tesis titulada: "EFICACIA DE ESTRATEGIAS CONVENCIONALES, QUÍMICAS Y BIOLÓGICAS PARA EL MANEJO DE *Phytophthora cinnamomi* EN EL CULTIVO DE PALTO (*Persea americana* L.)", mediante Resolución N°114-2025-D-FAG, de fecha 26 de mayo del 2025, se nombra el jurado de tesis; con Resolución N°165-2025-D-FAG, de fecha 30 de junio del 2025, se resuelve Cambio de Jurado (P), con Resolución N°284-2025-D-FAG, de fecha 07 de noviembre del 2025, se resuelve cambio de Miembros de Jurado (Presidente y Secretario), y con Resolución N°345-2025-D-FAG, de fecha 31 de diciembre del 2025, se aprueba el proyecto de Tesis; con la finalidad de evaluar y calificar la Sustentación de la Tesis antes mencionada, conformado por los siguientes docentes:

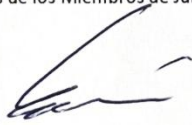
M.Sc. Eduardo Exequiel Deza León	Presidente
Ing. Santos Lito Sigueñas Montalvo	Secretario
M.Sc. Giannina Campoverde Ventura	Vocal
M.Sc. María Julia Jaramillo Carrión	Patrocinadora

El acto de Programación de Sustentación fue autorizado por RESOLUCIÓN N°082-2026-D-FAG, de fecha 23 de abril del 2026.

La Tesis fue presentada y sustentada por el Bachiller **ARBULU VERGARA TULIO ARMANDO**, tuvo una duración de 68 minutos. Después de la sustentación y absueltas las preguntas de los Miembros de Jurado, se procedió a la calificación respectiva otorgándole el calificativo de 18 en la escala vigesimal, con mención MUY BUENO.

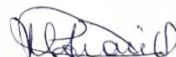
Por lo que queda **APTO (A)** para obtener el Título Profesional de Ingeniero (a) Agrónomo (a) de acuerdo con la Ley Universitaria N° 30220 y el Art. 46° del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

Siendo las 11:09, se dio por concluido el presente acto académico, dándose conformidad el presente acto con las firmas de los Miembros de Jurado.

  
M.Sc. Eduardo Exequiel Deza León  
Presidente

  
Ing. Santos Lito Sigueñas Montalvo  
Secretario

  
M.Sc. Giannina Campoverde Ventura  
Vocal

  
M.Sc. María Julia Jaramillo Carrión  
Patrocinadora

Observación:

.....  
.....  
.....



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO  
**FACULTAD DE AGRONOMÍA**  
**UNIDAD DE INVESTIGACIÓN**



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N°022-2026-D-FAG

En la ciudad de Lambayeque a los cuatro días del mes de mayo del año dos mil veintiséis, siendo las diez de la mañana, se reunieron en el Auditorio de la Facultad de Agronomía los Miembros del Jurado evaluador de la tesis titulada: "EFICACIA DE ESTRATEGIAS CONVENCIONALES, QUÍMICAS Y BIOLÓGICAS PARA EL MANEJO DE *Phytophthora cinnamomi* EN EL CULTIVO DE PALTO (*Persea americana* L.)", mediante Resolución N°114-2025-D-FAG, de fecha 26 de mayo del 2025, se nombra el jurado de tesis; con Resolución N°165-2025-D-FAG, de fecha 30 de junio del 2025, se resuelve Cambio de Jurado (P), con Resolución N°284-2025-D-FAG, de fecha 07 de noviembre del 2025, se resuelve cambio de Miembros de Jurado (Presidente y Secretario), y con Resolución N°345-2025-D-FAG, de fecha 31 de diciembre del 2025, se aprueba el proyecto de Tesis; con la finalidad de evaluar y calificar la Sustentación de la Tesis antes mencionada, conformado por los siguientes docentes:

- |                                     |               |
|-------------------------------------|---------------|
| M.Sc. Eduardo Exequiel Deza León    | Presidente    |
| Ing. Santos Lito Sigueñas Montalvo  | Secretario    |
| M.Sc. Giannina Campoverde Ventura   | Vocal         |
| M.Sc. María Julia Jaramillo Carrión | Patrocinadora |

El acto de Programación de Sustentación fue autorizado por RESOLUCIÓN N°082-2026-D-FAG, de fecha 23 de abril del 2026.

La Tesis fue presentada y sustentada por el Bachiller **BANCES RIOS MIGUEL ANGEL**, tuvo una duración de .68 minutos. Después de la sustentación y absueltas las preguntas de los Miembros de Jurado, se procedió a la calificación respectiva otorgándole el calificativo de 1.8 en la escala vigesimal, con mención MUY BUENO.

Por lo que queda **APTO (A)** para obtener el Título Profesional de Ingeniero (a) Agrónomo (a) de acuerdo con la Ley Universitaria N° 30220 y el Art. 46° del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

Siendo las 11:09, se dio por concluido el presente acto académico, dándose conformidad el presente acto con las firmas de los Miembros de Jurado.

M.Sc. Eduardo Exequiel Deza León  
Presidente

Ing. Santos Lito Sigueñas Montalvo  
Secretario

M.Sc. Giannina Campoverde Ventura  
Vocal

M.Sc. María Julia Jaramillo Carrión  
Patrocinadora

Observación:

.....

.....

.....

## CONSTANCIA DE VERIFICACIÓN DE ORIGINALIDAD

Yo, María Julia Jaramillo Carrión, identificado con DNI 18022248, patrocinadora de la tesis titulada "Eficacia de estrategias convencionales, químicas y biológicas para el manejo de *Phytophthora cinnamomi* en el cultivo de palto (*Persea americana L.*)", **DECLARO** que, luego de haber evaluado el referido documento, mediante el uso del programa informático de verificación de similitud (Turnitin), ha arrojado un porcentaje de similitud del 12%, corroborado con el reporte que arroja el aplicativo, el cual se anexa.

El suscrito analizó dicho reporte y concluyó que las coincidencias detectadas están dentro del porcentaje permitido en la Directiva para la evaluación de originalidad de los documentos académicos y de investigación de la UNPRG, aprobado con RESOLUCION N° 626-2021-CU, lo cual no constituye plagio y que el documento cumple con los requisitos de integridad científica y con las normas para el uso de citas y referencias.

En caso de que se demuestre lo contrario, asumo cualquier responsabilidad administrativa, sin perjuicio de que se anule la presente tesis y se declare como NO ADMITIDA

Lambayeque, 22 de abril del 2026



---

**Ing MSc. María Julia Jaramillo Carrión**  
Patrocinadora

# Eficacia de estrategias convencionales, químicas y biológicas para el manejo de *Phytophthora cinnamomi* en el cultivo de palto (*Persea americana* L.)


INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

Rank	Source	Source Type	Percentage
1	hdl.handle.net	Fuente de Internet	2%
2	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga	Trabajo del estudiante	1%
3	repositorio.unica.edu.pe	Fuente de Internet	1%
4	eprints.uanl.mx	Fuente de Internet	1%
5	bdigital.unal.edu.co	Fuente de Internet	1%
6	orcid.org	Fuente de Internet	1%
7	censa.edicionescervantes.com	Fuente de Internet	1%
8	repositorio.unheval.edu.pe	Fuente de Internet	<1%
9	tesisdigitales.umich.mx	Fuente de Internet	<1%
10	repositorio.unprg.edu.pe	Fuente de Internet	<1%

cienciasagricolas.inifap.gob.mx

  
Dra. María Jesús Taracilla Carrión  
DNI 18022248



## Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por Turnitin. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: Tulio Arbulú/ Miguel Bances  
Título del ejercicio: Quick Submit  
Título de la entrega: Eficacia de estrategias convencionales, químicas y biológicas p...  
Nombre del archivo: Tesis\_Tulio\_Arbulú\_y\_Miguel\_Bances.docx  
Tamaño del archivo: 14.52M  
Total páginas: 99  
Total de palabras: 18,092  
Total de caracteres: 100,903  
Fecha de entrega: 02-abr-2026 07:36p. m. (UTC-0500)  
Identificador de la entrega: 2921159134

UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO  
FACULTAD DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE SANIDAD VEGETAL

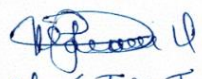
Eficacia de estrategias convencionales, químicas y biológicas para el manejo de *Phytophthora cinnamomi* en el cultivo de palto (*Persea americana* L.)

TESIS  
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGRÓNOMO

Autores:  
Bach. Arbulú Vergara Tulio Armando  
Bach. Bances Ríos Miguel Ángel

Asesora:  
M.Sc. Ing. María Julia Jaramillo Carrión

LAMBAYEQUE, PERÚ  
2026

  
Ing. María Julia Jaramillo  
Carrión  
DNI 18022248

## **AGRADECIMIENTO**

Ante todo, agradecer a Dios, por permitirnos realizar de la mejor manera este proyecto,  
mantenernos siempre unidos y con buena salud,  
siendo nuestro guía, respaldo y demostrarnos que siempre se puede contar él,  
ya sea durante cada etapa de este proceso  
y así mismo cada momento de nuestra vida.

A la Ing. MSc. María Julia Jaramillo Carrión, por su dedicada paciencia  
y orientación en la realización de este proyecto,  
asimismo, al Lic. Esteban Valladolid Suyón, por su apoyo y predisposición  
ante las diferentes dudas que hemos tenido durante este tiempo.

De antemano agradecerles por su valioso asesoramiento,  
por habernos guiado en la elaboración y ejecución  
de nuestro proyecto de tesis  
y esta demás decirles que siempre estaremos en deuda con ustedes.

A nuestra alma mater, la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo,  
y a la Facultad de Agronomía,  
por la formación académica brindada.

## **DEDICATORIA**

A mis padres Ángel y María, por haberme brindado su amor incondicional,

apoyo constante, compañía en cada etapa de mi vida,

por haberme enseñado a esforzarme cada día más,

cumplir mis objetivos, ser constante y no desistir

A mi querida hermana Marisela, por sus palabras de ánimo.

A mis abuelos, aquellos que lamentablemente partieron al cielo,

a mi amado abuelo Mariano, aquel que aún me acompaña,

y ha sido participe de mi crecimiento y desarrollo profesional,

brindándome su apoyo y consejos.

**MIGUEL ANGEL BANCES RIOS**

Quiero dedicar esto a mi Familia,

Mi hijo Carlos Enrique que este logro es por él y para él,

A mi pareja Susy Lalangui, por el amor incondicional y el soporte,

A mi Madre Yolanda que me acompaña desde el cielo,

Mi Papá Jorge Enrique, por todo lo brindado, el cariño

El amor y la constancia para cumplir mis metas.

A mis hermanos Jorge y Claudia por su cariño,

Y animo todo este tiempo.

Y a mi tía Amelia, por todo el amor que nos ha brindado,

Y apoyo a lo largo de los años.

**TULIO ARMANDO ARBULU VERGARA**

## Índice

I.	INTRODUCCIÓN .....	1
II.	MARCO TEÓRICO .....	4
	2.1 Antecedentes de la investigación .....	4
	2.2 Base teórica .....	7
	2.2.1 Producción de palto.....	7
	2.2.2. Pudrición radicular o tristeza del palto ocasionada por <i>Phytophthora cinnamomi</i> .....	8
	2.2.3. Descripción de productos comerciales utilizados en la investigación.....	10
	2.4 Bases conceptuales (Categorización de variables).....	11
III.	DISEÑO METODOLÓGICO .....	13
	3.1 Diseño de Contrastación de Hipótesis.....	13
	3.2 Población y muestra .....	15
	3.3 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	15
	3.3.1 Aislamiento de <i>Phytophthora cinnamomi</i> .....	15
	3.3.2 Aislamiento y caracterización morfológica de <i>Phytophthora cinnamomi</i> .....	17
	3.3.3 Efecto <i>in vitro</i> de estrategias convencionales, químicas y biológicas, sobre <i>Phytophthora cinnamomi</i> . .....	18
	3.3.4 Eficacia de estrategias químicas y biológicas en el control de <i>Phytophthora cinnamomi</i> y su efecto bioestimulante en plantas de palto ( <i>Persea americana</i> ), comparando frente a los convencionales bajo condiciones de casa malla. ....	21
	3.4 Análisis estadístico de los datos .....	27
IV.	RESULTADOS .....	28
	4.1 Aislamiento y caracterización morfológica de <i>Phytophthora cinnamomi</i> .....	28
	4.2 Efecto <i>in vitro</i> de estrategias convencionales, químicas y biológicas, sobre <i>Phytophthora cinnamomi</i> .....	30
	4.3 Eficacia de estrategias químicas y biológicas en el control de <i>Phytophthora cinnamomi</i> y su efecto bioestimulante en plantas de palto ( <i>Persea americana</i> ), comparando frente a los convencionales bajo condiciones de casa malla. ....	36
V.	DISCUSIÓN .....	56

VI.	CONCLUSIONES.....	63
VII.	RECOMENDACIONES .....	64
VIII.	REFERENCIAS.....	65
	ANEXOS .....	70

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1</b> Operacionalización de variables para estudiar la eficacia de estrategias convencionales, químicas y biológicas para el manejo de <i>Phytophthora cinnamomi</i> en el cultivo de palto ( <i>Persea americana</i> L.).....	12
<b>Tabla 2</b> Tratamientos evaluados, para determinar eficacia de control en <i>Phytophthora cinnamomi</i> en condiciones de invernadero.....	14
<b>Tabla 3</b> Tratamientos para evaluar in vitro eficacia de control de alternativas convencionales, químicas y biológicas sobre <i>Phytophthora cinnamomi</i> .....	19
<b>Tabla 4</b> Escala para evaluar síntomas secundarios provocados por <i>Phytophthora cinnamomi</i> .....	25
<b>Tabla 5</b> Análisis de varianza para los efectos in vitro de estrategias convencionales, químicas y biológicas, sobre <i>Phytophthora cinnamomi</i> .....	30
<b>Tabla 6</b> Medias estimadas (emmeans) para los efectos in vitro de estrategias convencionales, químicas y biológicas, sobre <i>Phytophthora cinnamomi</i> en el día 7 y agrupación según prueba post hoc Tukey.....	32
<b>Tabla 7</b> Análisis de varianza para el efecto del tratamiento sobre PICM (Día 7) .....	33
<b>Tabla 8</b> Medias de PICM y comparación múltiple de tratamientos mediante Tukey HSD ( $\alpha = .05$ ) .....	33
<b>Tabla 9</b> Análisis de varianza para el efecto del tratamiento y tiempo sobre la altura de la planta en estrés biótico inducido por <i>Phytophthora cinnamomi</i> .....	44
<b>Tabla 10</b> Análisis de varianza para el efecto del tratamiento sobre el peso húmedo radicular en estrés biótico inducido por <i>Phytophthora cinnamomi</i> .....	46
<b>Tabla 11</b> Análisis de varianza para el efecto del tratamiento sobre el peso seco radicular en estrés biótico inducido por <i>Phytophthora cinnamomi</i> .....	46

<b>Tabla 12</b> <i>Análisis de varianza para el efecto del tratamiento sobre la biomasa aérea fresca en estrés biótico inducido por Phytophthora cinnamomi</i> .....	48
<b>Tabla 13</b> <i>Análisis de varianza para el efecto del tratamiento sobre la biomasa aérea seca en estrés biótico inducido por Phytophthora cinnamomi</i> .....	50
<b>Tabla 14</b> <i>Análisis de varianza para el efecto del tratamiento y tiempo sobre el índice spad (contenido de clorofila) de la planta en estrés biótico inducido por Phytophthora cinnamomi</i> .....	51
<b>Tabla 15</b> <i>Análisis de varianza para el efecto del tratamiento sobre aérea foliar en estrés biótico inducido por Phytophthora cinnamomi</i> .....	53
<b>Tabla 16</b> <i>Degradación de carboximetilcelulosa (CMC) en la capacidad enzimática del microbiota del suelo según el tratamiento aplicado</i> .....	55

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b> <i>Tratamientos distribuidos en un Diseño completamente al azar (DCA), para determinar eficacia de control en <i>Phytophthora cinnamomi</i> en condiciones de invernadero</i>	14
<b>Figura 2</b> <i>Análisis de muestras de raíces con pudrición y siembra en medio de cultivo</i> .....	16
<b>Figura 3</b> <i>Purificación de aislamientos obtenidos a partir de muestras de raíces con pudrición</i> .....	17
<b>Figura 4</b> <i>Prueba de medio envenenado para determinar eficacia in vitro de los productos utilizados</i> .....	20
<b>Figura 5</b> <i>Multiplicación de <i>Phytophthora cinnamomi</i> en pétalos de clavel</i> .....	22
<b>Figura 6</b> <i>Inoculación de <i>Phytophthora cinnamomi</i> y aplicación de los tratamientos</i> .....	23
<b>Figura 7</b> <i>Escala de evaluación del daño radicular ocasionado por <i>P. cinnamomi</i> en palto.</i>	24
<b>Figura 8</b> <i>Evaluación de los parámetros para determinar la eficacia de control de las nuevas alternativas</i> .....	26
<b>Figura 9</b> <i>Sintomatología y aislamiento de <i>Phytophthora cinnamomi</i></i> .....	28
<b>Figura 10</b> <i>Características macro y microscópicas de <i>Phytophthora cinnamomi</i></i> .....	29
<b>Figura 11</b> <i>Dinámica del crecimiento radial de <i>Phytophthora cinnamomi</i> durante los 7 días en medio envenenado con tratamientos</i> .....	31
<b>Figura 12</b> <i>Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>Phytophthora cinnamomi</i> a los 7 días en medio envenenado con diferentes fungicidas</i> .....	34
<b>Figura 13</b> <i>Efecto in vitro de estrategias convencionales, químicas y biológicas, sobre <i>Phytophthora cinnamomi</i></i> .....	35
<b>Figura 14</b> <i>Distribución de severidad de pudrición radicular en plántulas de palto infectadas por <i>Phytophthora cinnamomi</i> en condiciones de invernadero (90 días) en diferentes tratamientos</i> .....	37

<b>Figura 15</b> Nivel de daño radicular en plántulas de palto infectadas por <i>Phytophthora cinnamomi</i> en condiciones de invernadero (90 días) en diferentes tratamientos .....	37
<b>Figura 16</b> Severidad de pudrición radicular en plántulas de palto infectadas por <i>Phytophthora cinnamomi</i> en condiciones de invernadero (90 días) en diferentes tratamientos .....	38
<b>Figura 17</b> Incidencia de síntomas en la parte aérea producido por <i>Phytophthora cinnamomi</i> en condiciones de invernadero .....	39
<b>Figura 18</b> Curva de progreso de la enfermedad de diferentes tratamientos sobre el marchitamiento aéreo en plántulas de palto infectadas por <i>Phytophthora cinnamomi</i> en condiciones de invernadero (90 días).....	41
<b>Figura 19</b> Efecto de diferentes tratamientos sobre la severidad final del marchitamiento aéreo en plántulas de palto infectadas por <i>Phytophthora cinnamomi</i> en condiciones de invernadero (90 días) .....	41
<b>Figura 20</b> Severidad de marchitamiento (síntomas secundarios) en plántulas de palto infectadas por <i>Phytophthora cinnamomi</i> en condiciones de invernadero (90 días) en diferentes tratamientos .....	42
<b>Figura 21</b> Área bajo la curva del progreso de la enfermedad de diferentes tratamientos sobre el marchitamiento aéreo en plántulas de palto infectadas por <i>Phytophthora cinnamomi</i> en condiciones de invernadero (90 días).....	43
<b>Figura 22</b> Evolución de la altura frente al estrés biótico inducido por <i>Phytophthora cinnamomi</i> en diferentes tratamientos con estrategias biológicas, químicas y convencionales durante 90 días.....	45
<b>Figura 23</b> Efecto de tratamientos sobre el peso húmedo radicular en estrés biótico inducido por <i>Phytophthora cinnamomi</i> .....	47
<b>Figura 24</b> Efecto de tratamientos sobre el peso seco radicular en estrés biótico inducido por <i>Phytophthora cinnamomi</i> .....	47

<b>Figura 25</b> <i>Efecto de tratamientos sobre el peso fresco de la biomasa aérea en estrés biótico inducido por <i>Phytophthora cinnamomi</i></i> .....	49
<b>Figura 26</b> <i>Efecto de tratamientos sobre el peso seco de la biomasa aérea en estrés biótico inducido por <i>Phytophthora cinnamomi</i></i> .....	50
<b>Figura 27</b> <i>Evolución del índice Spad frente al estrés biótico inducido por <i>Phytophthora cinnamomi</i> en diferentes tratamientos con estrategias biológicas, químicas y convencionales durante 90 días</i> .....	52
<b>Figura 28</b> <i>Efecto de tratamientos sobre el área foliar en estrés biótico inducido por <i>Phytophthora cinnamomi</i></i> .....	53
<b>Figura 29</b> <i>Actividad celulasa observada por la presencia de halos claros alrededor del crecimiento microbiano, para comparar la intensidad de actividad entre diferentes tratamientos</i> .....	55

## RESUMEN

La pudrición de la raíz causada por *Phytophthora cinnamomi*, aislada e identificada morfológicamente en la región de Chepén, limita severamente la producción de palto. Este estudio evaluó la eficacia *in vitro* e *in vivo* (casa malla) del cobre y una alternativa biológica (*Trichoderma harzianum*) a los fungicidas convencionales. Las pruebas *in vitro* mostraron que *T. harzianum* inhibió completamente (~100%) el crecimiento radial del patógeno. Entre los fungicidas químicos, las dosis más altas de fosetil-Al y sulfato de cobre superaron el 90% de inhibición micelial. *In vivo*, el fosetil-Al, utilizado como referencia, erradicó completamente la enfermedad (AUDPC = 0). Sin embargo, el gluconato de cobre y *T. harzianum* demostraron un excelente control de la enfermedad (AUDPC = 7.5), superando al metalaxil (AUDPC = 37.5) y previniendo el colapso fisiológico observado en el control infectado (AUDPC = 105.0). Además, demostraron un notable efecto bioestimulante: el gluconato maximizó la acumulación de biomasa seca (59 g) y *T. harzianum* maximizó el peso fresco (82 g). La integración de métodos biológicos como *Trichoderma* y fungicidas a base de cobre es una estrategia altamente competitiva y viable para el manejo de enfermedades y el mantenimiento del vigor de los cultivos.

**Palabras clave:** *Persea americana*, inhibición micelial, oomiceto, control biológico, fungicidas a base de cobre, AUDPC.

## ABSTRACT

Root rot caused by *Phytophthora cinnamomi*, isolated and morphologically identified in the Chepén region, severely limits avocado production. This study evaluated the in vitro and in vivo (screen house) efficacy of copper and a biological alternative (*Trichoderma harzianum*) to conventional fungicides. *In vitro* tests showed that *T. harzianum* completely inhibited (~100%) the radial growth of the pathogen. Among the chemical fungicides, the highest doses of fosetyl-Al and copper sulfate exceeded 90% mycelial inhibition. In vivo, fosetyl-Al, used as a reference, completely eradicated the disease (AUDPC = 0). However, copper gluconate and *T. harzianum* demonstrated excellent disease control (AUDPC = 7.5), outperforming metalaxyl (AUDPC = 37.5) and preventing the physiological collapse observed in the infected control (AUDPC = 105.0). Furthermore, they demonstrated a remarkable biostimulant effect: gluconate maximized dry biomass accumulation (59 g), and *T. harzianum* maximized fresh weight (82 g). The integration of biological methods such as *Trichoderma* and copper-based fungicides is a highly competitive and viable strategy for disease management and maintaining crop vigor.

**Keywords:** *Persea americana*, mycelial inhibition, oomycete, biological control, copper-based fungicides, AUDPC.

## I. INTRODUCCIÓN

El palto (*Persea americana* L.) es un cultivo de gran importancia económica y agrícola de exportación, particularmente en países como Perú, Chile y México. Perú se ha posicionado como el segundo mayor exportador mundial de palta, registrando un crecimiento del 79,2% en volumen y 72,7% en valor, en comparación con el mismo periodo del año anterior. En 2023, las exportaciones peruanas de palta totalizaron 599,208 toneladas por 963,4 millones de dólares, con un crecimiento del 9% en valor y 2,7% en volumen respecto a 2022. La fruta llegó a 40 mercados, destacando Países Bajos, España, Estados Unidos, Chile y Reino Unido, que en conjunto representaron el 83,43% del total exportado (ProHass, 2023).

Sin embargo, enfrenta una grave amenaza fitosanitaria debido a la infección por *Phytophthora cinnamomi*, un oomiceto causante de la pudrición radicular del palto, afectando significativamente el crecimiento, desarrollo y producción del cultivo (Toapanta-Gallegos et al., 2017). Este patógeno ataca las raíces absorbentes del árbol de palto, interfiriendo con la absorción de agua y nutrientes, provocando síntomas como marchitez, reducción del follaje, clorosis y, en casos avanzados, muerte de la planta. La enfermedad se propaga rápidamente en suelos húmedos y mal drenados, empeorando el problema en zonas con altas precipitaciones o sistemas de riego ineficientes (Amador et al., 2022). Así mismo, suelos con mayor humedad, contenido de materia orgánica y niveles de cobre registran menor presencia de la enfermedad, mientras que una mayor densidad del suelo y pH elevado favorecen su avance (Romero, 2014).

Actualmente, el control de *Phytophthora cinnamomi* se basa principalmente en el uso de fungicidas sistémicos como fosetil-Al y metalaxil, así como en prácticas culturales encaminadas a mejorar el drenaje del suelo. El manejo cultural y biológico incluye medidas como la siembra en montículos y la aplicación de hongos benéficos como *Trichoderma harzianum* para reducir la incidencia de la enfermedad (de Andrade et al., 2022). Asimismo, el

uso de patrones resistentes es clave en el control. El control químico complementa estas estrategias mediante la aplicación de fungicidas protectantes, como ditiocarbamatos antes del trasplante, y sistémicos en campo, como metalaxil y fosetil-Al (acilalaninas y fosfonatos) (Castaño Zapata & Leal, 2018) son efectivos. Sin embargo, el uso prolongado de estos productos puede generar resistencia en el patógeno, afectar el microbiota del suelo, contaminación ambiental y altos costos para los productores.

