

**Manejo de *Phytophthora parasitica* en azaleas
(*Rhododendron obtusum*) utilizando productos
biológicos, químicos y fertilizantes**

Eva Berenice Rivera Del Cid

Zamorano, Honduras
Diciembre, 2008

ZAMORANO
CARRERA DE CIENCIA Y PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

**Manejo de *Phytophthora parasitica* en azaleas
(*Rhododendron obtusum*) utilizando productos
biológicos, químicos y fertilizantes**

Proyecto especial presentado como requisito parcial
para optar al título de Ingeniera Agrónoma
en el Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Eva Berenice Rivera Del Cid

Zamorano, Honduras
Diciembre, 2008

Manejo de *Phytophthora parasitica* en azaleas (*Rhododendron obtusum*) utilizando productos biológicos, químicos y fertilizantes

Presentado por

Eva Berenice Rivera Del Cid

Aprobado:

Alfredo Rueda, Ph.D.
Asesor principal

Miguel Vélez, Ph.D.
Director de Carrera Ciencia
y Producción Agropecuaria

Rogelio Trabanino, M.Sc.
Asesor

Raúl Espinal, Ph.D.
Decano Académico

Phil Arneson, Ph.D.
Asesor

Kenneth L. Hoadley, D.B.A.
Rector

Abelino Pitty, Ph.D.
Coordinador de Área
Temática Fitotecnia

RESUMEN

Rivera, E. 2008. Manejo de *Phytophthora parasitica* en azaleas (*Rhododendron obtusum*) utilizando productos biológicos, químicos y fertilizantes. Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria. Zamorano, Honduras. 15 p.

La pudrición del tallo y de la raíz causada por *Phytophthora* es una de las enfermedades de mayor importancia económica del género *Rhododendron*. El crecimiento y reproducción de *Phytophthora* es más acelerado en suelos arcillosos o mal drenados. El objetivo de este experimento fue evaluar tres productos para el manejo de la enfermedad de la pudrición del tallo y la raíz causada por *Phytophthora parasitica*. Los productos evaluados fueron: Plant Growth Activator Plus (PGA+[®], Organica, EE.UU.), es un producto biológico que promueve el restablecimiento de microorganismos biológicos en el suelo, Subdue Maxx[®] (Syngenta Crop Protection Inc, EE.UU), es un fungicida sistémico, pertenece al grupo de las fenilaminas y pHORUS[®] (UAS of Americas, Inc, EE.UU.), es un fertilizante líquido soluble en agua, derivado del ácido fosforoso (H₃PO₃), perteneciente al grupo de los fosfonatos, activan la resistencia sistemática inducida. El experimento tuvo una duración de diez semanas y se llevó a cabo en un invernadero de la Universidad de Florida, Gainesville, EE.UU. Las plantas se mantuvieron anegadas para favorecer el crecimiento del patógeno. Se analizaron seis variables: condición de la planta (con escala), altura (cm), peso del tallo y de las raíces (g) y condición de las raíces (escala) y la mortalidad (%). Con el uso de contrastes ortogonales se encontró diferencia significativa (P< 0.05) al comparar el control inoculado con el control no inoculado, afirmando así la patogenicidad de *Phytophthora parasitica* utilizado en el ensayo. Ningún tratamiento aumentó significativamente la altura de las plantas. El uso de los productos en forma individual limitó el progreso de la enfermedad. PGA+[®] resultó ser el producto más efectivo para el manejo de *Phytophthora parasitica* ya que se comportó mejor que el control inoculado en todas las variables analizadas. Subdue Maxx[®] y pHORUS[®] fueron los mejores productos para reducir la mortalidad. Las combinaciones de los productos en general se comportaron igual o peor que el control inoculado.

Palabras clave: Ácido fosforoso, control biológico, fertilizante, fitoalexinas, fosfito, mefenoxam, pHORUS, PGA, SAR.

ABSTRACT

Rivera, E. 2008. Management of *Phytophthora parasitica* in azaleas (*Rhododendron obtusum*) with biological products, chemicals and fertilizers. Graduation Project (Thesis) of the B.Sc. program in Agricultural Science and Production. Zamorano, Honduras. 15 p.

