

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE AGRONOMÍA



**“CONTROL QUÍMICO Y BIOLÓGICO DE *Lasiodiplodia* spp.
CAUSANTE DE MUERTE REGRESIVA EN EL CULTIVO DE
PALTO ‘HASS’ (*Persea americana* Mill)”**

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

SHARON SHEYLA TADEY TUPAC










LIMA - PERÚ

2023

Document Information

| | |
|-------------------|---|
| Analyzed document | TESIS - SHARON TADEY TUPAC copia.pdf (D167965972) |
| Submitted | 2023-05-23 01:22:00 |
| Submitted by | Walter Apaza Tapia |
| Submitter email | wapaza@lamolina.edu.pe |
| Similarity | 5% |
| Analysis address | wapaza.unalm@analysis.turnit.com |

Sources included in the report

| | | | |
|-----------|---|---|---|
| SA | Universidad Nacional Agraria La Molina / Tesis Ana Vicuña 2022.pdf Document Tesis Ana Vicuña 2022.pdf (D163480135) Submitted by: wapaza@lamolina.edu.pe Receiver: wapaza.unalm@analysis.turnit.com |  | 5 |
| SA | BORRADOR URKUM.docx Document BORRADOR URKUM.docx (D97682141) |  | 2 |
| SA | TESIS JUAN TRONCOZO.docx Document TESIS JUAN TRONCOZO.docx (D164939344) |  | 1 |
| SA | Universidad Nacional Agraria La Molina / JIMENEZ ARIZA REV.pdf Document JIMENEZ ARIZA REV.pdf (D162110078) Submitted by: imontes@lamolina.edu.pe Receiver: isabel.unalm@analysis.turnit.com |  | 1 |
| SA | Universidad Nacional Agraria La Molina / JIMENEZ ARIZA MAT Y MET.pdf Document JIMENEZ ARIZA MAT Y MET.pdf (D162110085) Submitted by: imontes@lamolina.edu.pe Receiver: isabel.unalm@analysis.turnit.com |  | 2 |
| SA | tesis pregrado Cueva G.docx Document tesis pregrado Cueva G.docx (D11760923) |  | 3 |
| SA | TESIS FINAL JOSÉ RETTO TOMALÁ.docx Document TESIS FINAL JOSÉ RETTO TOMALÁ.docx (D144744037) |  | 1 |
| SA | TESIS HENRY TUQUERRES C 010-08-2016 henryf.docx Document TESIS HENRY TUQUERRES C 010-08-2016 henryf.docx (D21361411) |  | 2 |
| SA | Nicole_Torres_TIC_Agronomía_URKUND.docx Document Nicole_Torres_TIC_Agronomía_URKUND.docx (D163639068) |  | 1 |

Entire Document

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE AGRONOMÍA

**“CONTROL QUÍMICO Y BIOLÓGICO DE *Lasiodiplodia* spp.
CAUSANTE DE MUERTE REGRESIVA EN EL CULTIVO DE PALTO
‘HASS’ (*Persea americana* Mill)”**

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

Sustentada y Aprobada ante el siguiente jurado:

SHARON SHEYLA TADEY TUPAC

.....

Dr. Jorge Alberto Escobedo Álvarez
PRESIDENTE

.....

Ph. D. Walter Eduardo Apaza Tapia
ASESOR

.....

Ph. D. Liliana María Aragón Caballero
MIEMBRO

.....

Ing. Mg. Sc. Ángel Alfonso Palomo Herrera
MIEMBRO

LIMA - PERÚ

2023

DEDICATORIA

Dedicado a mis padres y a mi hermano, por motivarme a trabajar por mis sueños día tras día.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres y hermano, quienes me motivaban cada día a alcanzar mis metas, y están conmigo en cada paso de mi vida.

A mi familia entera, gracias por todo el apoyo brindado.

Al Ing. Walter Apaza, quien es un referente para mí, por ser mi asesor de tesis y guiarme en todo el proceso de desarrollo de esta investigación.

A la empresa ProHass, por su apoyo en la realización y desarrollo de la presente tesis.

Al equipo administrativo y técnico de ProHass, Arturo, Andreita, Pilar, Victor, por la confianza todos estos años, los consejos brindados y más.

A los miembros de Clínica de Diagnóstico de la UNALM, Angélica, Elsitá, Haydeé, Juan, Mildrek, Javier y Anita por todo su apoyo y amistad, durante todo este proceso.

A los chicos del CEMF, por su gran apoyo en la fase de campo de la presente tesis.

A mis buenos amigos, Jd, Moni, Kevin y Huanqui, por acompañarme durante este último año, nunca dejaron que me desanime y me motivaron a continuar siempre.

A Sumiry y Consuelo, por su apoyo en buenos y malos momentos, por siempre repetirme lo buena que soy y que puedo con todo lo que me proponga.

Y si bien no logro mencionar a todos, gracias a cada persona que pudo creer en mí, en lo que podría lograr y siempre me dieron palabras de aliento.

ÍNDICE

| | | |
|------|--|----|
| I. | INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| | 1.1. OBJETIVOS GENERALES..... | 2 |
| | 1.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS..... | 2 |
| | 2.1. EL PALTO | 3 |
| | 2.1.1.Generalidades..... | 3 |
| | 2.1.2.Taxonomía | 4 |
| | 2.1.3.Descripción botánica | 5 |
| | 2.1.4.Palto ‘HASS’ | 7 |
| | 2.1.5.Requerimientos edafoclimáticos..... | 8 |
| | 2.1.6.Principales enfermedades de cultivo de palto..... | 9 |
| | 2.2. MUERTE REGRESIVA | 10 |
| | 2.2.1. Generalidades | 10 |
| | 2.2.2. Taxonomía (Courtecuisse et al., 1996) | 11 |
| | 2.2.3. Morfología..... | 11 |
| | 2.2.4. Ciclo de la enfermedad y epidemiología..... | 12 |
| | 2.2.5. Sintomatología | 13 |
| | 2.2.6. Control..... | 13 |
| | 2.2.7. <i>Lasiodiplodia theobromae</i> y <i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i> | 14 |
| 2.3. | DESCRIPCIÓN DE LOS FUNGICIDAS UTILIZADOS EN EL ENSAYO | 15 |
| | 2.3.1. Pyrimethanil (SCALA 40 SC) | 15 |
| | 2.3.2. Prochloraz (BUCANER) | 15 |
| | 2.3.3. Sulfato de cobre pentahidratado (PHYTON - 27)..... | 16 |
| | 2.3.4. Hymexazol (T-REX 360 SL) | 16 |
| | 2.3.5. Fludioxonil (COVERPLUS 230 SC) | 17 |
| | 2.3.6. Cyprodinil + Fludioxonil (SWITCH 62.5 WG)..... | 18 |
| | 2.3.7. Tebuconazole (FOLICUR 250 EW) | 19 |
| | 2.3.8. Carbendazim (FUKARIM) | 19 |
| | 2.3.9. <i>Bacillus subtilis</i> (BIO-SPLENT 70 WP)..... | 20 |
| | 2.3.10. <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (SERENADE ASO)..... | 21 |
| | 2.3.11. <i>Trichoderma viride</i> (TRICONOVA) | 22 |
| | 2.3.12. <i>Trichoderma harzianum</i> (TRICONOVA) | 22 |

| | |
|---|----|
| III. METODOLOGÍA..... | 24 |
| 3.1. LOCALIZACIÓN..... | 24 |
| 3.2. AISLAMIENTOS, REACTIVACIÓN Y PURIFICACIÓN..... | 24 |
| 3.3. PRUEBA DE EFICACIA DE PRODUCTOS QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS “IN VITRO” | 25 |
| 3.3.1. Prueba de efectividad de los productos químicos “ <i>in vitro</i> ” | 26 |
| 3.3.2. Pruebas de efectividad de los productos biológicos “ <i>in vitro</i> ” | 27 |
| 3.3.3. Evaluaciones | 28 |
| 3.3.4. Diseño experimental y análisis estadístico..... | 29 |
| 3.4. PRUEBA DE EFECTIVIDAD DE LOS PRODUCTOS QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS BAJO CONDICIONES DE CAMPO | 29 |
| 3.4.1. Materia vegetal..... | 29 |
| 3.4.2. Tratamientos..... | 29 |
| 3.4.3. Preparación del inóculo..... | 29 |
| 3.4.4. Inoculación | 30 |
| 3.4.5. Preparación de los productos químicos y biológicos para las aplicaciones | 31 |
| 3.4.6. Evaluaciones | 31 |
| 3.4.7. Reaislamiento..... | 31 |
| 3.4.8. Diseño experimental y análisis estadístico..... | 31 |
| IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES | 32 |
| 4.1. PRUEBA DE CONTROL QUÍMICO “IN VITRO” | 32 |
| 4.2. PRUEBA DE CONTROL BIOLÓGICO “IN VITRO” | 42 |
| 4.3. PRUEBA DE EFICACIA DE PRODUCTOS QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS EN CONDICIONES DE CAMPO | 56 |
| 4.4. REAISLAMIENTO..... | 62 |
| V. CONCLUSIONES | 64 |
| VI. RECOMENDACIONES | 65 |
| VII. BIBLIOGRAFÍA | 66 |
| VIII. ANEXOS..... | 73 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1: Tratamientos con los correspondientes productos químicos y biológicos utilizados en la prueba <i>in vitro</i> para el control de <i>L. theobromae</i> y <i>L. pseudotheobromae</i> | 25 |
| Tabla 2: Tratamientos con las dosis de los productos químicos para la prueba de medio envenenado | 27 |
| Tabla 3: Tratamientos con las dosis de los productos biológicos para la prueba de medio envenenado | 27 |
| Tabla 4: Dosis de los biocontroladores utilizados en la prueba de enfrentamiento | 28 |
| Tabla 5: Tratamientos con las dosis de los productos químicos y biológicos para la prueba de campo..... | 30 |
| Tabla 6: Crecimiento (mm) de <i>L. theobromae</i> en la prueba de medio envenenado. Prueba de Tukey para las tres evaluaciones. Días después de la siembra (DDS) | 33 |
| Tabla 7: Porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) de <i>L. theobromae</i> para la prueba de medio envenenado. Prueba de Tukey para las tres evaluaciones. Días después de la siembra (DDS) | 34 |
| Tabla 8: Crecimiento (mm) de <i>L. pseudotheobromae</i> en la prueba de medio envenenado. Prueba de Tukey para las tres evaluaciones. Días después de la siembra (DDS) | 38 |
| Tabla 9: Porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) de <i>L. pseudotheobromae</i> para la prueba de medio envenenado. Prueba de Tukey para las tres evaluaciones..... | 39 |
| Tabla 10: Crecimiento (mm) de <i>L. theobromae</i> en la prueba de medio envenenado. Prueba de Tukey para las tres evaluaciones. Días después de la siembra (DDS) envenenado. | 43 |
| Tabla 11: Porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) de <i>L. theobromae</i> para la prueba de medio envenenado. Prueba de Tukey para las tres evaluaciones. | 44 |
| Tabla 12: Crecimiento (mm) de <i>L. pseudotheobromae</i> en la prueba de medio envenenado. Prueba de Tukey para las tres evaluaciones. Días después de la siembra (DDS) envenenado. | 46 |
| Tabla 13: Porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) de <i>L. pseudotheobromae</i> para la prueba de medio envenenado. Prueba de Tukey para las tres evaluaciones..... | 47 |
| Tabla 14: Comparación de medias de Tukey para los tres días del crecimiento micelial de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> para la prueba de enfrentamientos..... | 50 |
| Tabla 15: Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial, evaluados al primer, tercer y sexto día después de la inoculación de <i>L. theobromae</i> | 51 |

| | |
|--|----|
| Tabla 16: Comparación de medias de tukey para los tres días del crecimiento micelial de <i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i> para la prueba de enfrentamiento..... | 51 |
| Tabla 17: Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial, evaluados al primer, tercer y sexto día después de la inoculación de <i>L. pseudotheobromae</i> | 52 |
| Tabla 18: Área enferma y área sana promedio (cm ²) de las ramas inoculadas de <i>L. theobromae</i> por cada tratamiento | 56 |
| Tabla 19: Prueba de Tukey para el porcentaje de área enferma promedio de las ramas inoculadas de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> | 57 |
| Tabla 20: Área enferma y área sana promedio (cm ²) de las ramas inoculadas de <i>L. pseudotheobromae</i> por cada tratamiento | 59 |
| Tabla 21: Prueba de Tukey para el porcentaje de área enferma promedio de las ramas inoculadas de <i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i> | 60 |
| Tabla 22: Reaislamientos de ramas inoculadas de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> y <i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i> | 63 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1: Curva de desarrollo micelial (mm) de <i>L. theobromae</i> para la prueba de medio envenenado en las tres evaluaciones | 33 |
| Figura 2: Porcentaje de inhibición de crecimiento (PIC) <i>L. theobromae</i> para la prueba de medio envenenado. | 35 |
| Figura 3: Crecimiento micelial de cada tratamiento de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> para cada tratamiento en la prueba de medio envenenado..... | 36 |
| Figura 4: Curva de desarrollo micelial (mm) de <i>L. pseudotheobromae</i> para la prueba de medio envenenado en las tres evaluaciones. | 39 |
| Figura 5: Porcentaje de inhibición de crecimiento (PIC) <i>L. pseudotheobromae</i> para la prueba de medio envenenado. | 40 |
| Figura 6: Crecimiento micelial (mm) de <i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i> para cada tratamiento en la prueba de medio envenenado..... | 41 |
| Figura 7: Curva de desarrollo micelial (mm.) de <i>L. theobromae</i> para la prueba de medio envenenado en las tres evaluaciones | 44 |
| Figura 8: Porcentaje de inhibición de crecimiento (PIC) <i>L. theobromae</i> para la prueba de medio envenenado. | 45 |
| Figura 9: Crecimiento micelial (mm) de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> para cada tratamiento en la prueba de medio envenenado..... | 45 |
| Figura 10: Curva de desarrollo micelial (mm) de <i>L. pseudotheobromae</i> para la prueba de medio envenenado en las tres evaluaciones | 47 |
| Figura 11: Porcentaje de inhibición de crecimiento (PIC) <i>L. pseudotheobromae</i> para la prueba de medio envenenado.. | 48 |
| Figura 12: Crecimiento micelial (mm) de <i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i> para cada tratamiento en la prueba de medio envenenado. | 48 |
| Figura 13: Curva de desarrollo micelial (mm) de <i>L. theobromae</i> para la prueba de enfrentamiento en las tres evaluaciones. | 50 |
| Figura 14: Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial (mm) de <i>L. theobromae</i> para la prueba de enfrentamiento en las tres evaluaciones..... | 51 |
| Figura 15: Curva de desarrollo micelial (mm) de <i>L. pseudotheobromae</i> para la prueba de enfrentamiento en las tres evaluaciones. | 52 |
| Figura 16: Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial (mm) de <i>L. pseudotheobromae</i> para la prueba de enfrentamiento en las tres evaluaciones..... | 53 |

| | |
|--|----|
| Figura 17: Prueba de enfrentamiento <i>Trichoderma viride</i> vs <i>Lasiodiplodia theobromae</i> al sexto día de evaluación..... | 53 |
| Figura 18: Prueba de enfrentamiento <i>Trichoderma harzianum</i> vs <i>Lasiodiplodia theobromae</i> al sexto día de evaluación..... | 54 |
| Figura 19: Prueba de enfrentamiento <i>Trichoderma viride</i> vs <i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i> al sexto día de evaluación. | 54 |
| Figura 20: Prueba de enfrentamiento <i>Trichoderma harzianum</i> vs <i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i> al sexto día de evaluación. | 55 |
| Figura 21: Porcentaje de área enferma promedio para las ramas inoculadas con <i>Lasiodiplodia theobromae</i> en la prueba de eficacia de fungicidas químicos y biológicos en campo. | 57 |
| Figura 22: Ramas inoculadas con <i>Lasiodiplodia theobromae</i> en la prueba de eficacia de fungicidas químicos y biológicos en campo..... | 58 |
| Figura 23: Porcentaje de área enferma promedio para las ramas inoculadas con <i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i> en la prueba de eficacia de fungicidas químicos y biológicos en campo. | 60 |
| Figura 24: Ramas inoculadas con <i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i> en la prueba de eficacia de fungicidas químicos y biológicos en campo. | 61 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | |
|---|----|
| Anexo 1: Datos meteorológicos registrados durante la prueba de fungicidas de campo para el control de las dos especies de <i>Lasiodiplodia</i> el cultivo de palto var. Hass en La Molina - Lima obtenidos mediante la estación meteorológica VON HUMBOLDT del SENAMIH... | 73 |
| Anexo 2: Análisis de Varianza (ANOVA) del diámetro de crecimiento micelial a los 1, 3 y 6 días después de la siembra de <i>L. theobromae</i> en la prueba de medio envenenado utilizando productos de naturaleza química. con un nivel de significancia de 0.05..... | 77 |
| Anexo 3: Análisis de Varianza (ANOVA) del porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) a los 1, 3 y 6 días después de la siembra de <i>L. theobromae</i> para la prueba de medio envenenado productos de naturaleza química. con un nivel de significancia de 0.05..... | 78 |
| Anexo 4: Análisis de Varianza (ANOVA) del diámetro de crecimiento micelial a los 1, 3 y 6 días después de la siembra de <i>L. pseudotheobromae</i> en la prueba de medio envenenado utilizando productos de naturaleza química. con un nivel de significancia de 0.05..... | 80 |
| Anexo 5: Análisis de Varianza (ANOVA) del porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) a los 1, 3 y 6 días después de la siembra de <i>L. theobromae</i> para la prueba de medio envenenado productos de naturaleza química. con un nivel de significancia de 0.05..... | 82 |
| Anexo 6: Análisis de Varianza (ANOVA) del diámetro de crecimiento micelial a los 1, 3 y 6 días después de la siembra de <i>L.theobromae</i> en la prueba de medio envenenado utilizando productos biológicos. con un nivel de significancia de 0.05..... | 84 |
| Anexo 7: Análisis de Varianza (ANOVA) del porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) a los 1, 3 y 6 días después de la siembra de <i>L. theobromae</i> para la prueba de medio envenenado productos biológicos. con un nivel de significancia de 0.05..... | 86 |
| Anexo 8: Análisis de Varianza (ANOVA) del diámetro de crecimiento micelial a los 1, 3 y 6 días después de la siembra de <i>L. pseudotheobromae</i> en la prueba de medio envenenado utilizando productos biológicos. con un nivel de significancia de 0.05..... | 88 |
| Anexo 9: Análisis de Varianza (ANOVA) del porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) a los 1, 3 y 6 días después de la siembra de <i>L. pseudotheobromae</i> para la prueba de medio envenenado productos biológicos con un nivel de significancia de 0.05 | 90 |
| Anexo 10: Análisis de Varianza (ANOVA) del diámetro de crecimiento micelial a los 1, 3 y 6 días después de la siembra de <i>L. theobromae</i> en la prueba de enfrentamiento utilizando agentes biológicos con un nivel de significancia de 0.05 | 92 |

| | |
|--|----|
| Anexo 11: Análisis de Varianza (ANOVA) del diámetro de crecimiento micelial a los 1, 3 y 6 días después de la siembra de <i>L. pseudotheobromae</i> en la prueba de enfrentamiento utilizando agentes biológicos. con un nivel de significancia de 0.05 | 94 |
| Anexo 12: Análisis de Varianza (ANOVA) del porcentaje de área enferma después de la inoculación de la <i>L. theobromae</i> en la prueba de eficacia de fungicidas en condiciones de campo con un nivel de significancia de 0.05 | 96 |
| Anexo 13: Análisis de Varianza (ANOVA) del porcentaje de área enferma después de la inoculación de la <i>L. pseudotheobromae</i> en la prueba de eficacia de fungicidas en condiciones de campo con un nivel de significancia de 0.05 | 97 |

RESUMEN

En el Perú, la palta ‘Hass’ es la principal variedad destinada al mercado internacional, y un factor que afecta el potencial crecimiento de su cultivo es la incidencia de patógenos. El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficacia de productos químicos biológicos sobre el control de dos especies de hongos de madera: *Lasiodiplodia theobromae* y *Lasiodiplodia pseudotheobromae*. El ensayo se realizó en el laboratorio de la Clínica de Diagnóstico y en las parcelas de palto del Programa de Investigación y Proyección Social (PIPS) de Frutales de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Para la prueba de eficacia *in vitro* se utilizó la técnica de alimento envenenado y prueba de enfrentamiento. La prueba de eficacia de campo se llevó a cabo en una plantación de 4 años de edad, sobre ramas de 1.5 a 2.5 cm de diámetro y se realizó un corte en el extremo simulando una poda. 24 horas después de la aplicación del fungicida se llevó a cabo la inoculación y se cubrió el corte con papel aluminio. 12 semanas después de la inoculación, se colectaron las ramas y se determinó el área de las lesiones internas mediante el programa ASSESS. Los productos fludioxonil, cyprodinil + fludioxonil, tebuconazole y *Bacillus subtilis* mostraron un efectivo control en la prueba *in vitro* con un PIC del 100% para ambas especies. Fludioxonil y carbendazim destacaron en la prueba de eficacia de *in vivo* sobre el control de *L. pseudotheobromae* y *L. theobromae* respectivamente.

Palabras clave: Hongos de madera, inóculo, pudrición, *Lasiodiplodia theobromae*, *Lasiodiplodia pseudotheobromae*.

ABSTRACT

In Peru, the 'Hass' avocado is the main variety destined for the international market, and a factor that affects the potential growth of its crop is the incidence of pathogens. The objective of this work was to evaluate the efficacy of biological chemical products on the control of two species of wood fungi: *Lasiodiplodia theobromae* and *Lasiodiplodia pseudotheobromae*. The trial was carried out in the laboratory of the Diagnosis Clinic and in the avocado plots of the Research and Social Projection Program (PIPS) of Fruit Trees of the UNALM. For the in vitro efficacy test, the poisoned food technique and confrontation test were obtained. The field efficacy test was carried out in a 4-year-old plantation, on branches of 1.5 to 2.5 cm in diameter and a cut was made at the end simulating pruning. 24 hours after the application of the fungicide, the inoculation was carried out and the cut was covered with aluminum foil. Twelve weeks after inoculation, branches were harvested and the area of internal lesions was extended using the ASSESS program. The products fludioxonil, cyprodinil + fludioxonil, tebuconazole and *Bacillus subtilis* showed effective control in the in vitro test with a PIC of 100% for both species. Fludioxonil and carbendazim excelled in the in vivo efficacy test over the control of *L. pseudotheobromae* and *L. theobromae* respectively.

Key words: Wood fungus, inoculum, rot, *Lasiodiplodia theobromae*, *Lasiodiplodia pseudotheobromae*

I. INTRODUCCIÓN

El aguacate, como se le conoce en Centroamérica y México, y como palta en el Perú y otros países más al sur, tiene su origen entre Centro América y México, con una antigüedad que fluctúa alrededor de los 8 mil años. Se fue difundiendo hacia el sur del continente americano incluyendo el Perú. Posteriormente se diseminó hacia los cinco continentes del planeta en los que mayormente es cultivado para su consumo interno. (MINAGRI, 2015)

El Perú en estos últimos años, ha sido reconocido por su alta producción y exportación de paltos destacando las variedades Hass y Fuerte, posicionándose en el segundo lugar como exportador y como productor en el mundo, la palta es una de las frutas más consumidas a nivel mundial, con una tendencia del aumento del consumo creciente, es una fruta apreciada y consumida en los cinco continentes por su versatilidad de consumo. (MIDAGRI, 2018)

En el año 2021, Perú exportó 541.520 toneladas de palta según Trademap, esto refiere que en nuestro país la producción del cultivo de palto ha mostrado un progresivo incremento, siendo sobre todo la variedad “Hass” la que presenta mayor demanda, así como ha surgido el crecimiento del cultivo de palto en el Perú, dicho crecimiento ha traído consigo el desarrollo ciertas enfermedades que dañan a este cultivo, existen enfermedades fitopatógenas tanto en pre como en post cosecha lo cual es un factor limitante en la producción de este cultivo. Un claro ejemplo son los llamados “Hongos de madera” que afectan de manera considerable al cultivo. En esta investigación se evaluaron productos químicos y biológicos como una alternativa de control preventivo para patógenos.

1.1. OBJETIVOS GENERALES

Evaluar la eficacia de diferentes productos químicos y biológicos sobre el control de *Lasiodiplodia theobromae* y *Lasiodiplodia pseudotheobromae* causantes de la muerte regresiva en Palto ‘Hass’ en condiciones *in vitro* y de campo.