En este contexto, es necesario evaluar estrategias alternativas y sustentables, como el uso de agentes de control biológico, minerales y extractos vegetales, que puedan mitigar el impacto de la enfermedad sin comprometer la calidad ambiental ni la salud del suelo. Considerando el impacto económico y productivo de esta enfermedad en el cultivo de palto, esta investigación tiene como objetivo evaluar la efectividad de diferentes estrategias de control contra *Phytophthora cinnamomi*, ofreciendo alternativas viables y sostenibles a los productores.

La integración de biocontroladores, compuestos minerales y extractos de plantas en el manejo de enfermedades puede ofrecer una alternativa más sostenible y efectiva. Especies de *Trichoderma* se ha estudiado ampliamente por su capacidad para competir con *Phytophthora cinnamomi*, mientras que el gluconato y el sulfato pueden mejorar la salud del suelo y fortalecer las raíces del palto. Por otro lado, el extracto de caña de azúcar podría promover el crecimiento de las plantas y aumentar su tolerancia al estrés.

Además, esta investigación tiene una importante perspectiva ambiental, ya que el uso de métodos biológicos podría reducir la dependencia de agroquímicos, promoviendo así una producción más sustentable y resiliente a las enfermedades del suelo. Bajo este criterio se formuló el problema de investigación ¿Cuál es la eficacia de estrategias convencionales (fosetyl y metalaxyl), químicas (gluconato de cobre y sulfato de cobre) y biológicas

(*Trichoderma* y extracto de caña + ácidos urónicos) para el manejo de *Phytophthora cinnamomi* en el cultivo de palto (*Persea americana* L.)?.

Como hipótesis se tuvieron H1: El uso de estrategias convencionales, químicas y biológicas mejora el manejo de *Phytophthora cinnamomi* en el cultivo de palto, reduciendo la incidencia y severidad de la enfermedad y favoreciendo el desarrollo del cultivo.

H0: El uso de estrategias convencionales, químicas y biológicas no mejora el manejo de *Phytophthora cinnamomi* en el cultivo de palto, y no logran reducir la incidencia y severidad de la enfermedad y por lo tanto no favorecen el desarrollo del cultivo.

Para cumplir con el desarrollo de esta investigación se planteó el objetivo general, estudiar la eficacia de estrategias convencionales (fosetyl y metalaxyl), químicas (gluconato de cobre y sulfato de cobre) y biológicas (*Trichoderma* y extracto de caña + ácidos urónicos) para el manejo de *Phytophthora cinnamomi* en el cultivo de palto (*Persea americana* L.) y los objetivos específicos fueron i) Aislar e identificar morfológicamente a *Phytophthora cinnamomi* de raíces afectadas provenientes de la localidad de Chepén, ii) Determinar el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Phytophthora cinnamomi in vitro*, evaluando el efecto de nuevas estrategias de control químicas (gluconato de cobre y sulfato de cobre), biológicas (como *Trichoderma* sp. y extracto de caña + ácidos urónicos), aplicados en tres dosis diferentes, y comparándolos con las estrategias convencionales (Fosetyl y Metalaxyl), iii) Evaluar la eficacia de estrategias químicas y biológicas en el control de *Phytophthora cinnamomi* y su efecto bioestimulante en plantas de palto (*Persea americana*), comparando el desempeño de tratamientos alternativos (gluconato de cobre, sulfato de cobre, *Trichoderma harzianum* y extracto de caña con ácidos urónicos) frente a los convencionales (Fosetyl-Al y Metalaxil) bajo condiciones de casa malla.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes de la investigación

Gutiérrez (2023) evaluó el impacto de distintas dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de *Phytophthora cinnamomi* en palto variedad Hass en el valle de Cañete. Los tratamientos incluyeron: T1 (control sin aplicación), T2 (*Trichoderma harzianum* a 1,5 mL p.c./árbol), T3 (*Trichoderma harzianum* a 3,5 mL p.c./árbol) y T4 (*Trichoderma harzianum* a 5,5 mL p.c./árbol). Se analizaron el número de frutos por árbol, rendimiento por planta y total, severidad de la enfermedad y eficiencia de control, empleando la prueba de Duncan para la comparación de medias. Los tratamientos T3 y T4 lograron 145,78 y 142,23 frutos por árbol, con rendimientos de 31,58 y 31,07 kg/planta y totales de 26,31 y 25,90 t/ha, respectivamente. La severidad de la enfermedad fue de 0,75, con una incidencia del 7,5 al 10 % y una eficiencia de control del 79,19 % y 81,25 %. Las dosis de 3,5 mL y 5,5 mL de *Trichoderma harzianum* demostraron una efectividad significativa en el control de *Phytophthora cinnamomi*.

Gastañadui et al. (2021) evaluaron el efecto de diferentes cepas de *Trichoderma* en el control de *P. cinnamomi* en el portainjerto Zutano bajo condiciones de invernadero. Se probaron cinco aislados de *Trichoderma*. Las evaluaciones se realizaron a los 30, 45 y 60 días, observándose que todos los aislados colonizaron la rizosfera del palto. Sin embargo, no se encontró relación entre una mayor formación de colonias de *Trichoderma* y un mejor control de *P. cinnamomi*. Todas las cepas lograron controlar la pudrición radicular, pero las cepas Chav01 y Chav02 destacaron por promover un mayor diámetro del tallo, mayor biomasa seca en la raíz y un mayor porcentaje de raíces sanas en comparación con UNALM01, UNALM02 y la cepa comercial. En consecuencia, los aislados nativos de *Trichoderma* provenientes de la zona de Chavimochic pueden considerarse como potenciales candidatos para el control biológico de *P. cinnamomi*.

Justo (2021) llevó a cabo un experimento en una parcela de palto (*Persea americana* Mill.) cv. Hass, ubicada en zona tropical, con el objetivo de evaluar alternativas para el control de *Phytophthora cinnamomi* Rands. Se probaron cuatro tratamientos: T1 (Fosetyl-Al), T2 (Metalaxyl + Mancozeb), T3 (sulfato de cobre pentahidratado) y T0 (testigo absoluto), aplicados en un diseño de bloques completos aleatorizados con cuatro repeticiones, sumando un total de 16 unidades experimentales. Las variables evaluadas fueron altura de planta, número de brotes nuevos y longitud de brotes. Los análisis estadísticos revelaron que el tratamiento T3 mostró la mayor altura promedio de plantas, mientras que T1 destacó por presentar el mayor número y longitud de brotes, con diferencias estadísticas significativas frente a los demás tratamientos.

Mondragón-Flores et al. (2021) caracterizaron aislados de *P. cinnamomi* mediante análisis morfológico y molecular. Para confirmar su patogenicidad, se realizaron pruebas en frutos de palto con los aislados obtenidos. Se evaluó la sensibilidad de los aislados a fosfito de potasio y metalaxil-M en distintas concentraciones bajo condiciones *in vitro*. Los resultados mostraron que los 15 aislados presentaban micelio cenocítico coraloide, clamidosporas, esporangios sin papila de forma ovoide y elipsoide con proliferación interna, heterotálicos, compatibilidad A2, anteridios anfíginos y oosporas pleróticas, características propias de *P. cinnamomi*. Los aislados inoculados resultaron ser patógenos en los frutos de palto. En términos de sensibilidad a fungicidas, mostraron una mayor susceptibilidad al fosfito de potasio (CE50 de 24.62  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de i.a.) en comparación con el metalaxil-M (CE50 de 0.215  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de i.a.).

Sumida et al. (2020) evaluaron el uso de métodos químicos y biológicos mediante aislados de *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas fluorescens*. Analizaron: (i) la inhibición del crecimiento micelial de *Phytophthora cinnamomi* por aislados de *Trichoderma* spp. y *P. fluorescens* provenientes de distintos sistemas de cultivo, (ii) el efecto de los metabolitos

autoclavados y no autoclavados de *P. fluorescens*, y (iii) la eficacia del tratamiento químico y biológico en plántulas de palto bajo condiciones de campo. Los aislados de *Trichoderma* spp. obtenidos de suelos de cultivo de maíz, así como los productos comerciales formulados con *Trichoderma*, mostraron un antagonismo significativo ( $p < 0.05$ ) contra *P. cinnamomi* en pruebas *in vitro*. De igual manera, los metabolitos no autoclavados de *P. fluorescens* demostraron potencial para inhibir el crecimiento del patógeno. En ensayos de campo, tanto el fungicida metalaxil como los bioagentes evaluados fueron efectivos en el control de *P. cinnamomi*, promoviendo además un incremento en la longitud y masa de las raíces.

Sanchez et al. (2019) evaluaron cepas de *Trichoderma* frente a cuatro especies de *Phytophthora*, logrando reducir el crecimiento de al menos dos de ellas en más del 45 % y mostrando notable actividad micoparasítica. De seis cepas seleccionadas, tres de *T. harzianum* destacaron y fueron probadas en condiciones semi comerciales. Durante el primer año, las cepas locales aplicadas de forma preventiva disminuyeron significativamente la pudrición del cuello en perales, con resultados similares a los de una cepa comercial de *T. atroviride* y el producto PHI K. Entre ellas, *T. harzianum* 1330 y 1377 redujeron la enfermedad en un 97 %. En el segundo año, los aislados regionales mantuvieron altos niveles de control, y en tratamientos curativos, *T. harzianum* 1367 sobresalió al disminuir en un 97 % el área afectada, registrando la menor lesión promedio (0.11 cm<sup>2</sup>).

Ochoa et al. (2019) evaluaron el uso de aceites esenciales de orégano (*Lippia berlandieri*) y clavo (*Syzygium aromaticum*) para el control orgánico del crecimiento *in vitro* de *Phytophthora cinnamomi*. Los aislamientos obtenidos fueron identificados mediante análisis morfológico y molecular. Para evaluar el efecto de los aceites esenciales sobre *P. cinnamomi*, se determinó la concentración media inhibitoria y sus límites fiduciales al 95% utilizando una regresión Probit con el método de máxima verosimilitud. Los resultados indicaron una reducción significativa en el crecimiento del patógeno, lo que sugiere que los

aceites de clavo y orégano poseen actividad fungicida a bajas concentraciones. Por ello, representan una alternativa natural viable para el manejo integrado de enfermedades en el cultivo de palto.

Leal et al. (2014) evaluaron diferentes tratamientos: fosfito de potasio, Metalaxil + Mancozeb, Fosetil-Al + Mancozeb, *Trichoderma harzianum* y un acolchado elaborado con bagazo de caña de azúcar rico en celulosa. Se utilizaron plántulas Waldin inoculadas con *P. cinnamomi* ( $1 \times 10^5$  esporangios/mL) mediante tres perforaciones en el sustrato. Un mes después, se iniciaron los tratamientos, aplicados tres veces con intervalos de 30 días. A los 6, 12 y 18 semanas posteriores a la inoculación, se midió la incidencia y severidad de la enfermedad, la población de *P. cinnamomi* en el suelo, la altura de las plántulas, su peso seco y la actividad enzimática de la celulosa. Se observó una incidencia del 100% en las plántulas, pero la severidad de la enfermedad varió entre 5 % y 22 %, con una reducción general del 35 %. Los tratamientos con Metalaxil + Mancozeb, Fosetil-Al + Mancozeb y fosfito de potasio lograron disminuir en un 42 % la presencia del patógeno en el suelo y reducir en un 50 % la severidad de la enfermedad, además de incrementar en un 28 % la altura y en un 66 % el peso seco de las plántulas.

## **2.2 Base teórica**

### ***2.2.1 Producción de palto***

Perú se mantiene como el segundo mayor exportador mundial de palta, liderando el mercado europeo con el 45 % de participación. Entre enero y la semana 36 de 2024, Perú exportó 23,509 contenedores de palta Hass, lo que representa una caída del 11 % frente al mismo periodo del año anterior (26,377 contenedores). Esta disminución se atribuye a las altas temperaturas registradas a fines de 2023 y principios de 2024, las cuales afectaron el ciclo de producción, especialmente en la costa norte, donde se concentra cerca del 45 % del cultivo. En

esa zona, muchos productores solo lograron la mitad de su producción habitual, además de obtener frutos de menor tamaño (ProHass, 2023)

Aunque en 2024 las exportaciones disminuyeron un 11 %, se superarán las 500,000 toneladas gracias a la estabilidad de precios. Europa, EE.UU. y Chile son los principales destinos, y se proyecta abrir nuevos mercados como Australia y Vietnam. ProHass impulsa la calidad del producto mediante tecnología postcosecha y apoyo técnico a pequeños productores. Para 2025, se espera una recuperación del 15 % al 20 % en producción. A pesar de la baja, el descenso fue menor al previsto, gracias al aumento de producción de exportadores andinos no asociados a ProHass, quienes aportaron aproximadamente 7,000 contenedores (Agraria.pe., 2024)

### **2.2.2. Pudrición radicular o tristeza del palto ocasionada por *Phytophthora cinnamomi***

La tristeza del palto, causada por *Phytophthora cinnamomi*, es una de las principales amenazas para la producción de palto, con un riesgo epidemiológico del 75 % y pérdidas anuales de hasta 30 millones de dólares (Kurbetli et al., 2020). Su expansión ha sido significativa en América Latina, afectando cultivos en México, Perú, Colombia y Chile (Toapanta-Gallegos et al., 2017), así como en otras regiones del mundo como EE.UU., España, Israel, Australia y Sudáfrica (Amador et al., 2022) .

Desde su aislamiento en 1942, la enfermedad ha crecido exponencialmente, devastando miles de hectáreas. En EE.UU., afectó 1,500 ha en la década de 1980, mientras que en Perú se reportaron 50,000 árboles enfermos en 1950 (Flores, 2015). En Colombia y Chile, ha generado pérdidas de hasta el 50 % en plántulas y el 47 % en plantaciones establecidas. En Sudáfrica y España, la enfermedad ha reducido hasta el 40 % de la producción.

Actualmente, la tristeza del palto sigue expandiéndose a nivel mundial, afectando continentes como América, Europa, África y Oceanía, con impactos severos en la producción agrícola y la economía global (Amador et al., 2022).

### ***Características y sintomatología del agente causal***

*Phytophthora cinnamomi* es un oomiceto perteneciente al grupo protista, caracterizado por su estructura filamentosa y distintos modos de alimentación como saprófito, biótrofo, hemibiótrofo o necrótrofo (Engelbrecht et al., 2013). La identificación taxonómica del género *Phytophthora* se basa en su morfología y en estructuras como esporangios, anteridios, oogonios y micelio (McGowan et al., 2019; Ochoa et al., 2019). Este patógeno forma parte del reino *Chromista* y del orden *Peronosporales* (de Andrade et al., 2020). Diversas especies de *Phytophthora* han causado daños severos en ecosistemas naturales, áreas forestales, plantas ornamentales y cultivos agrícolas (Kurbetli et al., 2020). Dentro del sector frutícola, es considerado uno de los patógenos de suelo más agresivos, con pérdidas que varían entre el 45 % y el 90 % en sistemas de producción comercial (Sanchez et al., 2019).

Bajo condiciones propicias, invade las raíces y la base del tallo, ingresando a través de poros radiculares y espacios intercelulares, afectando las paredes celulares de la endodermis y accediendo a los vasos conductores para extraer nutrientes, lo que altera el desarrollo y funcionamiento del árbol (van den Berg et al., 2021).

A nivel celular, provoca estrés hídrico, marchitez y muerte progresiva del árbol. Los síntomas visibles incluyen hojas pequeñas con clorosis, reducción del crecimiento vegetativo, defoliación parcial y disminución en la producción de frutos (Gil et al., 2014; Osorio-Almanza et al., 2017). Además, en ausencia del hospedero, el patógeno puede sobrevivir hasta seis años alimentándose de materia orgánica en descomposición (Toapanta-Gallegos et al., 2017). Según Kurbetli et al. (2020), esta enfermedad está presente en las principales zonas productoras de palto a nivel mundial, donde bajo condiciones favorables, ha generado graves daños en las áreas de cultivo (Almaraz-Sánchez et al., 2016).

### 2.2.3. Descripción de productos comerciales utilizados en la investigación.

a) **Gluconato de cobre:** El gluconato de cobre es un fertilizante líquido altamente soluble y de fácil absorción, diseñado para cumplir múltiples funciones en las plantas. Actúa como un fortalecedor del cultivo y estimula las respuestas de defensa ante el estrés causado por factores bióticos y abióticos. Además, este compuesto proporciona cobre en una forma orgánicamente complejada, interviniendo en diversos procesos enzimáticos. Su acción catalizadora en la planta favorece la producción de polifenoles y fitoalexinas, entre otras funciones clave para su desarrollo y protección (Rodoagro, 2024).

b) **Sulfato de cobre pentahidratado.** Es un fungicida y bactericida sistémico con efecto tanto preventivo como curativo, diseñado para combatir hongos y bacterias que afectan diversas partes de las plantas, incluyendo raíces, tallos, hojas y frutos. Además, es apto para su aplicación en cultivos destinados a la exportación (Serfi, 2024).

c) ***Trichoderma harzianum*:** fungicida biológico formulado con esporas del hongo benéfico *Trichoderma harzianum*. Este microorganismo produce enzimas capaces de degradar la pared celular de los hongos que provocan enfermedades en las raíces de las plantas. Su mecanismo de acción se basa en tres estrategias: competencia, al colonizar primero el sustrato; antagonismo, al inhibir la germinación de esporas patógenas; y parasitismo, al impedir el desarrollo de microorganismos que afectan la salud vegetal. Debido a su origen biológico, es una alternativa compatible con el Manejo Integrado de Cultivos y la Agricultura Orgánica (Serfi, 2024).

d) **Extracto de caña + ácidos urónicos (*Saccharum officinarum*).** La aplicación de ácidos urónicos desencadena la muerte celular en hongos fitopatógenos mediante un proceso conocido como autólisis. La autólisis es la fase natural de decrecimiento de las células viables de los hongos fitopatógenos, culminando con la muerte celular por autodestrucción. La aplicación induce este proceso en cualquier etapa del desarrollo del hongo. Este efecto se

ha confirmado en análisis microscópicos, mostrando ruptura de membrana y pared celular, resultando en la lisis total del fitopatógeno. Los ácidos urónicos atraviesan la membrana celular y, en el citoplasma del patógeno, desencadenan la inducción de enzimas fúngicas endógenas, como las poligalacturonasas y pécticas. Estas enzimas participan en la degradación de la pared celular y membranas, provocando un proceso autocatalítico que inicia la autólisis o muerte del hongo (Biogen agro, 2019).

**e) Fosetil-Al (Fosetil de aluminio).** Fungicida con acción sistémica tanto ascendente como descendente, comprobada mediante estudios biológicos y radioquímicos. Su sistema de transporte descendente le otorga una capacidad única para el control, a través de aplicación foliar, de enfermedades en el cuello, tronco y raíces causadas por *Phytophthora*, como la gomosis infecciosa en cítricos (Bayer, s.f).

**f) Metalaxil.** Fungicida sistémico con acción curativa y protectora, utilizado para el control de enfermedades causadas por hongos oomicetos. Su mecanismo de acción se basa en la inhibición de la síntesis de proteínas al interferir con la producción de ARN ribosomal, lo que impide el desarrollo de los patógenos. Además, es químicamente estable en medios neutros o ácidos a temperatura ambiente, lo que garantiza su efectividad en diversas condiciones agrícolas (Tecnología Química y Comercio S.A., 2024).

#### **2.4 Bases conceptuales (Categorización de variables)**

Para garantizar la medición objetiva y rigurosa de los fenómenos estudiados, se estableció una categorización metodológica de las variables. La variable independiente corresponde a las diferentes estrategias de control fitosanitario aplicadas (convencional, química y biológica), cuyo efecto se evaluó sobre un conjunto de variables dependientes que abarcan dimensiones agromorfológicas, epidemiológicas y microbiológicas (tales como la inhibición micelial *in vitro*, la incidencia y severidad de la enfermedad, la altura de la planta, el índice SPAD, la biomasa radicular y la actividad enzimática). La definición conceptual, las

dimensiones, los indicadores precisos y las escalas de medición de cada una de estas variables se detallan en la Tabla 1.

**Tabla 1**

*Operacionalización de variables para estudiar la eficacia de estrategias convencionales, químicas y biológicas para el manejo de *Phytophthora cinnamomi* en el cultivo de palto (*Persea americana L.*)*

<b>Variable</b>	<b>Tipo</b>	<b>Indicadores</b>	<b>Técnicas</b>
Control <i>Phytophthora cinnamomi</i>	Dependiente	Porcentaje de inhibición del crecimiento micelar Incidencia Severidad Área radicular afectada ABCPE Peso radicular (g) y altura de las plantas (cm) Área foliar (cm <sup>2</sup> ) Contenido de clorofila Actividad de la enzima celulasa	Ensayo <i>in vitro</i> Evaluación de incidencia y severidad en invernadero Medición directa con instrumentos de precisión Medición con Software Image J Medición con Balanza de precisión y cinta métrica
Estrategias convencionales, alternativas químicas y biológicas	Independiente	Concentración de cada tratamiento aplicado Frecuencia de aplicación Tipo de formulación	Aplicación controlada de tratamientos en medios de cultivo e invernadero Registro y seguimiento de dosis y frecuencias

### III. DISEÑO METODOLÓGICO

#### 3.1 Diseño de Contrastación de Hipótesis

##### Tipo, nivel y diseño de investigación

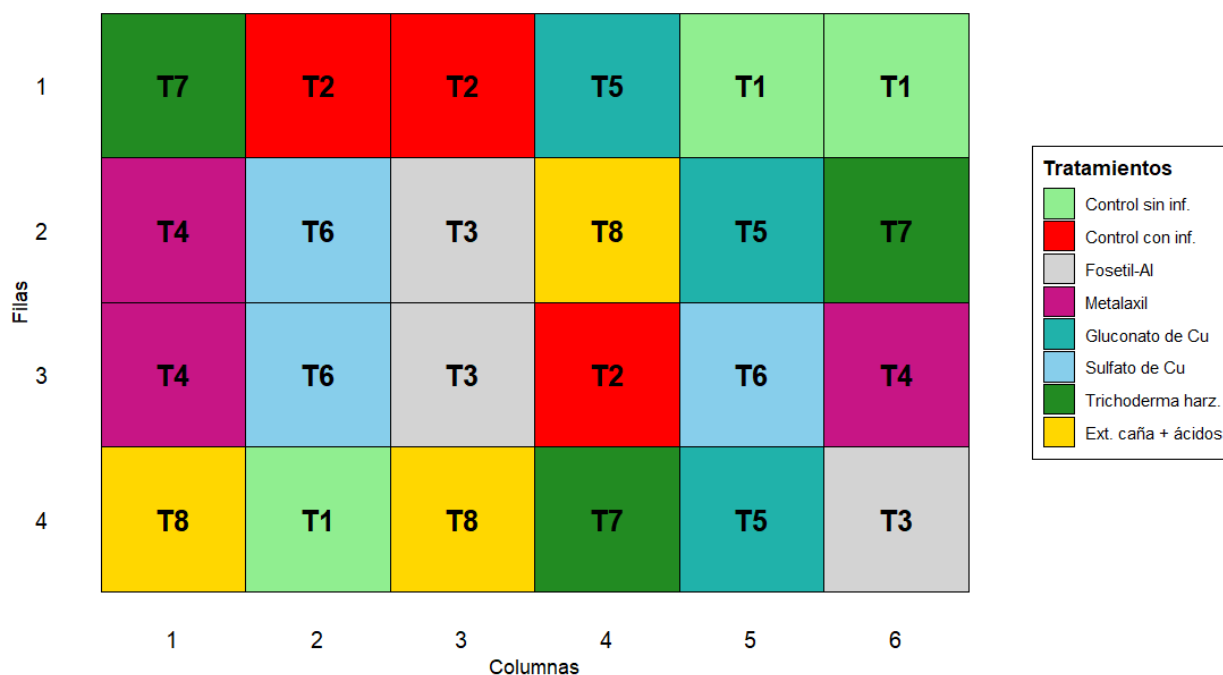
Esta investigación es de carácter aplicado y utilizó un enfoque cuantitativo, ya que se obtuvieron datos numéricos relacionados con las variables analizadas. El diseño empleado fue experimental y para la comprobación de la hipótesis se aplicó un diseño completamente aleatorio (DCA).

Se realizó dos ensayos independientes uno en condiciones *in vitro* y otro en condiciones de invernadero. El primer ensayo *in vitro* para determinar el porcentaje de inhibición micelar (PICM) de los productos estudiados sobre *Phytophthora cinnamomi* se utilizó el DCA, se emplearon 19 tratamientos incluyendo un control que no tenía fungicida, estos estuvieron compuestos por cinco repeticiones cada uno (una placa de Petri como unidad experimental), teniendo de esta manera 95 unidades experimentales.

En condiciones de invernadero se trabajó con un diseño completamente al azar (DCA), se utilizaron ocho tratamientos incluido un testigo inoculado y un testigo sin inocular, se utilizaron tres repeticiones para cada tratamiento, cada repetición estará constituida por tres plantas como unidad experimental, teniendo de esta manera 24 unidades experimentales (Tabla 2, Figura 1)

**Figura 1**

Tratamientos distribuidos en un Diseño completamente al azar (DCA), para determinar eficacia de control en *Phytophthora cinnamomi* en condiciones de invernadero

**Tabla 2**

Tratamientos evaluados, para determinar eficacia de control en *Phytophthora cinnamomi* en condiciones de invernadero

Código	Tratamiento (ingrediente activo)	Tipo	Dosis/100 mL
T1	Control sin infección	-	-
T2	Control con infección	-	-
T3	fosetil-Al	convencional	0,30 g
T4	metalaxil	convencional	0,20 g
T5	gluconato de cobre	química	0,30 mL
T6	sulfato de cobre pentahidratado	química	0,3 g
T7	<i>Trichoderma harzianum</i>	biológica	0,05g
T8	extracto de caña + ácidos urónicos	biológica	0.5 mL

### 3.2 Población y muestra

La población en el ensayo *in vitro*, estuvo conformada por cepas de *Phytophthora cinnamomi* y por conveniencia se utilizó una cepa, el aislado de mayor pureza y agresividad *in vitro* y el que presentó las características macro y microscópicas más típicas de *P. cinnamomi*. La muestra fue cada interacción de Placas de Petri con PDA envenenadas con cada producto estudiado como unidad experimental, teniendo de esta manera 80 unidades experimentales, distribuidas en 16 tratamientos con cinco repeticiones cada uno. En cuanto al ensayo bajo condiciones de invernadero la población estuvo constituida por todas las plantas de palto que podrían verse afectadas por la enfermedad y la muestra fue de 72 plantas, distribuidas en 8 tratamientos cada uno con 3 repeticiones (3 plantas por cada repetición).