Stem and root rot disease caused by *Phytophthora* is among the most damaging diseases of many herbaceous and woody ornamentals. This disease is of great economic importance, as it attacks members of the *Rhododendron* genus. Growth and development of *Phytophthora* is more accelerated on clay soils and on poorly-drained, waterlogged soils. This study evaluated the effectiveness of three products and their combinations for the management of root and stem rot disease caused by *Phytophthora parasitica*. The products evaluated were: Plant Growth Activator Plus® (PGA+, Organica Biotech Inc, USA), a biological product that promotes the reestablishment of microbiological organisms on the soil; Subdue Maxx® (Syngenta, USA), a systemic fungicide whose active ingredient is mefenoxam (22%) and it belongs to the phenylamide group; and pHORUS® a water-soluble liquid fertilizer derived from phosphorous acid (H₃PO₃), belonging to the phosphonate group, which help to activate the system of acquire resistance (SAR) of plants. The treatments included combinations of PGA+ with pHORUS and PGA+ with Subdue Maxx. The experiment was conducted using 4 week old azaleas and had a duration of ten weeks. The experiment was carried out in a greenhouse at the University of Florida, Gainesville, Florida, USA. To favor the development of *Phytophthora parasitica*, the pots were placed on plates which we kept filled with water throughout the experiment. The effectiveness of the treatments was evaluated by: plant condition (scale), height (cm), fresh stem and root weight (g), root condition (scale) and plant mortality (%). With orthogonal contrast analysis, using a significant level of $P \leq 0.05$, significant differences were found between the inoculated control and the non-inoculated control, indicating the pathogenicity of *Phytophthora parasitica* used on the experiment. No differences were observed among the treatments and the positive control in plant height. The use of the products alone limited the progress of the disease. Overall, PGA+ was the most effective product for the management of *Phytophthora parasitica*. Subdue Maxx and pHORUS were the most effective treatments in reduction of plant mortality. The product combinations had similar or even worse results than the inoculated control.

Keywords: Biological control, phosphite, mefenoxam, pHORUS, phosphorous acid, SAR, Subdue Maxx.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Abstract	iv
Contenido	v
Índice de cuadros y anexos	vi

INTRODUCCIÓN	1
MATERIALES Y MÉTODOS	3
RESULTADOS	5
DISCUSIÓN	10
CONCLUSIONES	12
RECOMENDACIONES	12
LITERATURA CITADA	13
ANEXOS	15

ÍNDICE DE CUADROS Y ANEXOS

Cuadro		Página
1	Tratamientos utilizados en el experimento.....	4
2	Contraste ortogonal entre tratamientos en la condición de las azaleas, a los 56 días después de haber sido inoculadas.	5
3	Contraste ortogonal entre tratamientos de la altura de las azaleas, a los 56 días después de haber sido inoculadas.....	6
4	Contraste ortogonal entre tratamientos de peso del tallo de las azaleas, al finalizar el experimento.....	6
5	Contraste ortogonal entre tratamientos del peso de las raíces de las azaleas, al finalizar el experimento.....	7
6	Contraste ortogonal entre tratamientos de la condición de las raíces de las azaleas, al finalizar el experimento.....	8
7	Contraste ortogonal entre tratamientos de la mortalidad de las azaleas, al finalizar el experimento.....	9
8	Resumen de los contrastes y las variables analizadas, 56 días después de haber inoculado las plantas con <i>Phytophthora parasitica</i>	11
Anexos		
1	Protocolo para la reproducción de esporas de <i>Phytophthora parasitica</i>	15

INTRODUCCIÓN

Las azaleas son miembros de la familia Ericaceae y pertenecientes al género *Rhododendron* del cual existen más de 1,000 especies en el mundo y cada año se introducen nuevos híbridos. En la actualidad, los altos costo de producción han ocasionando que muchos productores se retiren del mercado.

La pudrición del tallo y de la raíz causada por *Phytophthora* es una de las enfermedades de mayor importancia económica del género *Rhododendron*. Esta enfermedad fue reportada por primera vez en New Jersey en 1929, donde este patógeno del suelo ya había ocasionado varias perdidas en los viveros de los Estados Unidos (APS 1988). Esta enfermedad puede ser causada por varias especies del género *Phytophthora*, entre las cuales se encuentran *P. cinnamomi*, *P. citricola*, *P. cactorum* y *P. cryptogea* (Hagan y Mullen 1996). En la actualidad esta enfermedad causa daños en de todo el mundo, principalmente en suelos muy irrigados, en zonas donde se usan variedades susceptibles y en lugares con temperatura entre 15 y 23°C (Agrios 2005).