1.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

Evaluar la eficacia de fungicidas químicos y biológicos sobre el control de *Lasiodiplodia theobromae* y *Lasiodiplodia pseudotheobromae* causantes de la muerte regresiva en Palto ‘Hass’ en condiciones *in vitro*

Evaluar la eficacia de fungicidas químicos y biológicos sobre el control de *Lasiodiplodia theobromae* y *Lasiodiplodia pseudotheobromae* causantes de la muerte regresiva en Palto ‘Hass’ en condiciones de campo.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. EL PALTO

2.1.1. Generalidades

La palta o aguacate, es el fruto de un árbol originario de México y Centroamérica. Específicamente en una cueva de Coxcatlán, Puebla, México, junto a restos humanos datados con más de ocho mil años, se encontraron las semillas de aguacate más antiguas que se conocen. Antes de la llegada de los españoles, su cultivo se extendía hasta lo que es ahora Colombia, Ecuador y Perú. El primero en mencionar el aguacate en un documento escrito fue Martín Fernández de Enciso, en su obra Suma de Geografía, publicada en 1519. (ProHass Perú, 2015).

Después del descubrimiento de América y la invasión española a México, Centroamérica, Colombia y Perú, el aguacate se diseminó a otras partes del mundo. En la República Dominicana, este cultivo ya existía cuando la isla fue descubierta por Cristóbal Colón y fue llevado a España. En 1630 llegó al Caribe, a Cuba en el año 1700, y a Barbados en 1751. Sobre cómo llegó a nuestro país, se cree que la producción de palta en Perú se remonta al siglo 15, luego de la conquista Inca del pueblo llamado Palta. El primer registro en África se encuentra en Ghana en 1750, distribuyéndose a Mauritius (1780), Madagascar (1802), Senegal (1824), Uganda (1856), Egipto (1870) y Sudáfrica (1904). En 1908 llegó a Israel y en 1932 a Turquía.

Así se fue expandiendo a todo el mundo, muy en particular hacia las naciones del hemisferio sur como Sudáfrica, Nueva Zelanda, países del sudeste de Asia, India y Nueva Zelandia. El aguacate se ha dispersado a los cinco continentes de nuestro planeta (Téliz y Mora, 2007).

El cronista mestizo peruano Garcilaso Inca de la Vega, en sus Comentarios Reales de los Incas, relata cómo Túpac Inca Yupanqui al conquistar la zona sur de Ecuador en la que habitaba el grupo nativo de los Paltas, llevó al Cuzco "ese delicioso fruto llamado Palta".

Según lo mencionado, ese es el origen del nombre que le damos en nuestro país, y también el tiempo aproximado en que llega a nuestras tierras, entre los años 1450 y 1475. Además, el cronista, científico y sacerdote Bernabé Cobo en *Historias del Nuevo Mundo* (obra terminada en 1653) escribe: “La Palta se llama así en la lengua general del Perú, que en la mayor parte de las Indias la nombran aguacate, que es el nombre que le dan los indios de la isla española” (ProHass Perú, 2015).

2.1.2. Taxonomía

El género *Persea* es de origen africano-laurasiano, con su subgénero *Eriodaphne* originado en África y el subgénero *Persea* probablemente también originado en África, entrando por el suroeste laurasia y por navegación llegar a la norteamérica tropical. La evidencia sistemática se basa en análisis de las izosimas, terpenos de las hojas, morfología, fisiología. (MINAGRI, 2015).

Taxonomía del Cultivo (Taktajan, 1980)

| | |
|---------------------------|---|
| Subclase | Magnoliidae |
| Orden | Lurales |
| Familia | Lauraceae |
| Género | <i>Persea</i> |
| Especie y variedad | <i>Persea americana</i> var. <i>guatemalensis</i> |
| Cultivar | ‘Hass’ |

Estas tres variedades se convierten entonces en *Persea americana* var. *americana*, var. *drymifolia* (mexicana) y *guatemalensis* (guatemalteca). La antillana parece ser la más diferente de las tres razas. Esto fue notado desde 1665 por el padre Fray Bernabé Cobo y otros cronistas. (Gama-Campillo y Gómez-Pompa 1992; Popenoe 1963).

Botánicamente se clasifica en tres grupos de razas:

- a) *Persea americana* var. *drymifolia* (Schldl. & Cham.) S. F. Blake, (TSN 530950), aguacate mexicano. Se caracteriza por tener sus hojas un olor a anís, que se percibe al estrujar sus hojas. Los frutos son de tamaño relativamente pequeño, aunque en algunas variedades llegan alcanzar un peso promedio de 350 g. El fruto a la madurez adquiere el color violáceo luego morado oscuro, cáscara muy delgada, suave y fácilmente quebradiza.
- b) *Persea nubigena* var. *guatemalensis* L. O. Williams. (TSN 530948), aguacate guatemalteco. Son frutos con cáscara gruesa, correosa y rugosa al tacto. Al alcanzar su maduración estos frutos presentan distintos tamaños según las variedades, que van desde pequeños a relativamente muy grandes. El color verde pierde su brillo apareciendo unos puntitos de aspecto corchoso a causa de un proceso de suberización de las lenticelas.
- c) *Persea americana* Mill. var. *americana* (*P. gratíssima* Gaertn.) (TSN 530949), aguacate antillano. Los frutos a su maduración alcanzan tamaños grandes, con un peso que sobrepasa los 400 g. La cáscara de estos frutos aparece suave al tacto, flexible, de consistencia correosa y de grosor mediano. El fruto cambia su coloración a medida que avanza su maduración, de verde brillante se torna verde opaco.

2.1.3. Descripción botánica

Es una especie polimorfa, por ello su capacidad de adaptarse a diferentes ambientes y a sus características como la dimensión de las hojas, tamaños del fruto, coloración del epicarpio, entre otros, son muy variables. (Baíza, 2003).

Es un árbol que en condiciones naturales puede sobrepasar los 10 m de altura, con una copa amplia, cuyo diámetro puede sobrepasar 25 m en un árbol adulto. Los árboles de semilla, especialmente en su medio ambiente nativo, pueden alcanzar alturas que superan los 30 m. No obstante, los árboles injertados son enanizados en distinta intensidad, dependiendo del vigor del patrón o portainjerto y de las condiciones donde se desarrolla. En los subtrópicos los árboles pueden alcanzar más de 10 a 15 m de altura, pero normalmente son mantenidos a no más de 7 u 8 m, mediante podas periódicas, debido a

las dificultades que una mayor altura representa en el manejo fitosanitario y para las labores de cosecha. (Bernal, J. *et al.*, 2014).

a. Hojas

Las hojas del aguacate son pecioladas, alternas; su forma es diversa, pudiéndose encontrar formas como ovada, obovada-angosta, obovada, oval, redondeada, cordiforme, lanceolada, oblonga y oblongo-lanceolada; el margen puede ser entero u ondulado; la base puede ser aguda, obtusa y truncada; la forma del ápice puede ser muy agudo, agudo intermedio, obtuso y muy obtuso, con unas dimensiones de 8 a 40 cm de longitud y de 3 a 10 cm de ancho (IPGRI, 1995).

El haz de las hojas es de color verde rojizo cuando están jóvenes, cuando éstas maduran es verde, poco brillante; el envés es verde opaco; son pinnatinervias, con 4 a 10 pares de nervaduras laterales, que son prominentes por el envés. (Avilán *et al.*, 1992).

b. Raíz

El sistema radical del aguacate es descrito como relativamente superficial y no se extiende mucho más de la copa del árbol (Bergh, 1992). Alcanza de 1 a 1.5 metros de profundidad, pero en suelos sueltos pueden ser mayores. El sistema radicular tiene un patrón de crecimiento horizontal que se concentra en los primeros 50 centímetros de profundidad del suelo. Las raíces poseen pocos pelos absorbentes, la absorción del agua y nutrientes la realizan a través de los tejidos primarios de las puntas de las raíces. Esta característica del aguacate provoca susceptibilidad al encharcamiento, porque la planta se asfixia con facilidad y es vulnerable al ataque por hongos en el tejido radicular (Godínez *et al.*, 2000).

c. Flores

Las inflorescencias, también llamadas comúnmente panículas, son tirsos con ramificaciones que terminan en flores. Las inflorescencias multirramificadas nacen generalmente de las yemas terminales, pero también pueden formarse a partir de las subterminales de los brotes más vigorosos. (Scora *et al.*, 2007).

Las flores están agrupadas en inflorescencias largas en grupos de 10 que crecen en las axilas, presentando grupos integrados que contienen hasta 450 flores que pueden madurar

en el transcurso de seis meses de acuerdo a temperatura y variedad, cada árbol puede llegar a producir hasta un millón de flores y solo el 1% se transforma en fruto, por la abscisión de numerosas flores, a mayor floración menor porcentaje de cuajado (Baíza, 2003).

d. Frutos

Es una drupa carnosa, de forma periforme, ovoide, globular o alargada. El color varía de verde claro a verde oscuro y de violeta a negro. Estas características y otras como la estructura, consistencia de la cáscara y pulpa, es según la raza y variedad cultivada. Los frutos con cáscara dura son resistentes al transporte y manipuleo. (Baíza, 2003)

2.1.4. Palto “HASS”

Es la variedad más comercial y exportada del mundo, resultado del cruce de progenitores desconocidos (pero más cercanos al guatemalteco), fue lograda en el Estado de California en los Estados Unidos, por Rudolph G. Hass. Su floración corresponde al Tipo “A”, el cual tiene su primera apertura como hembra en la mañana y su segunda apertura como macho por la tarde del siguiente día; al contrario del Tipo “B”, que tiene su primera apertura como hembra por la tarde y su segunda apertura como macho por la mañana. (Téliz y Mora, 2007)

La planta es de porte medianamente vigorosa, produciendo cosechas comparativamente altas en años alternos. En algunas localidades es frecuente observar, en un año determinado, que la mitad de las plantas de un huerto muestran buena fructificación, mientras que la otra mitad de las plantas presenta escasa cantidad de frutos. Tiene una menor tolerancia relativa a la concentración de sales. Su fruto de 170 g a 350 g, aunque en varios países tiende a ser de poco peso, es una pulpa cremosa desabor excelente, sin fibra, contenido de aceite de 23,7%, cáscara algo coriácea, rugosa, color púrpura oscuro al madurar, semilla pequeña y adherida a la cavidad, su fruta se puede mantener en el árbol por algunos meses después de su madurez fisiológica. El grado de conservación y de resistencia al transporte es excelente. (Rimache, 2007)

Los cultivares modernos, casi en su mayoría proviene de la combinación de dos y a veces de las tres razas de aguacate; en el caso del “Hass” cuenta entre un 10% a 15% de genes de raza Mexicana y el resto de raza guatemalteca. La raza mexicana le da una menor adaptación

a climas más templados, por lo que le confiere la posibilidad de ubicarse en una gran amplitud de altitudes. La “Hass” es una variedad adaptada a las condiciones ecológicas de la costa y la selva alta del país. En la costa central se cosecha en noviembre a diciembre; en la selva, en épocas más tempranas. Su producción está orientada esencialmente al mercado exterior. (MINAGRI, 2015)

2.1.5. Requerimientos edafoclimáticos

a. Clima

Este cultivo se adapta a climas húmedos y semihúmedos, con notables diferencias entre las estaciones húmedas y secas. El aguacate se adapta a condiciones de baja humedad atmosférica, la raza Mexicana se adapta a menor humedad relativa, progresivamente las que se adapta mayor humedad son las razas Guatemalteca y Antillana. (Avilán et al., 1989).

b. Temperatura

El palto es muy sensible a bajas temperatura, sobre todo el cultivar “Hass” que a temperaturas menores a -1°C sufre daños. Este factor es determinante en la etapa de floración, por tal se busca que la temperatura sea óptima. En rango de temperatura de 20°C a 25°C durante el día y 10°C en la noche, favorece a una adecuada fecundación y cuaja (MINAGRI, 2015).

c. Precipitaciones

Galán-Saúco (1990) indicó sobre la precipitación requerida por el cultivo difiere para las tres razas así: la raza Mexicana requiere precipitaciones por encima de los 1.500 mm/anuales; para la raza Guatemalteca por debajo de los 1.500 mm/año y para la raza Antillana los requerimientos están por debajo de los 1.000 mm/año. El aguacate tiene una amplia adaptación a la pluviosidad; se cultiva sin riego en zonas con precipitaciones que varían entre 665 mm y más de 2.000 mm/año.

d. Radiación solar

El exceso de radiación provoca lo que se denomina “golpe de sol”, en el tallo o frutos por lo que se debe pintar el tronco y las ramas principales con cal o con látex agrícola de color blanco y mantener un equilibrio en la distribución del follaje. La radiación es un factor

determinante en la evapotranspiración del cultivo, el requerimiento de agua en la zona de valles interandinos es de 8000 a 10000 m³/ha, siendo la mayor demanda en otras zonas áridas, con mayores niveles de radiación llegando incluso a 12000 m³/ha. (MINAGRI, 2021)

e. Humedad absoluta y relativa

La humedad absoluta es la cantidad real de humedad en el aire; la humedad relativa se mide como un porcentaje o relación de la cantidad de vapor de agua en un volumen de aire relativo, a una temperatura dada y la cantidad que puede contener a esa temperatura. Para el cultivo del palto, la condición de la humedad relativa puede agravar (baja humedad) o aliviar (alta humedad) la condición de estrés hídrico, causada por falta de agua, dado que el origen de esta especie se acondiciona a una zona de clima tropical, pues el palto mantiene mejores funciones fisiológicas tales como la transpiración y fotosíntesis en la medida en que la humedad relativa, se acerque a la condición de origen de la planta. (MINAGRI, 2021)

f. Suelo

Los suelos ideales son aquellos de textura media: franco, franco arenoso, franco arcillo-arenoso y migajón, con buen drenaje y profundidad de 0.8 a 2 metros. La materia orgánica debe de estar en niveles adecuados del 2.5 al 5 %, contribuye a la nutrición y sanidad del aguacate, favorece la estructura del suelo, la porosidad, la capacidad de retención de agua, la aireación y el drenaje. Los suelos que poseen capas compactadas u obstáculos físicos que impidan el desarrollo de las raíces y el drenaje como: talpetates o talpujas, tobas, lechos de roca superficial, horizontes arcillosos en el subsuelo y otros, deben descartarse para el cultivo de aguacate. El drenaje insuficiente es la principal limitante del suelo para el cultivo del aguacate, ya que provoca problemas de aireación y humedad excesiva, induce a la asfixia e invasión de patógenos diversos en el área radicular de las plantas. En suelos con texturas arcillosas como Latosoles Rojizos o Pardos, Grumosoles y otros, no se recomienda el cultivo. (Baíza, 2003)

2.1.6. Principales enfermedades de cultivo de palto

Entre las enfermedades de mayor importancia económica para el cultivo de palto se incluyen la pudrición radicular de *Phytophthora*, la antracnosis, la pudrición del peciolo, la mancha de *Cercospora*, la sarna, la mancha de sol o “*sunblotch*”, la pudrición de raíces causada por *Rosellinia*, la pudrición marrón de la raíz, la marchitez del laurel y los canchros de *Phytophthora* en la corteza. Entre las enfermedades de menor importancia se citan a la

podrición radicular de *Armillaria*, la marchitez de *Verticillium* o verticiliosis, el cancro del tronco de *Dothiorella*, el cancro bacteriano y la mancha negra. (Damm, 2015).

2.2. MUERTE REGRESIVA

2.2.1. Generalidades

Estudios recientes citan a especies del género *Lasiodiplodia* causando enfermedades en el trópico en cultivos importantes como cacao (*Theobroma cacao*), aguacate (*Persea americana*), papaya (*Carica papaya*), caucho (*Hevea brasiliensis*), chirimoya (*Annona cherimola*), durazno (*Prunus persica*), caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), uvas (*Vitis vinifera*) y cítricos (Picos-Muñoz *et al.*, 2015)

El hongo causante de la muerte descendente, es uno de los organismos más frecuentes en viveros, ya que pudre las raíces y provoca retraso en el desarrollo de los árboles. La pudrición se presenta generalmente en la unión del injerto, como una necrosis de color café que generalmente avanza en forma descendente y compromete el patrón e impide el paso de agua y nutrientes, por lo cual la copa muere posteriormente. Cuando el hongo no afecta la unión del injerto, causa necrosis de raíces, retraso en el desarrollo, amarillamiento, marchitez y muerte de arbolitos en condiciones de almácigo. (Tamayo, 2007).

La fuente principal de infección de este patógeno se da por la presencia de plantas enfermas y restos de poda que quedan tirados en el campo. La diseminación mecánica se realiza por la utilización de herramientas contaminadas en la poda, tales como tijeras, sierras y machetes (Fraedrich, 1994), es favorecida por altas temperaturas, lluvias y humedad proporcionada por el riego, este factor ayuda a que las esporas sean expulsadas fuera de los picnidios, y se acumulen en la atmósfera que rodea el cultivo y suelo (Muhammad, 2009; Cibrián, 2007).

2.2.2. Taxonomía (Courtecuisse et al., 1996)

Reino Fungi

División Ascomycota

Subdivisión Pezizomycotina

Clase Dothideomycetes

Orden Botryosphaeriaceae

Género *Lasiodiplodia*

2.2.3. Morfología

La principal característica que distingue al género *Lasiodiplodia* de otros géneros relacionados es la presencia de picnidios, parafisas y estriaciones longitudinales en conidios maduros. Cerca de 20 especies han sido descritas en base a la morfología de conidios y parafisas. Las descripciones más recientes de estas especies, aparte de la morfología, se basan en la secuenciación de las regiones espaciadoras intergénicas del rDNA (ITS) y factor de elongación 1 alfa (EF-1) (Damm et al., 2007; Netto *et al.*, 2014).

La morfología de su ascocarpo es de color café oscuro a negro, agregado, con pared gruesa de color café oscuro y hialino en capas internas, de 250-400 μm de diámetro. El asca es bitunicada, estipitada, con 8 esporas, de 90-120 μm de longitud. Las ascosporas son biseriadas, hialinas, aseptadas de 30-35 x 11-14 μm . El conidiomata es estromático, simple o agregado, inmerso en el hospedero y una vez maduro emerge de éste, de color café oscuro, unilocular, de pared gruesa o delgada de color marrón, con frecuencia setoso, de hasta 5 mm de ancho, ostiolo central, único, papillado. Parafisas hialinas, cilíndricas, tabicadas, ocasionalmente ramificadas con los extremos redondeado hasta 55 μm de largo y 3-4 μm de ancho (Phillips *et al.*, 2013).

Los conidióforos son hialinos, simples, algunas veces septados, rara vez ramificados, cilíndricos. Las células conidiogénicas son hialinas, de pared gruesa, lisas, cilíndricas a sub-obpiriformes, holoblásticos, con una o dos anillaciones. Los conidios son subovoides a

elipsoidales, con ápices ampliamente redondeados, que se estrechan para trincar la base, más ancha a mediados del tercio superior, de paredes gruesas, con contenido granular, en un principio hialino y aseptados, convirtiéndose a café oscuro una vez maduros, con 1 septo, presentan depósitos de melanina en la superficie interior de la pared dispuestos longitudinalmente dando una apariencia estriada con medidas de 21.5-31.5 x 13-17 μm y una proporción de 1.9 Largo/Ancho (Pitt y Hocking, 2009; Phillips *et al.*, 2013).

2.2.4. Ciclo de la enfermedad y epidemiología

El cancro del tallo y la muerte regresiva son provocados por organismos parásitos que viven en el interior de los tejidos del palto, a este tipo de patógenos se les denomina endófitos (Hartill *et al.*, 2002), estos invaden tejidos de forma oportunista cuando están en condiciones de estrés hídrico, defoliación, bajos niveles de nutrientes, ataques de insectos y malformación de raíces. La colonización de los tejidos vasculares por el hongo es visible en estados avanzados. La prolongación de estas condiciones ocasionan la expansión de los síntomas causadas por el patógeno. (Ploetz *et al.*, 1994)

La infección por esporas o fragmentos hifales es a través de heridas o daños por podas o cicatrices en los tejidos debido a abscisión, ó penetración directa por la epidermis. La colonización endofítica es favorecida por condiciones de estrés, y de continuar estas condiciones el hongo sigue proliferando y se puede volver necrótrofo. Estudios realizados en mango indican que insectos que se alimentan de la corteza pueden ayudar a diseminar la enfermedad. La acumulación de hojas infectadas debajo de la canopia del árbol, alrededor del tronco y en oscuridad favorece la infección, especialmente si esta capa de hoja seas se mantiene húmeda. (Ploetz *et al.*, 1994)

Una vez colonizados los tejidos, se inicia la producción de conidios en los picnidios. Estos conidios, con la ayuda de la lluvia, del viento o de la intervención de insectos, son los responsables de la aparición de los ciclos secundarios de la enfermedad. Por otro lado en los tejidos ya muertos, conjuntamente a la producción de conidio, se generan las estructuras de carácter sexual, que una vez maduran producen las ascosporas infectivas que dan lugar a nuevas infecciones primarias. (Manion, 1991).

2.2.5. Sintomatología

Capriles *et al.* (1979) mencionan que en ramas y raíces la manifestación del hongo es más severa, se ubica a cualquier altura del tronco y ramas o en las raíces, se notan como manchas oscuras, secas, agrietadas, deprimidas y endurecidas en la corteza, mientras que internamente las necrosas de color castaño rojizo son de dimensiones más grandes que en el exterior y con una apariencia fibrosa. En las ramas jóvenes las lesiones pueden generar hipertrofias y rajaduras que en ocasiones exudan un líquido amarillento, la necrosis se expande rápidamente. La enfermedad se hace evidente por la marchitez y amarillamiento que presentan las hojas afectadas, las cuales mueren rápidamente.

Cedeño *et al.* (1995) mencionan que el patógeno, genera lesiones que ocasionan a través del tiempo defoliación y muerte regresiva. Las lesiones se originan en los entrenudos y en los sitios de emergencia de hojas y ramas secundarias. Al inicio de la enfermedad se da la presencia de síntomas que se caracterizan por ser manchas marrones claras que luego se ensancha mostrando en el centro blanco grisáceo. Cuando la enfermedad alcanza los tejidos internos, las hojas se vuelven amarillas y posteriormente se caen.

Alama *et al.* (2006) indican que el síntoma más notorio fue la presencia de chancros acompañados de exudados blanquecinos y grumosos de tamaños variables ubicados indistintamente en el tronco ramas y árboles jóvenes y adultos afectados.

2.2.6. Control

Capriles *et al.* (1979) indican que deberán aplicarse todos los manejos correctivos agronómicos necesarios para disminuir los factores predisponentes a la enfermedad como drenajes y sombrío deficiente, carencias nutricionales, utilización como sombrío de plantas hospederas y presencia de malezas. Estrategias como las podas sanitarias y la erradicación de árboles muertos, removiendo y quemando el material enfermo de las plantaciones y protegiendo las heridas ocasionadas, son labores necesarias.

2.2.7. *Lasiodiplodia theobromae* y *Lasiodiplodia pseudotheobromae*

Lasiodiplodia theobromae ya ha sido reportada en el cultivo de palto en nuestro país. Tras un muestreo masivo de canchros por toda la costa peruana, fue por primera vez reportado en el Perú y en el cultivo de palto la especie *Lasiodiplodia pseudotheobromae*, mediante el proyecto “Hongos de madera” entre la Asociación de productores y exportadores de palta Hass – ProHass y la Clínica de diagnóstico de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

Lasiodiplodia pseudotheobromae fue reclasificada por Alves *et al.* (2008) como especie críptica de *L. theobromae* y la consideraron una especie nueva. A partir de ahí se ha reportado nuevos hospederos con importancia comercial, como *Citrus* spp., *Coffea* sp., *Mangifera* spp. y *Rosa* sp. (Zhao *et al.*, 2010).

Lasiodiplodia theobromae es un hongo endófito y parásito facultativo que generalmente afectan e ingresa a sus hospedantes penetrando a través de heridas y tejidos en descomposición (Muhammad, 2009)

Según Alves (2008), *L. theobromae* es un fitopatógeno de plantas con un amplio espectro de hospedantes. En la mayoría de hospedantes ocasiona pudrición y muerte regresiva. En su post cosecha es una enfermedad común de los cítricos, conocida como pudrición del pedúnculo.

El hongo es frecuente en las regiones tropicales y subtropicales, donde ha sido identificado como la causa de enfermedades en aproximadamente 280 especies de plantas vasculares, entre las cuales destacan aguacate, algodón, cacao, café, caña de azúcar, caucho, mango, maní, pino, tabaco, entre otros (Ecuador Forestal, 2014).

2.3. DESCRIPCIÓN DE LOS FUNGICIDAS UTILIZADOS EN EL ENSAYO

2.3.1. Pyrimethanil (SCALA 40 SC)

a. Composición y generalidades

Formulación: Suspensión concentrada.

Modo de acción: Fungicida anilino- pirimidino sistémico de amplio espectro.

Mecanismo de acción: Interrumpe el crecimiento micelial mediante la inhibición de las cistationina- β -liasa, una etapa esencial en la biosíntesis de la metionina

Nombre del grupo: AP- Fungicidas (Anilino –Pyrimidines) Grupo químico: Anilino-pyrimidines

Código FRAC: 09

(FRAC 2021)

b. Características

Pertenece al grupo anilino-pirimidina, preventivo y curativo, que se transporta acropétalmente y tiene acción translaminar y un novedoso modo de acción que inhibe la secreción de enzimas del hongo que son necesarias para la infección, así evita y logra detener el proceso infectivo del patógeno. (Bayer, 2017)

2.3.2. Prochloraz (BUCANER)

a. Composición y generalidades

Formulación: Concentrado emulsionable

Modo de acción: Fungicida sistémico de acción preventiva y curativa.