### 3.3 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

#### 3.3.1 Aislamiento de *Phytophthora cinnamomi*

Se recolectaron 12 muestras de raíz con pudrición en el distrito de Chepén, departamento La Libertad, en un campo comercial de palto ubicado entre las coordenadas 7°04'23.2"S 79°31'23.3"W donde prevalecieron plantas con síntomas de tristeza de palto. Estas fueron colocadas en bolsas de papel y rotuladas debidamente, para luego ser transportadas al Laboratorio de Fitopatología FAG - UNPRG.

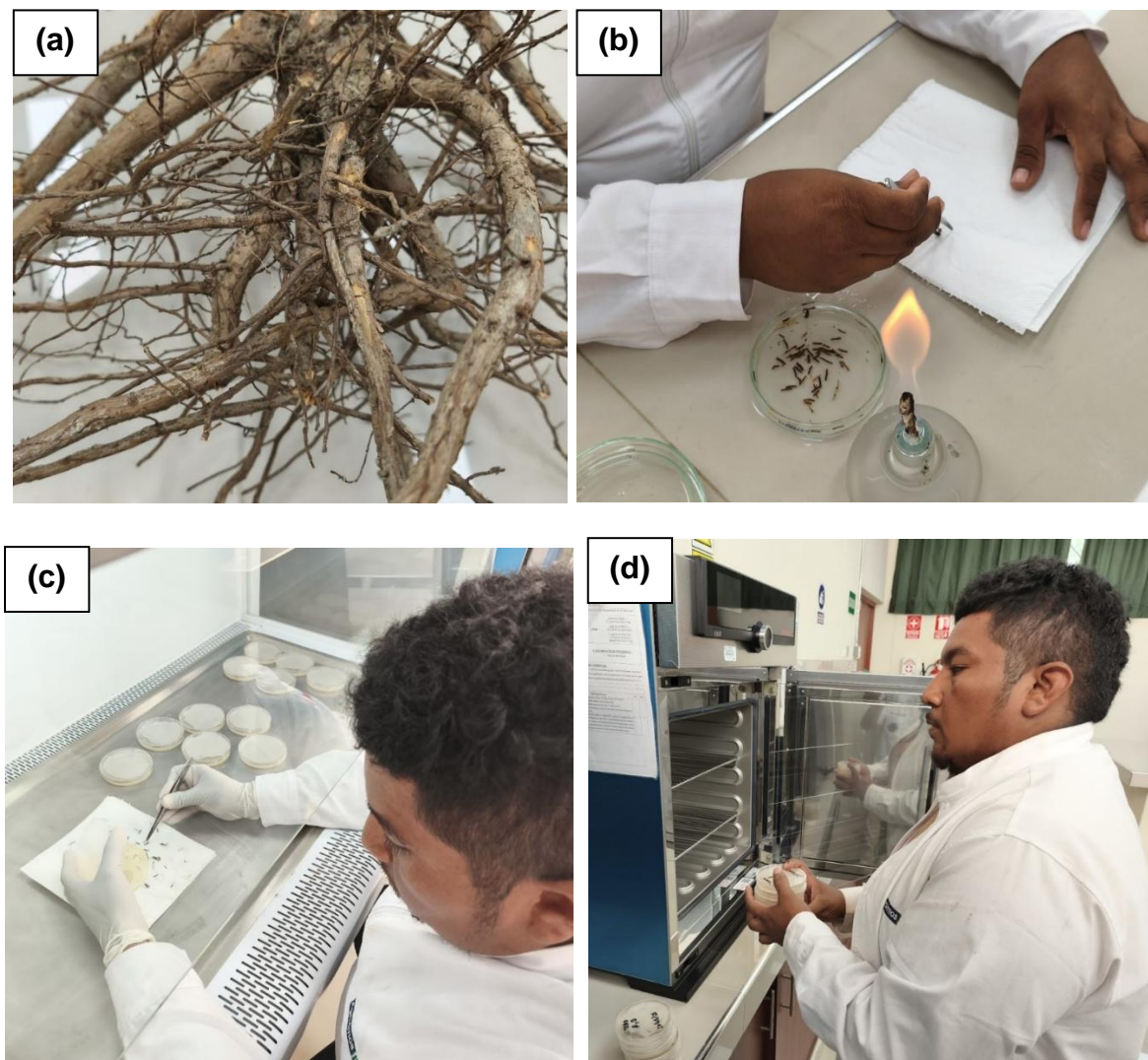
Las muestras se analizarán y se tomaron pequeños fragmentos de tejidos (5mm), entre la zona afectada y zona sana, estas fueron sumergidas en una solución de hipoclorito de sodio 1% durante 30 segundos y se lavaron con agua destilada tres veces consecutivas, para posteriormente ser secadas con papel toalla previamente esterilizado (Soto et al., 2017).

Para el aislamiento se utilizó placas de Petri de 100 mm conteniendo NARBH – PDA, que comprende agar Papa dextrosa comercial (PDA), benomil 0,8 mg/L, rifamicina-SV 5 mg/L, ampicilina 250 mg/L, pentacloronitrobenzeno 20 mg/L, himexazol 25 mg/L, en la cual se depositarán los fragmentos de tejidos desinfectados (Figura 2). Se realizarán tres

repeticiones por cada muestra, estos se incubaron en aerobiosis a  $25\pm 1$  °C, durante 5 días (Calle-Henao et al., 2020; Rueda-Hernández et al., 2013).

## Figura 2

*Análisis de muestras de raíces con pudrición y siembra en medio de cultivo*



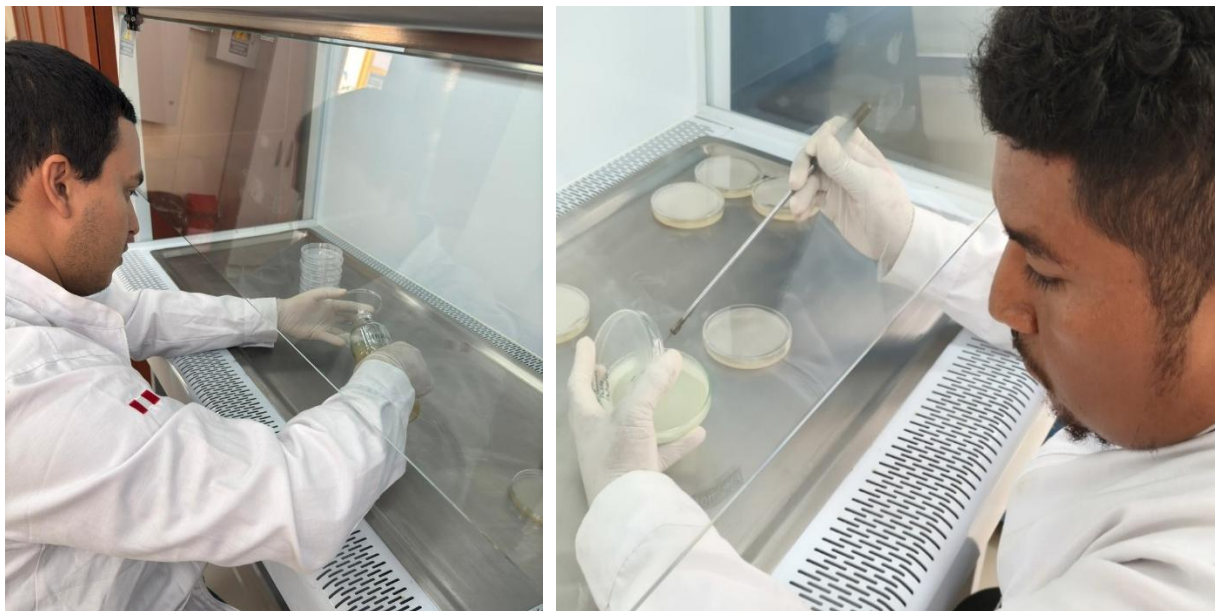
*Nota.* En la figura se observa, (a) raíces de palto con pudrición y desprendimiento de la corteza (b) desinfección de tejidos, (c) siembra en medio de cultivo PDA, (d) incubación para el desarrollo del patógeno.

Para obtener cultivos puros, se llevaron a cabo repiques a partir de un disco de 5 mm de la colonia desarrollada transferido a un medio PDA y se mantuvo a temperatura ambiente durante cinco días de crecimiento (Calle-Henao et al., 2020) (Figura 3). Los cultivos fueron

caracterizados e identificados según sus características macro y microscópicas (Hüberli et al., 2001).

### Figura 3

*Purificación de aislamientos obtenidos a partir de muestras de raíces con pudrición*



#### 3.3.2 Aislamiento y caracterización morfológica de *Phytophthora cinnamomi*

Para confirmar la identidad de los aislados obtenidos de raíces de palto infectadas en la ciudad de Chepén, se realizó una caracterización morfológica macroscópica y microscópica exhaustiva. La fase macroscópica, o cultivo, consistió en inocular los aislados purificados en placas de Petri con medios de cultivo específicos que promueven el crecimiento de oomicetos, como agar dextrosa de patata (PDA). Estas placas se incubaron en una cámara de cultivo oscura a una temperatura controlada de 24–25 °C durante 7 a 10 días. Durante este periodo, se evaluó la morfología de las colonias para identificar su característica forma de roseta, pétalo o estrella. También se observó la textura del micelio aéreo, determinando si era escamoso, algodónoso o liso, así como su coloración blanca típica en ambos lados de la placa. Simultáneamente, se evaluó la tasa de crecimiento radial midiendo diariamente el diámetro de las colonias con un calibre digital para establecer el incremento diario promedio en milímetros.

Para la caracterización microscópica e identificación de estructuras vegetativas y reproductivas a nivel celular, se prepararon portaobjetos semipermanentes utilizando cinta adhesiva y azul de lactofenol como tinción. Las observaciones se realizaron con microscopio óptico a 40x y 100x de aumento, lo que permitió verificar la presencia de micelio cenocítico y el desarrollo de hifas con ramificación irregular e hinchazones nodulares, características del micelio coraloide. También se documentó la formación, abundancia y disposición (terminal o intercalar) de las clamidosporas, así como su diámetro promedio.

Dado que *Phytophthora cinnamomi* raramente produce esporangios en medios de cultivo sólidos convencionales, su formación se indujo sumergiendo discos de micelio activo en un extracto de suelo no estéril. Este procedimiento permitió la evaluación morfológica de los esporangios, incluyendo su forma ovoide a elipsoidal, la ausencia de papila apical, el tipo de proliferación interna y sus dimensiones (longitud y anchura). Finalmente, dada la naturaleza heterotálica del patógeno, se realizó una búsqueda de posibles estructuras sexuales como anteridios anfiginos, oogonios y oosporas pleróticas. Todos los datos morfométricos y las características observadas se compararon rigurosamente con claves taxonómicas especializadas del género *Phytophthora*, confirmando así definitivamente la especie (Erwin y Ribeiro, 1996) (Anexo 1).

### **3.3.3 Efecto *in vitro* de estrategias convencionales, químicas y biológicas, sobre *Phytophthora cinnamomi*.**

Para la evaluación de la eficacia *in vitro*, por conveniencia, se seleccionó la cepa de *Phytophthora cinnamomi*, previamente identificada morfológicamente. Se procedió a preparar medio Agar Papa Dextrosa (PDA), el cual fue esterilizado a 121 °C y 15 lb/pulg<sup>2</sup>. Una vez que el medio aún se encontraba en estado líquido y enfriado a 38 °C dentro de matraces Erlenmeyer de 250 ml, se adicionó los fungicidas correspondientes en distintas dosis, según lo indicado en la Tabla 3 (Anexo 2). Posteriormente, se agitó cuidadosamente

para homogenizar y se distribuyó el medio en placas de Petri de 100 mm, dejándolas solidificar (Arce-Araya et al., 2019).

**Tabla 3**

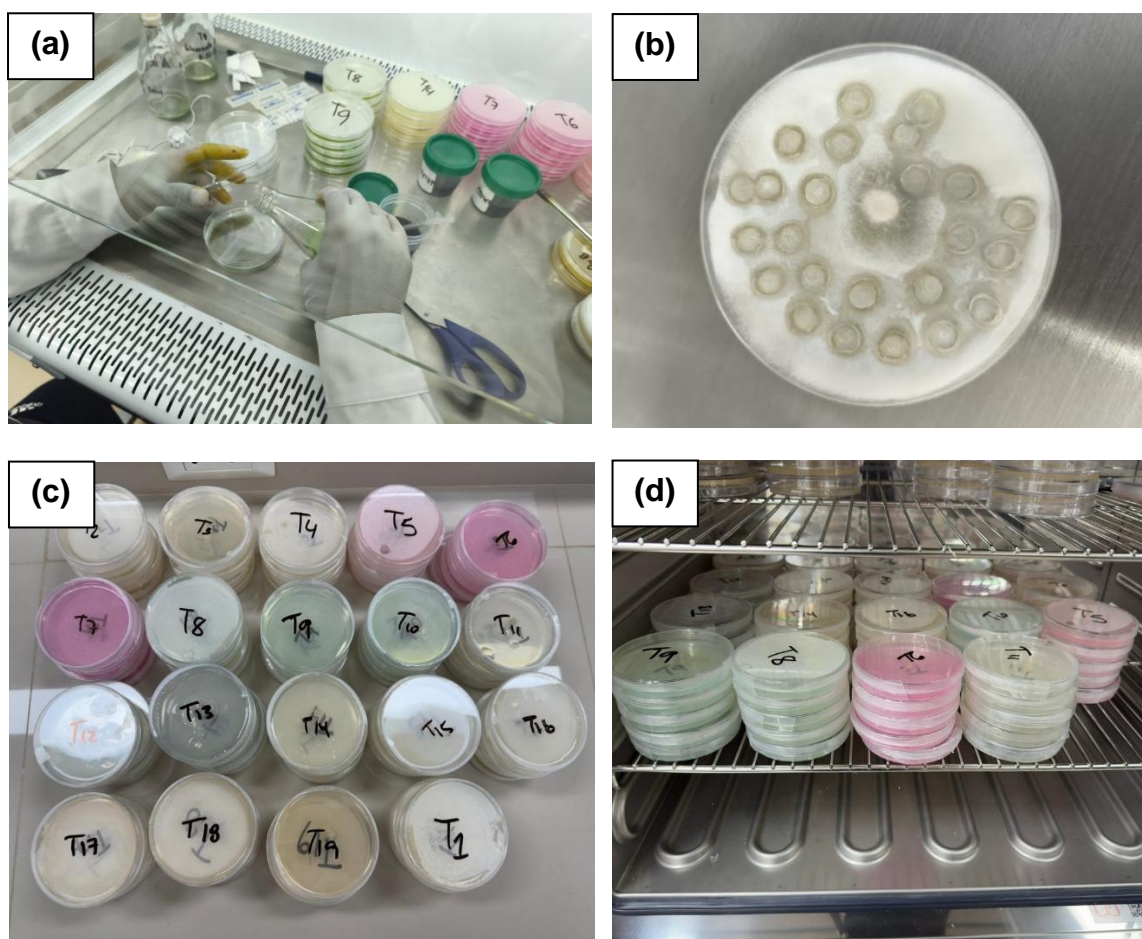
*Tratamientos para evaluar in vitro eficacia de control de alternativas convencionales, químicas y biológicas sobre Phytophthora cinnamomi*

<b>Código</b>	<b>Tratamiento (ingrediente activo)</b>	<b>Tipo</b>	<b>Dosis/100 mL</b>
T1	Control	-	-
T2	fosetil-Al	convencional	0,20 g
T3	fosetil-Al	convencional	0,25 g
T4	fosetil-Al	convencional	0,30 g
T5	metalaxil	convencional	0,05 g
T6	metalaxil	convencional	0,15 g
T7	metalaxil	convencional	0,20 g
T8	gluconato de cobre	química	0,10 mL
T9	gluconato de cobre	química	0,20 mL
T10	gluconato de cobre	química	0,30 mL
T11	sulfato de cobre pentahidratado	química	0,1 g
T12	sulfato de cobre pentahidratado	química	0,2 g
T13	sulfato de cobre pentahidratado	química	0,3 g
T14	<i>Trichoderma harzianum</i>	biológica	0,05g
T15	<i>Trichoderma harzianum</i>	biológica	0,15 g
T16	<i>Trichoderma harzianum</i>	biológica	0,20 g
T17	extracto de caña + ácidos urónicos	biológica	0.3 mL
T18	extracto de caña + ácidos urónicos	biológica	0.4 mL
T19	extracto de caña + ácidos urónicos	biológica	0.5 mL

Utilizando un sacabocados, se extrajeron discos de 5 mm de diámetro que contenían micelio del patógeno en fase de crecimiento activo, los cuales se colocaron invertidos en el centro de cada placa. Seguidamente, las placas fueron incubadas a oscuridad a una temperatura constante de 28 °C (Figura 4). Durante un periodo de siete días, se realizó la medición cada 24 horas el radio del crecimiento micelial (mm), usando el software Image J (Anexo 3), en la parte posterior de cada placa, registrando datos en los cuatro puntos cardinales de cada placa (Rueden et al., 2017).

#### Figura 4

*Prueba de medio envenenado para determinar eficacia in vitro de los productos utilizados*



*Nota.* En la figura se observa, (a) distribución del medio envenenado en placas de Petri, (b) discos de 5 mm de micelio del patógeno, (c) distintos tratamientos con fungicidas, (d) incubación a oscuridad a una temperatura constante de 28 °C

El monitoreo se dio por finalizado cuando los controles absolutos (CA) del fitopatógeno ocuparon completamente la superficie de la placa de Petri. Para calcular el porcentaje de inhibición de *Phytophthora cinnamomi* se utilizó la fórmula propuesta por Ochoa et al. (2019), quienes determinan este porcentaje a partir de la relación entre la diferencia de crecimiento observado en los tratamientos y el control, respecto al crecimiento registrado en el control.

$$PI(\%) = \frac{(C - T)}{C} \times 100$$

PI (%) = Porcentaje de inhibición.

C = Crecimiento radial promedio del testigo absoluto (mm).

T = Crecimiento radial promedio del tratamiento (mm).

### **3.3.4 Eficacia de estrategias químicas y biológicas en el control de *Phytophthora cinnamomi* y su efecto bioestimulante en plantas de palto (*Persea americana*), comparando frente a los convencionales bajo condiciones de casa malla.**

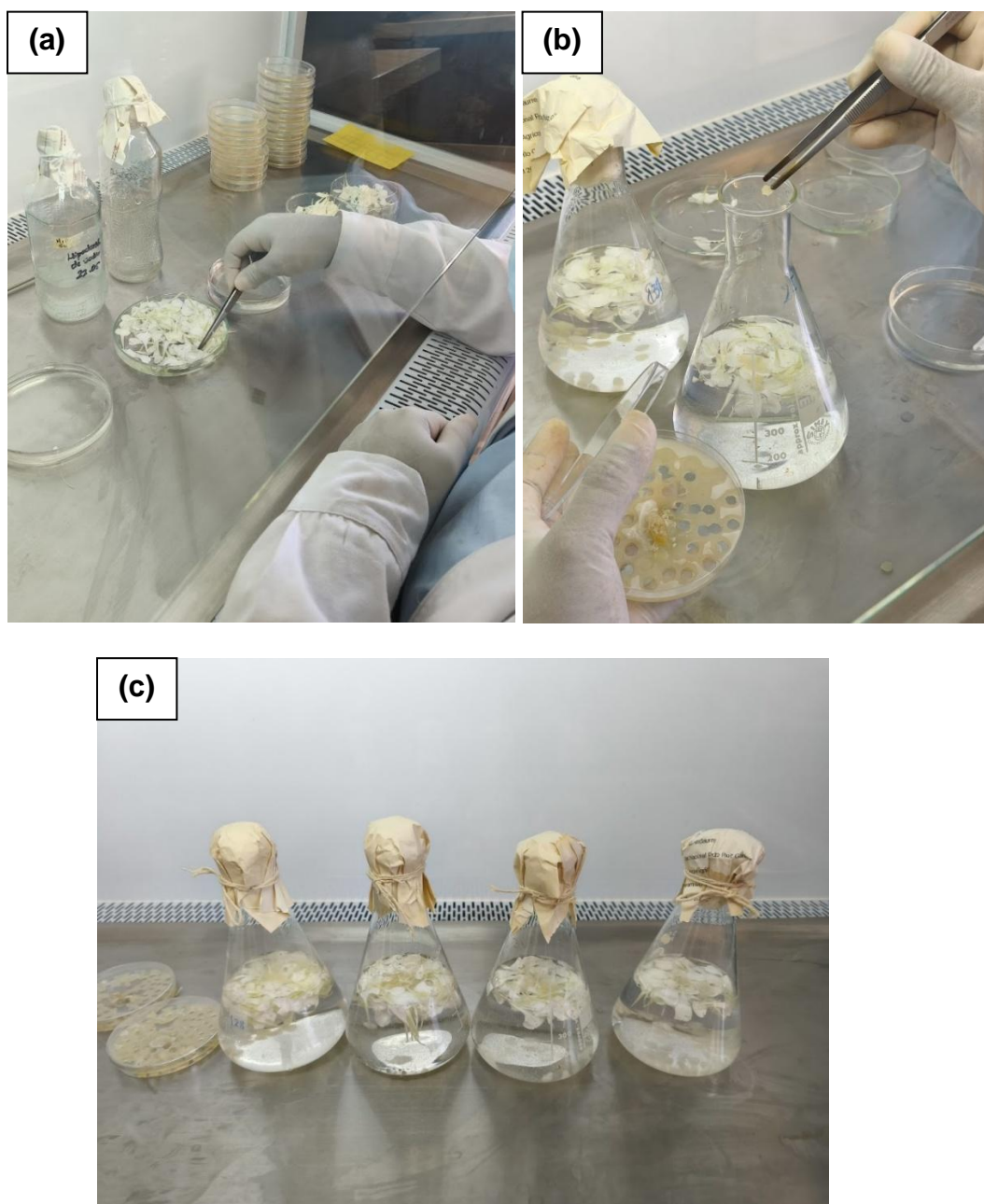
Para este ensayo se usaron la dosis de cada producto que mejor resultado presentó en condiciones *in vitro*. Se usaron plántulas patrón Zutano, de cuatro meses de edad. Para la inoculación con *Phytophthora cinnamomi*, se usó una suspensión del patógeno ajustada a una concentración de  $1 \times 10^5$  esporangios/mL, según el método descrito por Leal et al. (2014). Para la cual se utilizaron cultivos con micelio activo del patógeno y estos se inocularon en pétalos de clavel, se incubó a 26°C durante siete días cuando se observó completamente la colonización de los pétalos, la suspensión se ajustó en cámara de recuento de Neubauer (Figura 5).

La aplicación se realizó directamente en el sustrato mediante tres orificios equidistantes, ubicados a 5 cm del cuello de la raíz principal, depositando 20 mL de la suspensión por cada plántula. Posteriormente, se estableció un riego diario para favorecer el desarrollo del patógeno.

Un mes después de la inoculación, se aplicaron los tratamientos químicos y biológicos, aplicando 200 mL de la solución correspondiente a cada producto en el suelo, asegurando la saturación de la zona radicular de cada plántula de palto. En total, se realizaron tres aplicaciones, con un intervalo de 15 días entre cada una (Figura 6).

### Figura 5

*Multiplicación de *Phytophthora cinnamomi* en pétalos de clavel*



*Nota.* En la figura se observa, (a) desinfección de pétalos de clavel, (b) inoculación de discos de micelio del patógeno en pétalos de clave (c) incubación para el desarrollo del patógeno.

**Figura 6**

*Inoculación de *Phytophthora cinnamomi* y aplicación de los tratamientos*



*Nota.* En la figura se observa, (a) inóculo de *Phytophthora cinnamomi* estandarizado, (b) inoculación del patógeno al cuello de la raíz, (c) aplicación de los tratamientos, (d) plantas después de la aplicación de los tratamientos.

Las evaluaciones se realizaron a las 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días posteriores a la inoculación, considerando como variables el porcentaje de incidencia, el nivel de severidad, la

altura de las plántulas. A los 90 días se evaluó la severidad en la parte radicular mediante una escala, se cuantificó peso fresco y seco aéreo y radicular. Además, se llevó a cabo un análisis de la actividad enzimática de celulasa en la rizósfera.

***Incidencia de la enfermedad.*** La incidencia se expresó como el porcentaje de plántulas afectadas con síntomas secundarios y por pudrición radical, calculado a partir de la proporción entre las plantas dañadas y el total de plantas por tratamiento.

***Severidad del daño.*** Se evaluó tanto en la sintomatología primaria y secundaria. La sintomatología primaria se evaluó con una escala tras retirar las plántulas de las bolsas, se limpió completamente el sistema radicular y aplicó la escala propuesta por Gomez (2014), que clasifica el daño en valores del 1 al 11 (Figura 7), dependiendo del grado de necrosis en raíces.

### Figura 7

*Escala de evaluación del daño radicular ocasionado por P. cinnamomi en palto*



*Nota.* En la figura se observa los diferentes niveles de daño radicular; nivel 1 (0–4 % de daño), nivel 2 (5–14 %), nivel 3 (15–24 %), nivel 4 (25–34 %), nivel 5 (35–44 %), nivel 6 (45–54 %), nivel 7 (55–64 %), nivel 8 (65–74 %), nivel 9 (75–84 %), nivel 10 (85–94 %) y nivel 11 (95–100 % de daño). Fuente: Gomez Carrión, (2014).

En cuanto a la sintomatología secundaria se evaluó a las 4, 6, 8, 10 y 12 semanas posteriores a la inoculación, mediante una escala propuesta por los investigadores (Tabla 3). Finalmente, los datos de severidad obtenidos fueron convertidos al área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUPC).