La pudrición del tallo y la raíz es muy común en plantas que tienen de uno a dos años de edad, particularmente en las que son producidas en contenedores (University of Illinois Extension 1998). El género *Rhododendron* es el más susceptible a esta devastadora enfermedad (Hagan y Mullen 1996). Entre los síntomas de la enfermedad se encuentra la caída de las hojas bajas, pudrición de la raíz y el tallo, decoloración de las hojas bajas (de verde oscuro a verde claro), color café-rojizo en los bordes de las hojas, enanismo o crecimiento retardado, marchitez vascular y necrosis en la raíz y el tallo. El crecimiento y reproducción de *Phytophthora* se ve beneficiado en suelos arcillosos o pesados y mal drenados o en lugares con alta precipitación.

Plant Growth Activator Plus (PGA+)® (Organica Biotech Inc, OMRI Certified, EE.UU.) fue formulado con el objetivo de promover y mejorar la viabilidad de las plantas creando un medio ideal para el crecimiento de las mismas. Contiene microorganismos benéficos como: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* y *Trichoderma*, amino ácidos esenciales, vitaminas, biotín, ácido fólico y azúcares naturales como fuente de energía (Organica Biotech Inc. 2004). Este producto microbial beneficia el suelo y las plantas mejorando la resistencia de éstas a condiciones extremas (frío, calor, sequía), mejora la disponibilidad y absorción de los nutrientes, estimula el crecimiento de las raíces, acelera la división celular y provee energía para el metabolismo de la planta. *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* y *Trichoderma* generan un antagonismo directo sobre el patógeno, producen metabolitos secundarios que son tóxicos para otros microorganismos o inhiben las actividades celulares (CATIE 2004).

Subdue Maxx[®] (Syngenta Crop Protection Inc, EE.UU.), es un fungicida sistémico, pertenece al grupo de las fenilaminas (Syngenta Crop Protection Inc 2008). Las fenilamidas inhiben el crecimiento del micelio y afectan la germinación de zoosporas debido a la pérdida de aminoácidos en el micelio (debilita las zoosporas en formación). El ingrediente activo de este producto es Mefenoxam (22%), el cual interfiere en la síntesis de ARN, inhibiendo a la enzima ARN polimerasa. Subdue Maxx[®] es muy efectivo reduciendo o suprimiendo la incidencia de *Phytophthora* (Linderman y Davis 2005).

Los fertilizantes pHORUS[®], 0-31-23 y 0-31-0 (UAS of Americas, Inc, EE.UU.), son fertilizantes líquidos solubles en agua, a base de ácido fosforoso (H₃PO₃), perteneciente al grupo de los fosfonatos. El fosfito, al igual que el ácido salicílico, activa el sistema de resistencia de las plantas. La resistencia ocurre cuando una o más fitoalexinas alcanzan una concentración suficiente para inhibir el patógeno (Mateos y Pérez 2003). “Todas las plantas generan compuestos antimicrobianos que se acumulan en la planta después de infecciones microbianas o fungosas. Estos compuestos se conocen como fitoalexinas” (Fertitec S.A. 2007). “La formación de fitoalexinas es estimulada por el fosfito cuando este entra al tejido de la planta lo reconoce como un metabolito del patógeno. Las fitoalexinas formadas a partir del fosfito tienen un efecto específico sobre los oomycetes” (USAID 2006)

Investigaciones realizadas anteriormente muestran que los productos a base de ácido fosforoso o fosfito estimulan o activan el sistema de resistencia de las plantas, aumentan el peso fresco del tallo y la raíz y ayudan a ejercer cierto control sobre *Phytophthora* (Vivanco *et al.* 2005, Mateos y Pérez 2003). El ácido fosforoso tiene un efecto indirecto sobre *Phytophthora*, estimula las defensas naturales de las plantas ante el ataque de patógenos (Brunings *et al.* 2005). El fosfito contiene una concentración de 39% de fósforo, la cual es más alta que la de los fertilizantes fosfatados que contienen 32% de fósforo. Debido a que el fosfito es altamente soluble, al ser aplicado al suelo se vuelve más disponible para los organismos y las raíces que el fosfato.