Mecanismo de acción: Inhibe la demetilación-C14 (DMI) en la biosíntesis del ergosterol.

Nombre del grupo: DMI – fungicidas (DeMethylation Inhibitors) Grupo químico: Imidazoles

Código FRAC: 03

(FRAC,2021)

b. Características

Es un fungicida de la familia de los imidazoles sistémico de amplio-espectro. Posee una gran acción de penetración y sistemicidad localizada, resultando una doble acción curativa y erradicante además de preventivo. (CAPEAGRO, 2018)

2.3.3. Sulfato de cobre pentahidratado (PHYTON - 27)

a. Composición y generalidades

Formulación: Suspensión concentrada

Modo de acción: Fungicida con acción preventiva y curativa.

Mecanismo de acción: Actividad de contacto multi - sitio. Iones de cobre-II (Cu ++) son tomados por las esporas durante la germinación y se acumula hasta que se consigue una concentración suficientemente alta para destruir las paredes celulares de las esporas; la actividad se limita a la prevención de la germinación de las esporas.

Nombre del grupo: Inorganic (electrophiles)

Grupo químico: Inorgánico

Código FRAC: M 012

(FRAC 2021)

b. Características

Es un fungicida – Bactericida a base de sulfato de cobre pentahidratado, único de acción sistémica. Actúa dentro de la planta y directo sobre la pared celular de hongos y bacterias que afectan raíces, follaje, flores y frutos.

2.3.4. Hymexazol (T-REX 360 SL)

a. Composición y generalidades

Formulación: Concentrado soluble

Modo de acción: Fungicida sistémico, de acción preventiva.

Mecanismo de acción: Inhibe la biosíntesis de ácidos nucleicos, lípidos y aminoácidos.

Nombre del grupo: Heteroaromáticos

Grupo químico: Isoxazoles

Código FRAC: 32

(FRAC, 2021)

b. Características

Es absorbido por la raíz translocándose de forma acropétala (abajo hacia arriba), donde se metaboliza produciendo glucósidos, el cual provoca un efecto en el crecimiento radicular, aumentando así la absorción de nutrientes y la actividad fisiológica general de la planta. (Silvestre, 2019)

2.3.5. Fludioxonil (COVERPLUS 230 SC)

a. Composición y generalidades

Formulación: Suspensión concentrada.

Modo de acción: Fungicida de contacto que presenta una absorción limitada.

Mecanismo de acción: Fludioxonil es un fenilpirrol y actúa en la inhibición de una proteína quinasa mitogénica activada (MAP) involucrada en la ruta de transducción de la señal osmoregulatoria (síntesis del glicerol). Estudios *in-vitro* del fludioxonil revelaron la inhibición de la germinación conidial, del tubo germinativo y del crecimiento del micelio. (Syngenta, 2018)

Nombre del grupo: PP-fungicidas (fenilpirroles)

Grupo químico: Phenylpyrroles (Fludioxonil)

Código FRAC: 12

b. Características

El fludioxonil se introdujo en 1993. Pertenece a la clase química de fenilpirroles, que se derivan del antibiótico pirrolnitrina, producido por varias especies de *Pseudomonas*. Fludioxonil bloquea la proteína quinasa involucrada en el transporte de glicerol, lo que

resulta en la acumulación de glicerol intracelular e inhibición de la formación de hifas (Rosslenbroich y Steubler, 2000; Ochiai et al., 2002).

2.3.6. Cyprodinil + Fludioxonil (SWITCH 62.5 WG)

a. Composición y generalidades

Formulación: Gránulos dispersables.

Modo de acción:

Cyprodinil: Fungicida anilino-pirimidino sistémico de amplio espectro.

Fludioxonil: Fungicida de contacto que presenta una absorción limitada.

Mecanismo de acción:

Cyprodinil: Interrumpe el crecimiento micelial mediante la inhibición de las cistationina- β -liasa, una etapa esencial en la biosíntesis de la metionina.

Fludioxonil: Fludioxonil es un fenilpirrol y actúa haciendo inhibición de una proteína quinasa mitogeno activada (MAP) involucrada en la ruta de transducción de la señal osmo-regulatoria (síntesis del glicerol). Estudios in-vitro del fludioxonil revelaron la inhibición de la germinación conidial, del tubo germinativo y del crecimiento del micelio. (Syngenta, 2018)

Nombre del grupo: AP-fungicidas (Cyprodinil) y PP-fungicidas (Fludioxonil)

Grupo químico: Anilino-pyrimidines (Cyprodinil) y Phenylpyrroles (Fludioxonil)

Código FRAC: 9 (Cyprodinil) y 12 (Fludioxonil)

(FRAC 2019)

b. Características

Cyprodinil es un fungicida de la clase química de los anilino-pyrimidines, el cual se caracteriza por tener un grupo ciclopropilo. Este no afecta la germinación de esporas, pero inhibe la elongación del tubo germinativo y el crecimiento inicial del micelio. Debido a este

perfil inhibitorio y a alguna translocación sistémica en el tejido de las plantas propia de la molécula, se dice que Cyprodinil tiene propiedades protectoras y curativas (Rosslenbroich y Stuebler. 2000).

El fludioxonil se introdujo en 1993. Pertenece a la clase química de fenilpirroles, que se derivan del antibiótico pirrolnitrina, producido por varias especies de *Pseudomonas*. Fludioxonil bloquea la proteína quinasa involucrado en el transporte de glicerol, lo que resulta en la acumulación de glicerol intracelular e inhibición de la formación de hifas (Rosslenbroich y Steubler, 2000; Ochiai et al., 2002)

2.3.7. Tebuconazole (FOLICUR 250 EW)

a. Composición y generalidades

Formulación: Emulsión en agua

Modo de acción: Fungicida sistémico acropétalo con acción preventiva, curativa y erradicativa

Mecanismo de acción: Inhibidor de la biosíntesis del ergosterol y otros procesos enzimáticos de los hongos.

Nombre del grupo: DMI – fungicidas (DeMethylation Inhibitors)

Grupo químico: Triazoles

Código FRAC: 3

(Bayer, 2019; FRAC 2021)

b. Características

El tebuconazole es un fungicida de triazol de amplio espectro que se utiliza como tratamiento de semillas y pulverización foliar para controle una amplia gama de enfermedades como royas, tizones, tizón, mildiú polvoriento, manchas foliares y tizones. (FAO, 2019).

2.3.8. Carbendazim (FUKARIM)

a. Composición y generalidades

Formulación: Suspensión concentrada

Modo de acción: Fungicida sistémico de amplio espectro de acción, con efecto preventivo y curativo

Mecanismo de acción: Inhibe la síntesis de la beta-tubulina. Actúa sobre la división celular, impidiendo la formación del huso acromático (Microtúbulos compuestos de tubulina) a nivel de la profase y de la culminación de la división celular (Mitosis).

Nombre del grupo: MBC – fungicidas (Methyl Benzimidazole Carbamates)

Grupo químico: Benzimidazoles

Código FRAC: 1

(FRAC 2021)

b. Características

Fungicida con efecto preventivo -curativo sobre un amplio rango de enfermedades fungosas. Penetra a la planta principalmente por órganos verdes. Aplicado sobre las plantas, actúa por contacto, como una barrera que interrumpe la penetración de los hongos patógenos. También tiene acción sistémica, penetra a las hojas de las plantas, donde se transloca en forma apoplástica y acropétala. (DROKASA, 2019)

2.3.9. *Bacillus subtilis* (BIO-SPLENT 70 WP)

a. Composición y generalidades

Formulación: Polvo mojable

Modo de acción: Fungicida biológico

Mecanismo de acción: Disruptores microbianos de las membranas celulares de patógenos

Nombre del grupo: Microbial

Grupo químico: Bacterial - *Bacillus spp*

Código FRAC: BM 02

(FRAC 2021)

b. Características

El género *B. subtilis* produce una variedad de proteasas y otras enzimas que le permiten degradar diferentes sustratos naturales y contribuye al ciclo de nutrición y tiene un efecto directo sobre algunos patógenos a través de antagonismo directo (antibiosis y competencia por recursos). (Mont, 2004).

Es un fungicida biológico que contiene la bacteria *Bacillus subtilis* AP-01 (cepa patentada). La bacteria *Bacillus subtilis* AP-01 libera un compuesto conocido como la subtilina que actúa sobre la pared celular de hongos. *Bacillus subtilis* AP-01 es antagonista de muchos hongos patógenos vegetales, logrado a través de diversos mecanismos que incluyen competencia de nutrientes, exclusión de sitio, colonización de la bacteria en el patógeno y/o la liberación de componentes celulares durante el crecimiento. (Silvestre, 2020)

2.3.10. Bacillus amyloliquefaciens (SERENADE ASO)

a. Composición y generalidades

Formulación: Suspensión concentrada

Modo de acción: Fungicida biológico con acción antimicrobial

Mecanismo de acción: Disruptores microbianos de las membranas celulares de patógenos

Nombre del grupo: Microbial

Grupo químico: Bacterial - *Bacillus spp*

Código FRAC: BM 02 (FRAC 2021)

b. Características

SERENADE ASO contiene la cepa patentada QST 713 de la bacteria *Bacillus amyloliquefaciens*, que brinda una acción antimicrobial superior comparado con cepas comunes de *B. subtilis*. Actúa creando una zona de inhibición en la hoja, previniendo la instalación del patógeno, destruyendo su tubo germinativo y micelio. (Bayer, 2021)

2.3.11. *Trichoderma viride* (TRICONOVA)

a. Composición y generalidades

Formulación: Concentrado soluble

Modo de acción: Fungicida biológico con acción antimicrobial

Mecanismo de acción: Competencia, micoparasitismo, antibiosis, enzimas líticas y resistencia inducida

Nombre del grupo: Microbial

Grupo químico: Fungal - *Trichoderma* spp.

Código FRAC: BM 02

b. Características

Trichoderma viride es un hongo antagonista con cualidades preventivas y de control biológico para el control de enfermedades fúngicas que afectan cultivos de importancia económica, presenta características como la estimulación del crecimiento y desarrollo vegetativo de plantas jóvenes, tiene la habilidad de colonizar las raíces de las plantas, sin permitir que otros hongos fitopatógenos infecten la raíz. (SENASA, 2014)

2.3.12. *Trichoderma harzianum* (TRICONOVA)

a. Composición y generalidades

Formulación: Concentrado soluble

Modo de acción: Fungicida biológico con acción antimicrobial

Mecanismo de acción: Competencia, micoparasitismo, antibiosis, enzimas líticas y resistencia inducida

Nombre del grupo: Microbial

Grupo químico: Fungal - *Trichoderma* spp.

Código FRAC: BM 02

b. Características

Trichoderma harzianum es un hongo muy común en el suelo y usado como agente de biocontrol, produce enzimas fungitóxicas que degradan la pared celular de los patógenos, produce antibióticos que pueden matar a los patógenos, promueve el desarrollo de la planta e induce el mecanismo de defensa de éstas. Hasta hace poco se pensó que las especies de *Trichoderma* lograban el biocontrol solamente por efecto directo sobre patógenos, particularmente vía parasitismo, antibiosis y competencia; estos mecanismos y los efectos directos en la planta son relevantes. (Mont, 2004)

III. METODOLOGÍA

3.1. LOCALIZACIÓN

El ensayo se llevó a cabo en la Clínica de Diagnóstico del Departamento de Fitopatología de la facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina, ubicado el distrito de La Molina, provincia de Lima, departamento de Lima. En condiciones de laboratorio, se realizó la prueba de eficacia de productos químicos y biológicos *in vitro*.

3.2. AISLAMIENTOS, REACTIVACIÓN Y PURIFICACIÓN

a. Aislamientos

Los aislamientos que se utilizaron para esta investigación corresponden a la colección de hongos que posee la Clínica de Diagnóstico del Departamento de Fitopatología de la Facultad de Agronomía de la UNALM, estos aislamientos fueron *Lasiodiplodia theobromae* y *Lasiodiplodia pseudotheobromae* que forman parte del grupo de “Hongos de Madera” que aquejan al cultivo de palto Hass. Los aislamientos que se utilizaron son parte de la colección de Hongos de la Clínica de Diagnóstico han sido identificados morfológica y molecularmente como parte del proyecto de Hongos de Madera del cultivo de Palto entre la Asociación de Productores y Exportadores de Palta Hass del Perú – ProHass y la Clínica de Diagnóstico de la UNALM.

b. Reactivación y purificación

Con la ayuda de una jeringa hipodérmica se extrajo una pequeña porción de hifas del patógeno conservados en tubos eppendorf de 5ml; esta porción de hifas fue sembradas en placas Petri, conteniendo medio de cultivo Potato Dextrosa Agar (Difco)-PDA previamente esterilizado

Tabla 1: Tratamientos con los correspondientes productos químicos y biológicos utilizados en la prueba in vitro para el control de *L. theobromae* y *L. pseudotheobromae*.

| Tratamiento | Ingrediente Activo | Nombre Comercial | Concentración | Naturaleza |
|-------------|-----------------------------------|------------------|--|------------|
| T1 | Pyrimethanil | SCALA 40 SC | 400 g/L | |
| T2 | Prochloraz | BUCANER | 450 g/L | |
| T3 | Sulfato de Cobre Pentahidratado | PHYTON-27 | 247g/L | |
| T4 | Hymexazol | T-REX 360 SL | 360 g/L | |
| T5 | Fludioxonil | COVERPLUS 230 SC | 230 g/L | |
| T6 | Cyprodinil+ | SWITCH 62.5 | 375g/kg+ | Productos |
| | Fludioxonil | WG | 250 g/kg | Químicos |
| T7 | Tebuconazole | FOLICUR 250 EW | 250 g/L | |
| T8 | Carbendazim | FUKARIM | 500 g/L | |
| T9 | <i>Bacillus subtilis</i> | BIO-SPLENT 70 WP | 7.0% | |
| T10 | <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> | SERENADE ASO | 1.34 % SC | Productos |
| T11 | <i>Trichoderma viride</i> | TRICONOVA | 4 x 10 ¹² esporas viables/L | Biológicos |
| T12 | <i>Trichoderma harzianum</i> | TRICONOVA | 4 x 10 ¹² esporas viables/L | |
| T0 | Testigo | - | - | Control |

Posteriormente la reactivación se dio a inicios de la purificación, se efectuaron repiques hasta obtener los cultivos puros.

3.3. PRUEBA DE EFICACIA DE PRODUCTOS QUIMICOS Y BIOLOGICOS

“IN VITRO”

Una vez realizado la reactivación y purificación de los aislamientos, se procedió a realizar la prueba de eficacia de productos químicos y biológicos mediante la técnica del alimento envenenado; en el caso de algunos productos biológicos se utilizó la técnica de enfrentamientos.

Los tratamientos del presente ensayo fueron 13 en total incluyendo el tratamiento testigo, ocho tratamientos con productos de naturaleza química y cuatro de naturaleza biológica, las cuales se presentan en la Tabla 1.

3.3.1. Prueba de efectividad de los productos químicos “*in vitro*”

a. Técnica de alimento envenenado

Se realizó la preparación de medio PDA en recipientes de 100 ml, luego fue llevado a la autoclave para su debida esterilización. Posteriormente a la esterilización, se realizó el licuado del medio PDA en el microondas, esto consiste en llevar el medio a altas temperaturas para que pase a un estado líquido.

Aquellos fungicidas de formulación líquida fueron medidos con un pipetor y los fungicidas cuya formulación es polvo o gránulos fueron pesados en una balanza analítica digital para ambos casos se tomaron en cuenta la dosis propuesta del producto y se utilizó por cada tratamiento 100 ml de medio PDA.

Luego de haber medido y/o pesado las dosis correspondientes de cada producto se vertió dicha dosis al recipiente que contiene el medio PDA de esta manera se dio inicio al plaqueo. Cuando el medio PDA se ha solidificado en las placas se colocó en el centro de cada una un disco de medio PDA (5mm de diámetro aprox.) conteniendo micelio de los aislamientos de *Lasiodiplodia theobromae* y *Lasiodiplodia pseudotheobromae*. Por último, se incubó las placas a 24°C. La dosis empleada para cada producto químico se muestra en el Tabla 2.

Tabla 2: Tratamientos con las dosis de los productos químicos para la prueba de medio envenenado.

| Tratamiento | Ingrediente Activo | Nombre Comercial | Concentración | Dosis/100ml |
|-------------|---------------------------------|------------------|------------------|-------------|
| T1 | Pyrimethanil | SCALA 40 SC | 400 g/L | 0.20 ml |
| T2 | Prochloraz | BUCANER | 450 g/L | 0.125 ml |
| T3 | Sulfato de Cobre Pentahidratado | PHYTON-27 | 247g/L | 0.25 ml |
| T4 | Hymexazol | T-REX 360 SL | 360 g/L | 0.40 ml |
| T5 | Fludioxonil | COVERPLUS 230 SC | 230 g/L | 0.20 ml |
| T6 | Cyprodinil+ Fludioxonil | SWITCH 62.5 WG | 375g/kg+250 g/kg | 0.20 ml |
| T7 | Tebuconazole | FOLICUR 250 EW | 250 g/L | 0.10 ml |
| T8 | Carbendazim | FUKARIM | 500 g/L | 0.10 ml |
| T0 | Testigo | - | - | Control |

3.3.2. Pruebas de efectividad de los productos biológicos “*in vitro*”

a. Técnica de alimento envenenado

De la misma forma que para los productos químicos, antes de realizar el plaqueo del medio estéril PDA, se agregó el fungicida biológico según la dosis propuesta. Cuando el medio PDA se solidificó se colocó un disco de agar de 5 mm de radio conteniendo micelio del patógeno en el centro de la placa. Por último, se incubaron las placas a 24°C. Los tratamientos de control biológico mediante la prueba de alimento envenenado se muestran en el Tabla 3.

Tabla 3: Tratamientos con las dosis de los productos biológicos para la prueba de medio envenenado.

| Tratamiento | Ingrediente activo | Nombre comercial | Dosis/100ml |
|-------------|--|------------------|-------------|
| T9 | <i>Bacillus subtilis</i> | BIOSPLENT | 0.40 ml |
| T10 | <i>Bacillus amyloliquefanciens</i> – <i>QST 713</i> | SERENADE | 0.75 ml |
| T0 | Testigo | - | - |

b. Prueba de enfrentamientos

La prueba de enfrentamiento entre los fungicidas biológicos y los patógenos se realizó en medio PDA, para esta prueba se preparó una suspensión en 100ml de agua estéril por cada controlador biológico y se agregó a cada suspensión la dosis indicada en el Tabla 4. Luego con la ayuda de un pipetor se extrajo unos 50 microlitos aproximadamente de la suspensión para ser descargados en un extremo de la placa Petri y al extremo opuesto se sembró un disco de PDA conteniendo al patógeno. Posteriormente, se llevó las placas a la incubadora a 24 °C.

Tabla 4: Dosis de los biocontroladores utilizados en la prueba de enfrentamiento.

| Tratamiento | Ingrediente activo | Nombre comercial | Dosis/100ml |
|-------------|------------------------------|------------------|-------------|
| T11 | <i>Trichoderma viride</i> | TRICONOVA | 0.040 ml |
| T12 | <i>Trichoderma harzianum</i> | TRICONOVA | 0.040 ml |
| T0 | Testigo | - | - |

3.3.3. Evaluaciones

Se midió el crecimiento micelial en las placas a partir del punto de siembra al primer, tercer y sexto día para lo cual se utilizó una regla para que la medición sea exacta. Para el caso de la prueba de alimento envenenado y la prueba de enfrentamiento se evaluará el efecto inhibitorio de los extractos, el porcentaje de la inhibición del crecimiento micelial con respecto al testigo PDA, empleando la siguiente fórmula:

$$PIC = \frac{\text{Crecimiento del testigo} - \text{Crecimiento del tratamiento}}{\text{Crecimiento del testigo}} \times 100$$

Donde:

PIC: Porcentaje de inhibición de crecimiento (%)

3.3.4. Diseño experimental y análisis estadístico

Para las pruebas de eficacia de productos químicos y biológicos *in-vitro* se utilizó un diseño completamente al azar (DCA); incluye 13 tratamientos con 4 repeticiones cada uno. Se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey, considerando un nivel de confianza del 95% ($\alpha=0.05$).

3.4. PRUEBA DE EFECTIVIDAD DE LOS PRODUCTOS QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS BAJO CONDICIONES DE CAMPO

Se realizó en los campos de Palto de la UNALM, en las plantaciones de 3 años de edad aproximadamente.

3.4.1. Materia vegetal

Se utilizaron ramas de palto de Para la inoculación en campo se escogieron por cada especie de *Lasiodiplodia*, ramas con un diámetro de 1.5 – 2.5 cm, seleccionadas al azar.

3.4.2. Tratamientos

Para cada especie de *Lasiodiplodia* se utilizó 11 tratamientos, 8 productos de naturaleza química, un producto de naturaleza biológica y dos tratamientos testigos. Cada tratamiento estará conformado por 5 repeticiones que fueron ramas escogidas al azar. Los tratamientos para esta prueba de eficacia de campo están descritos en el Tabla 5.

3.4.3. Preparación del inóculo

El ensayo se llevó a cabo utilizando las dos especies de *Lasiodiplodia*; de la misma forma que para el ensayo *in vitro* los aislamientos los proporcionó la Clínica de Diagnóstico de la Facultad de Agronomía, se inició la reactivación en medio PDA, luego fueron incubados por tres días a 24°C hasta que el hongo llenó la placa y se obtuvo una colonia pura. Las colonias obtenidas fueron trasladadas a una solución de Caldo Papa Dextrosa (CPD), de tal manera, que dos discos de cada hongo fueron introducidos en un Erlenmeyer conteniendo 250 ml de la solución de CPD. Luego se incubó el caldo inoculado a 25°C en un agitador rotatorio a 100 RPM por dos a tres semanas aproximadamente.

Para obtener la suspensión micelial, se filtró en doble gasa para eliminar el caldo y así solo nos quedamos con el micelio que se formó en la superficie de la solución. Este micelio fue licuado en un litro de agua estéril, a alta velocidad por 10 minutos y una vez obtenido la solución se añadió una gota de Tween 20 (Sigma-Aldrich). Se extrajo una alícuota que fue ingresada a una cámara “Neubauer” para el conteo de fragmentos de micelios, hasta obtener la concentración de 3×10^5 fragmentos miceliales/ml. (Twiseymana, V. et al, 2013)

Tabla 5: Tratamientos con las dosis de los productos químicos y biológicos para la prueba de campo.

| Tratamiento | Ingrediente Activo | Nombre Comercial | Concentración | Dosis |
|-------------|---------------------------------|------------------|----------------------|----------|
| T1 | Pyrimethanil | SCALA 40 SC | 400 g/L | 0.20 ml |
| T2 | Prochloraz | BUCANER | 450 g/L | 0.125 ml |
| T3 | Sulfato de Cobre Pentahidratado | PHYTON-27 | 247g/L | 0.25 ml |
| T4 | Hymexazol | T-REX 360 SL | 360 g/L | 0.40 ml |
| T5 | Fludioxonil | COVERPLUS 230 SC | 230 g/L | 0.20 ml |
| T6 | Cyprodinil+ Fludioxonil | SWITCH 62.5 WG | 375g/kg+ 250 g/kg | 0.20 ml |
| T7 | Tebuconazole | FOLICUR 250 EW | 250 g/L | 0.10 ml |
| T8 | Carbendazim | FUKARIM | 500 g/L | 0.10 ml |
| T9 | <i>Bacillus subtilis</i> | BIO-SPLENT 70 WP | 7.0% | 0.40 ml |
| T10 | Testigo inoculado | - | - | - |
| T11 | Testigo sin inocular | - | - | - |

3.4.4. Inoculación

Se podaron las ramas de un extremo y se aplicó el producto de inmediato a la herida, un día después de la aplicación se inoculó cada rama con una suspensión micelial de cada patógeno. Los tratamientos testigos fueron aplicados solo con agua estéril. Luego de la inoculación se cubrió con papel aluminio cada rama inoculada. (Twiseymana, V. et al, 2013)

3.4.5. Preparación de los productos químicos y biológicos para las aplicaciones

Los productos, tanto químicos como biológicos, fueron pesados en la cantidad requerida según la dosis propuesta. Los productos comerciales fueron aplicados a cada rama mediante aspersión, empleando asperjadores manuales. En los tratamientos testigos se aplicó solo agua.

3.4.6. Evaluaciones

Aproximadamente 12 semanas después de la aplicación del fungicida y la inoculación de patógenos, se cortaron las ramas y se llevaron al laboratorio para la evaluación de la enfermedad. Posteriormente se realizó un corte transversal a cada rama para medir el avance de la enfermedad y las lesiones internas. Además, se tomó una fotografía para ser procesada en el programa de análisis de imagen para la cuantificación de la enfermedad en plantas (ASSESS - Analysis Software for Plant Disease Quantification).