**Tabla 4**

*Escala para evaluar síntomas secundarios provocados por *Phytophthora cinnamomi**

<b>Grado</b>	<b>Nivel de Daño</b>	<b>Descripción Visual de la Plántula</b>
<b>0</b>	<b>Sano</b>	Plántula completamente sana, sin síntomas visibles de marchitez o clorosis.
<b>1</b>	<b>Leve</b>	Plántula con un ligero decaimiento (pérdida inicial de turgencia) en las hojas.
<b>2</b>	<b>Medio</b>	Plántula con decaimiento medio de las hojas (marchitez evidente y generalizada).
<b>3</b>	<b>Severo</b>	Plántula con decaimiento total de las hojas e inicio de muerte apical (dieback).
<b>4</b>	<b>Muy Severo</b>	Plántula con un 90% a 100% de su área foliar muerta o necrosada, pero con el tallo principal aún verde.
<b>5</b>	<b>Muerto</b>	Plántula completamente muerta (necrosis total de hojas y tallo).

**Análisis biométrico.** Para medir la altura, se tomaron cinco plántulas por tratamiento, registrando la distancia desde el cuello de la planta (ras del suelo) hasta la yema apical. En relación al peso seco, las raíces, tallos y hojas fueron secadas a 75 °C durante tres días, para luego ser pesadas en una balanza analítica.

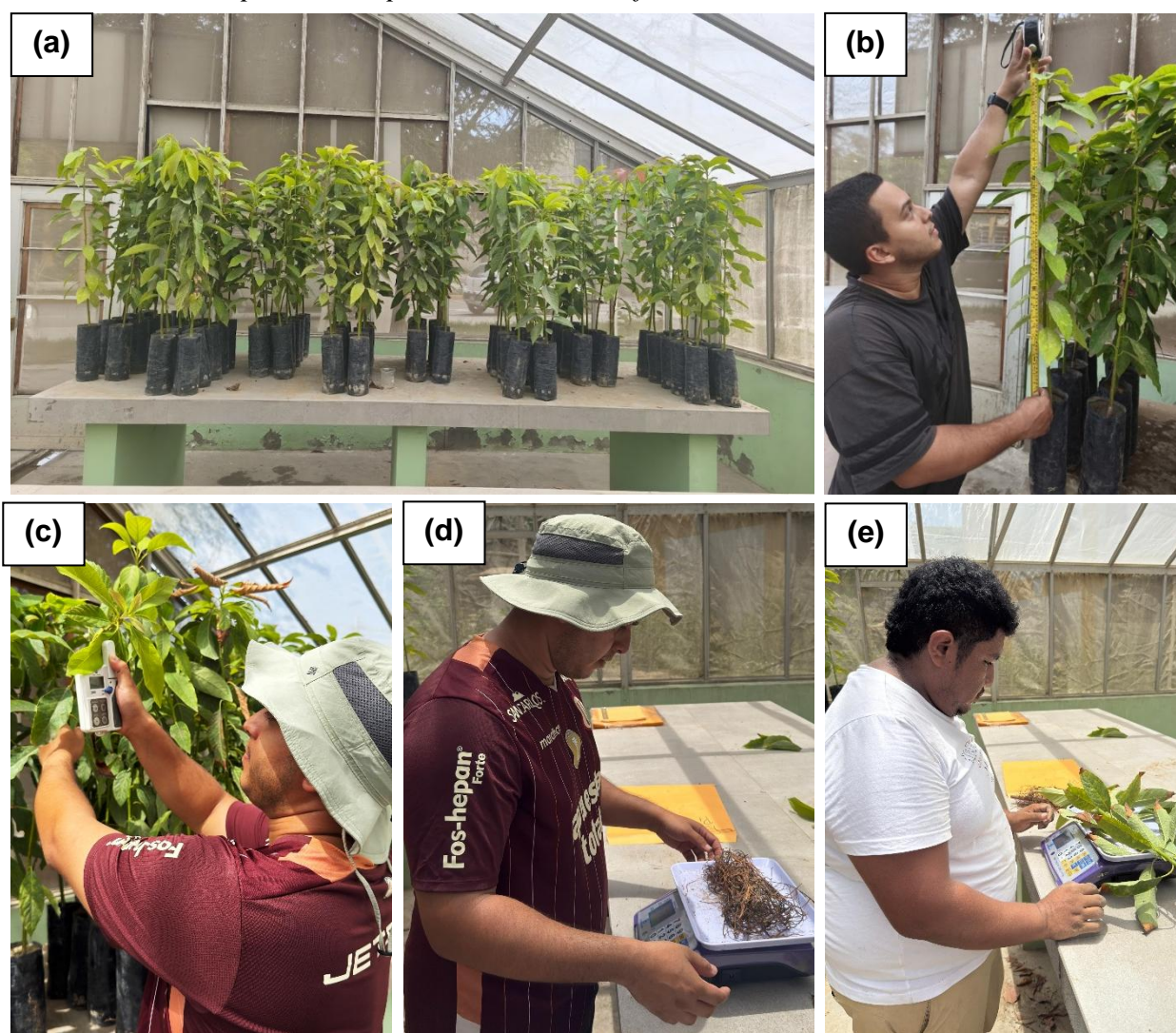
**Contenido de clorofila.** El contenido de clorofila se evaluó mediante el índice SPAD con la ayuda de un equipo portátil en la cual se midió tres hojas por planta, correspondiente al tercio inferior, medio y superior, la medición de cada planta se expresó como el promedio (Figura 8).

**Actividad de la enzima celulasa en el suelo rizosférico.** Esto sirvió para determinar si los tratamientos afectaron o beneficiaron la salud del suelo. Se evaluó a partir de muestras tomadas entre 5 y 10 cm de profundidad, las cuales fueron homogenizadas por tratamiento, se preparó una dilución 1:10 (v/v) y fueron sembradas en agar con carboximetilcelulosa (CMC) al 1 %, complementado con nutrientes esenciales y ajustado a pH 7,0. Las placas se incubaron

a 30 °C durante 72 horas. Luego, se aplicó una solución de rojo Congo al 1 % durante 15 minutos para revelar la degradación de celulosa, seguido de lavados con cloruro de sodio 2 mol/L. La actividad celulasa se determinó observando halos claros alrededor del crecimiento microbiano, midiendo su diámetro en milímetros como indicador de la capacidad de degradación para comparar la intensidad de actividad entre diferentes tratamientos o suelos (Monserrate et al., 2014).

### Figura 8

*Evaluación de los parámetros para determinar la eficacia de control de las nuevas alternativas*



*Nota.* En la figura se observa, (a) plántulas de palto bajo condiciones de invernadero, (b) evaluación de altura de las plántulas, (c) evaluación del índice SPAD en las hojas (contenido de clorofila), (d) peso radicular, (e) peso de biomasa aérea.

### 3.4 Análisis estadístico de los datos

Para el análisis de la dinámica temporal del crecimiento radial del patógeno (días 1 a 7), se utilizó un Modelo Lineal Mixto (LMM), el cual es apropiado para datos longitudinales con medidas repetidas. En la estructura del modelo, 'Tratamiento', 'Tiempo' (días) y su interacción se consideraron efectos fijos. Para modelar la covarianza de las medidas repetidas y evitar violar el supuesto de independencia, la identidad de cada 'Placa de Petri' se incluyó como una intersección aleatoria. Los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas (homocedasticidad) se verificaron mediante inspección visual de los gráficos de residuos del modelo. La significancia de los efectos fijos se determinó mediante un análisis de varianza (ANOVA) del modelo mixto. Posteriormente, para establecer las diferencias estadísticas específicas entre tratamientos al final del ensayo (día 7), se calcularon las Medias Marginales Estimadas (EMM) y se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey. Se consideró un nivel de significancia de  $p < 0.05$ .

En cuanto a los datos obtenidos en condiciones de invernadero se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) con un diseño completamente al azar. Previo al análisis de varianza se verificaron los supuestos de normalidad de los residuos mediante las pruebas de Shapiro-Wilk. Para los casos que se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, se procedió a la discriminación entre tratamientos utilizando la prueba de significación de Tukey (0.05 de significancia). Los datos sobre la severidad, recopilados mediante escalas ordinales, se analizaron mediante la prueba no paramétrica de Kolmogorov-Smirnov, considerando los tratamientos como factor principal.

Todos los análisis estadísticos y la generación de figuras se realizaron en el entorno RStudio 4.4, utilizando los paquetes lme4 y lmerTest para el ajuste del modelo mixto, emmeans para las pruebas post-hoc y ggplot2 para la visualización de datos.

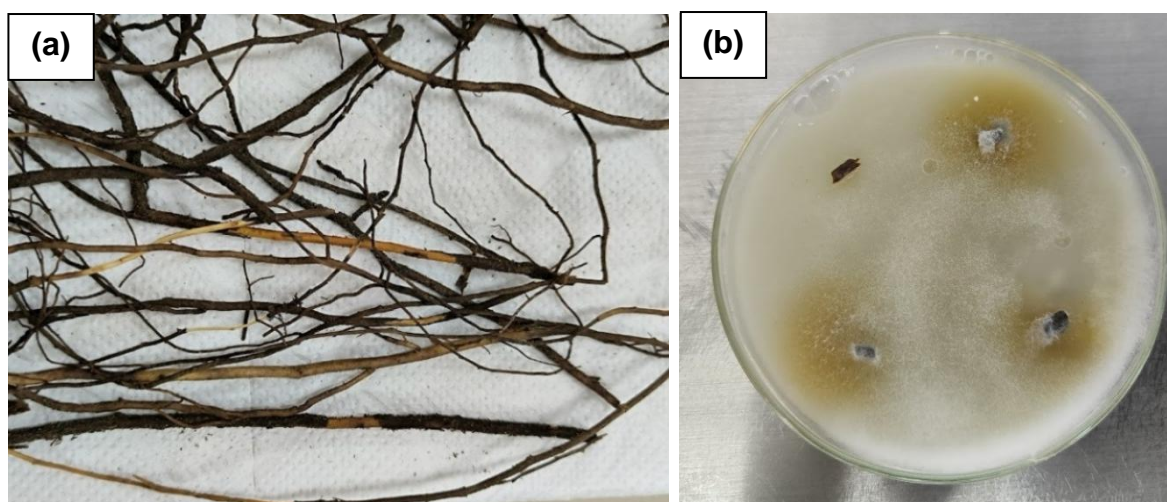
## IV. RESULTADOS

### 4.1 Aislamiento y caracterización morfológica de *Phytophthora cinnamomi*

Se observó necrosis y podredumbre en las raicillas evaluadas, que adquirieron un color marrón oscuro a negro, perdieron turgencia y se desprendieron de la corteza. Estos síntomas son característicos de la podredumbre radicular asociada a oomicetos del género *Phytophthora*. Los aislamientos se obtuvieron de tejido radicular infectado en agar papa dextrosa (PDA). Tras 7 días de incubación a 25 °C, las colonias mostraron un crecimiento rápido y uniforme, cubriendo la mayor parte de la placa de Petri (Figura 9).

#### Figura 9

*Sintomatología y aislamiento de *Phytophthora cinnamomi**



*Nota.* En la figura se observa, (a) raicillas con pudrición y desprendimiento de corteza, (b) crecimiento de *Phytophthora cinnamomi* a partir de raíces con pudrición,

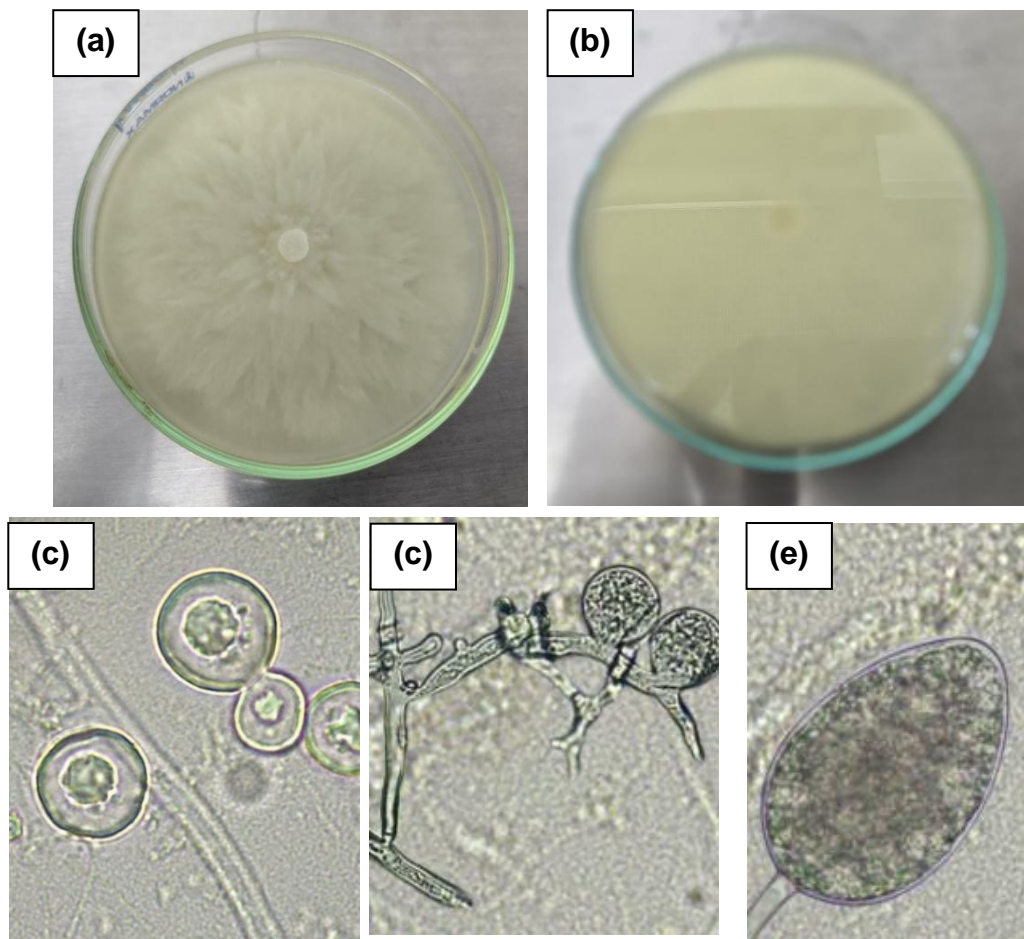
Macroscópicamente, las colonias presentaron abundante micelio aéreo de aspecto algodonoso y un color entre blanco y ligeramente crema. El crecimiento fue radial, con una disposición ligeramente en pétalo. El envés de la colonia permaneció blanquecino, sin producir pigmentos que se difundieran al medio circundante.

El examen microscópico reveló hifas hialinas cenocíticas (aseptadas) de paredes delgadas, ramificadas, con un diámetro promedio de 5-8  $\mu\text{m}$ , una característica distintiva de

los oomicetos. Se observaron esporangios ovoides a elipsoidales, predominantemente no papilados, de tamaño variable y con pedicelos cortos. También se identificaron clamidosporas terminales e intercalares, globosas y de paredes gruesas con hinchamientos hifales coraloides, también se observaron oosporas esféricas de paredes gruesas (Figura 10). La combinación de características macroscópicas y microscópicas confirmó la identidad del aislado como *Phytophthora cinnamomi*, agente causante de pudriciones radiculares en varios cultivos importantes.

### Figura 10

*Características macro y microscópicas de Phytophthora cinnamomi*



*Nota.* En la figura se observa, a) Colonia en PDA (adverso), (b) colonia en PD (reverso), (c) oospora (e) clamidosporas e hinchamientos hifales coraloides, (e) esporangio no papilado,

#### 4.2 Efecto *in vitro* de estrategias convencionales, químicas y biológicas, sobre *Phytophthora cinnamomi*.

El análisis de los residuales validó los resultados del ANOVA, ya que el histograma mostró una distribución normal centrada en cero y el gráfico de residuos frente a valores ajustados no reveló patrones sistemáticos. Esta ausencia de tendencias confirmó el cumplimiento de los supuestos de normalidad y homocedasticidad, asegurando así la fiabilidad estadística del modelo (Anexo 4).

El análisis de varianza reveló un efecto altamente significativo del tratamiento, el tiempo de evaluación y la interacción Tratamiento  $\times$  Día sobre el crecimiento radial de *Phytophthora cinnamomi* ( $p < 0,001$ ). El factor Día tuvo el mayor efecto ( $F = 30\,479,51$ ), lo que mostró un aumento significativo en el crecimiento del patógeno a lo largo del período experimental. De igual manera, la interacción significativa ( $F = 2.542,88$ ;  $p < 0,001$ ) demuestra que la respuesta del patógeno a lo largo del tiempo dependió del tratamiento aplicado, mostrando comportamientos diferenciales de inhibición o crecimiento según la estrategia evaluada (Tabla 5).

**Tabla 5**

*Análisis de varianza para los efectos in vitro de estrategias convencionales, químicas y biológicas, sobre Phytophthora cinnamomi*

Fuente de variación	SS	MS	gl (Num)	gl (Den)	F	p
Tratamiento	19.00	1.30	15	169.67	4.77	< .001
Día	8111.70	8111.70	1	464.00	30479.51	< .001
Tratamiento $\times$ Día	10151.30	676.80	15	464.00	2542.88	< .001

*Nota.* SS = Suma de cuadrados; MS = Media cuadrática; gl = grados de libertad; F = estadístico F; p = nivel de significancia. Método de aproximación de grados de libertad: Satterthwaite.



**Tabla 6**

*Medias estimadas (emmeans) para los efectos in vitro de estrategias convencionales, químicas y biológicas, sobre Phytophthora cinnamomi en el día 7 y agrupación según prueba post hoc Tukey*

Tratamiento	Día	M	EE	IC 95% LI	IC 95% LS	Grupo
1	7	44.37	0.25	43.62	45.12	k
8	7	38.05	0.25	37.30	38.80	j
2	7	36.75	0.25	36.00	37.50	i
11	7	23.01	0.25	22.26	23.76	h
3	7	18.56	0.25	17.81	19.31	g
9	7	9.37	0.25	8.62	10.12	f
12	7	7.14	0.25	6.39	7.89	e
5	7	7.11	0.25	6.36	7.86	e
10	7	4.80	0.25	4.05	5.54	d
6	7	4.63	0.25	3.88	5.37	d
7	7	4.43	0.25	3.68	5.18	cd
13	7	3.37	0.25	2.63	4.12	c
4	7	2.10	0.25	1.35	2.85	b
15	7	0.49	0.25	-0.26	1.24	a
14	7	0.45	0.25	-0.30	1.20	a
16	7	0.43	0.25	-0.32	1.17	a

Nota. M = media estimada marginal (emmeans); EE = error estándar; IC = intervalo de confianza; LI = límite inferior; LS = límite superior. Medias con letras distintas indican diferencias significativas ( $p < .05$ ).

Por otro lado, el análisis de varianza reveló un efecto altamente significativo del tratamiento sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (IMC) al día 7 ( $F = 1494,00$ ;  $p < 0,001$ ) (Tabla 7). Las comparaciones múltiples, realizadas mediante la prueba HSD de Tukey, confirmaron claras diferencias estadísticas entre los tratamientos. Los tratamientos 16 y 14 mostraron los mayores porcentajes de inhibición (>98%), sin diferencias significativas entre ellos, seguidos del tratamiento 15. Por el contrario, los tratamientos 2 y 8 mostraron los menores valores de inhibición, lo que los ubicó en los grupos con menor rendimiento estadístico (Tabla 8). La Figura 12 y 13 confirman visualmente esta

diferenciación, demostrando la superior eficacia de los tratamientos biológicos en comparación con aquellos con menor rendimiento.

**Tabla 7**

*Análisis de varianza para el efecto del tratamiento sobre PICM (Día 7)*

Fuente de variación	SS	gl	MS	F	p
Tratamiento	56710	14	4051	1494.00	< .001
Error	163	60	3	—	—

**Nota.** SS = suma de cuadrados; MS = media cuadrática; gl = grados de libertad; F = estadístico

F; p = nivel de significancia.

**Tabla 8**

*Medias de PICM y comparación múltiple de tratamientos mediante Tukey HSD ( $\alpha = .05$ )*

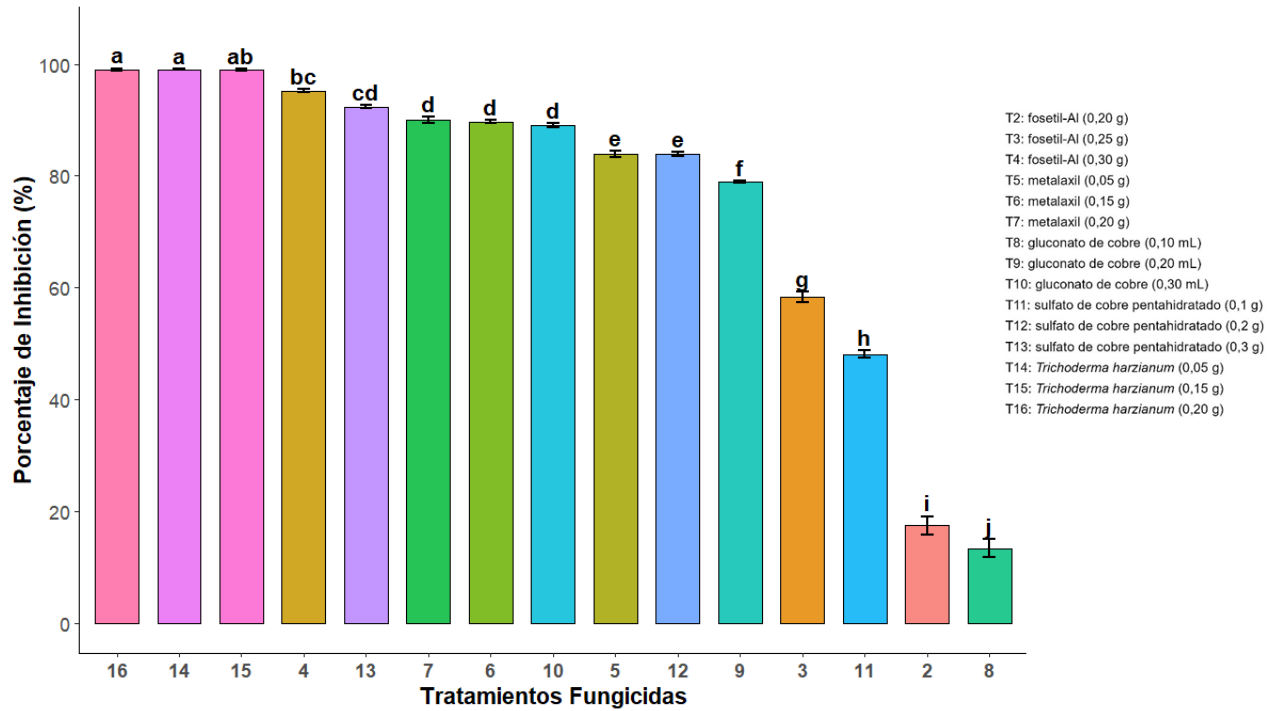
Tratamiento	M	DE	EE	n	Grupo
16	99.05	0.43	0.74	5	a
14	98.98	0.21	0.74	5	a
15	98.90	0.42	0.74	5	ab
4	95.23	0.60	0.74	5	bc
13	92.36	0.54	0.74	5	cd
7	90.00	1.35	0.74	5	d
6	89.63	0.64	0.74	5	d
10	89.12	0.83	0.74	5	d
5	83.94	1.35	0.74	5	e
12	83.89	0.83	0.74	5	e
9	78.94	0.59	0.74	5	f
3	58.33	1.98	0.74	5	g
11	48.10	1.58	0.74	5	h
2	17.45	3.80	0.74	5	i
8	13.43	3.60	0.74	5	j

**Nota.** M = media; DE = desviación estándar; EE = error estándar; n = número de repeticiones.

Medias con la misma letra no difieren significativamente según la prueba de Tukey HSD ( $\alpha = .05$ ). MSE = 2.71; gl error = 60; HSD = 3.68.