OBJETIVO

Evaluar la efectividad del uso de Plant Growth Activator Plus (PGA+[®]), Subdue Maxx[®] y pHORUS[®] para el manejo de la enfermedad de la pudrición del tallo y de la raíz causada por *Phytophthora parasitica* en azaleas (*Rhododendron obtusum*).

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en uno de los Invernaderos del Departamento de Fitopatología en la Universidad de Florida, Gainesville, EE.UU. La Universidad de Florida está ubicada en el condado de Alachua, situado a 29°39'55 " al norte, 82°20'10 " al oeste, cuenta con una temperatura mínima promedio entre los meses de enero a abril de 7° C y una máxima promedio de 23° C (FAWN Station 2008)¹.

El experimento se llevó a cabo utilizando azaleas de cinco semanas de edad. Las plantas se mantuvieron por 10 semanas en el invernadero, las primeras dos semanas fueron de adaptación para evitar el estrés. En la semana tres se comenzaron los tratamientos.

Se utilizaron 275 azaleas con características similares en cuanto a altura y condición aérea de la planta. La altura inicial de las plántulas fue de 10.5 cm. Las azaleas se ubicaron en la parte oeste del invernadero para protegerlas del sol y a medio metro del suelo para evitar la contaminación con otros patógenos. Las plantas se colocaron en maceteras de 15 cm con medio estéril de crecimiento a base de musgo, perlita, vermiculita y corteza finamente molida. Las maceteras fueron colocadas sobre platos de dos cm de profundidad para garantizar que el sustrato estuviese saturado y favorecer el movimiento del patógeno a través del medio. El riego se realizó en las horas frescas del día, entre las seis y las ocho a.m. o de cinco a seis p.m., según fue necesario.

Se empleó un fertilizante especial para azaleas (Azalea, Camellia & Gardenia Fertilizer, Sunniland[®], EE.UU.) con el objetivo de nutrir las plantas y acidificar el medio hasta obtener un pH entre 5 y 5.5, ideal para el crecimiento de las azaleas. Se fertilizó tres veces según la recomendación del producto utilizando 11 g por planta.

Inoculación del patógeno y aplicación de los tratamientos

Las azaleas se mantuvieron por 10 semanas en el invernadero, las primeras dos semanas fueron de adaptación. La primera aplicación de los tratamientos se realizó en la semana tres. En la semana cuatro se inocularon las plantas con *Phytophthora parasitica* con una suspensión de 1.4×10^5 zoosporas/mL, aplicando 100 mL por planta. Para la inoculación de las azaleas se utilizaron tres líneas (strains) de *Phytophthora parasitica* (*P. parasitica* 99-1064; *P. nicotiana* 99-1052; *P. nicotiana* 97-565), proporcionadas por el laboratorio de pruebas clínicas del programa Doctor en Medicina de Plantas, Universidad de Florida. Cada dos semanas se reaplicaron los tratamientos, la dosis de cada tratamiento se realizó con base en la cantidad de producto comercial que sería utilizado para 100 galones, según la recomendación de cada producto (Cuadro 1).

¹ Información obtenida de Florida Automated Weather Network (FAWN), Universidad de Florida.

Las plantas fueron monitoreadas semanalmente después de haber sido inoculadas con el patógeno. Se utilizaron los postulados de Koch para reaislar el patógeno de la planta y comprobar que efectivamente fue *Phytophthora parasitica* el organismo que ocasionó la enfermedad en las azaleas.

Cuadro 1. Tratamientos utilizados en el experimento.

Tratamientos sin inóculo	Dosis/100 gal.
Control &	‡
Control inoculado	‡
PGA+® &	1.0 lb
PGA+® &	5.0 lb
PGA+®	1.0 lb
PGA+®	5.0 lb
Subdue Maxx®	0.5 oz
pHORUS® 0-31-23	2.0 gal
PGA+® con Subdue Maxx®	1.0 lb; 0.5 oz
PGA+® con pHORUS® 0-31-23	1.0 lb; 2.0 gal
pHORUS® 0-31-0	2.0 gal

Cada tratamiento se reaplicó a un intervalo de dos semanas para un total de cuatro aplicaciones.