3.4.7. Reaislamiento

Para confirmar la causa de la lesión, se realizaron reaislamientos de ramas escogidas al azar por cada tratamiento, utilizando pequeños trozos de tejido necrótico y tejido sano, desde el borde de cada lesión o desde el punto de inoculación. Los pequeños trozos fueron sembrados en medio PDA, luego fueron incubados a una temperatura de 24°C por tres días esperando que se observe el crecimiento de las colonias fúngicas y pudimos confirmar la presencia del patógeno utilizado en la inoculación

3.4.8. Diseño experimental y análisis estadístico

Para las pruebas de eficacia de productos químicos y biológicos de campo se utilizará un diseño completamente al azar (DCA), para el que se utilizó el software estadístico STATISTIX 9. Se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey, considerando un nivel de confianza del 95% ($\alpha=0.05$).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. PRUEBA DE CONROL QUÍMICO “*IN VITRO*”

a. Técnica de medio envenenado

Para *Lasiodiplodia theobromae*, los resultados de esta prueba se muestran en la Tabla 6 y Figura 1. Se puede observar que para las tres evaluaciones realizadas existe claramente diferencias significativas entre los tratamientos, esto después de realizar la comparación de medias con la prueba de Tukey a un nivel de significancia de 0.05.

El tratamiento Testigo (T0) mostró un mayor diámetro promedio en comparación con los otros tratamientos para todas las evaluaciones: al primer, tercer y sexto día después de realizada la inoculación con el disco de micelio en las placas Petri. Desde la segunda evaluación, el tratamiento testigo llenó la totalidad de la placa con un diámetro promedio de 85 mm. Se puede confirmar que el tratamiento testigo presenta diferencias significativas con el resto de los tratamientos.

El segundo tratamiento con el valor más alto en cuanto al diámetro promedio para las dos primeras evaluaciones es aquel tratado con el Sulfato de cobre (T3), seguido por el tratado con Prochloraz (T2). Ambos presentan diferencias significativas para las evaluaciones mencionadas; sin embargo, en la última evaluación ambos tratamientos tienen un diámetro promedio de 28.75 mm y no presentan diferencias significativas.

Se puede decir que los mejores tratamientos bajo la técnica de medio envenenado fueron: Pyrimethanil (T1), Hymexazol (T3), Fludioxonil (T5), Cyprodinil + Fludioxonil (T6), Tebuconazole (T7) y Carbendazim (T8); ya que, en las tres evaluaciones, no se presentó crecimiento micelial del hongo *L. theobromae*, por tal no hay diferencias significativas entre estos tratamientos presentó crecimiento micelial del hongo *L. theobromae*, por tal no hay diferencias significativas entre estos tratamientos.

Tabla 6: Crecimiento (mm) de *L. theobromae* en la prueba de medio envenenado. Prueba de Tukey para las tres evaluaciones. Días después de la siembra (DDS).

| | Tratamientos | Fecha de Evaluación | | | | | |
|-----------|------------------------------------|---------------------|-------|-------|-------|-------|------|
| | | 1 DDS | | 3 DDS | | 6 DDS | |
| T0 | Testigo | 34.50 | A | 85.00 | A | 85.00 | A |
| T1 | Pyrimethanil | 0.00 | C | 0.00 | D | 0.00 | C |
| T2 | Prochloraz | 0.00 | C | 9.62 | C | 28.75 | B |
| T3 | Sulfato de cobre Pentahidratado | 12.00 | B | 17.75 | B | 28.75 | B |
| T4 | Hymexazol | 0.00 | C | 0.00 | D | 0.00 | C |
| T5 | Fludioxonil | 0.00 | C | 0.00 | D | 0.00 | C |
| T6 | Cyprodinil + fludioxonil | 0.00 | C | 0.00 | D | 0.00 | C |
| T7 | Tebuconazole | 0.00 | C | 0.00 | D | 0.00 | C |
| T8 | Carbendazim | 0.00 | C | 0.00 | D | 0.00 | C |
| | α : 0.05 | CV | 4.56% | CV | 2.15% | CV | 5.5% |

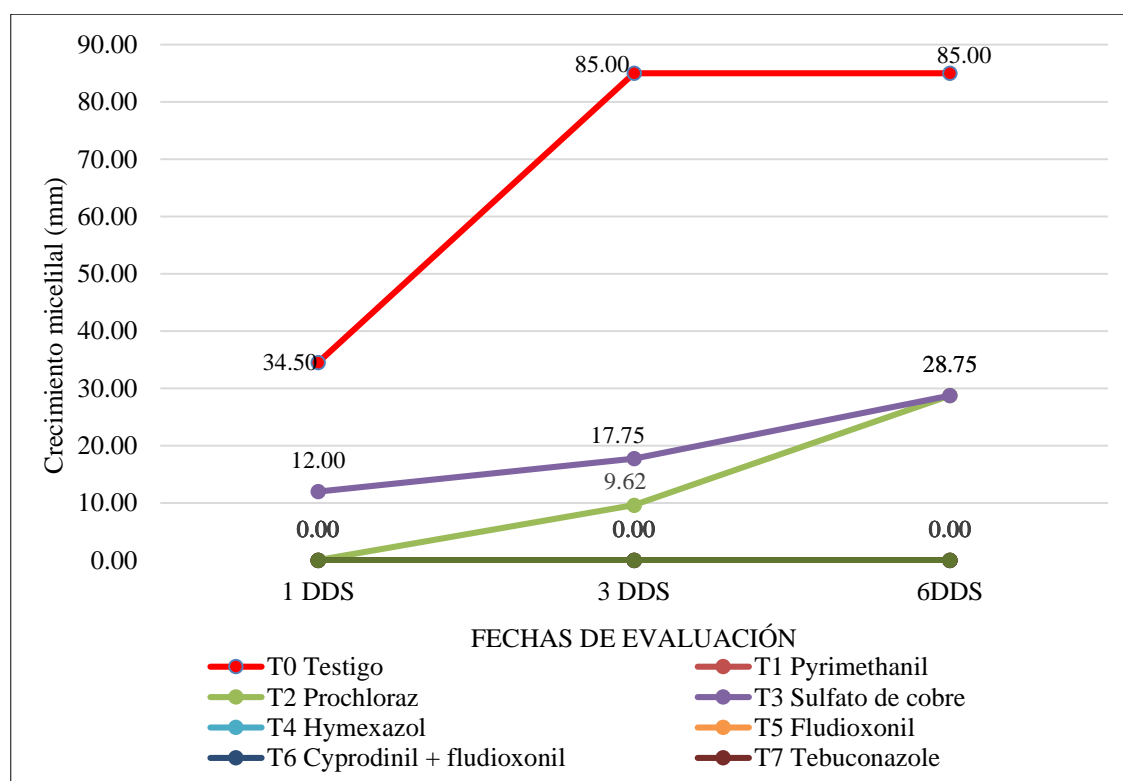


Figura 1: Curva de desarrollo micelial (mm) de *L. theobromae* para la prueba de medio envenenado en las tres evaluaciones.

El análisis del porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) de *L. theobromae* para la prueba de medio envenenado se muestra en la Tabla 7 y Figura 2. Aquí comparamos los resultados obtenidos por cada tratamiento con el testigo para las tres evaluaciones realizadas.

Los resultados obtenidos fueron similares a los conseguidos evaluando el crecimiento micelial en diámetro promedio. Para los tratamientos T2 y T3 poseen un PIC de 66.18%, lo que manifiesta una inhibición parcial del crecimiento más en su totalidad.

Se ratifica que los mejores tratamientos fueron: Pyrimethanil (T1), Hymexazol (T3), Fludioxonil (T5), Cyprodinil + Fludioxonil (T6), Tebuconazole (T7) y Carbendazim (T8) con un 100% de Inhibición de crecimiento micelial.

Tabla 7: Porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) de *L. theobromae* para la prueba de medio envenenado. Prueba de Tukey para las tres evaluaciones. Días después de la siembra (DDS).

| | Tratamientos | Fecha de Evaluación | | | | | |
|-----------|------------------------------------|---------------------|-------|---------|-------|---------|-------|
| | | 1 DDS | | 3 DDS | | 6 DDS | |
| T0 | Testigo | 0.00% | C | 0.00% | D | 0.00% | C |
| T1 | Pyrimethanil | 100.00% | A | 100.00% | A | 100.00% | A |
| T2 | Prochloraz | 100.00% | A | 88.67% | B | 66.18% | B |
| T3 | Sulfato de cobre Pentahidratado | 65.21% | B | 79.11% | C | 66.18% | B |
| T4 | Hymexazol | 100.00% | A | 100.00% | A | 100.00% | A |
| T5 | Fludioxonil | 100.00% | A | 100.00% | A | 100.00% | A |
| T6 | Cyprodinil + fludioxonil | 100.00% | A | 100.00% | A | 100.00% | A |
| T7 | Tebuconazole | 100.00% | A | 100.00% | A | 100.00% | A |
| T8 | Carbendazim | 100.00% | A | 100.00% | A | 100.00% | A |
| | α : 0.05 | CV | 0.51% | CV | 0.37% | CV | 1.26% |

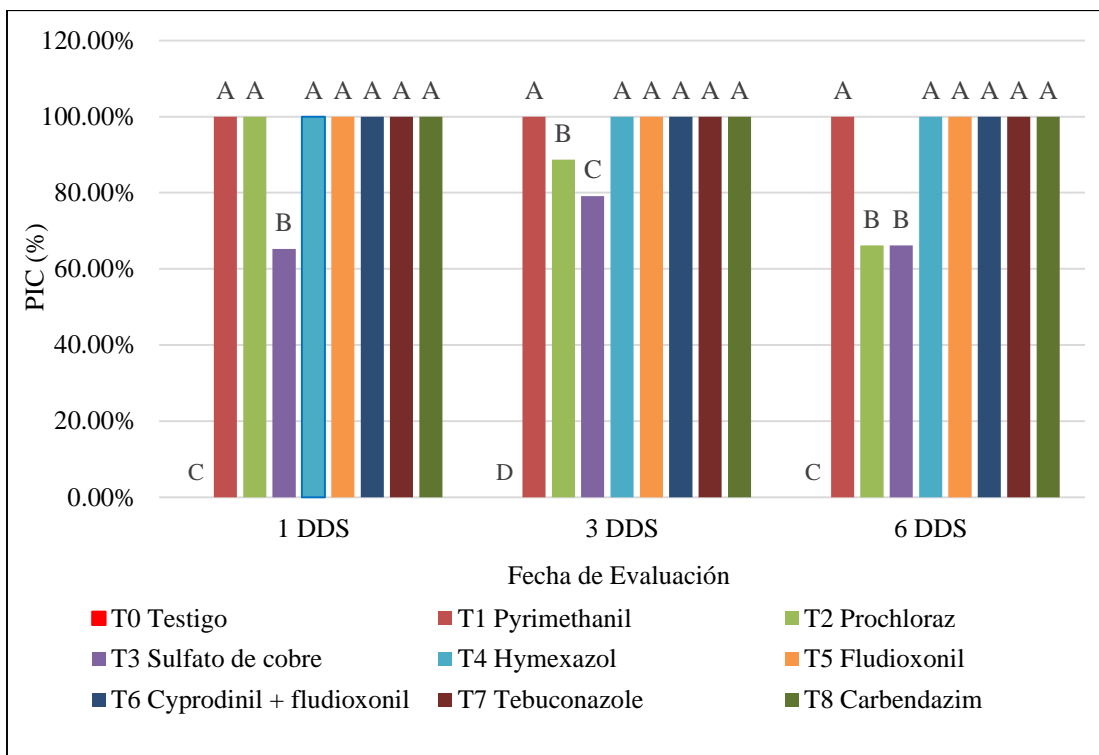


Figura 2: Porcentaje de inhibición de crecimiento (PIC) *L. theobromae* para la prueba de medio envenenado.

En la Figura 3 se muestra el crecimiento de *L. theobromae* para cada uno de los tratamientos al sexto día de realizada la siembra de los discos de micelio sobre el medio envenenado. Se puede observar que en el tratamiento testigo (T0), el crecimiento del hongo logra llenar la placa, la colonia presenta una coloración grisácea típica del hongo.

De los tratamientos que consiguieron un 100% PIC, Pyrimethanil (T1), y Tebuconazole (T7), se puede observar que el disco de micelio inicial se infectó totalmente más no el medio envenenado; además, para el caso de los tratamientos Hymexazol (T4) y Cyprodinil + Fludioxonil (T6) logra infectar de una forma tenue el disco de micelio inicial y como los casos anteriores no el medio envenenado. El tratamiento con Fludioxonil (T5), en el cual *L. theobromae* no logra desarrollarse ni si quiera en el disco de micelio inicial.

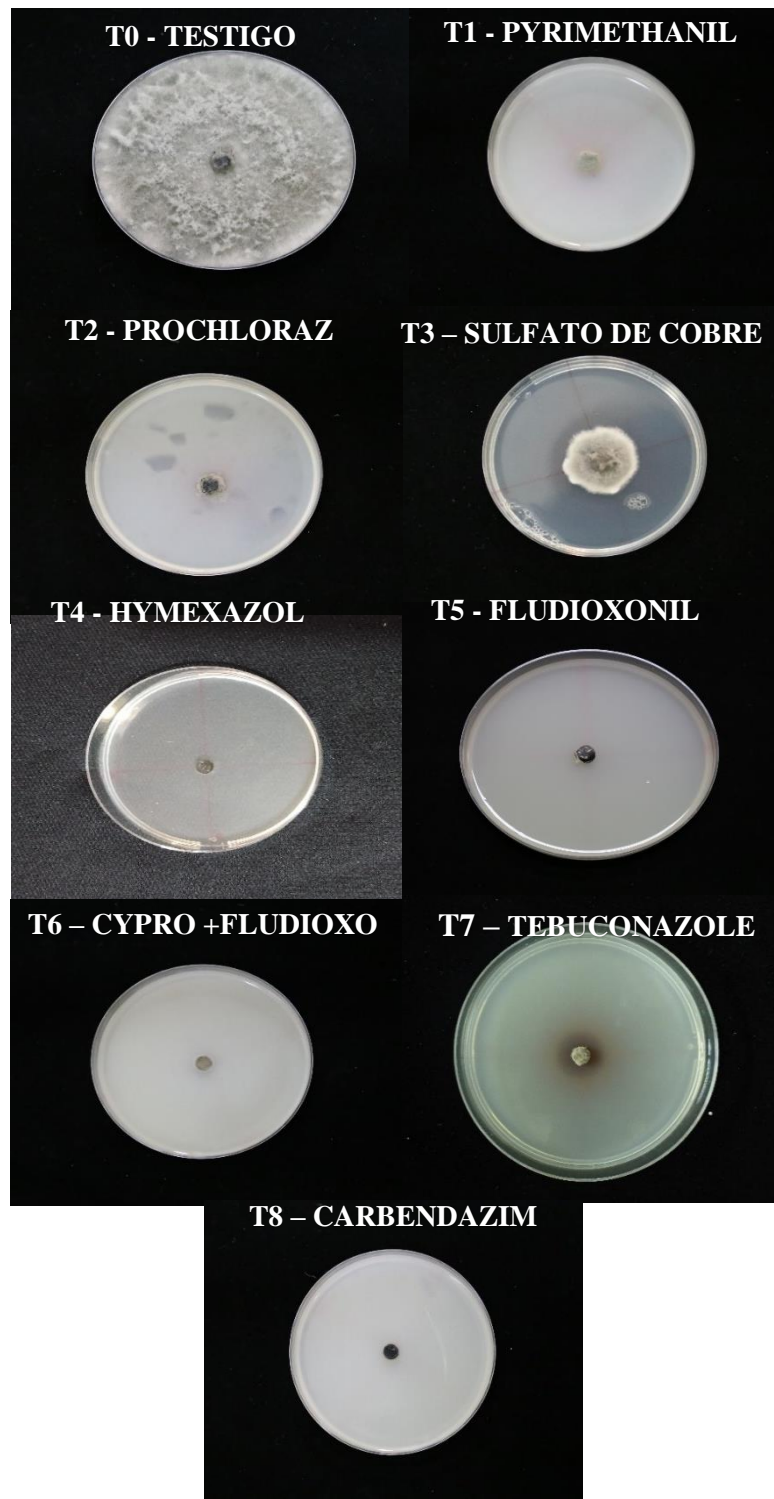


Figura 3: Crecimiento micelial de cada tratamiento de *Lasiodiplodia theobromae* para cada tratamiento en la prueba de medio envenenado.

Para *Lasiodiplodia pseudotheobromae*, los resultados de esta prueba se muestran en la Tabla 8 y Figura 4, en las tres evaluaciones realizadas existe claramente diferencias significativas entre los tratamientos, esto después de realizar la comparación de medias con la prueba de Tukey a un nivel de significancia de 0.05.

El tratamiento Testigo (T0) mostró el mayor diámetro promedio para todas las evaluaciones: al primer, tercer y sexto día después de realizada la siembra. Desde la segunda evaluación, el tratamiento testigo llenó la totalidad de la placa con un diámetro promedio de 85 mm. El tratamiento testigo presenta diferencias significativas con el resto de los tratamientos en todas las evaluaciones; sin embargo, al tercer día de evaluación no presenta diferencias significativas con el tratamiento con el producto Carbendazim (T8), el hongo bajo dicho tratamiento al sexto día ha llenado la totalidad de la placa.

Uno de los tratamientos con el crecimiento micelial más alto para todas las evaluaciones es aquel tratado con el Sulfato de cobre (T3) con 35 mm, seguido por el tratado con Hymexazol (T4), Prochloraz (T2) y Pyrimethanil (T1), entre estos tres últimos tratamientos no existen diferencias significativas, al sexto día de evaluación.

Se puede decir que los mejores tratamientos bajo la técnica de medio envenenado para el hongo *L. pseudotheobromae* fueron: Fludioxonil (T5), Cyprodinil + Fludioxonil (T6) y Tebuconazole (T7); ya que, en las tres evaluaciones, no se presentó crecimiento micelial del hongo en ninguno de estos tratamientos; además, no presentan diferencias significativas.

Tabla 8: Crecimiento (mm) de *L. pseudotheobromae* en la prueba de medio envenenado. Prueba de Tukey para las tres evaluaciones. Días después de la siembra (DDS).

| | Tratamientos | Fecha de Evaluación | | | | | |
|-----------|---------------------------------|---------------------|--------|-------|--------|-------|-------|
| | | 1 DDS | | 3 DDS | | 6DDS | |
| T0 | Testigo | 29.00 | A | 85.00 | A | 85.00 | A |
| T1 | Pyrimethanil | 0.00 | D | 0.00 | E | 8.75 | C |
| T2 | Prochloraz | 0.00 | D | 0.00 | E | 9.00 | C |
| T3 | Sulfato de cobre Pentahidratado | 11.63 | C | 16.88 | C | 35.00 | B |
| T4 | Hymexazol | 0.00 | D | 10.75 | D | 10.75 | C |
| T5 | Fludioxonil | 0.00 | D | 0.00 | E | 0.00 | D |
| T6 | Cyprodinil + fludioxonil | 0.00 | D | 0.00 | E | 0.00 | D |
| T7 | Tebuconazole | 0.00 | D | 0.00 | E | 0.00 | D |
| T8 | Carbendazim | 23.25 | B | 76.75 | B | 85.00 | A |
| | $\alpha: 0.05$ | CV | 10.30% | CV | 10.05% | CV | 5.11% |

El análisis del porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) de *L. pseudotheobromae* para la prueba de medio envenenado se muestra en la Tabla 9 y Figura 5. Aquí comparamos los resultados obtenidos por cada tratamiento con el testigo para las tres evaluaciones realizadas.

Los resultados obtenidos fueron parecidos a los conseguidos evaluando el crecimiento micelial bajo el parámetro del diámetro promedio. Para los tratamientos T1, T2 y T4 poseen un PIC de 89.71%, 89.41% y 87.36% respectivamente lo que manifiesta que hay una inhibición del crecimiento por encima del 80%, entre estos tratamientos no hay diferencias significativas. El tratamiento con el menor PIC (%) es el tratamiento Sulfato de cobre Pentahidratado (T3) con un 58.83%.

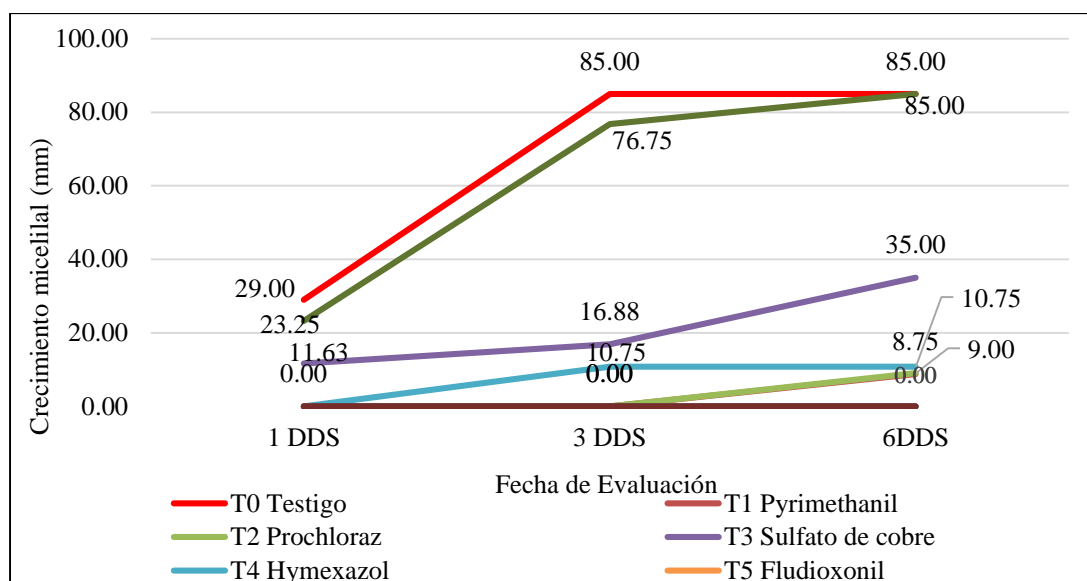


Figura 4: Curva de desarrollo micelial (mm) de *L. pseudotheobromae* para la prueba de medio envenenado en las tres evaluaciones.

De la misma forma que para las evaluaciones del crecimiento micelial, los mejores tratamientos fueron: Fludioxonil (T5), Cyprodinil + Fludioxonil (T6) y Tebuconazole (T7) con un 100% de Inhibición de crecimiento micelial.

Tabla 9: Porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) de *L. pseudotheobromae* para la prueba de medio envenenado. Prueba de Tukey para las tres evaluaciones.

| Tratamientos | Fecha de Evaluación | | | | | | |
|---|---------------------|-------|---------|-------|---------|-------|--|
| | 1 DDS | | 3 DDS | | 6DDS | | |
| T0 Testigo | 0.00% | D | 0.00% | E | 0.00% | D | |
| T1 Pyrimethanil | 100.00% | A | 100.00% | A | 89.71% | B | |
| T2 Prochloraz | 100.00% | A | 100.00% | A | 89.41% | B | |
| T3 Sulfato de cobre Pentahidratado | 59.77% | B | 80.15% | C | 58.83% | C | |
| T4 Hymexazol | 100.00% | A | 87.36% | B | 87.36% | B | |
| T5 Fludioxonil | 100.00% | A | 100.00% | A | 100.00% | A | |
| T6 Cyprodinil + fludioxonil | 100.00% | A | 100.00% | A | 100.00% | A | |
| T7 Tebuconazole | 100.00% | A | 100.00% | A | 100.00% | A | |
| T8 Carbendazim | 19.52% | C | 9.71% | D | 0.00% | D | |
| α : 0.05 | CV | 3.75% | CV | 3.30% | CV | 2.25% | |

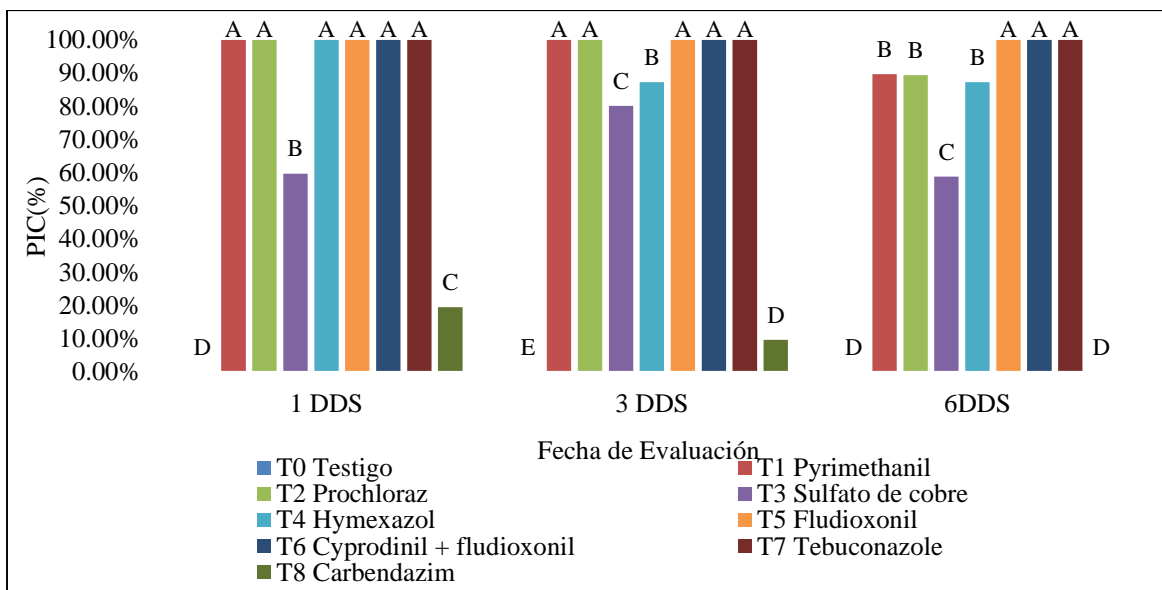


Figura 5: Porcentaje de inhibición de crecimiento (PIC) *L. pseudotheobromae* para la prueba de medio envenenado.