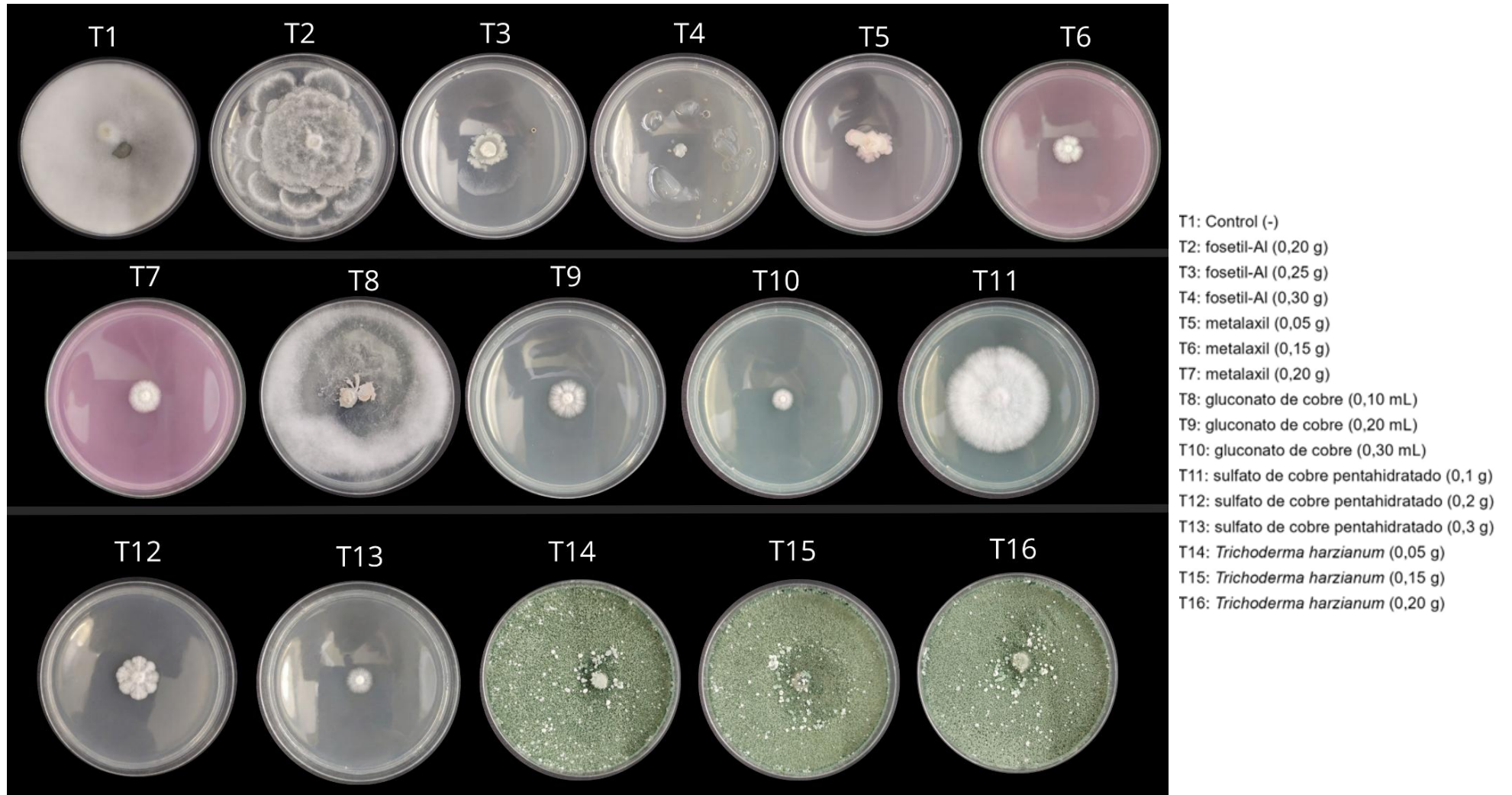
**Figura 12**

Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *Phytophthora cinnamomi* a los 7 días en medio envenenado con diferentes fungicidas



**Figura 13**

*Efecto in vitro de estrategias convencionales, químicas y biológicas, sobre Phytophthora cinnamomi*



### **4.3 Eficacia de estrategias químicas y biológicas en el control de *Phytophthora cinnamomi* y su efecto bioestimulante en plantas de palto (*Persea americana*), comparando frente a los convencionales bajo condiciones de casa malla.**

#### ***Incidencia y severidad de síntomas primarios (síntomas de pudrición radicular)***

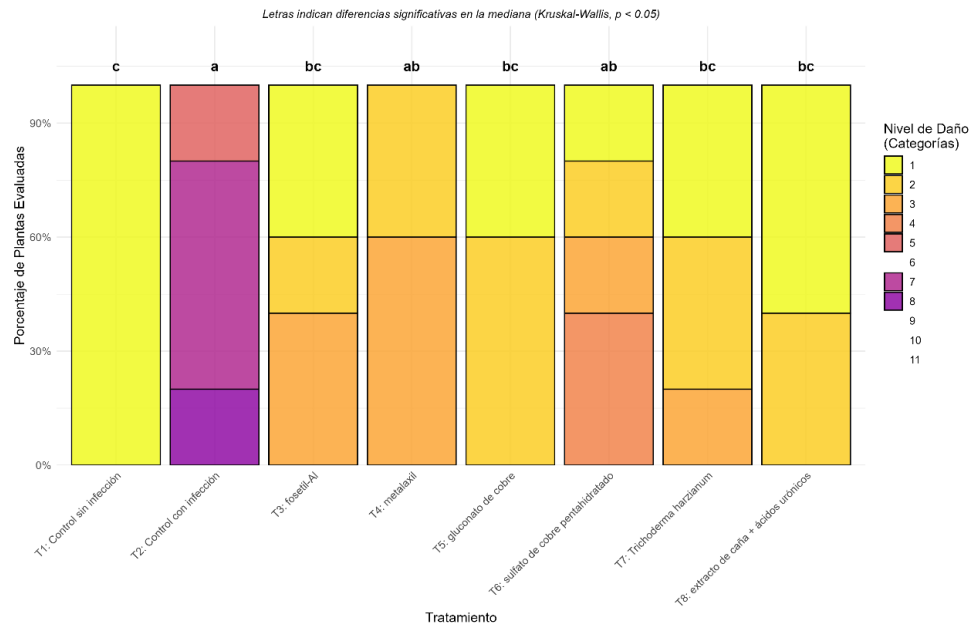
La evaluación de la pudrición radicular mostró que la incidencia de la enfermedad alcanzó el 100% en todos los tratamientos inoculados con *Phytophthora cinnamomi*, con la excepción del control sano (control no infectado), que permaneció completamente asintomático (0%). Es crucial destacar, sin embargo, que, si bien todas las plantas inoculadas contrajeron la infección, la gravedad del daño no fue uniforme. La gravedad de los síntomas varió significativamente según el tratamiento aplicado. La prueba de Kruskal-Wallis reveló diferencias altamente significativas ( $p = 0,001$ ) entre los tratamientos. Mientras que el tratamiento T1 (control sano) permaneció asintomático (nivel 1), el tratamiento T2 (control infectado) alcanzó un nivel medio 7, correspondiente a una destrucción severa del 55% al 64% del sistema radicular.

Los resultados muestran que todas las estrategias evaluadas redujeron significativamente la propagación del patógeno, limitando el daño a niveles moderados. Los tratamientos T8 (extracto de caña de azúcar + ácidos urónicos) y T5 (gluconato de cobre) destacaron con los niveles medios de daño más bajos (niveles 1 y 2), estadísticamente similares al control no infectado. En contraste, aunque T4 (metalaxil) y T6 (sulfato de cobre) protegieron el crecimiento de las partes aéreas, mostraron mayor variabilidad en el desarrollo de la raíz, lo que sugiere una protección menos uniforme que los extractos orgánicos y el control biológico (T7). La observación de las frecuencias de daños confirma la superioridad de los tratamientos preventivos. En el tratamiento T2, el 100% de las plantas evaluadas superaron el nivel de daño 5, mientras que en tratamientos como T8, T7 y T3, la gran mayoría de las plantas se concentraron en las categorías 1 y 2 (daño inferior al 14%). Esta capacidad de mantener la

integridad de la raíz es el factor clave que permitió a estos tratamientos mantener un desarrollo fisiológico óptimo a pesar de la inoculación del patógeno (Figura 14 a 16, Anexo 6 a 7).

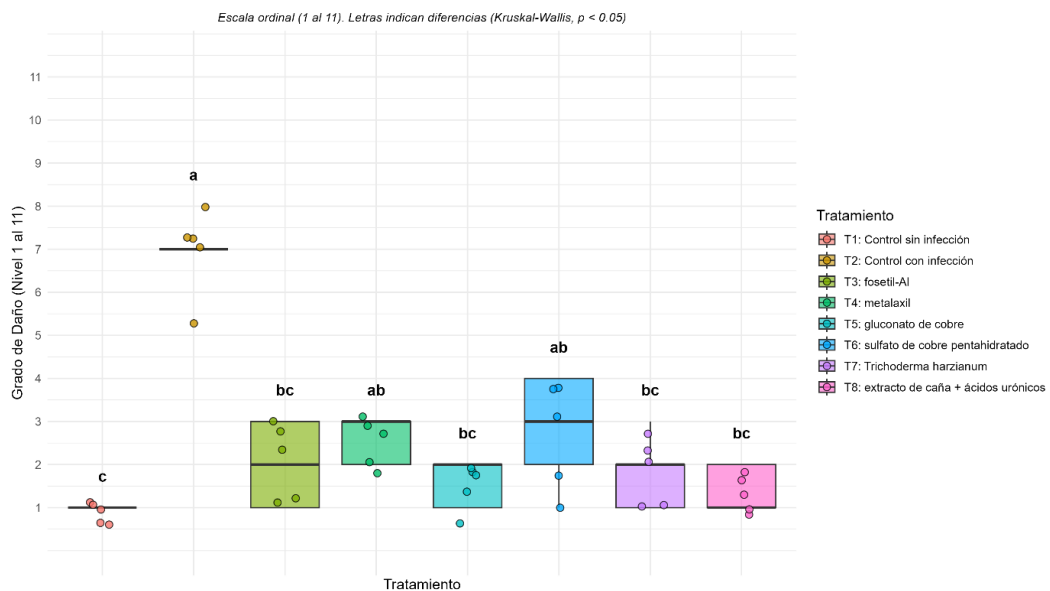
**Figura 14**

*Distribución de severidad de pudrición radicular en plántulas de palto infectadas por Phytophthora cinnamomi en condiciones de invernadero (90 días) en diferentes tratamientos*



**Figura 15**

*Nivel de daño radicular en plántulas de palto infectadas por Phytophthora cinnamomi en condiciones de invernadero (90 días) en diferentes tratamientos*



### Figura 16

*Severidad de pudrición radicular en plántulas de palto infectadas por *Phytophthora cinnamomi* en condiciones de invernadero (90 días) en diferentes tratamientos*



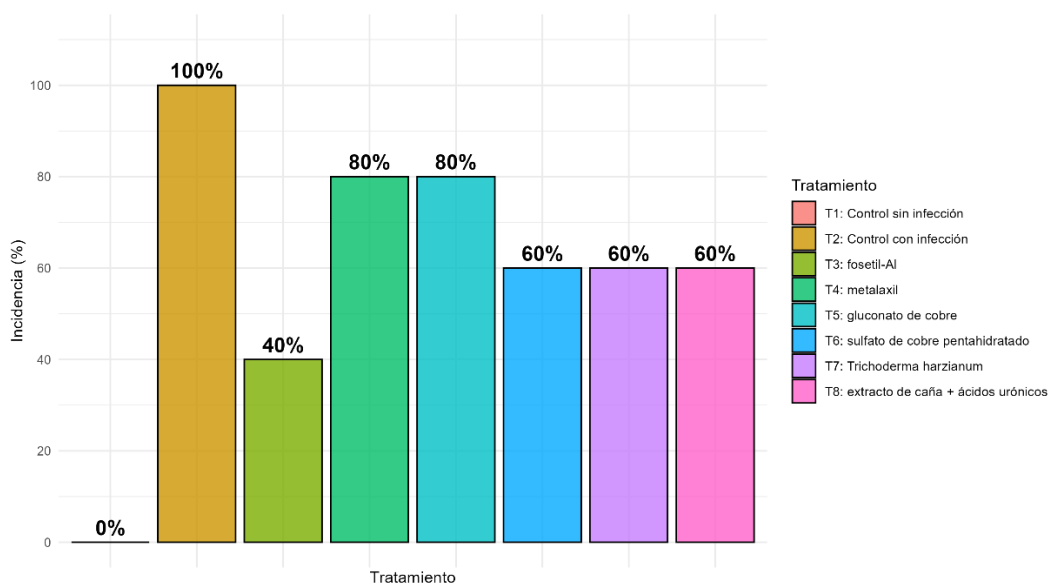
#### *Incidencia y severidad de síntomas en la parte aérea (síntomas secundarios de marchitamiento)*

La evaluación a 90 días de la incidencia de marchitamiento inducido por *Phytophthora cinnamomi* reveló marcados contrastes entre los tratamientos. El control no infectado (T1) permaneció completamente asintomático (0% de incidencia), mientras que el control inoculado (T2) alcanzó el 100% de incidencia, lo que confirmó la alta presión del patógeno en el ensayo. Entre los diferentes métodos de manejo, el tratamiento químico con fosetil-Al (T3) demostró la mayor eficacia protectora, limitando la propagación del patógeno y la incidencia a solo el 40% de las plántulas. Por otro lado, el control biológico con *Trichoderma harzianum* (T7), el

uso de sulfato de cobre pentahidratado (T6) y la aplicación de extracto de caña de azúcar enriquecido con ácido urónico (T8) mostraron un nivel intermedio de control, con un 60% de plántulas afectadas. En contraste, los tratamientos basados en metalaxil (T4) y gluconato de cobre (T5) mostraron la menor eficacia relativa dentro del grupo tratado, permitiendo que la enfermedad alcanzara una incidencia del 80% (Figura 17, Anexo 8).

### Figura 17

*Incidencia de síntomas en la parte aérea producido por *Phytophthora cinnamomi* en condiciones de invernadero*



En cuanto al análisis de la dinámica temporal de la severidad de los síntomas secundarios en un periodo de 90 días reveló un deterioro rápido y continuo en el control con infección (T2). En este grupo, los síntomas aparecieron en algún momento, intensificándose progresivamente hasta alcanzar un pico de acumulación de la enfermedad, representado por un área bajo la curva (AUDPC) mediana de 105,0. Al final de la evaluación, T2 presentó una puntuación mediana de gravedad de 3 (en una escala de gravedad que va de moderada a grave), estadísticamente diferente de los demás grupos (Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$ ) resultando significativo tanto en términos de gravedad como de AUDPC. Por el contrario, el grupo control

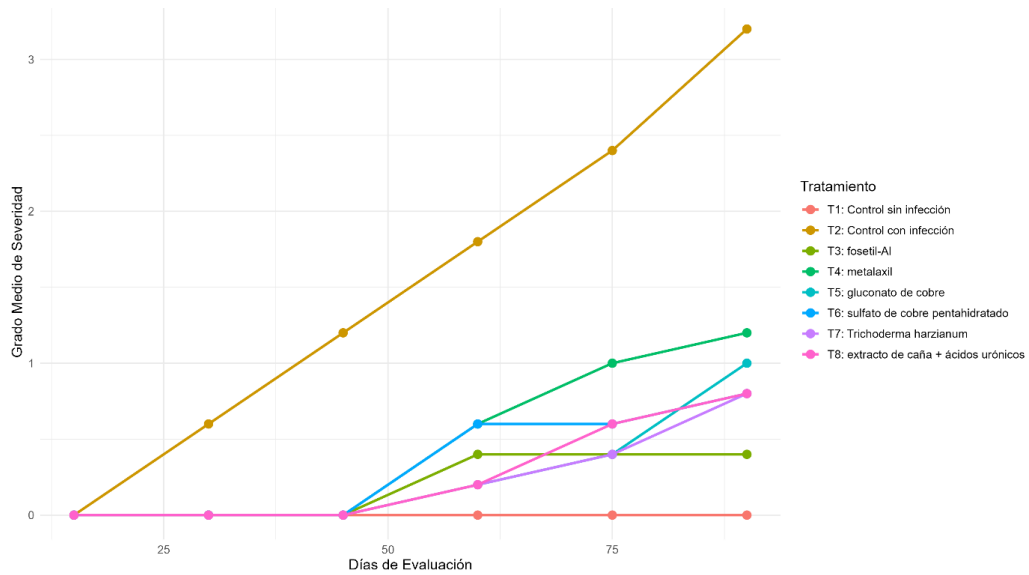
(T1) sin infección fue completamente asintomático, lo que validó la prueba y la presión de inoculación evaluada en las unidades experimentales.

Entre los métodos alternativos evaluados, la aplicación de fosetil-AI (T3) demostró la mayor eficacia, induciendo una supresión del brote de la enfermedad estadísticamente comparable al control no infectado. La curva de progresión de T3 se mantuvo estable durante los primeros 50 días, con un ligero aumento al final del ciclo, resultando en una severidad media de 0 (rango: 0-1) y un AUDPC medio de 0,0. Este comportamiento se reflejó en la distribución de la severidad final: la gran mayoría de las plantas tratadas con fosetil-AI se mantuvieron clasificadas en la categoría "Sanas" (nivel 0), lo que demostró efecto fúngico o bioprotector significativamente influenciado por la enfermedad.

En consecuencia, los demás tratamientos químicos y biológicos (T4 a T8) presentaron un alto grado de severidad, permitiendo rastrear el inicio del brote hasta aproximadamente 45 días antes. La aplicación de *Trichoderma harzianum* (T7) y extracto de caña + ácidos urónicos (T8), redujeron significativamente el impacto general de la enfermedad, ubicándose dentro del mismo grupo estadístico que el control sano según la variable AUDPC (con medianas respectivas de 7,5 y 22,5). Si bien estos tratamientos, como metalaxil (T4) y fuentes de cobre (T5 y T6), presentaron una severidad final mediana de 1, evitan que las plantas se expongan a los niveles de daño "Severo" y "Muy Severo" observados en el control infectado, manteniendo la sintomatología principalmente en niveles altos o moderados (Figura 18 a 21).

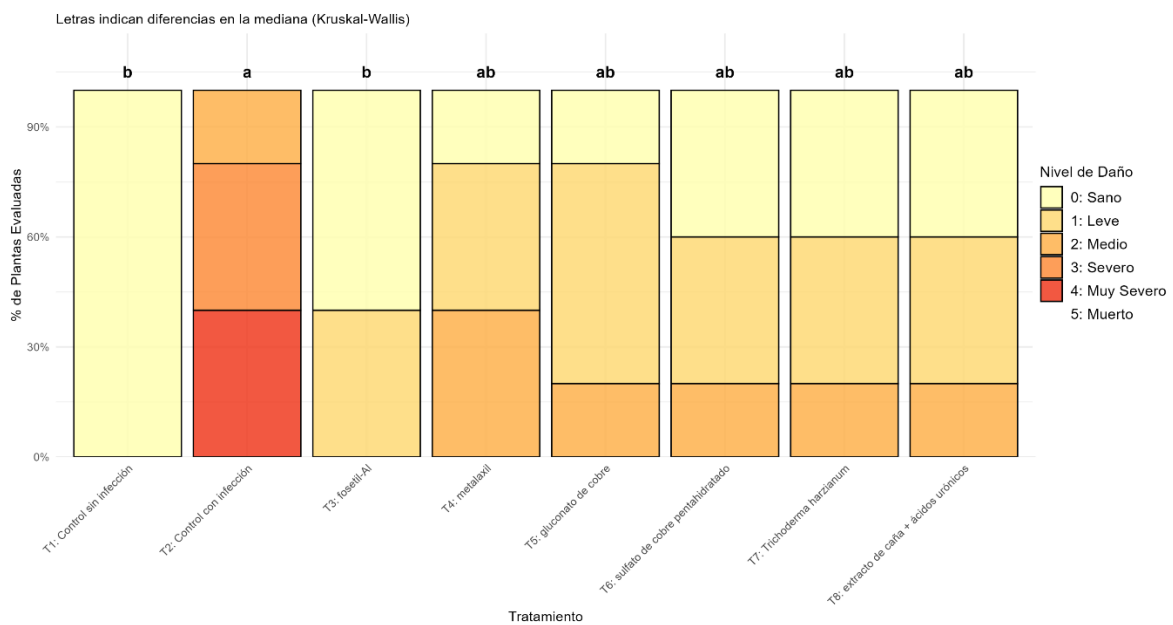
**Figura 18**

*Curva de progreso de la enfermedad de diferentes tratamientos sobre el marchitamiento aéreo en plántulas de palto infectadas por Phytophthora cinnamomi en condiciones de invernadero (90 días)*



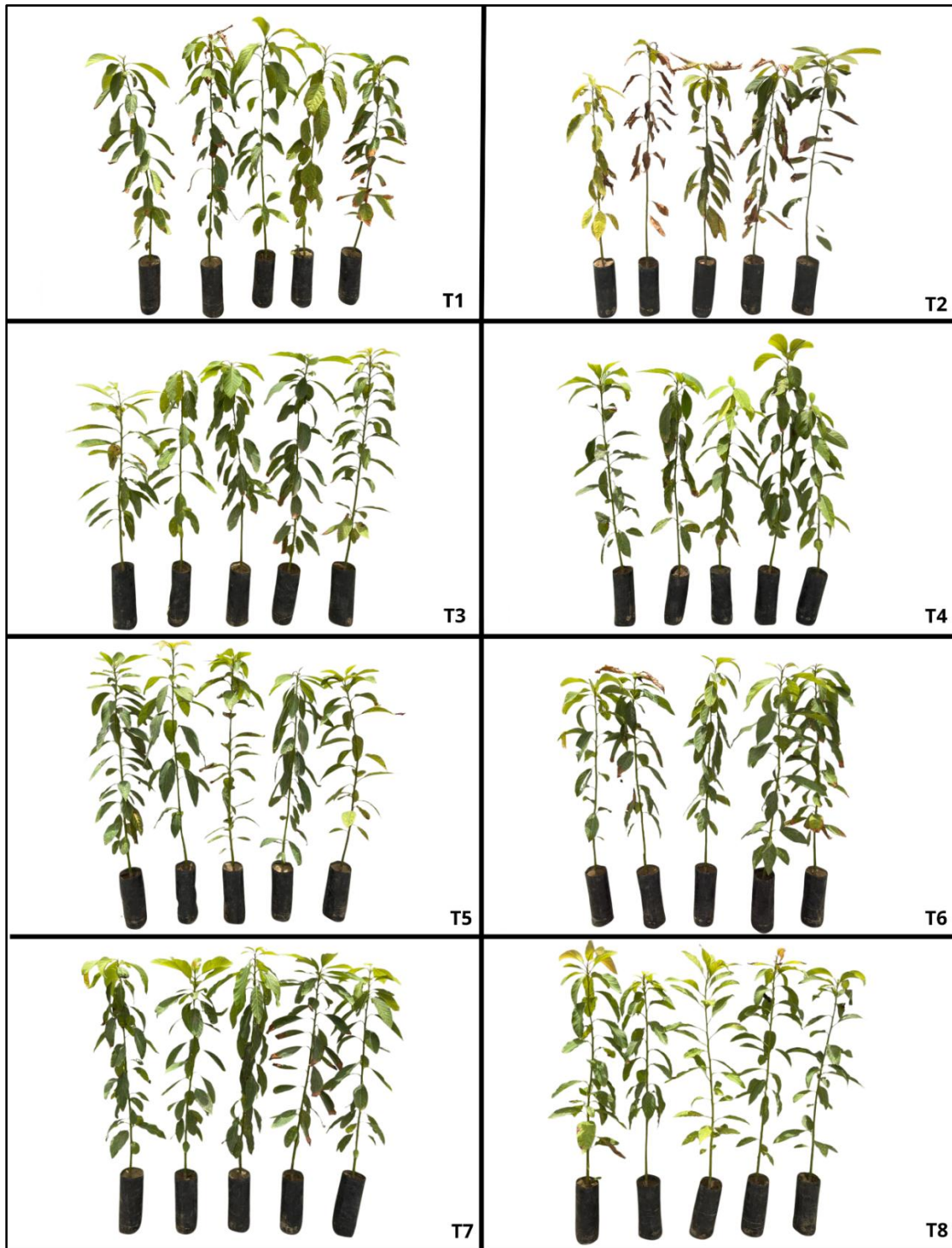
**Figura 19**

*Efecto de diferentes tratamientos sobre la severidad final del marchitamiento aéreo en plántulas de palto infectadas por Phytophthora cinnamomi en condiciones de invernadero (90 días)*



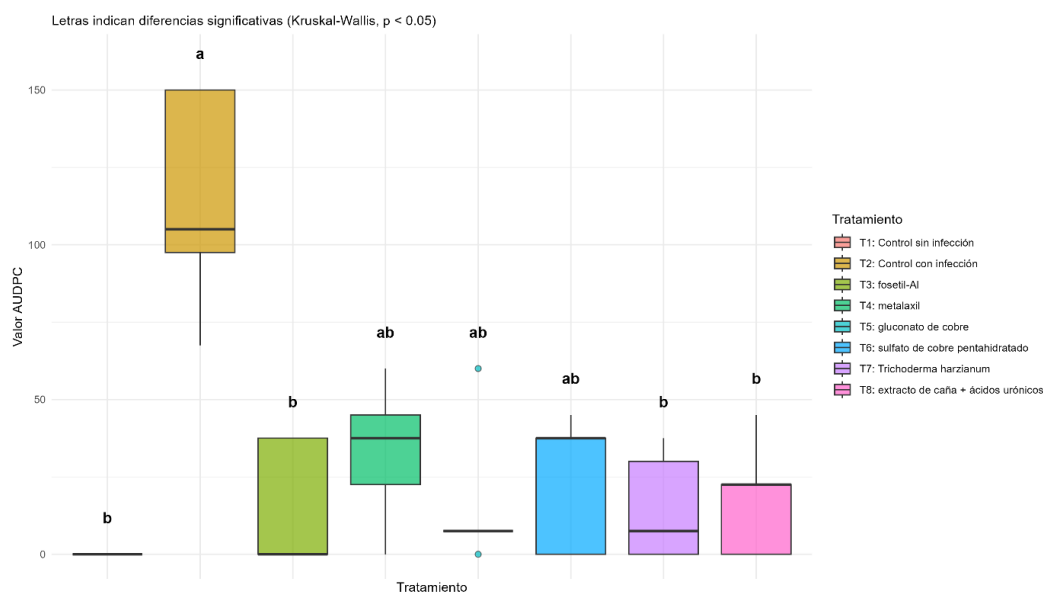
**Figura 20**

*Severidad de marchitamiento (síntomas secundarios) en plántulas de palto infectadas por *Phytophthora cinnamomi* en condiciones de invernadero (90 días) en diferentes tratamientos*



## Figura 21

Área bajo la curva del progreso de la enfermedad de diferentes tratamientos sobre el marchitamiento aéreo en plántulas de palto infectadas por *Phytophthora cinnamomi* en condiciones de invernadero (90 días)



## Análisis biométrico y fisiológico

### *Altura de la planta*

El análisis de varianza (ANOVA) reveló que el tratamiento y el tiempo tuvieron un efecto altamente significativo ( $p < 0,001$ ) en la altura promedio de la planta. La ausencia de una interacción significativa entre el tratamiento y el tiempo ( $p = 0,456$ ) indica que las diferencias de crecimiento observadas entre los grupos se mantuvieron constantes y proporcionales a lo largo del ensayo (Tabla 9). Esto confirma que el impacto del patógeno y la respuesta a los tratamientos son fenómenos estables que no varían erráticamente con la maduración de la planta.