& Tratamientos no inoculados.

‡ Sólo se aplicó agua.

Semanalmente se realizó una evaluación visual de la condición de las plantas utilizando una escala de 1 a 6 (1 = mejor condición 2 = crecimiento y desarrollo limitado, 3 = cambio de coloración en las hojas, 4 = caída de las hojas bajas, 5 = planta débil, marchitez vascular, 6 = planta muerta) y se midió con una regla la altura de la planta hasta el meristemo apical, estos datos se tomaron en las horas de la tarde (4 y 5 p.m.), al final del día. Al finalizar el experimento se evaluó la condición de las raíces utilizando una escala de 1 al 5 (1 = 0 %, 2 = 1 – 10 %, 3 = 11 – 25 %, 4 = 26 – 50 %, 5 = 76-100% de daño) y se determinó el peso fresco (en gramos) del tallo y de las raíces y se determinó la mortalidad de las plantas en cada tratamientos.

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con 11 tratamientos y 25 repeticiones. Los resultados se analizaron utilizando Análisis de Varianza y Contrastes Ortogonales con el paquete estadístico Statistical Analysis System (SAS®), con un nivel de significancia de $P \leq 0.05$.

RESULTADOS

Condición de las azaleas. El inóculo tuvo efecto sobre la condición aérea de las plantas indicando que *Phytophthora parasitica* fue patogénico en las azaleas. El control inoculado mostró la peor incidencia de la enfermedad presentando los daños más severos en la condición de las plantas. El uso de PGA+[®] por si solo ayudó a disminuir la severidad de la enfermedad, resultando en plantas más saludables que el control inoculado. Subdue Maxx[®] y pHORUS[®] obtuvieron condición aérea menos severas que PGA+[®], sin embargo no existe diferencia significativa entre Subdue Maxx[®] y pHORUS[®] y el control inoculado. (Cuadro 2).

Cuadro 2. Contraste ortogonal entre tratamientos en la condición de las azaleas, a los 56 días después de haber sido inoculadas.

Tratamientos	Media	Tratamientos	Media	Pr > F
Control ^{&}	2.3	Control (+)	5.4	0.01
PGA 1 lb y 5 lb	4.7	Control (+)	5.4	0.01
pHORUS 0-31-23 y 0-31-0	3.7	Control (+)	5.4	0.15
Subdue Maxx	3.5	Control (+)	5.4	0.06
PGA 1 lb y 5 lb	4.5	pHORUS 0-31-23 y 0-31-0	3.3	0.01
PGA 1 lb y 5 lb	4.5	Subdue Maxx	3.5	0.01
pHORUS 0-31-23 y 0-31-0	3.3	Subdue Maxx	3.5	0.44
PGA (1 lb) + Subdue Maxx	5.2	PGA (1 lb) + pHORUS 0-31-23	5.6	0.68
PGA (1 lb) + Subdue Maxx	5.2	Control (+)	5.4	0.01
pHORUS 0-31-23	3.7	pHORUS 0-31-0	3.0	0.41

[&] Control sin el inóculo.

P ≤ 0.05

La condición de las plantas se midió con una escala del 1 al 6 en la cual 1= excelente condición y 6 = planta muerta. Los tratamientos que muestran mayor resistencia son los que se aproximan a 1.

Altura de las plantas. El control inoculado se vio afectado por la enfermedad obteniendo una altura de planta menor que las del control no inoculado. Ninguno de los tratamientos aumentó la altura de las plantas con respecto al control inoculado. Las plantas tratadas con pHORUS[®] 0-31-23 alcanzaron mayor altura que las plantas con pHORUS[®] 0-31-0 (Cuadro 3), se cree que se debió a las diferencias en el contenido de potasio.

Cuadro 3. Contraste ortogonal entre tratamientos de la altura de las azaleas, a los 56 días después de haber sido inoculadas.