En la Figura 6 se muestra el crecimiento de *L. pseudotheobromae* para cada uno de los tratamientos al sexto día de realizada la siembra de los discos de micelio sobre el medio envenenado. Se puede notar que en el tratamiento testigo (T0) y el tratamiento con Carbendazim (T8), el crecimiento del hongo ha llenado la placa, la colonia presenta una coloración grisácea típica del hongo. Esto representa un 0% de PIC; ya que el hongo ha crecido con normalidad sobre el medio envenenado.

De los tratamientos que consiguieron un 100% PIC, el tratamiento con Tebuconazole (T7), se puede observar que el disco de micelio inicial se infectó por los lados, es decir hay presencia de crecimiento micelial de forma parcial sobre el disco, más no sobre el medio envenenado; sin embargo, para el caso de los tratamientos Cyprodinil + Fludioxonil (T6) y Fludioxonil (T5), en el cual *L. pseudotheobromae* no logra desarrollarse ni si quiera en el disco de micelio inicial.

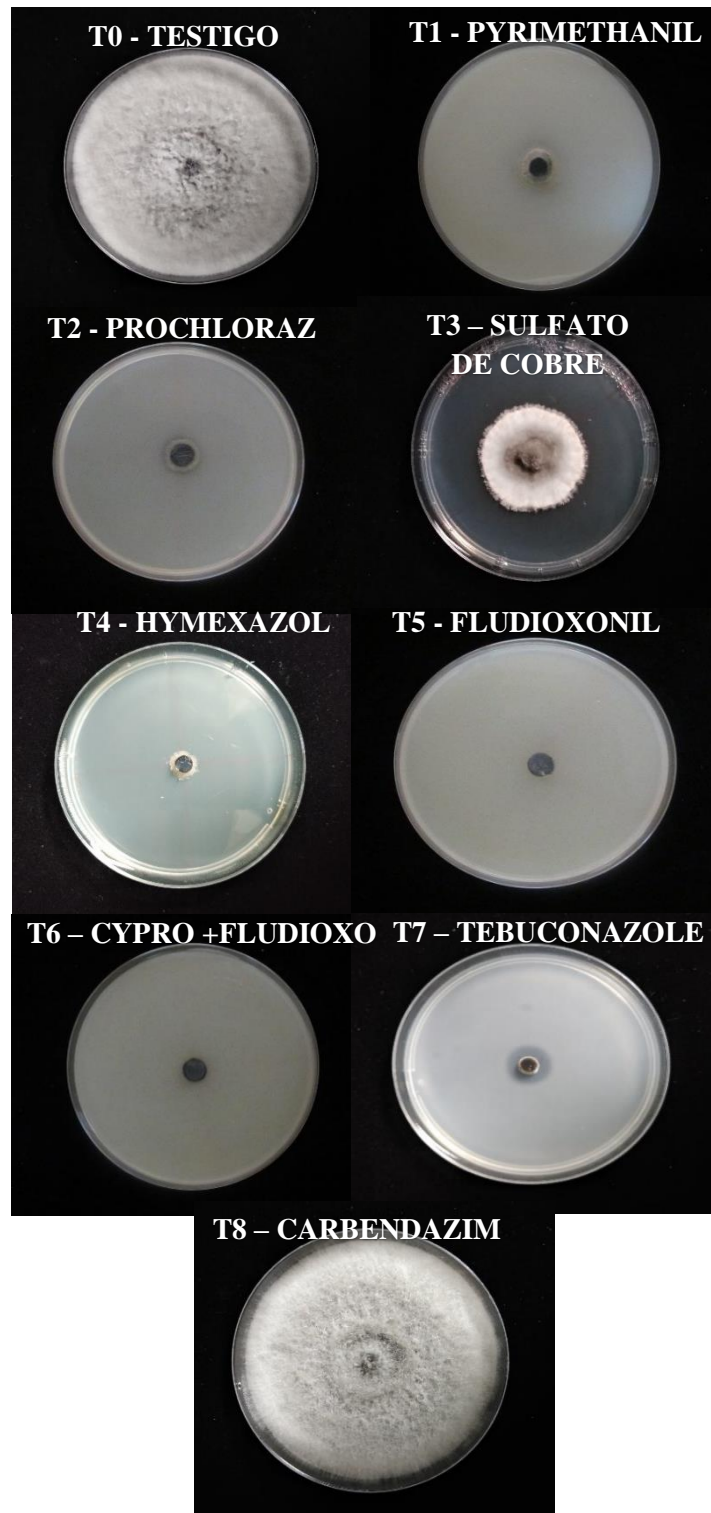


Figura 6: Crecimiento micelial (mm) de *Lasiodiplodia pseudotheobromae* para cada tratamiento en la prueba de medio envenenado.

Los resultados de la prueba *in vitro* coinciden con los obtenidos en otros trabajos de investigación, Valle de la Paz et al. (2019) evaluaron nueve fungicidas para inhibir el crecimiento micelial de *Lasiodiplodia theobromae*, se obtuvo un control del 100% para los productos Carbendazim, Cyprodinil + Fludioxonil. Tovar et al (2013) realizaron un ensayo con la finalidad de establecer estrategias para controlar a *L. theobromae* durante el proceso de injerto de zapote mamey, además de mostrar la efectividad *in vitro* de varios fungicidas para el control de este hongo fitopatógeno, en dicho ensayo la mezcla de Cyprodinil + Fludioxonil fue el fungicida más efectivo reduciendo el crecimiento micelial, otros productos que también fueron eficaces pero en menor grado fue el tebuconazole y el producto prochloraz; que pertenecen al grupo DMI- Inhibición de la demetilación, lo que concuerda con el trabajo de Da Silva et al. (2012) evaluaron la sensibilidad de *L. theobromae* hacia dos grupos de fungicidas, concluyendo que el grupo de fungicidas del tipo inhibición por demetilación (imazalil, prochloraz, tebuconazol), se encontró gran variabilidad en cuanto al grado de sensibilidad de los aislados analizados; con lo cual se concluyó que *L. theobromae* es menos sensible a este grupo de fungicidas. Lo que puede explicar que Prochloraz a diferencia del resto de tratamientos, obtuvo un 66.18% de control para *L.theobromae* y para *L.pseudotheobromae* se obtuvo un PIC del 89.41%; es decir a nivel *in vitro* hay otros productos más efectivos que el Prochloraz. Diskin et al. (2019) se realizó la selección inicial de once fungicidas (prochloraz, fludioxonil, tebuconazol, penconazol, difenoconazol, tebuconazol, miclobutanil, carbendazim, boscalid + piraclostrobina, metconazol, flusilazol) donde se mostró que el fludioxonil fue el fungicida más efectivo contra *L. theobromae* y *L. pseudotheobromae in vitro*.

4.2. PRUEBA DE CONTROL BIOLÓGICO “IN VITRO”

a. Técnica de medio envenenado

En la tabla 10 y en la figura 7 se muestra el diámetro promedio del crecimiento micelial de *L. theobromae* sobre el medio de cultivo PDA conteniendo productos biológicos, bajo esta metodología se probaron los productos como *Bacillus*, para los tres días evaluados existe claramente diferencias significativas entre los tratamientos, esto después de realizar la comparación de medias con la prueba de Tukey a un nivel de significancia de 0.05

En las tres evaluaciones realizadas, el tratamiento testigo (T0) mostró un mayor crecimiento micelial en comparación con los otros tratamientos, además el T0, desde la segunda evaluación, a los 3 días después de la siembra, el tratamiento testigo llenó la totalidad de la placa con un diámetro promedio de 85 mm, este presenta diferencias significativas con respecto al resto de tratamientos.

El tratamiento bajo *Bacillus amyloliquefaciens* (T10), desde el tercer día de evaluación mostró un crecimiento promedio de 15.50 mm, este crecimiento se mantiene hasta los 6 días después de la siembra. El mejor tratamiento fue el T9 correspondiente al *Bacillus subtilis*, donde no se presentó crecimiento micelial sobre el medio envenenado, para las tres evaluaciones.

Tabla 10: Crecimiento (mm) de *L. theobromae* en la prueba de medio envenenado. Prueba de Tukey para las tres evaluaciones. Días después de la siembra (DDS) envenenado.

| Tratamientos | | Fechas de Evaluación | | | | | |
|--------------|-----------------------------------|----------------------|--------|-------|-------|-------|-------|
| | | 1 DDS | | 3 DDS | | 6 DDS | |
| T0 | Testigo | 24.00 | A | 85.00 | A | 85.00 | A |
| T9 | <i>Bacillus subtilis</i> | 0.00 | C | 0.00 | C | 0.00 | C |
| T10 | <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> | 8.75 | B | 15.50 | B | 15.50 | B |
| | $\alpha: 0.05$ | CV | 10.01% | CV | 3.30% | CV | 3.30% |

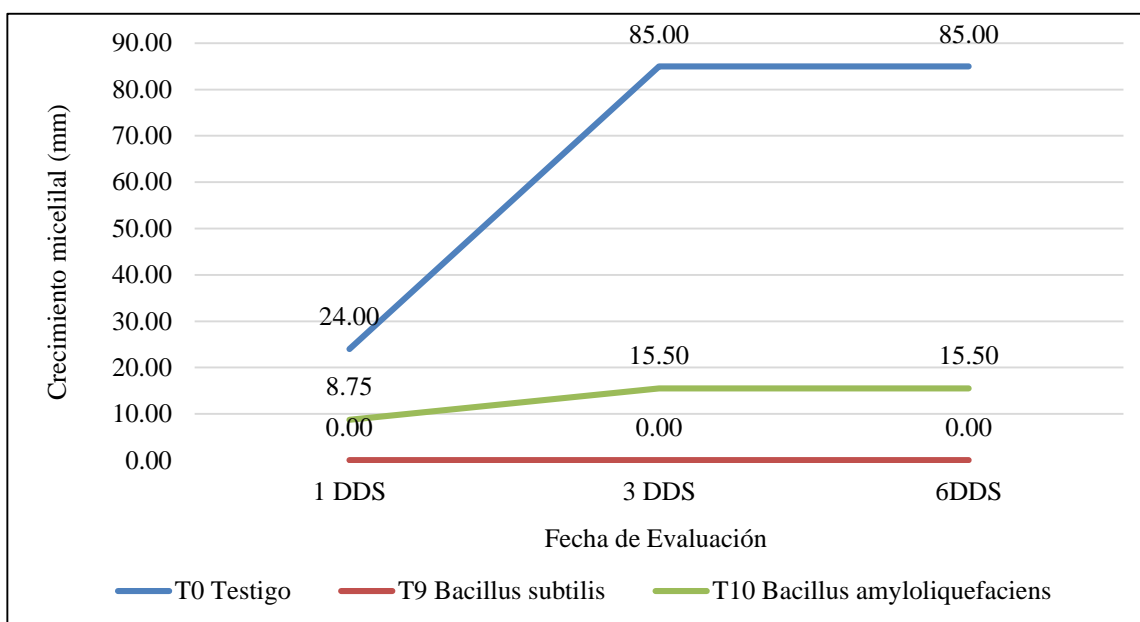


Figura 7: Curva de desarrollo micelial (mm) de *L. theobromae* para la prueba de medio envenenado en las tres evaluaciones.

El análisis del porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) de *L. theobromae* para la prueba de medio envenenado de productos biológicos se muestra en la Tabla 11 y Figura 8.

Los resultados obtenidos fueron un PIC de 63.3% para el tratamiento T10, posteriormente, a los 3 días se mostró un porcentaje de control del 81.7% y este porcentaje se mantuvo hasta los 6 días. El mejor tratamiento con un 100% de PIC, fue el *Bacillus subtilis* (T9).

Tabla 11: Porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) de *L. theobromae* para la prueba de medio envenenado. Prueba de Tukey para las tres evaluaciones.

| Tratamientos | | Fecha de Evaluación | | | | | |
|--------------|---------------------------------|---------------------|-------|---------|-------|---------|-------|
| | | 1 DDS | | 3 DDS | | 6 DDS | |
| T0 | Testigo | 0.00% | C | 0.00% | C | 0.00% | C |
| T9 | <i>Bacillus subtilis</i> | 100.00% | A | 100.00% | A | 100.00% | A |
| T10 | <i>Bacillus amyloquefaciens</i> | 63.30% | B | 81.77% | B | 81.77% | B |
| | α : 0.05 | CV | 4.72% | CV | 2.15% | CV | 2.15% |

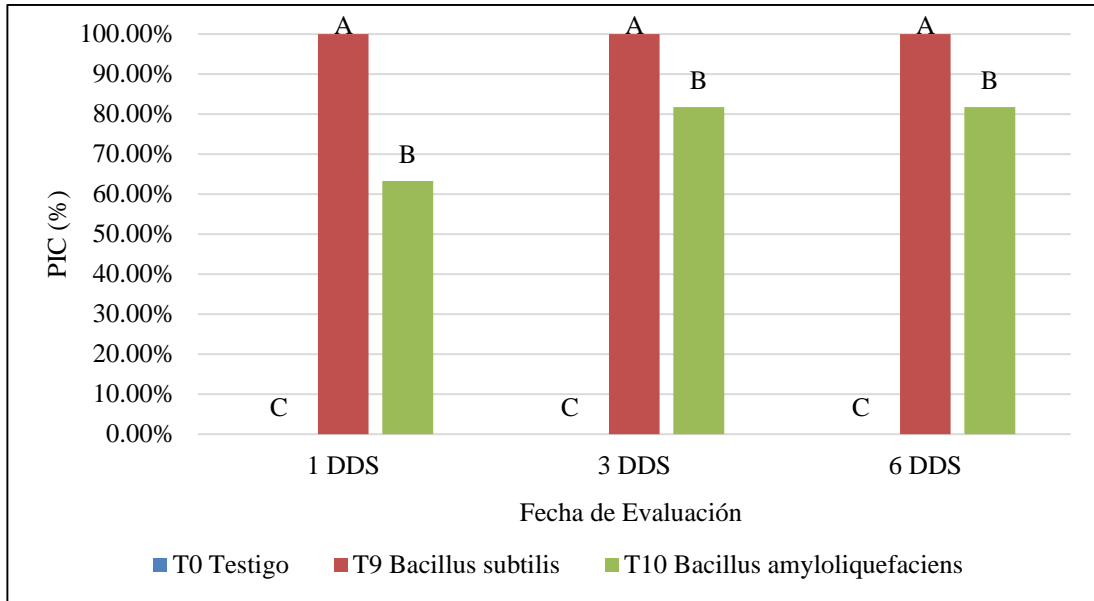


Figura 8: Porcentaje de inhibición de crecimiento (PIC) *L. theobromae* para la prueba de medio envenenado.

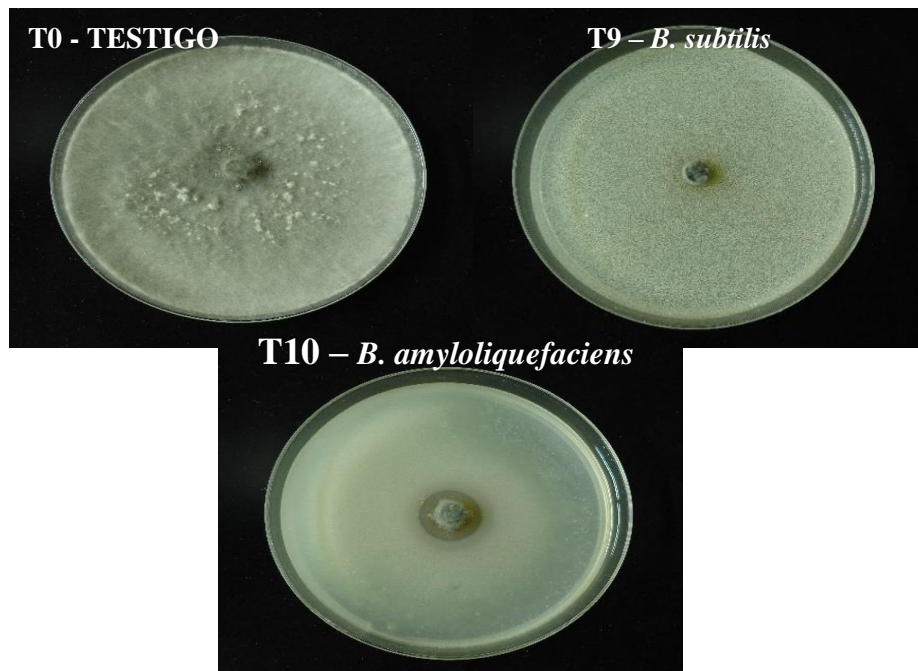


Figura 9: Crecimiento micelial (mm) de *Lasiodiplodia theobromae* para cada tratamiento en la prueba de medio envenenado.

En la tabla 12 y en la figura 10 se muestra el diámetro promedio del crecimiento micelial de *L. pseudotheobromae* sobre el medio de cultivo PDA conteniendo productos biológicos, se probaron los dos productos que tienen por ingrediente activo las bacterias del género *Bacillus*, para las tres evaluaciones realizadas existe diferencias significativas entre los tratamientos, esto después de realizar la comparación de medias con la prueba de Tukey a un nivel de significancia de 0.05.

En los tres días de evaluación, el tratamiento testigo (T0) mostró un mayor crecimiento micelial en comparación con los otros tratamientos. El tratamiento testigo, a los 3 días después de la siembra, llenó la totalidad de la placa con un diámetro promedio de 85 mm.

El tratamiento bajo *Bacillus amyloliquefaciens* (T10), desde el tercer día de evaluación mostró un crecimiento promedio de 17.25 mm, este crecimiento se mantiene hasta los 6 días después de la siembra. El mejor tratamiento fue el T9 correspondiente al *Bacillus subtilis*, donde no se presentó crecimiento micelial sobre el medio envenenado, para las tres evaluaciones.

Tabla 12: Crecimiento (mm) de *L. pseudotheobromae* en la prueba de medio envenenado. Prueba de Tukey para las tres evaluaciones. Días después de la siembra (DDS) envenenado.

| | Tratamientos | Fecha de Evaluación | | | | | |
|------------|-----------------------------------|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | 1 DDS | | 3 DDS | | 6DDS | |
| T0 | Testigo | 27.63 | A | 85.00 | A | 85.00 | A |
| T9 | <i>Bacillus subtilis</i> | 0.00 | C | 0.00 | C | 0.00 | C |
| T10 | <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> | 10.75 | B | 17.25 | B | 17.25 | B |
| | $\alpha: 0.05$ | CV | 6.08% | CV | 4.45% | CV | 4.45% |

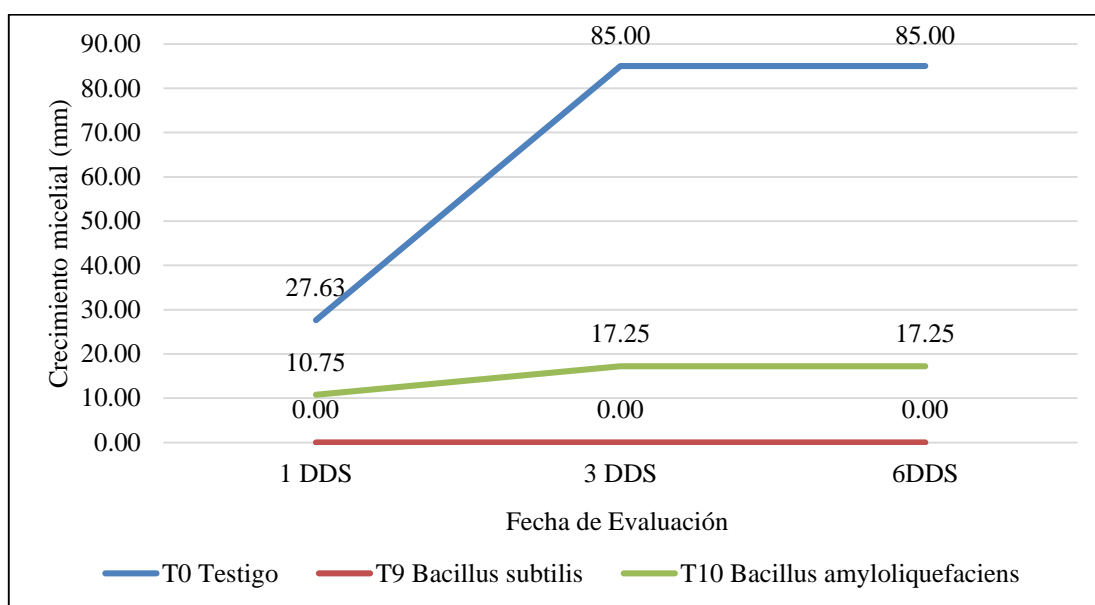


Figura 10: Curva de desarrollo micelial (mm) de *L. pseudotheobromae* para la prueba de medio envenenado en las tres evaluaciones.

El análisis del porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) de *L. pseudotheobromae* para la prueba de medio envenenado de productos biológicos se muestra en la Tabla 13 y Figura 11. Los resultados obtenidos fueron un PIC de 61.08% para el tratamiento T10, posteriormente, a los 3 días se mostró un porcentaje de control del 79.73% y este porcentaje se mantuvo hasta los 6 días. El mejor tratamiento con un 100% de PIC, fue el *Bacillus subtilis* (T9).

Tabla 13: Porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) de *L. pseudotheobromae* para la prueba de medio envenenado. Prueba de Tukey para las tres evaluaciones.

| | Tratamientos | Fecha de Evaluación | | | | | |
|------------|-----------------------------------|---------------------|-------|---------|-------|---------|-------|
| | | 1 DDS | | 3 DDS | | 6 DDS | |
| T0 | Testigo | 0.00% | C | 0.00% | C | 0.00% | C |
| T9 | <i>Bacillus subtilis</i> | 100.00% | A | 100.00% | A | 100.00% | A |
| T10 | <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> | 61.08% | B | 79.73% | B | 79.73% | B |
| | α : 0.05 | CV | 5.26% | CV | 3.01% | CV | 3.01% |

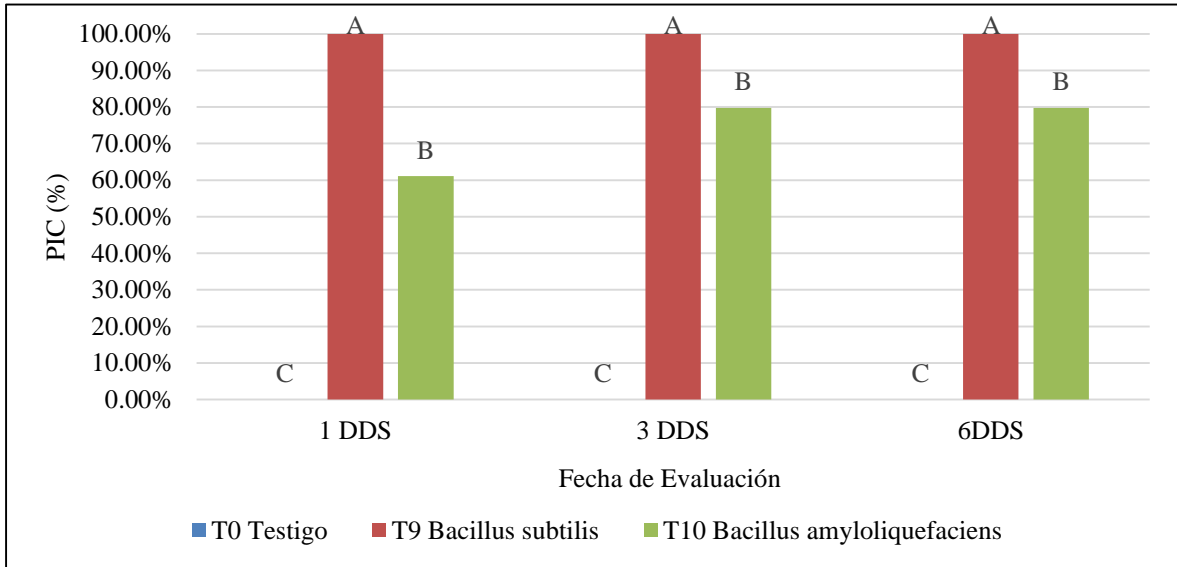


Figura 11: Porcentaje de inhibición de crecimiento (PIC) *L. pseudotheobromae* para la prueba de medio envenenado.