**Tabla 9**

*Análisis de varianza para el efecto del tratamiento y tiempo sobre la altura de la planta en estrés biótico inducido por *Phytophthora cinnamomi**

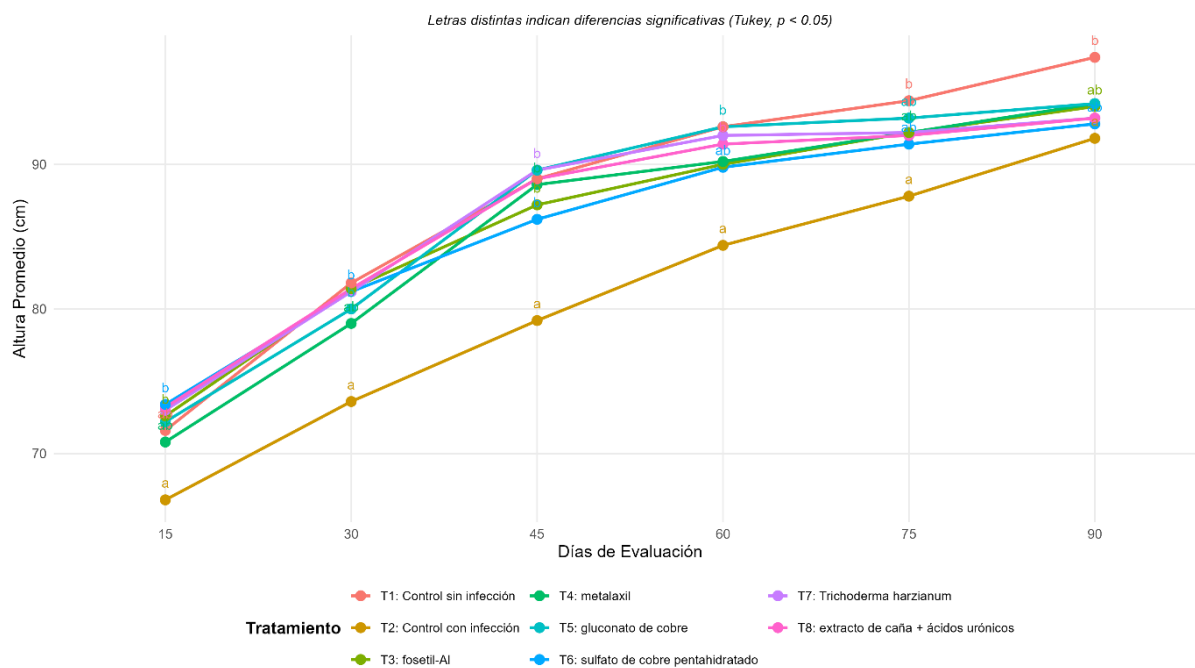
<b>Fuente de Variación</b>	<b>Gl</b>	<b>SS</b>	<b>MS</b>	<b>F value</b>	<b>Pr(&gt;F)</b>
Tratamiento	7	1,035.53	147.9333333	18.54479	0.00
Tiempo	5	14,340.65	2,868.13	359.5462	0.00
Tratamiento x Tiempo	35	282.8167	8.080476	1.012961	0.456
Residuals	192	1,531.60	7.977083		

**Nota.** SS = suma de cuadrados; MS = media cuadrática; gl = grados de libertad; F = estadístico F; p = nivel de significancia.

El tratamiento T2 (control infectado) exhibió consistentemente el menor crecimiento durante el período de evaluación de 90 días. Mientras que los otros grupos superaron fácilmente los 90 cm, el control infectado se mantuvo estadísticamente inferior, alcanzando solo 91,8 cm al final del estudio. Las estrategias químicas, biológicas y convencionales demostraron ser eficaces para mitigar el estrés biótico inducido por *Phytophthora cinnamomi*. Desde el día 15 hasta el día 60, los tratamientos T3 (fosetyl-Al), T7 (*Trichoderma harzianum*) y T8 (extracto de caña de azúcar + ácidos urónicos) mostraron un rendimiento comparable al del control sano, alcanzando alturas significativamente mayores que el control enfermo. Al final del experimento, el día 90, si bien el tratamiento T1 (control no infectado) alcanzó la altura máxima absoluta (97,4 cm), la mayoría de los tratamientos protectores (T3 a T8) mantuvieron un rendimiento competitivo, confirmando así su capacidad para proteger el desarrollo fisiológico del cultivo (Figura 22, Anexo 9).

**Figura 22**

*Evolución de la altura frente al estrés biótico inducido por *Phytophthora cinnamomi* en diferentes tratamientos con estrategias biológicas, químicas y convencionales durante 90 días*



### ***Análisis de biomasa radicular (peso fresco y seco)***

El análisis de varianza determinó que el tratamiento influyó significativamente en el desarrollo radicular, tanto en peso fresco ( $p = 0,0018$ ) como en peso seco ( $p = 0,0062$ ) (Tabla 10 a 11). Para ambas variables, el tratamiento T2 (control infectado) registró los valores más bajos en todo el experimento (56,6 g de peso fresco y 24,4 g de peso seco). Esto confirmó que el daño principal causado por *Phytophthora cinnamomi* ocurre a nivel radicular, reduciendo drásticamente la capacidad de la planta para acumular biomasa en su sistema de anclaje y absorción.

**Tabla 10**

*Análisis de varianza para el efecto del tratamiento sobre el peso húmedo radicular en estrés biótico inducido por *Phytophthora cinnamomi**

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SS</b>	<b>MS</b>	<b>F value</b>	<b>Pr(&gt;F)</b>
Tratamiento	7	4,963.58	709.0821	4.301378	0.0018826
Residuos	32	5,275.20	164.85		

**Nota.** SS = suma de cuadrados; MS = media cuadrática; gl = grados de libertad; F = estadístico F; p = nivel de significancia.

**Tabla 11**

*Análisis de varianza para el efecto del tratamiento sobre el peso seco radicular en estrés biótico inducido por *Phytophthora cinnamomi**

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SS</b>	<b>MS</b>	<b>F value</b>	<b>Pr(&gt;F)</b>
Tratamiento	7	4,177.20	596.7429	3.54729	0.006218678
Residuos	32	5,383.20	168.225		

**Nota.** SS = suma de cuadrados; MS = media cuadrática; gl = grados de libertad; F = estadístico F; p = nivel de significancia.

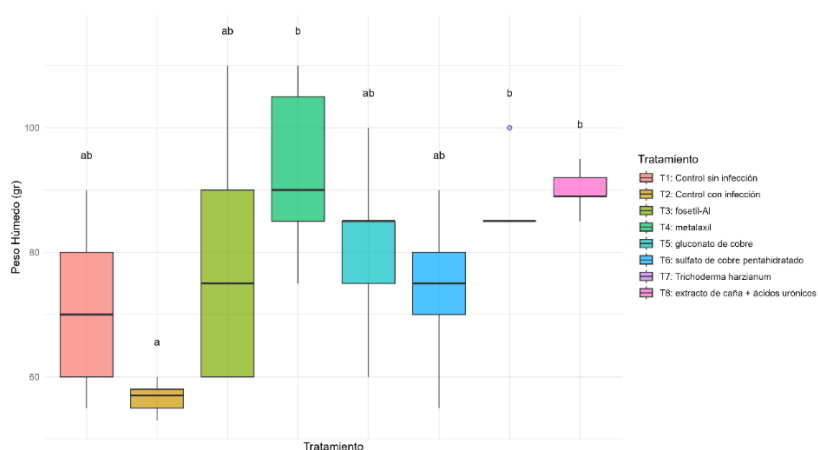
Los tratamientos T4 (metalaxil), T8 (extracto de caña de azúcar + ácidos urónicos) y T7 (*Trichoderma harzianum*) demostraron la mayor capacidad de protección del sistema radicular, alcanzando los promedios más altos y ubicándolos en el grupo estadístico superior. El tratamiento con Metalaxyl (T4) destacó con un peso seco de raíz casi el doble que el del control infectado (55,0 g frente a 24,4 g). Mientras tanto, el tratamiento biológico T7 demostró un rendimiento sólido y constante, confirmando su papel como promotor del crecimiento y protector de la rizosfera contra ataques de patógenos.

Los tratamientos T4, T8, T7 y T3 no solo superaron al control infectado, sino que también superaron numéricamente al tratamiento T1 (control no infectado) en términos de

biomasa radicular. Aunque estadísticamente se consideraron similares, esta tendencia sugiere un efecto estimulante adicional de estos tratamientos sobre el desarrollo de la raíz. Por el contrario, los tratamientos a base de cobre (T5 y T6) dieron resultados más moderados, situándose en una posición intermedia: si bien protegieron la planta, no lograron el mismo vigor radicular que las moléculas sistémicas o los agentes biológicos (Figura 23 a 24, Anexo 10 a 11).

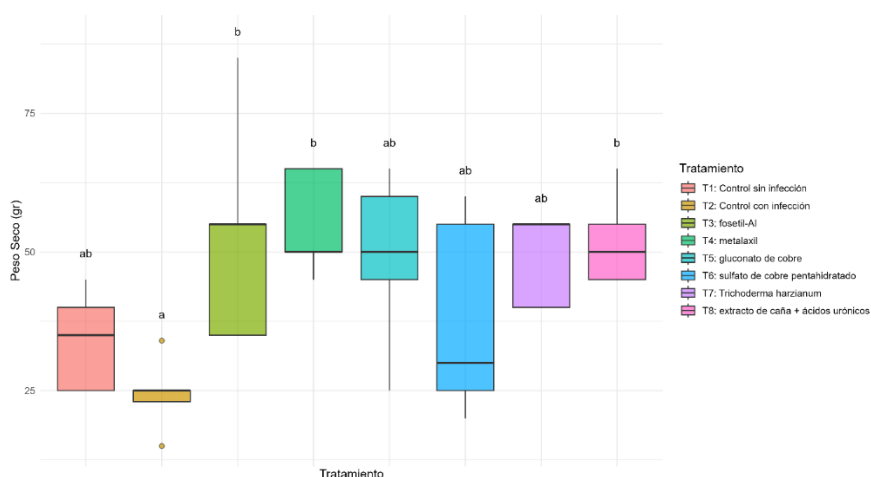
### Figura 23

*Efecto de tratamientos sobre el peso húmedo radicular en estrés biótico inducido por *Phytophthora cinnamomi**



### Figura 24

*Efecto de tratamientos sobre el peso seco radicular en estrés biótico inducido por *Phytophthora cinnamomi**



### *Análisis de biomasa aérea (peso fresco y seco)*

El análisis del impacto de los diferentes tratamientos en la acumulación de biomasa de las plantas reveló respuestas distintas, demostrando el efecto perjudicial del estrés biótico y la eficacia protectora de las alternativas evaluadas. En cuanto a la evaluación de la biomasa fresca (peso fresco aéreo), el modelo indicó una varianza cercana a la significación estadística ( $p = 0,056$ ), lo que sugiere una dispersión ligeramente mayor en la retención de agua en los tejidos (Tabla 12). Sin embargo, la prueba de separación de medias discriminó con éxito entre los valores extremos biológicamente relevantes. El desempeño del agente de biocontrol *Trichoderma harzianum* (T7) es notable, induciendo el mayor peso fresco en la evaluación (82 g), estadísticamente diferente del impacto negativo agudo observado en el control infectado (T2, 58 g) (Figura 25, Anexo 12).

**Tabla 12**

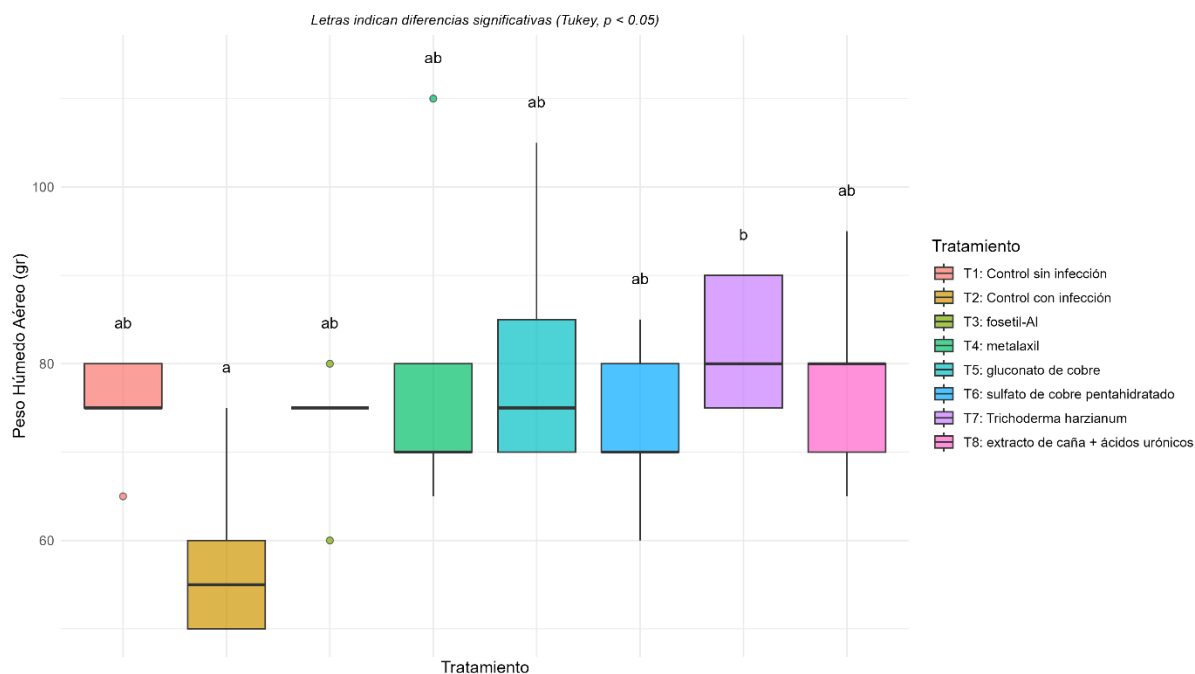
*Análisis de varianza para el efecto del tratamiento sobre la biomasa aérea fresca en estrés biótico inducido por *Phytophthora cinnamomi**

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SS</b>	<b>MS</b>	<b>F value</b>	<b>Pr(&gt;F)</b>
Tratamiento	7	2,034.38	290.625	2.246377	0.0560986
Residuos	32	4,140.00	129.375		

**Nota.** SS = suma de cuadrados; MS = media cuadrática; gl = grados de libertad; F = estadístico F; p = nivel de significancia.

**Figura 25**

*Efecto de tratamientos sobre el peso fresco de la biomasa aérea en estrés biótico inducido por *Phytophthora cinnamomi**



En cuanto a la acumulación de materia seca, el análisis de varianza (ANOVA) mostró diferencias significativas entre los tratamientos ( $p = 0,033$ ) (Tabla 13). La prueba post-hoc de Tukey confirmó que el control infectado (T2) experimentó la mayor reducción en el peso seco aéreo, registrando la media más baja (37) y ubicándose en el nivel estadístico más bajo. Por el contrario, la aplicación de gluconato de cobre (T5) promovió la mayor acumulación de biomasa seca (59 g), revirtiendo significativamente el daño causado por el patógeno y superando numéricamente al control no infectado (T1). Los demás tratamientos químicos y biológicos mitigaron el impacto de la enfermedad, manteniendo pesos secos intermedios que no difirieron estadísticamente del control sano. Esto resalta su capacidad para preservar la integridad estructural y el desarrollo del dosel vegetal frente a la presión epidemiológica (Figura 26, Anexo 13).

**Tabla 13**

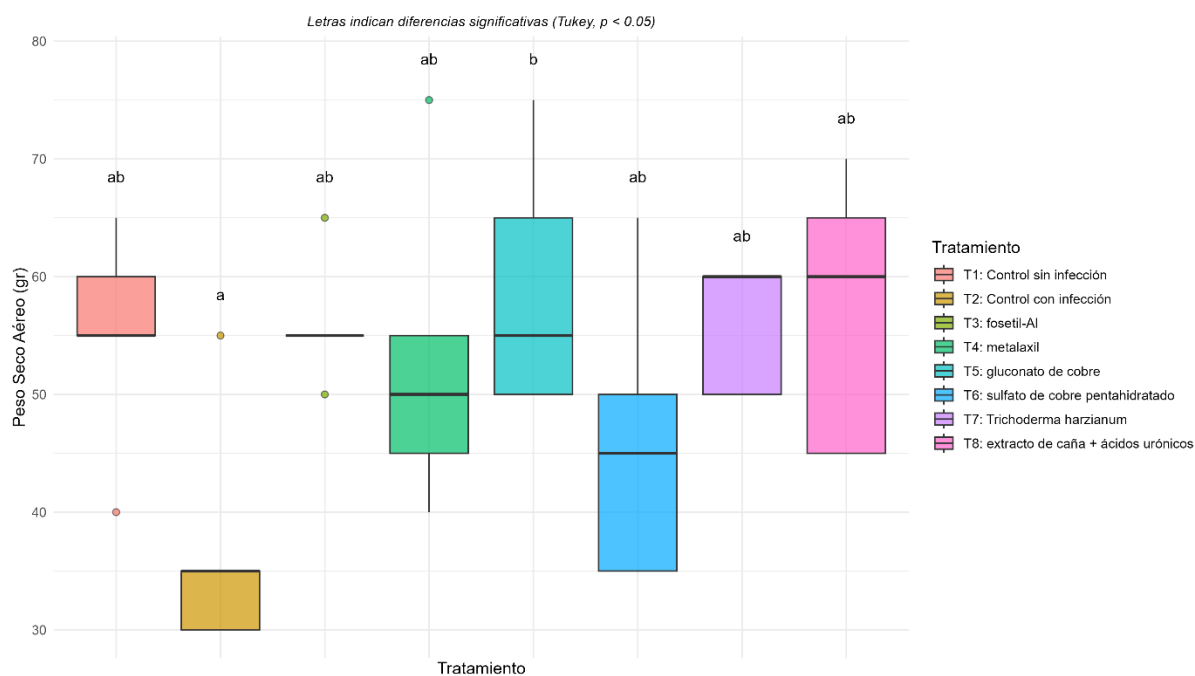
*Análisis de varianza para el efecto del tratamiento sobre la biomasa aérea seca en estrés biótico inducido por *Phytophthora cinnamomi**

Fuente	GL	SS	MS	F value	Pr(>F)
Tratamiento	7	1,879.38	268.4821	2.549385	0.03321
Residuos	32	3,370.00	105.3125		

**Nota.** SS = suma de cuadrados; MS = media cuadrática; gl = grados de libertad; F = estadístico F; p = nivel de significancia.

**Figura 26**

*Efecto de tratamientos sobre el peso seco de la biomasa aérea en estrés biótico inducido por *Phytophthora cinnamomi**



### ***Índice SPAD (contenido de clorofila) y área foliar***

El análisis de varianza del índice SPAD reveló que el tratamiento fue el único factor con un efecto estadísticamente significativo ( $p < 0,001$ ). A diferencia de la altura, el tiempo ( $p = 0,4$ ) y la interacción tratamiento x tiempo ( $p = 0,99$ ) no fueron estadísticamente significativos. Los niveles de clorofila en las plantas se mantuvieron notablemente estables durante los 90

días del experimento y que la respuesta de cada tratamiento no varió significativamente entre las diferentes fechas de evaluación (Tabla 14).

**Tabla 14**

*Análisis de varianza para el efecto del tratamiento y tiempo sobre el índice SPAD (contenido de clorofila) de la planta en estrés biótico inducido por *Phytophthora cinnamomi**

<b>Fuente de Variación</b>	<b>Gl</b>	<b>SS</b>	<b>MS</b>	<b>F value</b>	<b>Pr(&gt;F)</b>
Tratamiento	7	1,157.36	165.336475	10.8581637	0
Tiempo	3	45.17589	15.058631	0.9889474	0.4
TratamientoxTiempo	21	93.38422	4.446868	0.2920397	0.99
Residuals	128	1,949.05	15.226928		

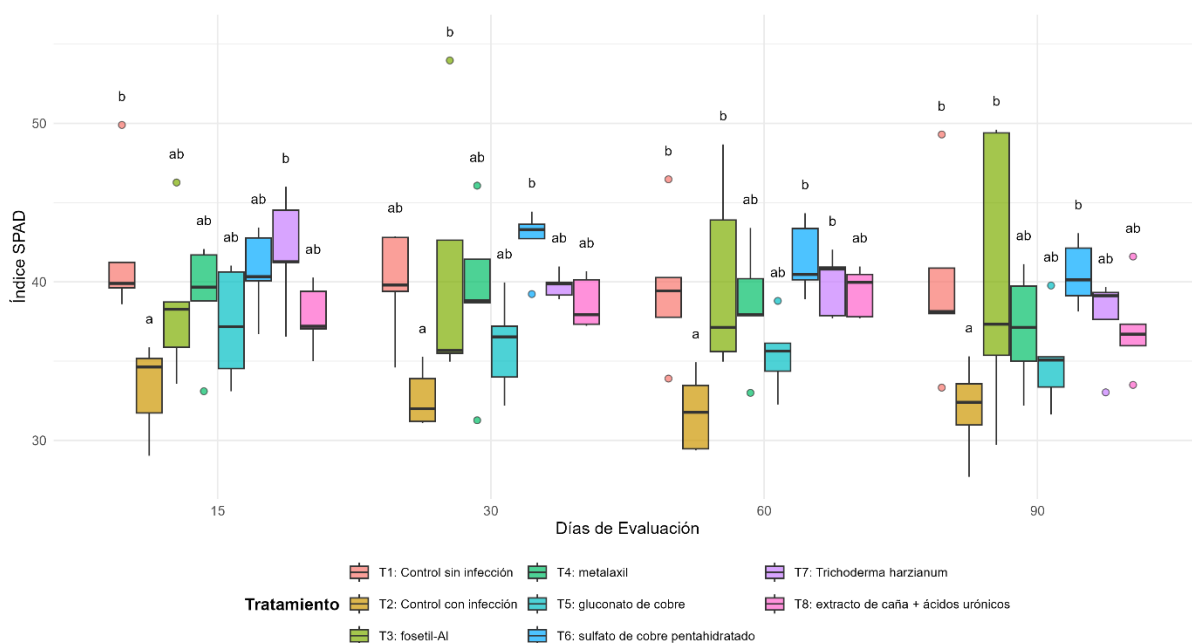
**Nota.** SS = suma de cuadrados; MS = media cuadrática; gl = grados de libertad; F = estadístico F; p = nivel de significancia.

Los tratamientos evaluados demostraron una capacidad significativa para prevenir la degradación de la clorofila. El desempeño de los tratamientos T6 (sulfato de cobre pentahidratado) y T3 (fosetil-Al) fue notable, ya que tuvieron los valores medios superiores a 40 unidades SPAD, igualando o incluso superando ligeramente el control sano (T1). Por su parte, el tratamiento biológico T7 (*Trichoderma harzianum*) también mostró una alta eficacia inicial (41,9 unidades en el día 15), manteniendo niveles óptimos de pigmentación foliar, lo que sugiere una mejora en el estado fitosanitario general de la planta frente a la infección. Al final del período de 90 días, todos los tratamientos (T3 a T8) se mantuvieron superiores al control infectado, aunque algunos, como T5 (gluconato de cobre) y T8 (extracto de caña de azúcar), mostraron una ligera tendencia hacia el grupo intermedio. Sin embargo, la superioridad estadística de tratamientos como el sulfato de cobre y el fosetil-Al en comparación con el control enfermo indica que estas moléculas son muy efectivas para preservar el aparato

fotosintético de la planta bajo presión biótica, asegurando así que la clorofila no sea un factor limitante para el desarrollo del cultivo (Figura 27, Anexo 14).

### Figura 27

*Evolución del índice SPAD frente al estrés biótico inducido por *Phytophthora cinnamomi* en diferentes tratamientos con estrategias biológicas, químicas y convencionales durante 90 días*



En cuanto al análisis del área foliar confirmó el impacto perjudicial de la infección y la eficacia diferencial de las estrategias de manejo, revelando diferencias altamente significativas entre tratamientos (ANOVA,  $p < 0,001$ ) (Tabla 15). El estrés biótico en el control infectado (T2) indujo una inhibición del área foliar, registrando el valor medio más bajo (34,80  $\text{cm}^2$ ) y ubicándose en el nivel estadístico más bajo. Por el contrario, la aplicación de fosetil-Al (T3) no solo neutralizó el daño del patógeno, sino que también promovió el desarrollo foliar más alto en el ensayo (80,06  $\text{cm}^2$ ), superando significativamente al control no infectado (T1, 59,92  $\text{cm}^2$ ). Este desempeño excepcional sugiere un efecto fitotónico o estimulante, además de su reconocida acción fungicida sistémica. La inoculación con *Trichoderma harzianum* (T7) indujo un notable crecimiento foliar (74,25  $\text{cm}^2$ ), estadísticamente comparable al del tratamiento químico superior (T3), lo que confirma su doble capacidad como agente de

biocontrol y promotor del crecimiento vegetal. Las demás alternativas evaluadas, incluidos los compuestos de cobre (T5, T6), el metalaxil (T4) y el extracto de caña de azúcar enriquecido con ácido urónico (T8), preservaron eficazmente los tejidos fotosintéticos, manteniendo áreas foliares equivalentes o superiores a las del control sano (Figura 28, Anexo 15).

**Tabla 15**

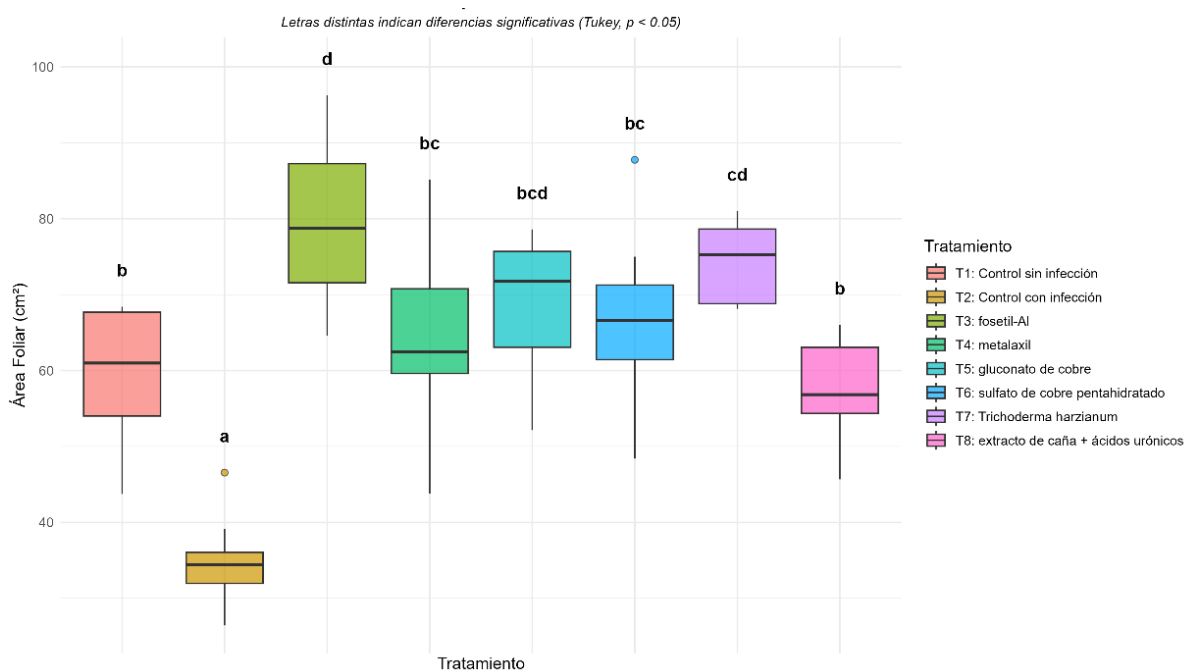
*Análisis de varianza para el efecto del tratamiento sobre área foliar en estrés biótico inducido por *Phytophthora cinnamomi**

Fuente	GL	SS	MS	F value	Pr(>F)
Tratamiento	7	13,052.37	1,864.62	24.70467	0.00000
Residuos	72	5,434.31	75.47658		

**Nota.** SS = suma de cuadrados; MS = media cuadrática; gl = grados de libertad; F = estadístico F; p = nivel de significancia.