Tratamientos	Altura (cm)	Tratamientos	Altura (cm)	Pr > F
Control &	24.7	Control (+)	21.8	0.01
PGA 1 lb y 5 lb	21.7	Control (+)	21.8	0.08
pHORUS 0-31-23 y 0-31-0	20.1	Control (+)	21.8	0.69
Subdue Maxx	21.4	Control (+)	21.8	0.32
PGA 1 lb y 5 lb	21.7	pHORUS 0-31-23 y 0-31-0	20.1	0.05
PGA 1 lb y 5 lb	21.7	Subdue Maxx	21.4	0.41
pHORUS 0-31-23 y 0-31-0	20.1	Subdue Maxx	21.4	0.41
PGA (1 lb) + Subdue Maxx	19.4	PGA (1 lb) + pHORUS 0-31-23	20.2	0.54
PGA (1 lb) + Subdue Maxx	19.4	Control (+)	21.8	0.30
pHORUS 0-31-23	21.4	pHORUS 0-31-0	19.5	0.01

& Control sin el inóculo.

$P \leq 0.05$

La altura de las plantas se midió desde la corona del tallo hasta el meristema apical.

Peso del tallo. El control inoculado se vio severamente afectado por la enfermedad obteniendo un peso de tallo (9.77 g) menor que el del control no inoculado (23.41 g). PGA+[®] fue el único producto que se diferencio significativamente ($P \leq 0.05$) del control inoculado. Los pesos del tallo con Subdue Maxx[®] y pHORUS[®] fueron superiores que los PGA+[®]. Los pesos de los tallos al combinar PGA+[®] con Subdue Maxx[®] fueron menores a los del control inoculado (Cuadro 4).

Cuadro 4. Contraste ortogonal entre tratamientos de peso del tallo de las azaleas, al finalizar el experimento.

Tratamientos	Peso (g)	Tratamientos	Peso (g)	Pr > F
Control &	23.41	Control (+)	9.77	0.01
PGA 1 lb y 5 lb	9.82	Control (+)	9.77	0.01
pHORUS 0-31-23 y 0-31-0	11.13	Control (+)	9.77	0.56
Subdue Maxx	15.87	Control (+)	9.77	0.66
PGA 1 lb y 5 lb	9.82	pHORUS 0-31-23 y 0-31-0	11.13	0.01
PGA 1 lb y 5 lb	9.82	Subdue Maxx	15.87	0.01
pHORUS 0-31-23 y 0-31-0	11.13	Subdue Maxx	15.87	0.88
PGA (1 lb) + Subdue Maxx	7.32	PGA (1 lb) + pHORUS 0-31-23	6.58	0.40
PGA (1 lb) + Subdue Maxx	7.32	Control (+)	9.77	0.01
pHORUS 0-31-23	12.31	pHORUS 0-31-0	9.96	0.24

& Control sin el inóculo.

$P \leq 0.05$

Peso de las raíces. El inóculo afectó severamente el crecimiento radicular, a las ocho semanas el peso fresco de las raíces de las plantas que no se inocularon fue tres veces mayor que el peso de las raíces de las plantas inoculadas. El uso de PGA+[®] fue efectivo aumentando el peso de las raíces, en comparación al control inoculado. El peso de las raíces utilizando PGA+[®] con Subdue Maxx[®] (7.93 g) fue menor que el peso de las raíces del control inoculado (16.07 g) (Cuadro 5).

Cuadro 5. Contraste ortogonal entre tratamientos del peso de las raíces de las azaleas, al finalizar el experimento.

Tratamientos	Peso (g)	Tratamientos	Peso (g)	Pr > F
Control &	49.51	Control (+)	16.07	0.01
PGA 1 lb y 5 lb	15.61	Control (+)	16.07	0.01
pHORUS 0-31-23 y 0-31-0	20.13	Control (+)	16.07	0.83
Subdue Maxx	27.56	Control (+)	16.07	0.77
PGA 1 lb y 5 lb	15.61	pHORUS 0-31-23 y 0-31-0	20.13	0.01
PGA 1 lb y 5 lb	15.61	Subdue Maxx	27.56	0.01
pHORUS 0-31-23 y 0-31-0	20.13	Subdue Maxx	27.56	0.89
PGA (1 lb) + Subdue Maxx	7.93	PGA (1 lb) + pHORUS 0-31-0	9.40	0.92
PGA (1 lb) + Subdue Maxx	7.93	Control (+)	16.07	0.01
pHORUS 0-31-23	23.77	pHORUS 0-31-0	16.50	0.09

& Control sin el inóculo.