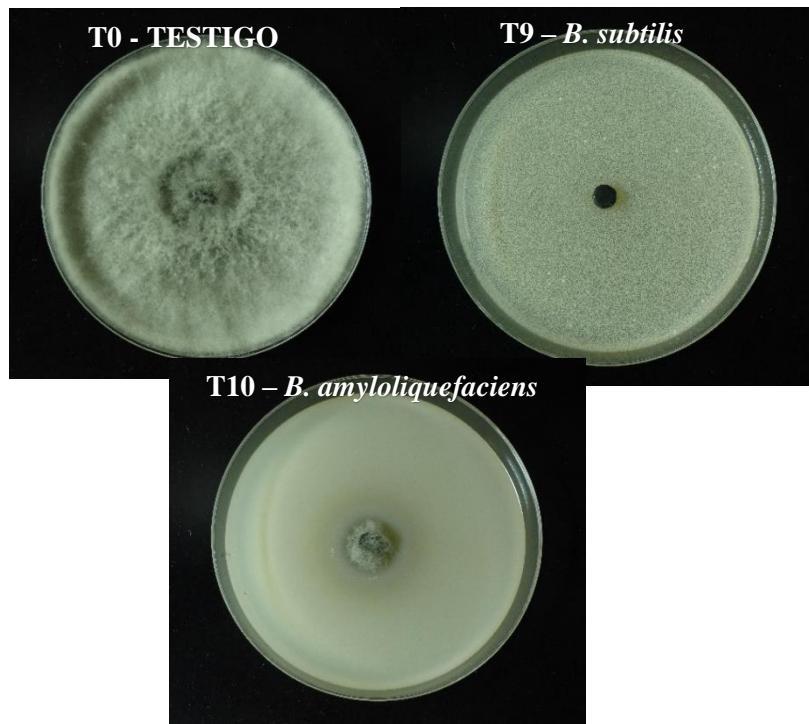


Figura 12: Crecimiento micelial (mm) de *Lasiodiplodia pseudotheobromae* para cada tratamiento en la prueba de medio envenenado.

En referencia a los resultados obtenidos con *B. subtilis*, Castellanos et al. (2005), donde realizó estudios del uso de *Bacillus subtilis* en el control de fitopatógenos, obtuvo un 63.7% de PIC en la prueba in vitro para el control *Botryodiplodia theobromae* a los 7 días después de la siembra, en esta tesis el resultado fue superior ya que obtuvimos un 100% de PIC para ambas especies de *Lasiodiplodia*; sin embargo, Castellanos et al. (2005) manifiesta que *Bacillus subtilis* ejerce un buen control sobre estos hongos.

Swain et al (2009) indicaron que las cepas de *B. subtilis* no permitieron el crecimiento del hongo de prueba en las placas de agar, es decir inhibió completamente a *B. theobromae*, lo que menciona es que esto se podría deberse a la competencia por los nutrientes y el espacio más que a la inhibición por la secreción antimicrobiana.

Para el caso de *Bacillus amyloliquefaciens*, Chaupín (2018) obtuvo un PIC del 100% sobre el control de *Lasiodiplodia theobromae*, por encima de una dosis de 0.60 ml; lo que difiere con los resultados de este ensayo con un PIC de 81.77% y 79.73% para *Lasiodiplodia theobromae* y *Lasiodiplodia pseudotheobromae* respectivamente. En el ensayo realizado por Monir et al. (2021) el producto Serenade obtuvo un 81.3% de control sobre *Lasiodiplodia theobromae*, lo que coincide con los resultados obtenidos en este estudio. Rusin et al (2020) realizó pruebas con productos químicos, biológicos y extractos de plantas sobre el control de *L. theobromae* usando la metodología de prueba de enfrentamientos se obtuvieron los resultados de los agentes de control biológico que inhibieron el crecimiento de *L. theobromae*, obteniendo un índice de antagonismo de 66,4% para el producto Serenade.

b. Prueba de enfrentamiento

Según el análisis de variancia y comparación de medias Tukey, existen diferencias significativas entre los tratamientos. Los resultados se muestran en la Tabla 14 y figura 13. Ninguno de los tratamientos logró inhibir totalmente el desarrollo micelial de *L. theobromae*. Al enfrentar *T. harzianum* con *L. theobromae* se observó un menor crecimiento del patógeno en los tres días de evaluación, seguido por el tratamiento T11 (*T. viride* con *L. theobromae*). Al primer día de evaluación, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos T11 y T12, a partir del tercer día se notan las diferencias. El tratamiento que mostró un mayor porcentaje de inhibición del crecimiento micelial fue el T12, seguido el T11, con un PIC del 49.12% y 44.41% respectivamente (Tabla 15 y Figura 14).

Tabla 14: Comparación de medias de Tukey para los tres días del crecimiento micelial de *Lasiodiplodia theobromae* para la prueba de enfrentamientos.

| | Tratamientos | Fecha de Evaluación | | | | | |
|------------|------------------------------|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | 1 DDS | | 3 DDS | | 6DDS | |
| T0 | Testigo | 24.00 | A | 85.00 | A | 85.00 | A |
| T11 | <i>Trichoderma viride</i> | 20.00 | B | 47.25 | B | 47.25 | B |
| T12 | <i>Trichoderma harzianum</i> | 19.00 | B | 43.25 | C | 43.25 | C |
| | $\alpha: 0.05$ | CV | 6.35% | CV | 2.24% | CV | 2.24% |

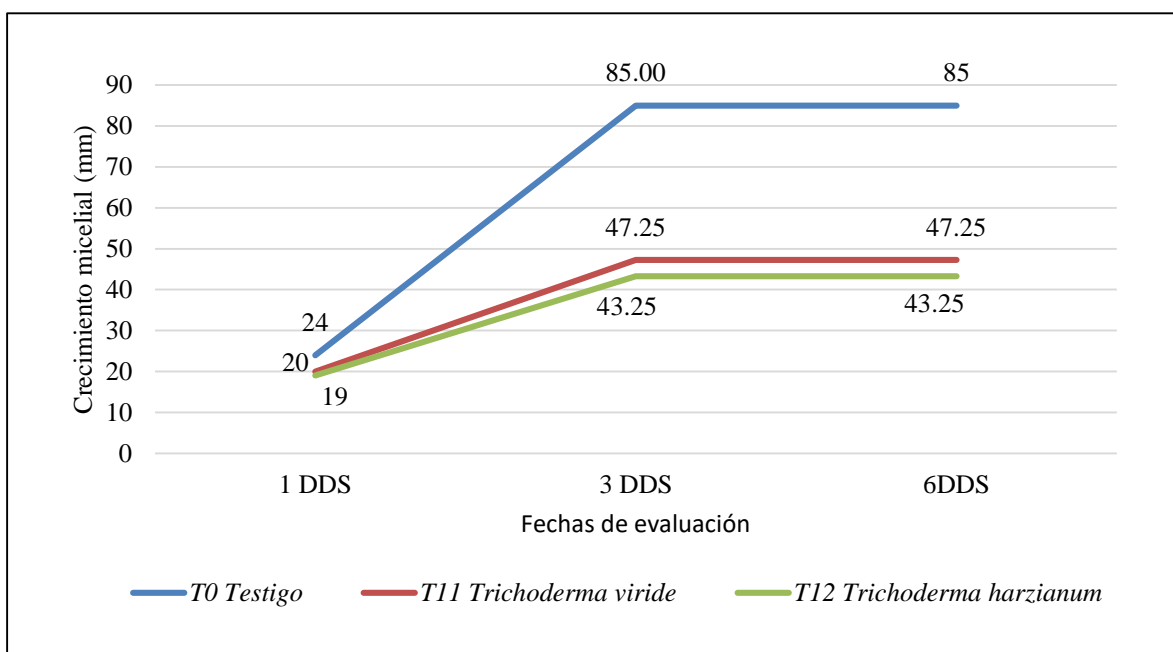


Figura 13: Curva de desarrollo micelial (mm) de *L. theobromae* para la prueba de enfrentamiento en las tres evaluaciones.

Tabla 15: Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial, evaluados al primer, tercer y sexto día después de la inoculación de *L. theobromae*.

| | | Fecha de evaluación | | |
|------------|------------------------------|---------------------|--------|--------|
| | Tratamientos | 1DDS | 3DDS | 6DDS |
| T0 | Testigo | 0.00% | 0.00% | 0.00% |
| T11 | <i>Trichoderma viride</i> | 16.17% | 44.41% | 44.41% |
| T12 | <i>Trichoderma harzianum</i> | 20.23% | 49.12% | 49.12% |

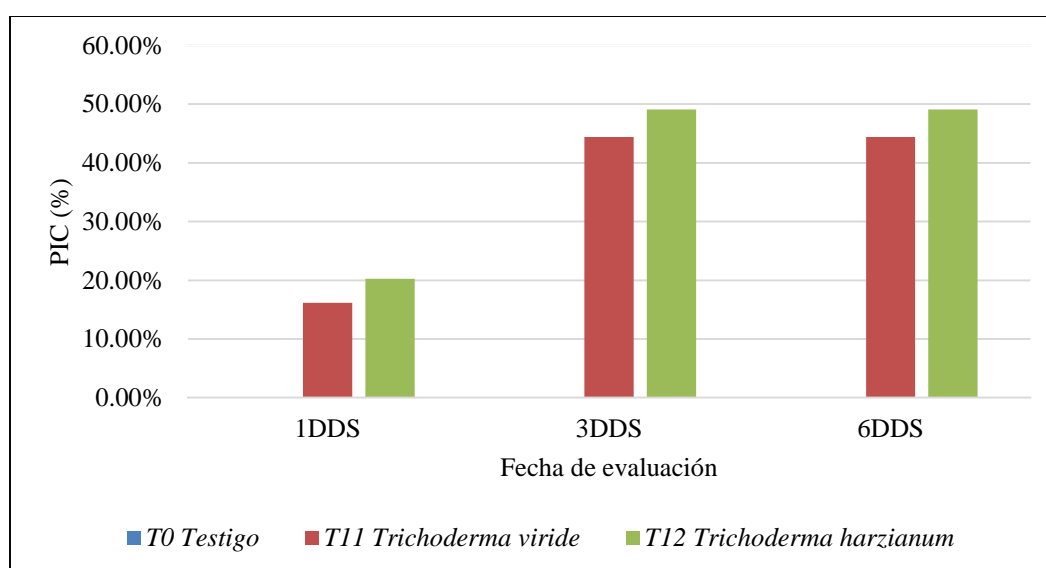


Figura 14: Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial (mm) de *L. theobromae* para la prueba de enfrentamiento en las tres evaluaciones.

Tabla 16: Comparación de medias de tukey para los tres días del crecimiento micelial de *Lasiodiplodia pseudotheobromae* para la prueba de enfrentamiento.

| | | Fecha de Evaluación | | | | | |
|------------|------------------------------|---------------------|--------|-------|-------|-------|-------|
| | Tratamientos | 1 DDS | | 3 DDS | | 6DDS | |
| T0 | Testigo | 27.63 | A | 85.00 | A | 85.00 | A |
| T11 | <i>Trichoderma viride</i> | 20.75 | B | 44.50 | B | 44.50 | B |
| T12 | <i>Trichoderma harzianum</i> | 18.75 | B | 42.00 | B | 42.00 | B |
| | α : 0.05 | CV | 12.30% | CV | 3.55% | CV | 3.55% |

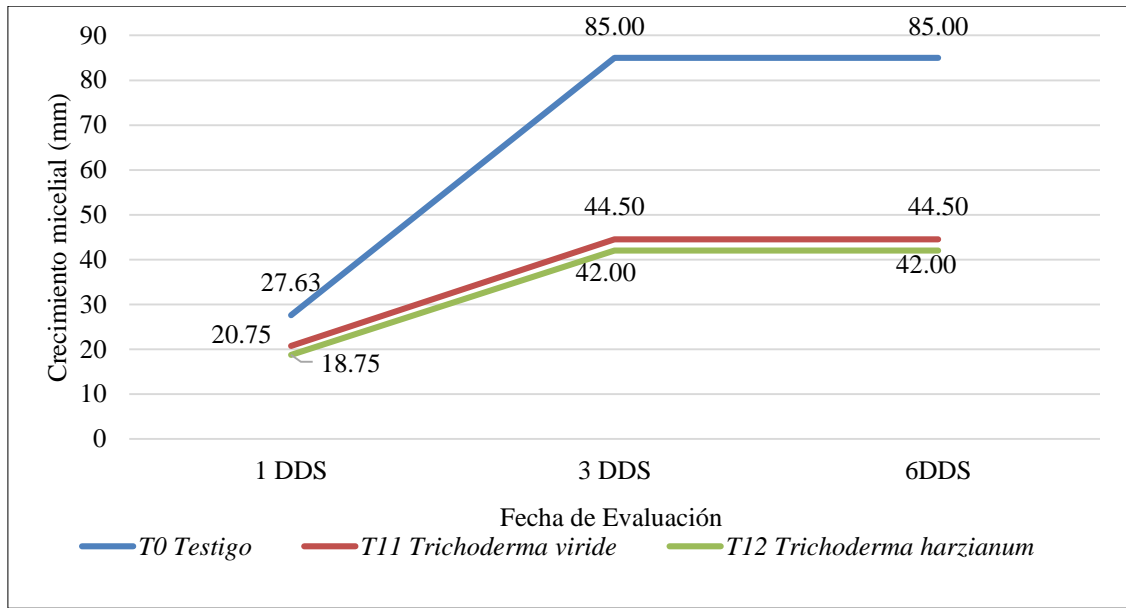


Figura 15: Curva de desarrollo micelial (mm) de *L. pseudotheobromae* para la prueba de enfrentamiento en las tres evaluaciones.

Tabla 17: Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial, evaluados al primer, tercer y sexto día después de la inoculación de *L. pseudotheobromae*.

| | Tratamientos | Fecha de Evaluación | | |
|------------|------------------------------|---------------------|--------|--------|
| | | 1DDS | 3DDS | 6DDS |
| T0 | Testigo | 0.00% | 0.00% | 0.00% |
| T11 | <i>Trichoderma viride</i> | 24.85% | 47.65% | 47.65% |
| T12 | <i>Trichoderma harzianum</i> | 32.18% | 50.58% | 50.58% |

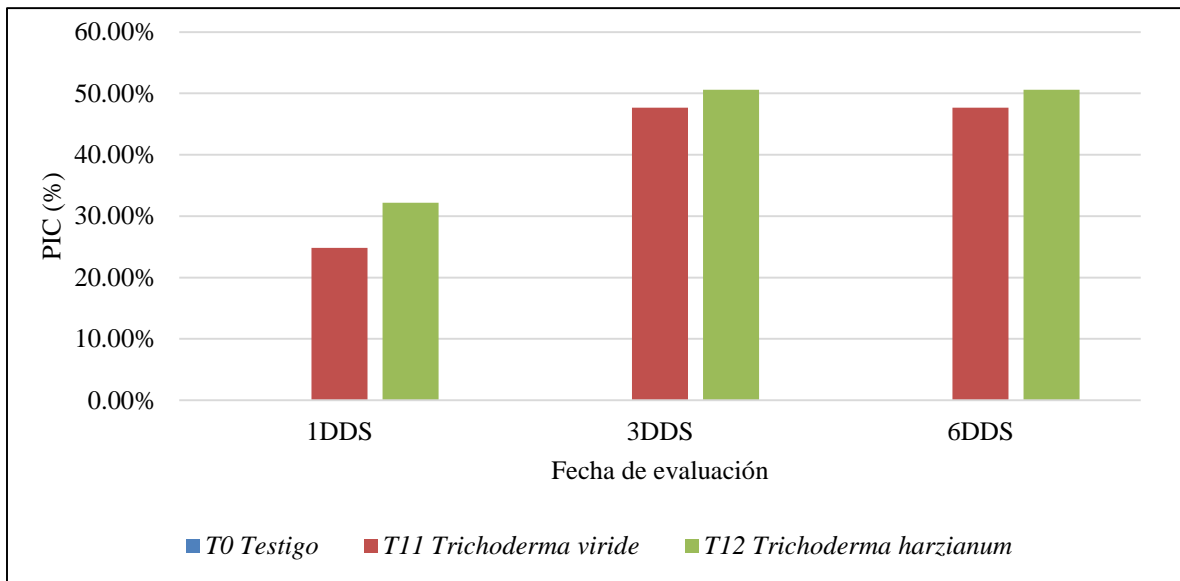


Figura 16: Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial (mm) de *L. pseudotheobromae* para la prueba de enfrentamiento en las tres evaluaciones.



Figura 17: Prueba de enfrentamiento *Trichoderma viride* vs *Lasiodiplodia theobromae* al sexto día de evaluación.



Figura 18: Prueba de enfrentamiento *Trichoderma harzianum* vs *Lasiodiplodia theobromae* al sexto día de evaluación.



Figura 19: Prueba de enfrentamiento *Trichoderma viride* vs *Lasiodiplodia pseudotheobromae* al sexto día de evaluación.



Figura 20: Prueba de enfrentamiento *Trichoderma harzianum* vs *Lasiodiplodia pseudotheobromae* al sexto día de evaluación.

Los resultados con respecto a la prueba de enfrentamientos, *Trichoderma harzianum* obtuvo los mejores resultados con un PIC de 49.12% para *L. theobromae* y 50.58% para *L. pseudotheobromae*, este tratamiento superó a *Trichoderma viride*, lo que coincide con el trabajo de Mortuza e Ilag (1999), donde mencionan que *T. harzianum* exhibió la mayor inhibición en la prueba de control *in vitro* de *L. theobromae*. Nath *et al.* (2014) probaron la efectividad de varios productos químicos y biológicos; donde *T. harzianum* obtuvo un PIC de 47,5 % y *T. viride* 31,39 %, ambos presentan un antagonismo moderado. Para el caso de *Trichoderma viride* mostró un PIC de 44.41% para *L. theobromae* y 47.65% para *L. pseudotheobromae* siendo superior *Trichoderma harzianum* lo que coincide con lo expuesto por Chaupín (2018) con *T. viride* con un PIC del 48.2% y *T. harzianum* con un 61.1%. Ambas especies son agentes antagonistas y queda comprobada en Weindling y Emerson (1936) fueron los primeros en reportar la producción de sustancias que inhiben a otros hongos fitopatógenos, a la que denominaron gliotoxina. Rusin *et al.* (2020) realizó pruebas donde utilizó agentes biológicos sobre el control de *L. theobromae* usando *Trichoderma harzianum* obteniendo buenos resultados con un 62.2% de control.

4.3. PRUEBA DE EFICACIA DE PRODUCTOS QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS EN CONDICIONES DE CAMPO

a. *Lasiodiplodia theobromae*

Los resultados del área enferma y sana promedio de las infecciones por *L. theobromae* y en la tabla 18, el porcentaje de área enferma promedio se muestra en la tabla 19; y en la figura 21 se notan las diferencias significativas que existe entre el tratamiento testigo con respecto a los demás tratamientos.

Sobre las ramas que fueron aplicadas con productos y biológicos, Prochloraz (T2) fue el tratamiento con los resultados más desfavorables, los tratamientos restantes no tuvieron diferencias significativas entre ellos; sin embargo, los tratamientos de ramas aplicadas con Carbendazim y Cyprodinil + Fludioxonil obtuvieron el menor porcentaje de área enferma.

Tabla 18: Área enferma y área sana promedio (cm²) de las ramas inoculadas de *L. theobromae* por cada tratamiento

| Tratamientos | | Área enferma promedio(cm ²) | Área Sana promedio(cm ²) |
|--------------|---------------------------------|--|---|
| T1 | Pyrimethanil | 1.38 | 30.17 |
| T2 | Prochloraz | 5.50 | 14.90 |
| T3 | Sulfato de Cobre Pentahidratado | 1.38 | 28.03 |
| T4 | Hymexazol | 1.19 | 27.00 |
| T5 | Fludioxonil | 1.18 | 27.57 |
| T6 | Cyprodinil+Fludioxonil | 0.91 | 29.45 |
| T7 | Tebuconazole | 1.05 | 29.33 |
| T8 | Carbendazim | 0.62 | 32.48 |
| T9 | <i>Bacillus subtilis</i> | 1.10 | 28.47 |
| T10 | Testigo inoculado | 8.00 | 16.60 |
| T11 | Testigo sin inocular | 0.61 | 28.08 |

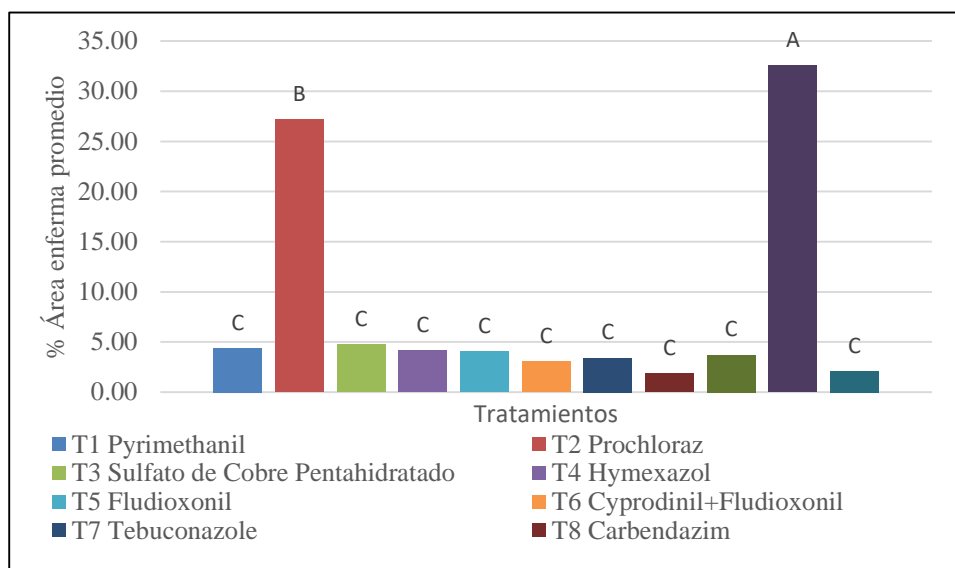


Figura 21: Porcentaje de área enferma promedio para las ramas inoculadas con *Lasiodiplodia theobromae* en la prueba de eficacia de fungicidas químicos y biológicos en campo.

Tabla 19: Prueba de Tukey para el porcentaje de área enferma promedio de las ramas inoculadas de *Lasiodiplodia theobromae*.

| Tratamientos | | % Área enferma promedio | |
|---------------|---------------------------------|-------------------------|---|
| T1 | Pyrimethanil | 4.4 | C |
| T2 | Prochloraz | 27.18 | B |
| T3 | Sulfato de Cobre Pentahidratado | 4.72 | C |
| T4 | Hymexazol | 4.19 | C |
| T5 | Fludioxonil | 4.07 | C |
| T6 | Cyprodinil+Fludioxonil | 3.03 | C |
| T7 | Tebuconazole | 3.41 | C |
| T8 | Carbendazim | 1.87 | C |
| T9 | <i>Bacillus subtilis</i> | 3.71 | C |
| T10 | Testigo inoculado | 32.55 | A |
| T11 | Testigo sin inocular | 2.11 | C |
| $\alpha:0.05$ | | CV: 21% | |



Figura 22: Ramas inoculadas con *Lasiodiplodia theobromae* en la prueba de eficacia de fungicidas químicos y biológicos en campo.

b. *Lasiodiplodia pseudotheobromae*

En la tabla 20, se muestran los resultados del área enferma y sana promedio de las infecciones por *L. pseudotheobromae* y el porcentaje de área enferma promedio se muestra en la tabla 21; y en la figura 22 se observan las diferencias significativas que existe entre el tratamiento testigo con respecto al resto de los tratamientos.

Las ramas que fueron aplicadas con productos y biológicos, no hubo diferencias significativas, sin embargo, se puede afirmar que todos los tratamientos ejercieron un efectivo control preventivo, destacando el producto Fludioxonil (T5) fue el tratamiento que obtuvo el menor porcentaje de área enferma.