**Figura 28**

*Efecto de tratamientos sobre el área foliar en estrés biótico inducido por *Phytophthora cinnamomi**



### ***Actividad de la enzima celulasa en el suelo rizosférico***

La prueba de degradación de carboximetilcelulosa (CMC) reveló variaciones significativas en la capacidad enzimática del microbiota del suelo según el tratamiento aplicado. La presencia de halos claros tras la tinción con rojo Congo confirmó que los microorganismos presentes en la rizosfera poseen la maquinaria enzimática necesaria para la hidrólisis de la celulosa. Dado que la celulasa es un indicador clave de la salud del suelo y del ciclo del carbono, el diámetro de estos halos permitió determinar si los tratamientos químicos o biológicos han alterado la funcionalidad de la comunidad microbiana autóctona o, por el contrario, han estimulado su actividad.

La observación de los cultivos y los datos obtenidos muestran claramente que los tratamientos biológicos y orgánicos, en particular T7 (*Trichoderma harzianum*) y T8 (extracto de caña de azúcar + ácidos urónicos), incrementaron significativamente la actividad celulolítica. En el caso de T7, esto es consistente con su naturaleza saprofítica y su capacidad para secretar celulasas altamente eficientes (halo de 14,2 mm), lo que contribuye positivamente a la salud del suelo. Por el contrario, en T2 (control infectado), se observó una reducción de casi el 50 % en la actividad enzimática en comparación con el control sano, lo que sugiere que la patogénesis de *Phytophthora* altera el equilibrio microbiano y degrada la salud de la rizosfera. Finalmente, los fungicidas químicos sintéticos (T3 y T4) y el sulfato de cobre (T6) mostraron una actividad enzimática más modesta y uniforme. Si bien controlan el patógeno, estos resultados sugieren un ligero efecto regulador sobre los grupos microbianos que degradan la materia orgánica. Existe una correlación directa entre la salud enzimática y la gravedad del daño radicular analizado previamente: una rizosfera biológicamente activa (como en T7 y T8) no solo promueve el ciclo de nutrientes, sino que también crea un entorno supresor que limita la infectividad del patógeno y mejora la recuperación de la raíz (Tabla 16, Figura 30).

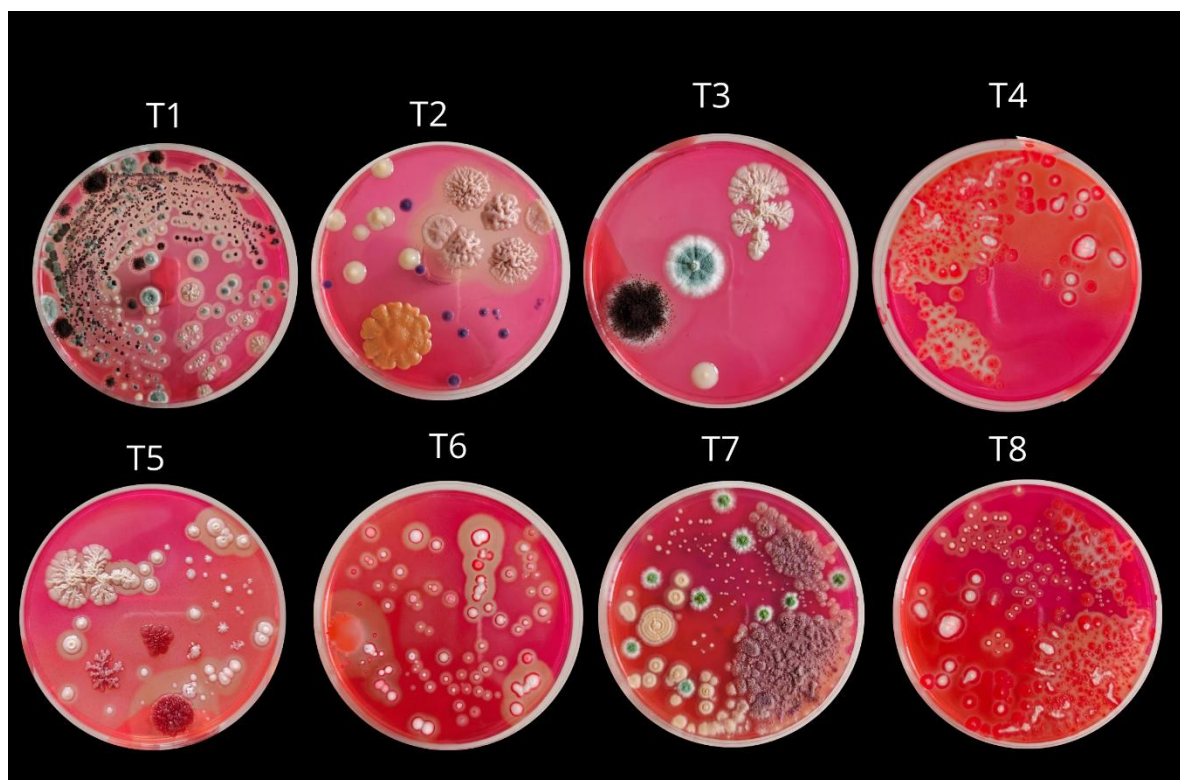
**Tabla 16**

*Degradación de carboximetilcelulosa (CMC) en la capacidad enzimática del microbiota del suelo según el tratamiento aplicado*

<b>Tratamiento</b>	<b>N° de Colonias (Promedio)</b>	<b>UFC/g de suelo (Estimado)</b>	<b>Diámetro del Halo (mm)</b>
T1: Control sano	155	$1.55 \times 10^7$	9.5
T2: Control infectado	82	$0.82 \times 10^7$	4.2
T3: Fosetil-Al	128	$1.28 \times 10^7$	7.8
T4: Metalaxil	115	$1.15 \times 10^7$	7.5
T5: Gluconato de Cu	142	$1.42 \times 10^7$	8.8
T6: Sulfato de Cu	105	$1.05 \times 10^7$	6.5
T7: Trichoderma	210	$2.10 \times 10^7$	14.2
T8: Ext. Caña + Ácidos	185	$1.85 \times 10^7$	11.5

**Figura 29**

*Actividad celulasa observada por la presencia de halos claros alrededor del crecimiento microbiano, para comparar la intensidad de actividad entre diferentes tratamientos*



## V. DISCUSIÓN

El desarrollo macroscópico observado, caracterizado por abundante micelio aéreo algodonoso, de color blanquecino a crema, y crecimiento radial con tendencia petaloide, corresponde a las descripciones morfológicas clásicas de *Phytophthora cinnamomi* cultivada en agar papa dextrosa (Erwin y Ribeiro, 1996). La ausencia de pigmentación difusible en el envés de la colonia es también una característica típica y concuerda con el comportamiento *in vitro* de este patógeno.

A nivel microscópico, la identificación se basa principalmente en la presencia de hifas cenocíticas hialinas y, sobre todo, en la observación de esporangios ovoides predominantemente no papilados. Este último constituye un criterio taxonómico primario y exclusivo que diferencia a *P. cinnamomi* de otras especies del género (Waterhouse, 1963; Erwin y Ribeiro, 1996). Además, la detección de clamidosporas globosas terminales e intercalares, asociadas a hinchazones hifales coraloides, constituye la firma diagnóstica definitiva de la especie.

Cabe destacar la observación de oosporas esféricas de paredes gruesas en cultivo. Dado que *P. cinnamomi* es predominantemente heterotálico y requiere la interacción de los serotipos de apareamiento A1 y A2 para la reproducción sexual, la formación de estas estructuras resistentes en la placa podría atribuirse a respuestas fisiológicas del aislado a condiciones de estrés, como la deficiencia de nutrientes en el ambiente, o a la variabilidad intrínseca de las poblaciones locales en respuesta a factores ambientales *in vitro*. Todas estas características macroscópicas y microscópicas confirman la identidad del aislado como *Phytophthora cinnamomi*.

Los resultados de este estudio demostraron que las estrategias evaluadas tuvieron un efecto altamente significativo en el crecimiento radial de *Phytophthora cinnamomi*, así como en el porcentaje de inhibición micelial (PICM), revelando además una interacción significativa

entre el tratamiento y el día. Este comportamiento confirma que la eficacia antifúngica depende no solo del tipo de estrategia aplicada, sino también de la dinámica temporal de crecimiento del oomiceto, cuya rápida expansión micelial ha sido ampliamente documentada en condiciones favorables (Engelbrecht et al., 2013; Kurbetli et al., 2020).

Los tratamientos biológicos basados en *Trichoderma harzianum* (T14, T15 y T16) exhibieron los niveles más altos de inhibición (>98%), lo que los ubica estadísticamente en el grupo de mejor rendimiento. Estos resultados son consistentes con los reportados por Sánchez et al. (2019), quienes observaron reducciones de hasta el 97% en enfermedades causadas por especies de *Phytophthora* tras la aplicación preventiva y curativa de cepas de *T. harzianum*. De igual manera, Gutiérrez (2023) reportó eficiencias de control de campo superiores al 79-81% contra *P. cinnamomi* en palto, lo que sugiere que el efecto significativo observado *in vitro* podría traducirse en una reducción sustancial de la gravedad de la infección en condiciones de producción.

El mecanismo que explica esta fuerte inhibición se basa en la acción multifactorial de *Trichoderma*, como la competencia por espacio y nutrientes, producción de metabolitos antifúngicos, secreción de enzimas líticas (quitinasas, glucanasas, proteasas) y micoparasitismo directo (Sumida et al., 2020). Además, estudios previos han demostrado que *Trichoderma* puede inducir respuestas de defensa sistémicas en las plantas y modular las enzimas antioxidantes, contribuyendo así a una mejor tolerancia al patógeno (Leal et al., 2014).

Por el contrario, los tratamientos químicos como el fosetil-Al y el metalaxil han mostrado una eficacia intermedia o variable. Si bien el metalaxil actúa inhibiendo la síntesis de ARN ribosómico en oomicetos y el fosetil-Al exhibe una acción tanto descendente como sistémica, su eficacia depende de la sensibilidad de la cepa aislada. Mondragón-Flores et al. (2021) reportaron variabilidad en la CE50 de los aislados de *P. cinnamomi* con respecto al metalaxil-M, lo que explica la menor inhibición observada en algunos tratamientos en este

estudio. De igual manera, Leal et al. (2014) reportaron que combinaciones como metalaxil + mancozeb reducen la gravedad de la infección en aproximadamente un 50%, pero no inhiben completamente el patógeno, a diferencia de los tratamientos biológicos más efectivos en esta investigación.

En cuanto a los tratamientos basados en extracto de caña de azúcar y ácidos urónicos, su efecto antifúngico se explica por la inducción de la autólisis celular mediante la activación de enzimas patógenas endógenas, lo que provoca la ruptura de la membrana y la pared celular (Biogen Agro, 2019). Este mecanismo es similar al descrito en estudios con extractos ricos en fenólicos derivados de la caña de azúcar, donde se ha demostrado una actividad antimicrobiana asociada al daño celular estructural y la alteración de las proteínas microbianas (Ahtesh et al., 2020).

De forma más general, los mecanismos de inhibición observados durante los tratamientos biológicos podrían estar asociados a la producción de metabolitos secundarios con actividad antifúngica y antioxidante. Estudios sobre polisacáridos y compuestos bioactivos naturales han demostrado su capacidad para modular las vías metabólicas, inducir estrés oxidativo en microorganismos patógenos y alterar su metabolismo energético (Ahtesh et al., 2020).

El hecho de que el tratamiento control (T1) exhibiera el mayor crecimiento radial confirma la alta agresividad de *P. cinnamomi*, un patógeno capaz de sobrevivir durante varios años en el suelo y causar pérdidas superiores al 45-90% en sistemas comerciales (Sánchez et al., 2019; Toapanta-Gallegos et al., 2017). Por lo tanto, la fuerte inhibición observada en los tratamientos con *T. harzianum* es de importancia práctica dentro de las estrategias de manejo integrado de enfermedades, donde la reducción del inóculo primario es esencial para disminuir la incidencia.

Los efectos en el desarrollo aéreo y fisiológico (altura e índice SPAD). Los resultados de este estudio confirmaron que la infección por *Phytophthora cinnamomi* afecta significativamente el desarrollo fisiológico de las plantas de Palto como lo demuestra el menor crecimiento del control infectado (T2). Sin embargo, la aplicación de estrategias de protección mitigó este estrés biótico. Los tratamientos con fosetil-AI (T3), *Trichoderma harzianum* (T7) y extracto de caña de azúcar combinado con ácidos urónicos (T8) permitieron que las plantas alcanzaran alturas comparables a las del control sano. Este resultado concuerda con el reportado por Leal et al. (2014), quienes demostraron que la aplicación de fosetil-AI y fungicidas biológicos incrementa significativamente la altura de las plantas jóvenes al reducir la presión del patógeno en el suelo.

En cuanto a la preservación del aparato fotosintético, evaluada mediante el índice SPAD, la eficacia del sulfato de cobre pentahidratado (T6) y el fosetil-AI (T3) resultó notable. Justo (2021) también observó que los tratamientos con sulfato de cobre promovieron un mejor desarrollo vegetativo en plantas de palto. La capacidad del cobre para intervenir en los procesos enzimáticos y estimular la producción de polifenoles y fitoalexinas permite a la planta mantener niveles óptimos de pigmentación y vigor foliar, asegurando así que la degradación de la clorofila no sea un factor limitante, incluso bajo presión de inóculo.

El principal daño causado por *P. cinnamomi* ocurre a nivel radicular, lo que resulta en una drástica reducción de la biomasa fresca y seca en el tratamiento T2. En contraste, el metalaxil (T4) duplicó el peso seco de las raíces en comparación con el control infectado. Este resultado es corroborado por Sumida et al. (2020) y Leal et al. (2014), quienes concluyeron que el metalaxil no solo controla el patógeno al inhibir la síntesis de ARN ribosómico, sino que también promueve un aumento significativo en la masa y longitud de las raíces.

Simultáneamente, los tratamientos biológicos (T7 y T8) no solo protegieron las raíces, sino que también resultaron en una mayor biomasa radicular que el control no infectado, lo que

sugiere un efecto bioestimulante. Gastañadui et al. (2021) observaron un fenómeno similar: las cepas de *Trichoderma* promovieron una mayor biomasa seca radicular y un mayor porcentaje de raíces sanas debido a su capacidad para colonizar la rizosfera. Además, en la evaluación del daño radicular, el extracto de caña de azúcar combinado con ácidos urónicos (T8) y gluconato de cobre (T5) mantuvo la integridad radicular en niveles mínimos de daño (1 y 2). La eficacia de T8 se basa en la acción de los ácidos urónicos, que inducen la autólisis y la muerte celular del fitopatógeno al degradar su pared celular, previniendo así la colonización progresiva de los tejidos absorbentes (Biogen agro, 2019).

El análisis de la enfermedad en el dominio del tiempo demostró la alta agresividad del patógeno en el control T2 (AUDPC de 105,0). En contraste, el fosetil-Al (T3) mostró la mayor eficacia de supresión, manteniendo una gravedad media de 0. Esta respuesta superior se explica por la acción sistémica, ascendente y descendente del fosetil-Al, que le confiere la capacidad única de proteger tanto la corona como las raíces de los tejidos vasculares (Castaño Zapata & Leal, 2018).

De manera similar, alternativas de larga duración como *T. harzianum* (T7) y el extracto de caña de azúcar (T8) alcanzaron el mismo nivel estadístico que el control sano para la variable AUDPC. Este nivel de control biológico es consistente con los resultados de Gutiérrez (2023) y Sánchez et al. (2019) reportaron que el uso de *Trichoderma* puede reducir la gravedad y el área afectada por la pudrición radicular en más del 80%, gracias a sus mecanismos concomitantes de competencia espacial, antibiosis y micoparasitismo directo del oomiceto.

Uno de los hallazgos relevantes de esta investigación fue la evaluación de la degradación de carboximetilcelulosa (CMC), la cual demostró que los tratamientos T7 y T8 incrementan significativamente la actividad celulolítica del suelo. La formación de halos pronunciados (14,2 mm en T7) confirma la naturaleza saprofítica de *Trichoderma* y su capacidad para secretar enzimas celulasas efectivas. Leal et al. (2014) habían documentado

previamente que el uso de sustratos orgánicos ricos en celulosa (como los derivados de la caña de azúcar) estimula la actividad enzimática y reduce la presencia del patógeno en un 42%.

En contraste, los fungicidas químicos convencionales (T3, T4, T6) mostraron una actividad enzimática más moderada, lo que indica un efecto regulador sobre el microbiota autóctono. La fuerte correlación observada entre la alta actividad enzimática y la reducción del daño radicular durante los tratamientos biológicos sugiere que promover una rizosfera biológicamente activa no solo facilita el ciclo de nutrientes, sino que también crea un entorno de supresión natural que limita la propagación de *P. cinnamomi*. Este enfoque ofrece una alternativa viable, eficaz y ambientalmente sostenible a los altos costos y riesgos de resistencia asociados con el control químico tradicional.

De esta manera el análisis exhaustivo de variables fisiológicas, epidemiológicas y microbiológicas posiciona a las estrategias biológicas en particular la inoculación con *Trichoderma harzianum* (T7) y la aplicación de un extracto de caña de azúcar enriquecido con ácido urónico (T8) como las mejores alternativas al manejo convencional con moléculas sintéticas como fosetil-Al y metalaxil. Si bien los tratamientos químicos han demostrado una fuerte eficacia de supresión inmediata, las alternativas a largo plazo han proporcionado un control de la enfermedad estadísticamente comparable, previniendo daños radiculares significativos y reduciendo significativamente el área bajo la curva de progresión de la enfermedad (AUDPC).

La clara superioridad agronómica y ecológica de T7 y T8 radica en su doble mecanismo de acción, debido a que no solo inhiben la propagación de *Phytophthora cinnamomi* mediante micoparasitismo celular e inducción de autólisis del fitopatógeno, sino que también actúan como potentes bioestimulantes que aumentan la biomasa radicular y restauran la actividad de las enzimas celulolíticas en la rizosfera. Esta capacidad para revitalizar el microbioma del suelo y promover un entorno natural supresor convierte a estos tratamientos en la estrategia más

completa, permitiendo a los agricultores mantener la rentabilidad del cultivo de palto al tiempo que mitigan los riesgos de resistencia a los hongos y degradación ambiental asociados con el uso prolongado de fungicidas sistémicos tradicionales.

## VI. CONCLUSIONES

**6.1** Se aislaron colonias de *Phytophthora* de raíces con pudrición y desprendimiento de la corteza provenientes de la localidad de Chepén, La Libertad, las características macroscópicas y microscópicas confirmaron la identidad del aislado como *Phytophthora cinnamomi*.

**6.2** El control biológico con *Trichoderma harzianum* resultó ser la estrategia más efectiva al lograr una inhibición del 100% (T14-T16), superando al convencional de fosetil-Al (95%) y metalaxyl (90%). Dentro de las nuevas propuestas químicas, el sulfato de cobre pentahidratado (92%) demostró ser una alternativa viable a los fungicidas sistémicos.

**6.3** Bajo condiciones de invernadero, el fosetil-Al logró la máxima eficacia en el control de *P. cinnamomi* (AUDPC = 0); no obstante, el gluconato de cobre y *Trichoderma harzianum* superaron significativamente al convencional metalaxil, reduciendo el AUDPC de 37.5 a 7.5. Además de su efecto fungicida, estas alternativas cumplieron el rol bioestimulante al maximizar la biomasa seca (59 g) y el peso fresco (82 g), respectivamente, demostrando un desempeño integral superior a las estrategias tradicionales en el desarrollo vegetativo del palto.

**6.4** *Trichoderma harzianum* fue la estrategia más integral al lograr una inhibición del 100% y actuar como bioestimulante (82 g de peso fresco), superando el desempeño del Metalaxil., las nuevas alternativas químicas de sulfato y gluconato de cobre demostraron ser sustitutos viables con eficacias superiores al 90%, optimizando tanto el control de *P. cinnamomi* como el vigor vegetativo del palto.

## VII. RECOMENDACIONES

7.1 Ampliar la evaluación del gluconato de cobre y *T. harzianum* a condiciones reales (campo) para determinar cómo la variabilidad del suelo y el clima, así como el microbioma autóctono, influyen en su eficacia y efecto estimulante del crecimiento.

7.2 Investigar las vías fisiológicas y moleculares subyacentes (p. ej., inducción de resistencia sistémica adquirida/antioxidante, perfiles enzimáticos) que explican el notable efecto bioestimulante observado, superando la limitación actual de medir únicamente variables agronómicas macroscópicas.

7.3 Desarrollar curvas dosis-respuesta y evaluar diferentes momentos de aplicación (preventivo frente a curativo temprano) para maximizar el control de enfermedades y minimizar los riesgos de fitotoxicidad o acumulación de metales pesados en el suelo.

7.4 Evaluar la compatibilidad *in vitro* e *in vivo* y la posible sinergia entre los tratamientos más efectivos (p. ej., aplicación combinada de *Trichoderma* y gluconato de cobre) para estructurar programas de manejo más robustos y sostenibles.

## VIII. REFERENCIAS

- Ahtesh, F., Stojanovska, L., Feehan, J., de Courten, M., Flavel, M., Kitchen, B., & Apostolopoulos, V. (2020). Polyphenol Rich Sugar Cane Extract Inhibits Bacterial Growth. *Prilozi*, *41*(3), 49–57.
- Almaraz-Sánchez, A., Alvarado-Rosales, D., Leyva-Mir, S. G., Equihua-Martínez, A., Aranda-Ocampo, S., & Hernández-Morales, J. (2016). Pruebas de patogenicidad de *Phytophthora cinnamomi* Rands. en *Pseudotsuga mensiezii*. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, *142*. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1509-2>
- Amador, M. E. A., Cibrián-Llenderal, V. D., Rojas, M. G., Ruiz-Juárez, D., Corona, B. E. L., & Rueda-Puente, E. O. (2022). *Phytophthora cinnamomi* Rands in avocado. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, *13*(28 Special Issue), 331–341. <https://doi.org/10.29312/remexca.v13i28.3287>
- Arce-Araya, C., Varela-Benavides, I., & Torres-Portuguez, S. (2019). Inhibición del crecimiento micelial de hongos asociados a antracnosis en ñame (*Dioscorea alata*). *Agronomía Mesoamericana*, *30*, 381–393. <https://doi.org/10.15517/am.v30i2.32653>
- Calle-Henao, C., Gonzales-Jaimes, E. P., Arango-Isaza, R. E., & Saldamando-Benjumea, C. I. (2020). Isolation and identification of *Phytophthora cinnamomi* collected in avocado (*Persea americana*) from Northeast Colombia. *Tropical Plant Pathology*, *45*(4), 402–414. <https://doi.org/10.1007/s40858-020-00337-w>
- Castaño Zapata, J., & Leal, J. M. (2018). Manejo integrado de la pudrición de raíces del aguacate (*Persea americana* Miller), causada por *Phytophthora cinnamomi* Rands. *Temas Agrarios*, *23*(2), 131–143. <https://doi.org/10.21897/rta.v23i2.1297>
- de Andrade Lourenço, D., Branco, I., & Choupina, A. (2020). Phytopathogenic oomycetes: a review focusing on *Phytophthora cinnamomi* and biotechnological approaches. *Molecular Biology Reports*, *47*(11), 9179–9188. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05911-8>

- Erwin DC, Ribeiro OK (1996) Enfermedades por *Phytophthora* en todo el mundo. American Phytopathological Society (APS Press), St. Paul
- Engelbrecht, J., Duong, T. A., & van den Berg, N. (2013). Development of a nested quantitative real-time PCR for detecting *Phytophthora cinnamomi* in *Persea americana* rootstocks. *Plant Disease*, 97(8), 1012–1017. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-12-1007-RE>
- Flores, C. (2015). *Evaluación de la Tasa de Crecimiento de Phytophthora cinnamoni Rands en Medios Alternativos*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Navarro.
- Gastañadui, P., Moreno, R., Quiroz-Delgado, P. E., & Apaza-Tapia, W. E. (2021). Control of avocado root rot caused by *Phytophthora cinnamomi* with different *Trichoderma* strains at Chavimochic Irrigation Project. *Peruvian Journal of Agronomy*, 5(3), 78–86. <https://doi.org/10.21704/pja.v5i3.1846>
- Gil, J. G. R., Sánchez, D. A. C., & Osorio, J. G. M. (2014). Estudios etiológicos de la marchitez del aguacate en Antioquia-Colombia. *Revista Ceres*, 61(1), 50–61. <https://doi.org/10.1590/S0034-737X2014000100007>
- Gomez Carrión, J. R. (2014). “REACCIÓN A LA PUDRICIÓN RADICULAR CAUSADA POR *Phytophthora cinnamomi*. Rands EN DOS RAZAS Y DOS CULTIVARES DE PALTO, *Persea americana*. Miller.” *Universidad Nacional Agraria La Molina*, June, 120. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4795.4080>
- Gutiérrez, J. L. (2023). *Efecto de Trichoderma harzianum en el control de Phytophthora cinnamomi en palto var. Hass en el Valle de Cañete Tesis*. Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión.
- Hüberli, D., Tommerup, I. C., Dobrowolski, M. P., Calver, M. C., & Hardy, G. E. (2001). Phenotypic variation in a clonal lineage of two *Phytophthora cinnamomi* populations from Western Australia. *Mycological Research*, 105(9), 1053–1064. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(08\)61967-X](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(08)61967-X)

- Justo, L. (2021). *COMPARATIVO DE FUNGICIDAS PARA EL CONTROL DE MUERTE REGRESIVA (Phytophthora cinnamomi Rands) EN PALTO (Persea americana M.), EN MONZON, HUAMALIES - 2021 TESIS*. Universidad Nacional Hermilio Valdizán Huánuco.
- Kurbetli, İ., Sülü, G., Aydoğdu, M., Woodward, S., & Bayram, S. (2020). Outbreak of *Phytophthora cinnamomi* causing severe decline of avocado trees in southern Turkey. *Journal of Phytopathology*, *168*(9), 533–541. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jph.12931>
- Leal, J., Castaño, J., & Bolaños, M. (2014). MANAGEMENT OF AVOCADO (*Persea americana* LINNEO) ROOT ROT (*Phytophthora cinnamomi* RANDS). *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, *17*(1), 105–114.
- McGowan, J., Byrne, K. P., & Fitzpatrick, D. A. (2019). Comparative analysis of oomycete genome evolution using the Oomycete gene order browser (OGOBS). *Genome Biology and Evolution*, *11*(1), 189–206. <https://doi.org/10.1093/gbe/evy267>
- Mondragón-Flores, A., Manosalva, P., Ochoa-Ascencio, S., Díaz-Celaya, M., Rodríguez-Alvarado, G., & Fernández-Pavía, S. P. (2021). Characterization and fungicides sensitivity of *Phytophthora cinnamomi* isolates causing avocado root rot in Zitácuaro, Michoacán. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, *40*(1). <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2109-4>
- Monserrate, A., Zambrano, D., Rondón, A., Laurencio, M., Pérez, M., León, R., & Rivera, R. (2014). Aislamiento, selección y caracterización de hongos celulolíticos a partir de muestras de suelo en Manabí-Ecuador. *Revista de La Facultad de Ciencias Agrarias*, *46*(2), 177–189.
- Ochoa Fuentes, Y. M., Hernández Pérez, A., Delgado Ortiz, J. C., Cerna Chavez, E., Aguirre Uribe, L. A., & Tapia-Vargas, L. M. (2019). Control orgánico in vitro de *Phytophthora*

- cinnamomi con aceites esenciales de orégano y clavo. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(4), 961–968. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i4.1739>
- Osorio-Almanza, L., Burbano-Figueroa, O., Arcila C., A. M., Vásquez B., A. M., Carrascal-Pérez, F., & Romero F., J. (2017). Distribución espacial del riesgo potencial de marchitamiento del aguacate causado por *Phytophthora cinnamomi* en la subregión de Montes de María, Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 11(2), 273–285. <https://doi.org/10.17584/rcch.2017v11i2.7329>
- Romero, L. D. M. (2014). *Estudio de la asociación entre algunas propiedades físicas y químicas del suelo y el comportamiento de la pudrición radical del aguacate causada por Phytophthora cinnamomi*. 91.
- Rueda-Hernández, K. R., Cardona, A. S., Cadavid-Restrepo, G. E., Benjumea, C. I. S., Gutierrez, G. P. C., & Isaza, R. E. A. (2013). Differential Organ Distribution, Pathogenicity and Benomyl Sensitivity of *Colletotrichum* spp. from Blackberry Plants in Northern Colombia. *Journal of Phytopathology*, 161(4), 246–253. <https://doi.org/10.1111/jph.12040>
- Rueden, C. T., Schindelin, J., Hiner, M. C., DeZonia, B. E., Walter, A. E., Arena, E. T., & Eliceiri, K. W. (2017). ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data. *BMC Bioinformatics*, 18(1), 1–26. <https://doi.org/10.1186/s12859-017-1934-z>
- Sanchez, A. D., Ousset, M. J., & Sosa, M. C. (2019). Biological control of *Phytophthora* collar rot of pear using regional *Trichoderma* strains with multiple mechanisms. *Biological Control*, 135(May), 124–134. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.05.012>
- Soto Plancarte, A., Rodríguez Alvarado, G., Fernández Pavía, Y. L., Pedraza Santos, M. E., López Pérez, L., Díaz Celaya, M., & Fernández Pavía, S. P. (2017). Protocolos de aislamiento y diagnóstico de *Phytophthora* Spp.: enfoque aplicado a la investigación. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(8), 1867–1880.

<https://doi.org/10.29312/remexca.v8i8.708>

- Sumida, C. H., Fantin, L. H., Braga, K., & Canteri, M. G. (2020). Control of root rot (Phytophthora cinnamomi) in avocado (persea americana) with bioagents. *Summa Phytopathologica*, 46(3), 205–211. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/192195>
- Toapanta-Gallegos, D. E., Morillo-Velastegui, L. E., & Viera-Arroyo, W. F. (2017). Diagnóstico molecular de Phytophthora cinnamomi asociado a la pudrición radicular en zonas productoras de aguacate en Ecuador. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 18(2), 285–294. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol18\\_num2\\_art:628](https://doi.org/10.21930/rcta.vol18_num2_art:628)
- van den Berg, N., Swart, V., Backer, R., Fick, A., Wienk, R., Engelbrecht, J., & Prabhu, S. A. (2021). Advances in Understanding Defense Mechanisms in Persea americana Against Phytophthora cinnamomi. *Frontiers in Plant Science*, 12(March). <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.636339>
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal Rna Genes for Phylogenetics. *PCR Protocols*, January, 315–322. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-372180-8.50042-1>

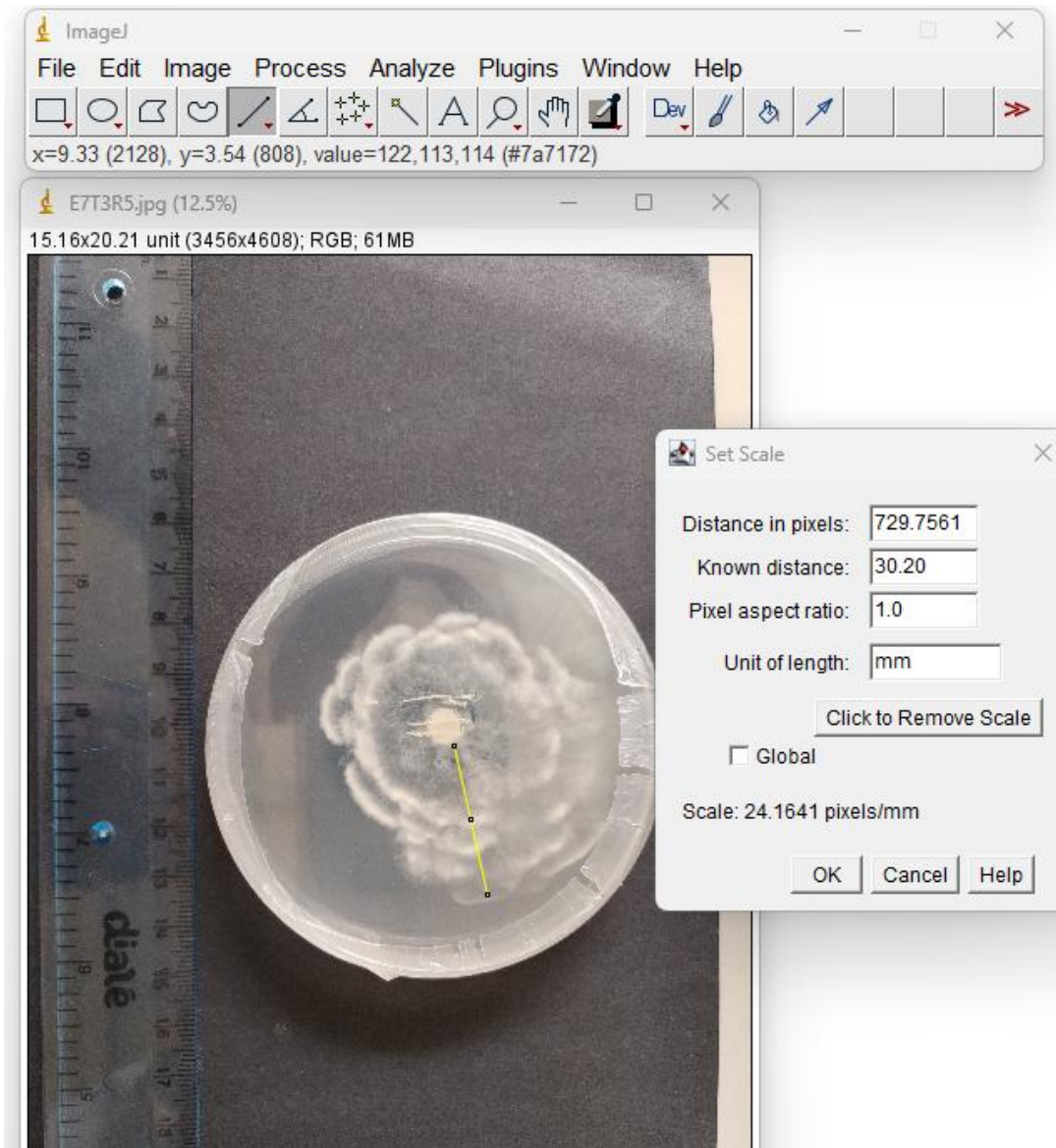
## **ANEXOS**

**Anexo 1.** *Características morfológicas para la identificación de *Phytophthora cinnamomi* Erwin y Ribeiro (1996)*

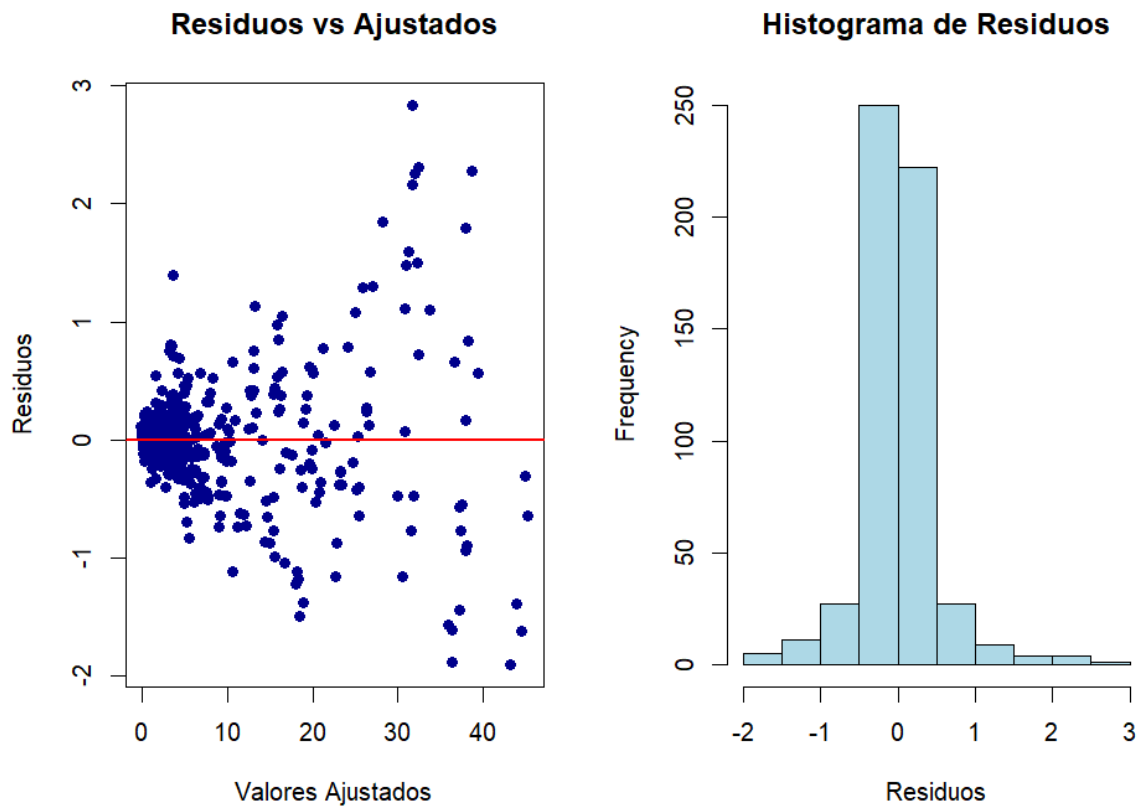
<b>Estructura</b>	<b>Descripción Detallada</b>
Hifas	Presencia de hinchamientos coraloides (agregados globosos y deformados) muy característicos. Diámetro hifal de hasta 8 $\mu\text{m}$ .
Esporangios	No papilados, de forma elipsoide a ovoide. Dimensiones promedio: 57 – 33 $\mu\text{m}$ (rango 38-120 x 27-56 $\mu\text{m}$ ).
Esporangióforos	Presentan proliferación interna (un nuevo esporangio crece dentro o a través del viejo). No ramificados o con ramificación simple.
Clamidosporas	Muy abundantes, mayormente terminales, de pared delgada y producidas en racimos laterales. Diámetro: 31-50 $\mu\text{m}$ .
Oogonio	De pared lisa, hialino a ligeramente amarillento con la edad. Diámetro: 21-50 $\mu\text{m}$ (promedio 32 $\mu\text{m}$ ).
Anteridio	Anfígino (rodea la base del oogonio), usualmente unicelular.
Oospora	Plerótica (llena casi todo el oogonio). Diámetro: 19-45 $\mu\text{m}$ .
Crecimiento	Temperatura óptima: 20-25°C. Máxima: 32-34°C. Mínima: 5-6°C.

## Anexo 2. Preparación y esterilización del medio PDA con incorporación de fungicidas



**Anexo 3. Uso de Image J para determinar el crecimiento radial**

**Anexo 4.** *Supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas (homocedasticidad) mediante inspección visual de los gráficos de residuos del modelo del ensayo in vitro*



**Anexo 5.** *Crecimiento radial de Phytophthora cinnamomi durante los 7 días en medio envenenado con tratamientos*

<b>Tratamiento</b>	<b>Dia_1</b>	<b>Dia_2</b>	<b>Dia_3</b>	<b>Dia_4</b>	<b>Dia_5</b>	<b>Dia_6</b>	<b>Dia_7</b>
1	5.22	11.00	16.90	24.43	32.42	38.72	43.20
2	4.27	9.02	14.50	20.48	26.24	32.47	35.66
3	2.16	4.39	7.10	10.41	13.38	16.28	18.00
4	0.25	0.52	0.84	1.18	1.55	1.79	2.06
5	0.83	1.77	2.76	4.07	5.24	6.08	6.94
6	0.53	1.11	1.74	2.61	3.44	3.99	4.48
7	0.52	1.08	1.75	2.50	3.19	3.85	4.32
8	4.39	9.68	14.79	21.12	27.57	32.82	37.40
9	1.11	2.25	3.68	5.27	6.70	8.25	9.10
10	0.57	1.18	1.85	2.77	3.51	4.09	4.70
11	2.72	5.66	9.02	13.20	16.85	19.79	22.42
12	0.83	1.75	2.71	4.18	5.20	6.13	6.96
13	0.39	0.84	1.32	1.90	2.49	2.88	3.30
14	0.05	0.11	0.18	0.25	0.33	0.39	0.44
15	0.06	0.12	0.19	0.28	0.36	0.42	0.48
16	0.05	0.10	0.16	0.24	0.31	0.37	0.41

**Anexo 6.** Mediana, rango y porcentaje de Daño en Raíz por tratamiento (Kruskal-Wallis)

Tratamiento	Mediana_Nivel	Porcentaje_Dano	Minimo	Maximo	Grupo_Significancia
T1: Control sin infección	1	0-4%	1	1	c
T2: Control con infección	7	55-64%	5	8	a
T3: fosetil-Al	2	5-14%	1	3	bc
T4: metalaxil	3	15-24%	2	3	ab
T5: gluconato de cobre	2	5-14%	1	2	bc
T6: sulfato de cobre pentahidratado	3	15-24%	1	4	ab
T7: <i>Trichoderma harzianum</i>	2	5-14%	1	3	bc
T8: extracto de caña + ácidos urónicos	1	0-4%	1	2	bc

**Anexo 7. Porcentaje de Incidencia de Pudrición Radical por Tratamiento**

Tratamiento	Total_Plantas	Plantas_Danadas	Incidencia_Porcentaje
T1: Control sin infección	5	0	0
T2: Control con infección	5	5	100
T3: fosetil-Al	5	2	40
T4: metalaxil	5	4	80
T5: gluconato de cobre	5	4	80
T6: sulfato de cobre pentahidratado	5	3	60
T7: <i>Trichoderma harzianum</i>	5	3	60
T8: extracto de caña + ácidos urónicos	5	3	60

**Anexo 8. Mediana del Grado de Severidad (90 días) y AUDPC por Tratamiento descriptivo**

Tratamiento	Mediana_S ev_90d	Rango_Sev_90d	Mediana_AUDPC	Rango_AUDPC	Grupo_Sev	Grupo_AUDPC
T1: Control sin infección	0	0 - 0	0.0	0 - 0	b	b
T2: Control con infección	3	2 - 4	105.0	67.5 - 150	a	a
T3: fosetil-Al	0	0 - 1	0.0	0 - 37.5	b	b
T4: metalaxil	1	0 - 2	37.5	0 - 60	ab	ab
T5: gluconato de cobre	1	0 - 2	7.5	0 - 60	ab	ab
T6: sulfato de cobre pentahidratado	1	0 - 2	37.5	0 - 45	ab	ab
T7: <i>Trichoderma harzianum</i>	1	0 - 2	7.5	0 - 37.5	ab	b
T8: extracto de caña + ácidos urónicos	1	0 - 2	22.5	0 - 45	ab	b

**Anexo 9. Comparación de medias (Tukey) de Altura**

Tiempo	Tratamiento	emmean	SE	.group
15	T2: Control con infección	66.8	1.263098	a
15	T4: metalaxil	70.8	1.263098	ab
15	T1: Control sin infección	71.6	1.263098	ab
15	T5: gluconato de cobre	72.2	1.263098	ab
15	T3: fosetil-Al	72.6	1.263098	b
15	T7: <i>Trichoderma harzianum</i>	73.0	1.263098	b
15	T8: extracto de caña + ácidos urónicos	73.2	1.263098	b
15	T6: sulfato de cobre pentahidratado	73.4	1.263098	b
30	T2: Control con infección	73.6	1.263098	a
30	T4: metalaxil	79.0	1.263098	ab
30	T5: gluconato de cobre	80.0	1.263098	b
30	T6: sulfato de cobre pentahidratado	81.2	1.263098	b
30	T7: <i>Trichoderma harzianum</i>	81.2	1.263098	b
30	T8: extracto de caña + ácidos urónicos	81.4	1.263098	b
30	T3: fosetil-Al	81.4	1.263098	b
30	T1: Control sin infección	81.8	1.263098	b
45	T2: Control con infección	79.2	1.263098	a
45	T6: sulfato de cobre pentahidratado	86.2	1.263098	b
45	T3: fosetil-Al	87.2	1.263098	b
45	T4: metalaxil	88.6	1.263098	b

Tiempo	Tratamiento	emmean	SE	.group
45	T8: extracto de caña + ácidos urónicos	89.0	1.263098	b
45	T1: Control sin infección	89.0	1.263098	b
45	T7: <i>Trichoderma harzianum</i>	89.6	1.263098	b
45	T5: gluconato de cobre	89.6	1.263098	b
60	T2: Control con infección	84.4	1.263098	a
60	T6: sulfato de cobre pentahidratado	89.8	1.263098	ab
60	T3: fosetil-Al	90.0	1.263098	b
60	T4: metalaxil	90.2	1.263098	b
60	T8: extracto de caña + ácidos urónicos	91.4	1.263098	b
60	T7: <i>Trichoderma harzianum</i>	92.0	1.263098	b
60	T5: gluconato de cobre	92.6	1.263098	b
60	T1: Control sin infección	92.6	1.263098	b
75	T2: Control con infección	87.8	1.263098	a
75	T6: sulfato de cobre pentahidratado	91.4	1.263098	ab
75	T8: extracto de caña + ácidos urónicos	92.0	1.263098	ab
75	T4: metalaxil	92.2	1.263098	ab
75	T7: <i>Trichoderma harzianum</i>	92.2	1.263098	ab
75	T3: fosetil-Al	92.2	1.263098	ab
75	T5: gluconato de cobre	93.2	1.263098	ab
75	T1: Control sin infección	94.4	1.263098	b
90	T2: Control con infección	91.8	1.263098	a

Tiempo	Tratamiento	emmean	SE	.group
90	T6: sulfato de cobre pentahidratado	92.8	1.263098	ab
90	T7: <i>Trichoderma harzianum</i>	93.2	1.263098	ab
90	T8: extracto de caña + ácidos urónicos	93.2	1.263098	ab
90	T3: fosetil-Al	94.0	1.263098	ab
90	T4: metalaxil	94.2	1.263098	ab
90	T5: gluconato de cobre	94.2	1.263098	ab
90	T1: Control sin infección	97.4	1.263098	b

**Anexo 10. Tukey - Peso fresco de Raíz**

Tratamiento	emmean	SE	.group
T2: Control con infección	56.6	5.741951	a
T1: Control sin infección	71.0	5.741951	ab
T6: sulfato de cobre pentahidratado	74.0	5.741951	ab
T3: fosetil-Al	79.0	5.741951	ab
T5: gluconato de cobre	81.0	5.741951	ab
T7: <i>Trichoderma harzianum</i>	88.0	5.741951	b
T8: extracto de caña + ácidos urónicos	90.0	5.741951	b
T4: metalaxil	93.0	5.741951	b

**Anexo 11. Tukey - Peso Seco de Raíz**

Tratamiento	emmean	SE	.group
T2: Control con infección	24.4	5.800431	a
T1: Control sin infección	34.0	5.800431	ab
T6: sulfato de cobre pentahidratado	38.0	5.800431	ab
T5: gluconato de cobre	49.0	5.800431	ab
T7: <i>Trichoderma harzianum</i>	49.0	5.800431	ab
T8: extracto de caña + ácidos urónicos	52.0	5.800431	b
T3: fosetil-Al	53.0	5.800431	b
T4: metalaxil	55.0	5.800431	b

**Anexo 12. Tukey - Peso fresco Aéreo**

Tratamiento	emmean	SE	.group
T2: Control con infección	58	5.086747	a
T3: fosetil-Al	73	5.086747	ab
T6: sulfato de cobre pentahidratado	73	5.086747	ab
T1: Control sin infección	75	5.086747	ab
T8: extracto de caña + ácidos urónicos	78	5.086747	ab
T4: metalaxil	79	5.086747	ab
T5: gluconato de cobre	81	5.086747	ab
T7: <i>Trichoderma harzianum</i>	82	5.086747	b

**Anexo 13. Tukey - Peso Seco Aéreo**

Tratamiento	emmean	SE	.group
T2: Control con infección	37	4.58939	a
T6: sulfato de cobre pentahidratado	46	4.58939	ab
T4: metalaxil	53	4.58939	ab
T1: Control sin infección	55	4.58939	ab
T3: fosetil-Al	56	4.58939	ab
T7: <i>Trichoderma harzianum</i>	56	4.58939	ab
T8: extracto de caña + ácidos urónicos	57	4.58939	ab
T5: gluconato de cobre	59	4.58939	b

**Anexo 14.** Comparación de medias (Tukey) del Índice SPAD

Tiempo	Tratamiento	emmean	SE	.group
15	T2: Control con infección	33.286	1.745103	a
15	T5: gluconato de cobre	37.292	1.745103	ab
15	T8: extracto de caña + ácidos urónicos	37.780	1.745103	ab
15	T3: fosetil-Al	38.542	1.745103	ab
15	T4: metalaxil	39.068	1.745103	ab
15	T6: sulfato de cobre pentahidratado	40.660	1.745103	ab
15	T1: Control sin infección	41.852	1.745103	b
15	T7: <i>Trichoderma harzianum</i>	41.912	1.745103	b
30	T2: Control con infección	32.694	1.745103	a
30	T5: gluconato de cobre	35.980	1.745103	ab
30	T8: extracto de caña + ácidos urónicos	38.658	1.745103	ab
30	T4: metalaxil	39.248	1.745103	ab
30	T7: <i>Trichoderma harzianum</i>	39.776	1.745103	ab
30	T1: Control sin infección	39.894	1.745103	ab
30	T3: fosetil-Al	40.548	1.745103	b
30	T6: sulfato de cobre pentahidratado	42.664	1.745103	b
60	T2: Control con infección	31.802	1.745103	a
60	T5: gluconato de cobre	35.440	1.745103	ab
60	T4: metalaxil	38.480	1.745103	ab
60	T8: extracto de caña + ácidos urónicos	39.382	1.745103	ab

Tiempo	Tratamiento	emmean	SE	.group
60	T1: Control sin infección	39.568	1.745103	b
60	T7: <i>Trichoderma harzianum</i>	39.866	1.745103	b
60	T3: fosetil-Al	40.054	1.745103	b
60	T6: sulfato de cobre pentahidratado	41.440	1.745103	b
90	T2: Control con infección	31.988	1.745103	a
90	T5: gluconato de cobre	35.022	1.745103	ab
90	T8: extracto de caña + ácidos urónicos	37.020	1.745103	ab
90	T4: metalaxil	37.038	1.745103	ab
90	T7: <i>Trichoderma harzianum</i>	37.758	1.745103	ab
90	T1: Control sin infección	39.926	1.745103	b
90	T3: fosetil-Al	40.286	1.745103	b
90	T6: sulfato de cobre pentahidratado	40.518	1.745103	b

**Anexo 15. Comparación de medias (Tukey) para el Área Foliar**

Tratamiento	emmean	SE	.group
T2: Control con infección	34.806	2.7473	a
T8: extracto de caña + ácidos urónicos	57.674	2.7473	b
T1: Control sin infección	59.920	2.7473	b
T4: metalaxil	64.686	2.7473	bc
T6: sulfato de cobre pentahidratado	66.858	2.7473	bc
T5: gluconato de cobre	69.204	2.7473	bcd

Tratamiento	emmean	SE	.group
T7: Trichoderma harzianum	74.251	2.7473	cd
T3: fosetil-Al	80.064	2.7473	d