Tabla 20: Área enferma y área sana promedio (cm²) de las ramas inoculadas de *L. pseudotheobromae* por cada tratamiento.

| | Tratamiento | Área enferma promedio(cm) | Área Sana promedio(cm) |
|------------|---------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|
| T1 | Pyrimethanil | 0.934 | 29.422 |
| T2 | Prochloraz | 0.974 | 24.624 |
| T3 | Sulfato de Cobre Pentahidratado | 0.994 | 27.378 |
| T4 | Hymexazol | 1.114 | 27.744 |
| T5 | Fludioxonil | 0.686 | 28.964 |
| T6 | Cyprodinil+Fludioxonil | 1.334 | 29.832 |
| T7 | Tebuconazole | 1.864 | 25.11 |
| T8 | Carbendazim | 0.936 | 28.508 |
| T9 | <i>Bacillus subtilis</i> | 1.004 | 24.838 |
| T10 | Testigo inoculado | 10.79 | 18.836 |
| T11 | Testigo sin inocular | 0.608 | 28.076 |

Tabla 21: Prueba de Tukey para el porcentaje de área enferma promedio de las ramas inoculadas de *Lasiodiplodia pseudotheobromae*.

| | Tratamiento | % Área enferma promedio | |
|-----|---------------------------------|-------------------------|--------|
| T1 | Pyrimethanil | 3.076 | BC |
| T2 | Prochloraz | 3.784 | BC |
| T3 | Sulfato de Cobre Pentahidratado | 3.524 | BC |
| T4 | Hymexazol | 3.87 | BC |
| T5 | Fludioxonil | 2.35 | BC |
| T6 | Cyprodinil+Fludioxonil | 4.27 | BC |
| T7 | Tebuconazole | 6.9 | B |
| T8 | Carbendazim | 3.15 | BC |
| T9 | <i>Bacillus subtilis</i> | 3.87 | BC |
| T10 | Testigo inoculado | 36.69 | A |
| T11 | Testigo sin inocular | 2.11 | C |
| | $\alpha:0.05$ | CV: | 32.49% |

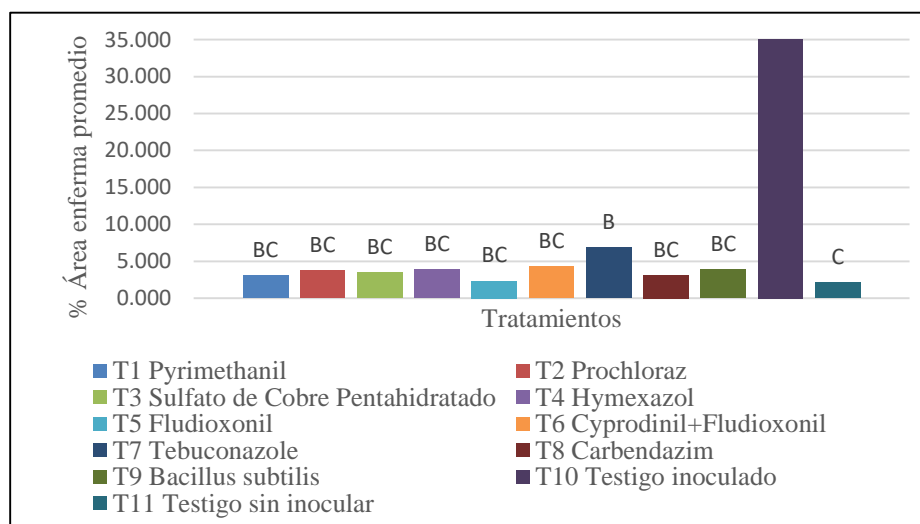


Figura 23: Porcentaje de área enferma promedio para las ramas inoculadas con *Lasiodiplodia pseudotheobromae* en la prueba de eficacia de fungicidas químicos y biológicos en campo.

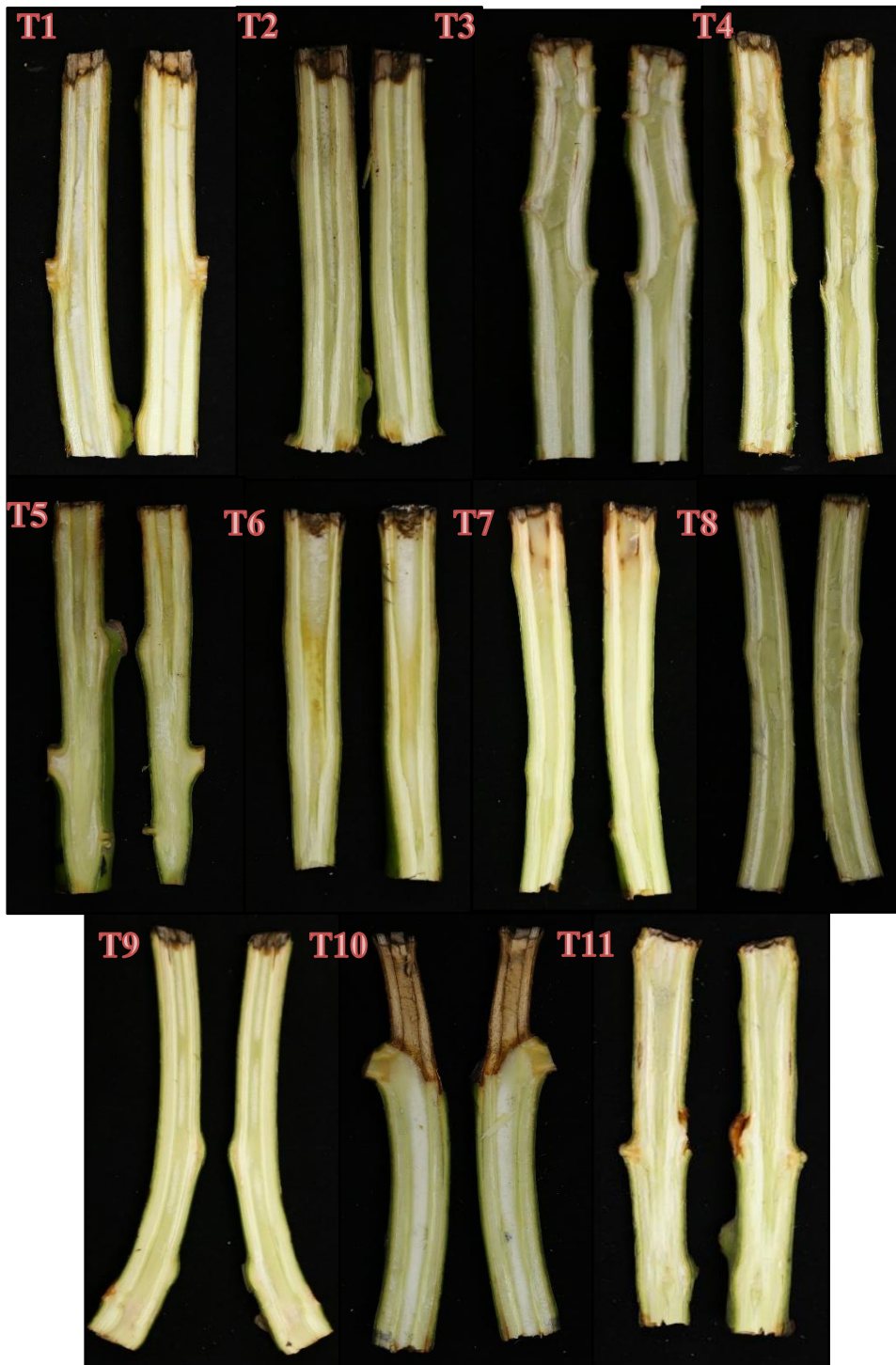


Figura 24: Ramas inoculadas con *Lasiodiplodia pseudotheobromae* en la prueba de eficacia de fungicidas químicos y biológicos en campo.

Khazada *et al.* (2005) realizó un trabajo de investigación sobre el control químico de *Lasiodiplodia theobromae* en el cultivo de mango, donde el tratamiento con el producto Carbendazim demostró ser altamente efectivo tanto en la prueba *in vitro* e *in vivo*, obtuvo la mejor inhibición; una reducción gradual de la gravedad de la enfermedad y la incidencia de la enfermedad en los árboles tratados en comparación con los árboles de control no tratados, estos resultados coinciden con los obtenidos en este ensayo.

Wang *et al.* (2007) realizó un tamizaje de productos químicos sobre el control de *L. theobromae* en papaya, pruebas *in vitro* y en frutas, el tratamiento con los productos Cyprodinil + fludioxonil fue dominante en ambas pruebas; por tal recomienda el uso de productos que contengan estos ingredientes activos.

Zhang (2007), evaluó el potencial de producto Fludioxonil como nueva alternativa sobre el control de *Lasiodiplodia theobromae*, siendo efectivo fludioxonil también redujo eficazmente la pudrición del pedúnculo, el producto redujo la incidencia en la fruta de pudrición del pedúnculo en un 75,7–88,6 %, resultados similares obtuvo Swart (2006) donde se redujo significativamente la pudrición del pedúnculo. Por lo tanto, el fludioxonil puede ser un fungicida muy valioso para el control de la pudrición del extremo del pedúnculo.

4.4. REAISLAMIENTO

Al terminar las evaluaciones, las ramas fueron llevadas al laboratorio para realizar los reaislamientos. Los resultados se muestran en la tabla 22.

Se puede notar que para todos los tratamientos se lograron reaislar *L. theobromae* y *L. pseudotheobromae*, esto confirma la presencia del patógeno tras la inoculación.

Con respecto a los tratamientos testigos, el testigo sin inocular no se reaisló ninguna de las especies de *Lasiodiplodia* de las muestras escogidas.

Tabla 22: Reaislamientos de ramas inoculadas de *Lasiodiplodia theobromae* y *Lasiodiplodia pseudotheobromae*.

| Tratamiento | Ingrediente Activo | <i>Lasiodiplodia theobromae</i> | <i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i> |
|--------------------|---------------------------------|-------------------------------------|---|
| T1 | Pyrimethanil | + | + |
| T2 | Prochloraz | + | + |
| T3 | Sulfato de Cobre Pentahidratado | + | + |
| T4 | Hymexazol | + | + |
| T5 | Fludioxonil | + | + |
| T6 | Cyprodinil+ Fludioxonil | + | + |
| T7 | Tebuconazole | + | + |
| T8 | Carbendazim | + | + |
| T9 | <i>Bacillus subtilis</i> | + | + |
| T10 | Testigo inoculado | + | + |
| T11 | Testigo sin inocular | - | - |

V. CONCLUSIONES

FLUDIOXONIL, CYPRODINIL+FLUDIOXONIL, TEBUCONAZOLE y *Bacillus subtilis* mostraron un efectivo control en la prueba *in vitro* bajo la técnica de medio envenenado con un PIC del 100% frente a *L. pseudotheobromae* y *L. theobromae*; sobre la prueba de enfrentamiento, *Trichoderma Harzianum* tuvo mejores resultados para ambas especies en comparación a *Trichoderma viride*.

Hay diferencias entre la sensibilidad a fungicidas según la especie de *Lasiodiplodia* en la prueba *in vitro*, los tratamientos mencionados funcionaron eficazmente para ambas especies; sin embargo, solo para *L. theobromae* adicionalmente obtuvieron buenos resultados los productos PYRYMETHANIL, HYMEXAZOL y CARBENDAZIM.

En la prueba de eficacia *in vivo* todos los productos resultaron eficaces para ambas especies destacando con un menor porcentaje de área enferma FLUDIOXONIL y CARBENDAZIM para *L. pseudotheobromae* y *L. theobromae* respectivamente. La excepción es el tratamiento a base del ingrediente activo PROCHLORAZ que no obtuvo los resultados al esperados sobre el control de *L. theobromae*.

El producto biológico con mejores resultados para ambas especies tanto en condiciones de laboratorio y de campo fue el producto BIOSPLENT – *Bacillus subtilis*.

VI. RECOMENDACIONES

Se recomienda repetir el ensayo en los meses de DICIEMBRE – ABRIL, donde se da el incremento de las temperaturas.

Se recomienda repetir el ensayo en otras zonas geográficas, para identificar el comportamiento del hongo, probablemente en otras zonas los síntomas se muestren antes de las 12 semanas.

Como fuente de inóculo se utilizó una solución de fragmentos de micelio, se recomienda probar otras fuentes de inóculo como discos de micelio.

Replicar el mismo ensayo determinando un mayor número ramas por cada tratamiento para obtener una data más robusta y así conclusiones más certeras.

Realizar ensayos en donde se prueben otros productos biológicos y/o extractos vegetales; además de incluir el producto *Trichoderma harzianum* en la prueba de eficacia en campo.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Alves, A., Crous, PW, Correia, A. y Phillips, AJL (2008). Los datos morfológicos y moleculares revelan una especiación críptica en *Lasiodiplodia theobromae*. *Diversidad fúngica*, 28 , 1-13.
- Avilán, L., Leal, F., Bautista, D. (1989). *Manual de Fruticultura*. Caracas, Venezuela. América. p. 666-776.
- Avilán, L., Leal, F., Bautista, D. (1992). *Manual de Fruticultura*. 2 ed. Caracas, Venezuela. América.
- Baíza Avelar, V. (2003). *Guía Técnica del Cultivo del Aguacate*. El Salvador. Editorial Maya. 72p.
- Bergh, B.O. (1992). The Origin, Nature, and Genetic Improvement of the Avocado. *California Avocado Society Yearbook* 76: 61-75. Recuperado de http://www.avocadosource.com/cas_yearbooks/cas_76_1992/cas_1992_pg_061.pdf.
- Bernal, J., Díaz, C., Osorio, C., Tamayo, A., Osorio, W., Córdoba, O., Londoño, M.; Kondo, D., Carabalí, A., Varón, E., Caicedo, A., Tamayo, P., Sandoval, A., Forero, F., García, J., Londoño, M. (2014). *Actualización Tecnológica y Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) en el Cultivo de Aguacate*. Medellín, Colombia. Corpoica. 410p. Recuperado de https://conectarural.org/sitio/sites/default/files/documentos/Manual%20Actualizacion%20Tecnologica%20y%20BPA%20Cultivo%20de%20Aguacate_GOBERNACION%20PDF%20BAJA%20con%20caratulas.pdf.

- Capriles de Reyes, L., Reyes, H., Molina, C. y Sornes, H. (1979). Situación actual y potencial del cultivo de cacao Caucagua, Estación Experimental de Caucagua. Ceniap/Fonaiap, 81 p. (Mimeo).
- Castellanos, J., Ortiz, L., Oliva, P., Dueñas, M., Fresneda, J., Fraga, S. y Meléndez, O. (2005). Estudios relacionados con el uso del *Bacillus subtilis* en el control de hongos fitopatógenos. Instituto de Investigación Fundamentales en Agricultura Tropical. La Habana – Cuba. 10 Pp. Recuperado de <https://www.grupoagricoladecuba.gag.cu/media/Agrotecnia/pdf/2005/Trabajos/EPR O65.pdf>.
- Cibrián, D., Alvarado, D., García, S., Colomo, I., Huerta, G., Holguin, F y Macias, J. (2007). *Lasiodiplodia theobromae* (pat.) Griffon & Maubl. (Sphaeropsidales, Sphaerioidaceae). En: Cibrián, D., Alvarado, D., García, S. Enfermedades forestales en México.
- Courtecuisse, R.; Samuels, G.J.; Hoff, M., Rossman, A.Y., Cremers, G., Huhndorf, S.M., Stephenson, S.L. (1996). Check-list of fungi from French Guiana. Mycotaxon. 57:1-85.
- Da Silva Pereira, A., Martins, R., Michereff, J., Da Silva, M. y Câmara, M. (2012). Sensibilidad de *Lasiodiplodia theobromae* de huertos de papaya brasileños a los fungicidas MBC y DMI. Revista Europea de Patología Vegetal, 132 (4), 489-498. doi:10.1007/s10658-011-9891-2.
- Damm U., Crous P. y Fourie, P. (2007). Botryosphaeriaceae as potential pathogens of Prunus in South Africa, with descriptions of *Diplodia africana* and *Lasiodiplodia plurivora* sp. nov. Mycologia 99:664-680.
- Diskin, S., Sharir, T., Feygenberg, O., Maurer, D., & Alkan, N. (2019). Fludioxonil – A potential alternative for postharvest disease control in mango fruit. Crop Protection, 104855. doi:10.1016/j.cropro.2019.104855.

- DROKASA. (2019). Fukarim. Recuperado el 10 de octubre de 2019, de http://drokasa.pe/index.php?seccion=productos_detalle&id_producto=204&cat=9.
- Fraedrich, S, Miller, T, y Zarnoch, S. (1994). Las semillas enfermas: estudiando el efecto del hongo *Lasiodiplodia theobromae* en las semillas de pino. Revista canadiense de recursos forestales, 24: 1717-1725.
- Galán-Saúco, V. (1990). Los frutales tropicales en los subtrópicos. i. Aguacate, mango, litchi y longan. Madrid, España. Ediciones Mundi-Prensa. p. 25-58.
- Gama-Campillo L.; Gomez-Pompa A. (1992). An ethnoecological approach for the study of *Persea*: A case study in the Maya área. In Proceedings of the Second World Avocado Congress (2, 1991, California, EEUU). WAC. 1992. pp. 11-17 Recuperado de http://www.avocadosource.com/temp/OLD%20WAC%20II/WAC2_p011.htm.
- Godinez, M., Martinez, M., Melgar, N., Mendez, W. (2000). El cultivo del aguacate en Guatemala. Guatemala. PROFRUTA, MAGA. 35p.
- International Trade Centre (ITC). (2021). Lista de los mercados importadores para un producto exportado por Perú en 2021. Recuperado 11 de octubre de 2022, de https://www.trademap.org/Country_SelProductCountry.aspx?nvpm=3%7c604%7c%7c%7c%7c080440%7c%7c%7c6%7c1%7c1%7c2%7c1%7c1%7c2%7c1%7c1%7c1.
- IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute, Italia). (1995). Descriptores para aguacate (*Persea spp.*). Roma, Italia. Instituto internacional de recursos Fitogenéticos. 54 p.
- Khazada, M., Lodhi, A. y Shahzad, S. (2005). Control químico de *Lasiodiplodia theobromae*, el agente causal de la disminución del mango en Sindh. *Pakistan Journal of Botany* , 37 (4), 1023.
- Manion, P. (1991). Tree disease concepts. Prentice-Hall, Londres. 402 pp.

- MINAGRI (Ministerio de Agricultura y Riego). (2015). La Palta “Producto Estrella de Exportación”. Lima, Perú. Recuperado de <http://minagri.gob.pe/portal/analisis-economico/analisis-2015?download=6825:la-palta->
- MIDAGRI (Ministerio de Desarrollo agrario y Riego). (2018). Manejo integrado del cultivo de Palto. Recuperado de: https://pgc-aulavirtual.inia.gob.pe/pluginfile.php/611/mod_resource/content/1/MODULO-I.pdf.
- Monir, G., Radwan, M. y Hassan, M. (2021). Protección de las plántulas de aguacate de la falla del injerto durante la propagación en vivero usando control biológico y químico. *Revista egipcia de fitopatología*, 49 (2), 41-53. doi: 10.21608/ejp.2021.84933.1040.
- Mortuza, M. G., & Ilag, L. L. (1999). Potential for Biocontrol of *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl. in Banana Fruits by *Trichoderma* Species. *Biological Control*, 15(3), 235–240. doi:10.1006/bcon.1999.0716.
- Muhammad, S., Zafar, I., Ahmad, S., Muhammad, A. (2009). Association of *Lasiodiplodia theobromae* with different decline disorders in mango (*Mangifera indica* L.) Pak. J. Bot. 41(1):359-368.
- Nath, K., Solanky, KU y Kumawat, GL. (2014). Enfoques efectivos de posibles bioagentes, fitoextractos, fungicidas y prácticas culturales para el manejo de la pudrición de la fruta del banano. *J Plant Pathol Microb* , 5 (246), 2.
- Netto M., Assuncao I., Lima G., Marques M., Lima W., Monteiro J., de Queiroz B., Michereff S., Phillips A., Camara M. (2014). Species of *Lasiodiplodia* associated with papaya stem-end rot in Brazil. Recuperado de <http://dx.doi.org/10.1007/s13225-014-0279-4>.
- Phillips A., Alves A., Abdollahzadeh J., Slippers B., Wingfield M., Groenewald J., Crous P. (2013). The Botryosphaeriaceae: genera and species known from culture. *Studies in Mycology* 76: 51-167.
- Picos-Muñoz, P. A., García-Estrada, R. S., León-Félix, J., Sañudo-Barajas, A., & Allende-Molar, R. (2015). *Lasiodiplodia theobromae* en cultivos agrícolas de México:

Taxonomía, hospedantes, diversidad y control. Revista mexicana de fitopatología, 33(1), 54-74. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092015000100054&lng=es&tlng=es.

Pitt J., Hocking A. (2009). Fungi and Food Spoilage. 3 ed. Springer. pp 125-127.

Ploetz, R.; Zentmeyer, G.; Mishijima, W.; Rohrbach, K.; OHR, H. Compendium of Tropical Fruit Diseases. 1994. Recuperado de <http://library.stic.et/documents/30479/31547/Diseases+of+Tropical+Fruit+Crops.pdf/6ccc0b3a-fd86-96e4-96c2-06bfe98a2c69?version=1.0>.

Popenoe W, (1963). Early History of the Avocado. California Avocado Society Yearbook 47:19–24. Recuperado de http://www.avocadosource.com/CAS_Yearbooks/CAS_47_1963/CAS_1963_PG_19-24.pdf.

ProHass Perú (Asociación de Productores de Palta Hass del Perú, Perú). (2015). Historia de la Palta. de ProHass PERU. Recuperado de <http://www.prohass.com.pe/historia>.

Rimache. M. (2007). Cultivo de Paltos. Lima, Perú. Empresa Editora Macro EIRL.

Rosslenbroich, H. y Stuebler, D. (2000). *B. cinerea* – history of chemical control and novel fungicides for its management. Crop Protection 19. Leverkusen, Alemania. 557-561 pp.

Rusin, C., Cavalcanti, F., Lima, P., Faria, C., Almança, M., & Botelho, R. (2020). Control of the fungi *Lasiodiplodia theobromae*, the causal agent of dieback, in cv. syrah grapevines. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 43.

Scora, R.; Wolstenholme, B.; LAVI, U. (2007). Taxonomía y Botánica. En: El Palto. Botánica, producción y usos. Chile. Ediciones Universitarias de Valparaíso. p. 25-46.

SYNGENTA. (2018). SWITCH. Recuperado el 20 de octubre de 2019, de https://www.syngenta.com.ec/sites/g/files/kgtney1171/files/media/document/2018/09/03/ec_ficha_tecnica_switch_mar17.pdf.

- Swart, S., Serfontein, J., Swart, G. y Labuschagne, C. (2006). Control químico de las enfermedades poscosecha del mango: efecto del fludioxonil y el procloraz sobre la pudrición parda blanda, la pudrición del pedúnculo y la antracnosis. En VIII Simposio Internacional del Mango 820 (pp. 503-510).
- Swain, M. y Ray, R (2009). Biocontrol y otras actividades beneficiosas de *Bacillus subtilis* aislado de microflora de estiércol de vaca. *Investigación microbiológica*, 164 (2), 121-130.
- Takhtajan, A. (1980). Outline of the clasification of flowering plant (Magnoliophyta). The Botanical Review. 46(3):225-359.
- Tamayo, P. (2007). Enfermedades del Aguacate. Medellín, Colombia. pp. 51-70
- Twizeyimana, M.; McDonald, V.; Mayorquin, J.; Wang, D.; Na, F.; Akgül, D.; Eskalen, A. (2013). Effect of fungicide application on the management of avocado branch canker (formerly *Dothiorella* canker) in California. *Plant disease*. v.97 no.7 p. 897-902.
- Téliz, D., Mora, A. (2007). El aguacate y su manejo integrado. 2 ed. México. Ediciones Mundi-Prensa. 308 p.
- Tovar J., Mora J., Nava C, Téliz D., Villegas Á., Leyva S. (2013). Control of *Lasiodiplodia theobromae*, the causal agent of dieback of sapote mamey (*Pouteria sapota*(Jacq.) H. E. Moore and Stearn) grafts in Mexico. *Revista Fitotecnia Mexicana* 36(3): 233-238.
- Valle-de la Paz, M., Sánchez, D. G., Alia-Tejacal, I., López-Martínez, V., Juárez-López, P., Martínez-Fernández, E., ... & Ariza-Flores, R. (2019). Control *in vitro* de *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl y *L. citricola* Abdollahz aislados de lima Persa (*Citrus latifolia* Tanaka) en Morelos, México. *Acta Agrícola y Pecuaria*, 5(1).
- Wang, HL, Chen, PH, Ni, HF y Chen, RS (2007). Caracterización fisiológica y tamizaje de químicos de control para *Lasiodiplodia theobromae* de papaya. *Boletín de Patología Vegetal* , 16 (2), 71-77.

Williams, L.O. (1976). The Botany of the Avocado and its relatives. *In* 1st International Tropical fruit Short Course, The Avocado. (1,1976, Florida, USA). Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.1977. Florida, USA. p. 9-15.
Recuperado de <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.615.3014&rep=rep1&type=pdf>.

Zhang, J. (2007). El potencial de un nuevo fungicida fludioxonil para el control de la pudrición del pedúnculo y el moho verde en los cítricos de Florida. *Biología y tecnología poscosecha* 46 (3), 262-270.
<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.05.016>.

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Datos meteorológicos registrados durante la prueba de fungicidas de campo para el control de las dos especies de *Lasiodiplodia* el cultivo de palto var. Hass en La Molina - Lima obtenidos mediante la estación meteorológica VON HUMBOLDT del SENAMHI.

| Día/mes/año | Temperatura (°c) | | | Humedad (%) | Lluvia (mm) | Presion (mb) | Velocidad del Viento (m/s) | Direccion del Viento |
|-------------|------------------|------|------|-------------|-------------|--------------|----------------------------|----------------------|
| | Prom | Max | Min | | | | | |
| 4/04/2019 | 22.37 | 27.4 | 18.6 | 73.33 | 0 | 985.92 | 3.08 | 256 |
| 5/04/2019 | 22.52 | 27.4 | 18.4 | 74.63 | 0 | 985.19 | 3.58 | 292 |
| 6/04/2019 | 23.27 | 28.7 | 19.2 | 72.58 | 0 | 985.34 | 3.18 | 291 |
| 7/04/2019 | 21.38 | 27.4 | 18.1 | 80 | 0 | 985.35 | 2.42 | 265 |
| 9/04/2019 | 20.61 | 24.4 | 18.5 | 73.43 | 0 | 984.81 | 2.99 | 301 |
| 10/04/2019 | 20.6 | 26.4 | 16 | 73.92 | 0 | 984.81 | 3.48 | 262 |
| 11/04/2019 | 21.38 | 27.5 | 16.2 | 71.29 | 0 | 983.65 | 3.05 | 273 |
| 12/04/2019 | 21.91 | 29.2 | 16.8 | 70 | 0 | 983.19 | 3.06 | 272 |
| 13/04/2019 | 21.07 | 27.2 | 16.5 | 72.57 | 0 | 983.44 | 3.27 | 274 |
| 14/04/2019 | 21.25 | 27.9 | 16.7 | 72.71 | 0 | 983.67 | 3.28 | 275 |
| 15/04/2019 | 21.79 | 28.8 | 15.8 | 70.08 | 0 | 984.1 | 3.23 | 275 |
| 16/04/2019 | 22.15 | 27.9 | 17.1 | 71.13 | 0 | 984.07 | 3.03 | 278 |
| 17/04/2019 | 22.03 | 28.3 | 17.4 | 71.96 | 0 | 983.66 | 3.45 | 276 |
| 18/04/2019 | 21.05 | 26.5 | 16.9 | 74.58 | 0 | 983.53 | 2.85 | 260 |
| 19/04/2019 | 21.75 | 27.8 | 17.5 | 72.42 | 0 | 984.62 | 3.14 | 278 |
| 20/04/2019 | 22.25 | 28.2 | 17 | 71.21 | 0 | 985.17 | 3.1 | 258 |
| 21/04/2019 | 22.16 | 28.1 | 17.7 | 71.46 | 0 | 985.24 | 2.84 | 273 |
| 22/04/2019 | 22.16 | 28.7 | 17 | 70.67 | 0 | 984.7 | 3.18 | 265 |
| 23/04/2019 | 22.43 | 28 | 17.7 | 70.17 | 0 | 985.06 | 3.34 | 269 |
| 24/04/2019 | 22.12 | 27.1 | 18.9 | 73.79 | 0 | 984.36 | 3 | 271 |
| 25/04/2019 | 22.6 | 27.9 | 18.9 | 74.58 | 0 | 984.32 | 3.03 | 272 |
| 26/04/2019 | 21.6 | 27.3 | 18.4 | 76.92 | 0 | 984.08 | 3.11 | 279 |

Continuación

| mes/año | Temperatura (°c) | | | Humedad (%) | Lluvia (mm) | Presion (mb) | Velocidad del Viento (m/s) | Direccion del Viento |
|------------|------------------|------|------|-------------|-------------|--------------|----------------------------|----------------------|
| | Prom | Max | Min | | | | | |
| 27/04/2019 | 20.28 | 25.4 | 16.9 | 78.63 | 0 | 982.86 | 3.32 | 271 |
| 28/04/2019 | 20 | 25.1 | 16.4 | 78.58 | 0 | 982.58 | 2.81 | 271 |
| 29/04/2019 | 20.78 | 27 | 17.3 | 75.29 | 0 | 983.69 | 2.79 | 266 |
| 30/04/2019 | 21.1 | 27 | 16.9 | 73.67 | 0 | 983.25 | 2.95 | 265 |
| 1/05/2019 | 20.75 | 27 | 16.8 | 75.17 | 0 | 982.88 | 3.03 | 269 |
| 2/05/2019 | 19.72 | 25.9 | 15.6 | 77.88 | 0 | 983 | 3.03 | 270 |
| 3/05/2019 | 18.96 | 23.5 | 15.9 | 77.13 | 0 | 983.9 | 3.08 | 310 |
| 4/05/2019 | 20.43 | 27.6 | 15 | 72.63 | 0 | 983.2 | 2.84 | 277 |
| 5/05/2019 | 21.95 | 28.2 | 17.1 | 72.42 | 0 | 982.65 | 2.99 | 313 |
| 6/05/2019 | 21.13 | 27.3 | 17.8 | 76.5 | 0.6 | 983.29 | 3.18 | 286 |
| 7/05/2019 | 18.35 | 21 | 16.3 | 83.71 | 0 | 984.67 | 2.77 | 255 |
| 8/05/2019 | 19.73 | 25.4 | 17 | 77.54 | 0 | 985.29 | 2.64 | 257 |
| 9/05/2019 | 20.03 | 25 | 15.7 | 76.63 | 0 | 984.75 | 3.06 | 303 |
| 10/05/2019 | 18.98 | 21.8 | 16.9 | 81.75 | 0 | 985.37 | 2.87 | 269 |
| 11/05/2019 | 19.45 | 22.2 | 17 | 80.25 | 0 | 984.73 | 2.07 | 275 |
| 12/05/2019 | 19.05 | 23.8 | 14.8 | 79.83 | 0 | 985.73 | 3.02 | 291 |
| 13/05/2019 | 21.43 | 27.6 | 16.6 | 72.42 | 0 | 985.81 | 3.08 | 278 |
| 14/05/2019 | 20.17 | 26.4 | 15.9 | 77.88 | 0 | 984.54 | 2.91 | 287 |
| 15/05/2019 | 17.85 | 20.8 | 16.1 | 85.63 | 0 | 984.98 | 2.93 | 266 |
| 16/05/2019 | 17.15 | 18.5 | 16.5 | 87.58 | 0 | 985.82 | 2.4 | 290 |
| 17/05/2019 | 17.41 | 22.5 | 14.3 | 82.42 | 0.3 | 985.96 | 2.75 | 263 |
| 18/05/2019 | 17.48 | 23 | 13.4 | 81.38 | 0 | 985.07 | 2.39 | 285 |
| 19/05/2019 | 18.7 | 24.5 | 15.2 | 77.04 | 0 | 986.23 | 2.75 | 271 |
| 20/05/2019 | 19.54 | 25.3 | 15.5 | 75.08 | 0 | 985.64 | 2.95 | 277 |
| 21/05/2019 | 18.1 | 24.3 | 14 | 80.88 | 0.3 | 984.31 | 2.5 | 266 |
| 22/05/2019 | 18.1 | 22.5 | 16.1 | 83.25 | 0 | 984.84 | 2.8 | 281 |
| 23/05/2019 | 17.17 | 18.8 | 16.6 | 87.13 | 0 | 985.96 | 2.56 | 258 |
| 24/05/2019 | 16.43 | 17.4 | 15.9 | 92.63 | 1.5 | 986.34 | 2.34 | 258 |
| 25/05/2019 | 17.23 | 18.9 | 15.8 | 86.42 | 0.3 | 985.96 | 2.01 | 242 |
| 26/05/2019 | 17.38 | 19.5 | 16.1 | 87.71 | 0.6 | 986.64 | 2.36 | 291 |
| 27/05/2019 | 18 | 21.9 | 16.2 | 79.5 | 0 | 986.45 | 3.62 | 275 |
| 28/05/2019 | 16.2 | 18.6 | 13.3 | 84.25 | 0.1 | 985.59 | 2.33 | 258 |
| 29/05/2019 | 16.83 | 20.7 | 14.4 | 80.38 | 0 | 986.48 | 2.23 | 269 |

Continuación

| Día/mes/año | Temperatura (°c) | | | Humedad (%) | Lluvia (mm) | Presion (mb) | Velocidad del Viento (m/s) | Direccion del Viento |
|-------------|------------------|------|------|-------------|-------------|--------------|----------------------------|----------------------|
| | Prom | Max | Min | | | | | |
| 30/05/2019 | 17.21 | 21.4 | 13.9 | 81.25 | 0 | 987.73 | 2.61 | 271 |
| 31/05/2019 | 16.65 | 18.5 | 15.8 | 88.88 | 1.2 | 988.73 | 2.26 | 261 |
| 1/06/2019 | 16.81 | 18.2 | 16 | 86.08 | 0 | 987.65 | 2.42 | 264 |
| 2/06/2019 | 17.79 | 22.3 | 15.6 | 81.75 | 0 | 985.66 | 2.78 | 282 |
| 3/06/2019 | 16.86 | 20.4 | 15.7 | 85.04 | 0 | 985.15 | 2.84 | 268 |
| 4/06/2019 | 15.74 | 17 | 14.8 | 88.42 | 0.3 | 986.29 | 2.53 | 239 |
| 5/06/2019 | 15.9 | 17.6 | 15 | 86.08 | 0.3 | 986.35 | 2.48 | 276 |
| 6/06/2019 | 16.3 | 19.8 | 14.7 | 85.25 | 0.3 | 986.85 | 2.31 | 248 |
| 7/06/2019 | 16.15 | 17.5 | 15 | 86.54 | 0 | 986.38 | 2.43 | 277 |
| 8/06/2019 | 16.95 | 20.6 | 15.4 | 84 | 0 | 985.73 | 2.83 | 278 |
| 9/06/2019 | 16.67 | 19.7 | 13.7 | 85.96 | 0 | 985.8 | 2.38 | 277 |
| 10/06/2019 | 16.6 | 20.2 | 15.1 | 87.75 | 0.3 | 985.96 | 3.17 | 284 |
| 11/06/2019 | 16.71 | 19.9 | 15 | 85.33 | 0 | 986.31 | 3.4 | 271 |
| 12/06/2019 | 15.94 | 18.5 | 13.1 | 85.42 | 0.3 | 986.89 | 2.79 | 330 |
| 13/06/2019 | 16.88 | 20.8 | 15.2 | 79.58 | 0 | 987.07 | 3.15 | 255 |
| 14/06/2019 | 16.6 | 19 | 15.5 | 82.04 | 0 | 987.73 | 2.69 | 253 |
| 15/06/2019 | 16.21 | 17.5 | 15.5 | 85.96 | 0 | 987.53 | 2.33 | 261 |
| 16/06/2019 | 16.33 | 19.3 | 15 | 85.88 | 0 | 984.7 | 2.46 | 240 |
| 17/06/2019 | 15.7 | 17.4 | 15 | 89.46 | 0.3 | 983.86 | 2.4 | 277 |
| 18/06/2019 | 15.2 | 16.2 | 14.5 | 91.96 | 0.6 | 984.05 | 2.61 | 272 |
| 19/06/2019 | 15.07 | 16.9 | 14.4 | 92.96 | 0.6 | 984.88 | 2.24 | 265 |
| 20/06/2019 | 15.22 | 16.5 | 14.3 | 92.83 | 0.4 | 985.64 | 2.34 | 237 |
| 21/06/2019 | 15.49 | 18.1 | 14.4 | 86.67 | 0.3 | 985.18 | 2.48 | 270 |
| 22/06/2019 | 15.1 | 17.5 | 14.1 | 89.54 | 0.3 | 986.78 | 2.35 | 258 |
| 23/06/2019 | 15.88 | 20.2 | 14.2 | 82.71 | 0.4 | 986.7 | 2.4 | 282 |
| 24/06/2019 | 16.36 | 20.7 | 13.9 | 79.21 | 0 | 987.43 | 2.96 | 283 |
| 25/06/2019 | 15.17 | 17.2 | 12.6 | 84.5 | 0 | 986.92 | 2.65 | 253 |
| 26/06/2019 | 15.95 | 21.1 | 13 | 82.21 | 0.3 | 984.93 | 2.35 | 271 |
| 27/06/2019 | 16.17 | 20.7 | 13.6 | 81.38 | 0 | 983.7 | 2.53 | 269 |
| 28/06/2019 | 16.81 | 20.4 | 15.1 | 80.71 | 0 | 983.86 | 3.05 | 251 |
| 29/06/2019 | 16.31 | 19.1 | 15.1 | 85.58 | 0 | 984.7 | 2.63 | 275 |
| 30/06/2019 | 15.96 | 17.9 | 15.2 | 90.88 | 0.9 | 986.63 | 2.03 | 247 |
| 1/07/2019 | 16.28 | 18.2 | 15.6 | 88.92 | 0 | 986.66 | 2.2 | 257 |
| 2/07/2019 | 16.05 | 17.8 | 15.1 | 84.67 | 0 | 986.55 | 2.65 | 231 |

Continuación

| Día/mes/año | Temperatura (°c) | | | Humedad (%) | Lluvia (mm) | Presion (mb) | Velocidad del Viento (m/s) | Direccion del Viento |
|-------------|------------------|------|------|-------------|-------------|--------------|----------------------------|----------------------|
| | Prom | Max | Min | | | | | |
| 3/07/2019 | 15.22 | 17.4 | 14.2 | 87.5 | 0.3 | 984.25 | 2.23 | 247 |
| 4/07/2019 | 15.15 | 16.8 | 13.9 | 85.92 | 0.3 | 985.18 | 2.33 | 259 |
| 5/07/2019 | 15.78 | 18.1 | 14.7 | 85.42 | 0 | 985.8 | 2.23 | 276 |

Anexo 2: Análisis de Varianza (ANOVA) del diámetro de crecimiento micelial a los 1, 3 y 6 días después de la siembra de *L. theobromae* en la prueba de medio envenenado utilizando productos de naturaleza química con un nivel de significancia de 0.05.

- Análisis de Varianza al primer día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| TRAT | 8 | 4376.00 | 547.000 | 9846.00 | <0.0001 |
| Error | 27 | 1.50 | 0.056 | | |
| Total | 35 | 4377.50 | | | |

- Análisis de Varianza al tercer día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| TRAT | 8 | 24918.3 | 3114.79 | 43406.1 | <0.0001 |
| Error | 27 | 1.9 | 0.07 | | |
| Total | 35 | 24920.2 | | | |

- Análisis de Varianza al sexto día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| TRAT | 8 | 26487.5 | 3310.94 | 4360.75 | <0.0001 |
| Error | 27 | 20.5 | 0.76 | | |
| Total | 35 | 26508.0 | | | |

Anexo 3: Análisis de Varianza (ANOVA) del porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) a los 1, 3 y 6 días después de la siembra de *L. theobromae* para la prueba de medio envenenado productos de naturaleza química con un nivel de significancia de 0.05.

- Análisis de Varianza al primer día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|--------|----|---------|---------|---------|---------|
| TRAT | 8 | 36766.2 | 4595.77 | 24468.4 | <0.0001 |
| Error | 27 | 5.1 | 0.19 | | |
| Total | 35 | 36771.2 | | | |

- Análisis de Varianza al tercer día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|--------|----|---------|---------|---------|---------|
| TRAT | 8 | 34489.0 | 4311.13 | 43717.7 | <0.0001 |
| Error | 27 | 2.7 | 0.10 | | |
| Total | 35 | 34491.7 | | | |

- Análisis de Varianza al sexto día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| TRAT | 8 | 36661.3 | 4582.66 | 4363.54 | <0.0001 |
| Error | 27 | 28.4 | 1.05 | | |
| Total | 35 | 36689.6 | | | |

Anexo 4: Análisis de Varianza (ANOVA) del diámetro de crecimiento micelial a los 1, 3 y 6 días después de la siembra de *L. pseudotheobromae* en la prueba de medio envenenado utilizando productos de naturaleza química con un nivel de significancia de 0.05.

- Análisis de Varianza al primer día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| TRAT | 8 | 4253.47 | 531.684 | 994.32 | <0.0001 |
| Error | 27 | 14.44 | 0.535 | | |
| Total | 35 | 4267.91 | | | |

- Análisis de Varianza al tercer día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| TRAT | 8 | 38124.5 | 4765.56 | 1066.14 | <0.0001 |
| Error | 27 | 120.7 | 4.47 | | |
| Total | 35 | 38245.2 | | | |

- Análisis de Varianza al sexto día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| TRAT | 8 | 39560.4 | 4945.05 | 2810.87 | <0.0001 |
| Error | 27 | 47.5 | 1.76 | | |
| Total | 35 | 396 | | | |

Anexo 5: Análisis de Varianza (ANOVA) del porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) a los 1, 3 y 6 días después de la siembra de *L. theobromae* para la prueba de medio envenenado productos de naturaleza química con un nivel de significancia de 0.05.

- Análisis de Varianza al primer día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|--------|----|---------|---------|--------|---------|
| TRAT | 8 | 50730.9 | 6341.37 | 789.82 | <0.0001 |
| Error | 27 | 216.8 | 8.03 | | |
| Total | 35 | 50947.7 | | | |

- Análisis de Varianza al tercer día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|--------|----|---------|---------|---------|---------|
| TRAT | 8 | 52768.1 | 6596.01 | 1066.72 | <0.0001 |
| Error | 27 | 167.0 | 6.18 | | |
| Total | 35 | 52935.0 | | | |

- Análisis de Varianza al sexto día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| TRAT | 8 | 54754.6 | 6844.33 | 2809.08 | <0.0001 |
| Error | 27 | 65.8 | 2.44 | | |
| Total | 35 | 54820.4 | | | |

Anexo 6: Análisis de Varianza (ANOVA) del diámetro de crecimiento micelial a los 1, 3 y 6 días después de la siembra de *L.theobromae* en la prueba de medio envenenado utilizando productos biológicos con un nivel de significancia de 0.05.

- Análisis de Varianza al primer día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|--------|----|---------|---------|--------|---------|
| TRAT | 2 | 1180.17 | 590.083 | 494.02 | <0.0001 |
| Error | 9 | 10.75 | 1.194 | | |
| Total | 11 | 1190.92 | | | |

- Análisis de Varianza al tercer día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|--------|----|---------|---------|---------|---------|
| TRAT | 2 | 16394.0 | 8197.00 | 6706.64 | <0.0001 |
| Error | 9 | 11.0 | 1.22 | | |
| Total | 11 | 16405.0 | | | |

- Análisis de Varianza al sexto día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| TRAT | 2 | 16394.0 | 8197.00 | 6706.64 | <0.0001 |
| Error | 9 | 11.0 | 1.22 | | |
| Total | 11 | 16405.0 | | | |

Anexo 7: Análisis de Varianza (ANOVA) del porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) a los 1, 3 y 6 días después de la siembra de *L. theobromae* para la prueba de medio envenenado productos biológicos con un nivel de significancia de 0.05.

- Análisis de Varianza al primer día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|--------|----|---------|---------|---------|---------|
| TRAT | 2 | 20471.5 | 10235.8 | 1553.91 | <0.0001 |
| Error | 9 | 59.3 | 6.6 | | |
| Total | 11 | 20530.8 | | | |

- Análisis de Varianza al tercer día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|--------|----|---------|---------|---------|---------|
| TRAT | 2 | 22690.7 | 11345.4 | 6697.51 | <0.0001 |
| Error | 9 | 15.2 | 1.7 | | |
| Total | 11 | 22706.0 | | | |

- Análisis de Varianza al sexto día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| TRAT | 2 | 22690.7 | 11345.4 | 6697.51 | <0.0001 |
| Error | 9 | 15.2 | 1.7 | | |
| Total | 11 | 22706.0 | | | |

Anexo 8: Análisis de Varianza (ANOVA) del diámetro de crecimiento micelial a los 1, 3 y 6 días después de la siembra de *L. pseudotheobromae* en la prueba de medio envenenado utilizando productos biológicos con un nivel de significancia de 0.05.

- Análisis de Varianza al primer día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|--------|----|---------|---------|---------|---------|
| TRAT | 2 | 1551.29 | 775.646 | 1283.83 | <0.0001 |
| Error | 9 | 5.44 | 0.604 | | |
| Total | 11 | 1556.73 | | | |

- Análisis de Varianza al tercer día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|--------|----|---------|---------|---------|---------|
| TRAT | 2 | 16150.2 | 8075.08 | 3502.45 | <0.0001 |
| Error | 9 | 20.8 | 2.31 | | |
| Total | 11 | 16170.9 | | | |

- Análisis de Varianza al sexto día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| TRAT | 2 | 16150.2 | 8075.08 | 3502.45 | <0.0001 |
| Error | 9 | 20.8 | 2.31 | | |
| Total | 11 | 16170.9 | | | |

Anexo 9: Análisis de Varianza (ANOVA) del porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) a los 1, 3 y 6 días después de la siembra de *L. pseudotheobromae* para la prueba de medio envenenado productos biológicos con un nivel de significancia de 0.05.

- Análisis de Varianza al primer día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|--------|----|---------|---------|---------|---------|
| TRAT | 2 | 20327.1 | 10163.5 | 1275.27 | <0.0001 |
| Error | 9 | 71.7 | 8.0 | | |
| Total | 11 | 20398.8 | | | |

- Análisis de Varianza al tercer día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|--------|----|---------|---------|---------|---------|
| TRAT | 2 | 22356.2 | 11178.1 | 3442.06 | <0.0001 |
| Error | 9 | 29.2 | 3.2 | | |
| Total | 11 | 22385.4 | | | |

Análisis de Varianza al sexto día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| TRAT | 2 | 22356.2 | 11178.1 | 3442.06 | <0.0001 |
| Error | 9 | 29.2 | 3.2 | | |
| Total | 11 | 22385.4 | | | |

Anexo 10: Análisis de Varianza (ANOVA) del diámetro de crecimiento micelial a los 1, 3 y 6 días después de la siembra de *L.theobromae* en la prueba de enfrentamiento utilizando agentes biológicos con un nivel de significancia de 0.05

- Análisis de Varianza al primer día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|--------|----|---------|---------|-------|--------|
| TRAT | 2 | 56.0000 | 28.0000 | 15.75 | 0.0011 |
| Error | 9 | 16.0000 | 1.7778 | | |
| Total | 11 | 72.0000 | | | |

- Análisis de Varianza al tercer día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|--------|----|---------|---------|---------|---------|
| TRAT | 2 | 4245.50 | 2122.75 | 1232.56 | <0.0001 |
| Error | 9 | 15.50 | 1.72 | | |
| Total | 11 | 4261.00 | | | |

- Análisis de Varianza al sexto día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| TRAT | 2 | 4245.50 | 2122.75 | 1232.56 | <0.0001 |
| Error | 9 | 15.50 | 1.72 | | |
| Total | 11 | 4261.00 | | | |

Anexo 11: Análisis de Varianza (ANOVA) del diámetro de crecimiento micelial a los 1, 3 y 6 días después de la siembra de *L. pseudotheobromae* en la prueba de enfrentamiento utilizando agentes biológicos con un nivel de significancia de 0.05.

- Análisis de Varianza al primer día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|--------|----|---------|---------|-------|--------|
| TRAT | 2 | 173.375 | 86.6875 | 11.44 | 0.0034 |
| Error | 9 | 68.188 | 7.5764 | | |
| Total | 11 | 241.563 | | | |

- Análisis de Varianza al tercer día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|--------|----|---------|---------|--------|---------|
| TRAT | 2 | 4660.67 | 2330.33 | 566.84 | <0.0001 |
| Error | 9 | 37.00 | 4.11 | | |
| Total | 11 | 4697.67 | | | |

- Análisis de Varianza al sexto día de evaluación.

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| TRAT | 2 | 4660.67 | 2330.33 | 566.84 | <0.0001 |
| Error | 9 | 37.00 | 4.11 | | |
| Total | 11 | 4697.67 | | | |

Anexo 12: Análisis de Varianza (ANOVA) del porcentaje de área enferma después de la inoculación de la *L. theobromae* en la prueba de eficacia de fungicidas en condiciones de campo con un nivel de significancia de 0.05

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| TRATAMIEN | 10 | 5799.40 | 579.940 | 190.97 | <0.0001 |
| Error | 44 | 133.62 | 3.037 | | |
| Total | 54 | 5933.02 | | | |

Anexo 13: Análisis de Varianza (ANOVA) del porcentaje de área enferma después de la inoculación de la *L. pseudotheobromae* en la prueba de eficacia de fungicidas en condiciones de campo con un nivel de significancia de 0.05

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| TRATAMIEN | 10 | 5027.28 | 502.728 | 106.45 | <0.0001 |
| Error | 44 | 207.80 | 4.723 | | |
| Total | 54 | 5235.08 | | | |