P ≤ 0.05

Condición de las raíces. Las plantas no inoculadas presentaron condiciones en las raíces más saludables que las de las plantas inoculadas. PGA+[®] disminuyó la severidad del daño del patógeno en las raíces. La combinación de PGA+[®] con pHORUS[®] aumentó el daño ocasionado por el patógeno (Cuadro 6).

Cuadro 6. Contraste ortogonal entre tratamientos de la condición de las raíces de las azaleas, al finalizar el experimento.

Tratamientos	Media	Tratamientos	Media	Pr > F
Control ^{&}	2.3	Control (+)	4.1	0.01
PGA 1 lb y 5 lb	3.7	Control (+)	4.1	0.01
pHORUS 0-31-23 y 0-31-0	2.8	Control (+)	4.1	0.50
Subdue Maxx	2.6	Control (+)	4.1	0.57
PGA 1 lb y 5 lb	3.7	pHORUS 0-31-23 y 0-31-0	2.4	0.01
PGA 1 lb y 5 lb	3.7	Subdue Maxx	2.6	0.01
pHORUS 0-31-23 y 0-31-0	2.4	Subdue Maxx	2.6	0.92
PGA (1 lb) + Subdue Maxx	4.0	PGA (1 lb) + pHORUS 0-31-23	4.3	0.26
PGA (1 lb) + Subdue Maxx	4.0	Control (+)	4.1	0.01
pHORUS 0-31-23	2.1	pHORUS 0-31-0	2.8	0.26

[&] Control sin el inóculo.

P ≤ 0.05

La condición de las raíces se evaluó con una escala (1= 0% de infección y 5 = 75 al 100% de infección).

Mortalidad. El control inoculado tuvo una mortalidad del 48% a las ocho semanas, demostrando así la patogenicidad de *Phytophthora parasitica*. El control no inoculado tuvo una mortalidad del 12%. La mortalidad en el control no inoculado posiblemente se debió a una inoculación cruzada del patógeno al momento de regar las plantas. La combinación de PGA+ [®] con Subdue Maxx [®] tuvo mayor mortalidad que el control inoculado. El uso individual de PGA+ [®], Subdue Maxx [®] y pHORUS [®] ayudó a reducir la mortalidad de las plantas. pHORUS obtuvo menor mortalidad que PGA+ [®], sin embargo Subdue Maxx [®] fue el producto que tuvo la menor mortalidad de plantas (12%).

Cuadro 7. Contraste ortogonal entre tratamientos de la mortalidad de las azaleas, al finalizar el experimento.

Tratamientos	Mortalidad (%)	Tratamientos	Mortalidad (%)	Pr > F
Control &	12	Control (+)	48	0.01
PGA 1 lb y 5 lb	36	Control (+)	48	0.01
pHORUS 0-31-23 y 0-31-0	26	Control (+)	48	0.04
Subdue Maxx	12	Control (+)	48	0.01
PGA 1 lb y 5 lb	36	pHORUS 0-31-23 y 0-31-0	26	0.01
PGA 1 lb y 5 lb	36	Subdue Maxx	12	0.27
pHORUS 0-31-23 y 0-31-0	16	Subdue Maxx	12	0.36
PGA (1 lb) + Subdue Maxx	56	PGA (1 lb) + pHORUS 0-31-23	68	0.06
PGA (1 lb) + Subdue Maxx	56	Control (+)	48	0.01
pHORUS 0-31-23	36	pHORUS 0-31-0	16	0.11

& Control sin el inóculo.

P ≤ 0.05

DISCUSIÓN

En las variables analizadas se encontró una diferencia significativa entre el control inoculado y control no inoculado lo que afirma la patogenicidad de *Phytophthora parasitica* utilizado en el ensayo.

Ninguno de los tratamientos aumentó significativamente la altura de las plantas debido al efecto que tuvo el patógeno sobre la fisiología de las plantas reduciendo la capacidad fotosintética (Agrios 2005), esto debido a la pérdida de las hojas, clorosis y marchitez, (síntomas que se manifestaron a lo largo del experimento).

Los resultados de los tratamientos en los que se combinó PGA+[®] con Subdue Maxx[®] fueron iguales o peores que los del control inoculado (Cuadro 8). Se cree que la razón por la que se obtuvo mayor porcentaje de mortalidad y pesos más bajos que el control inoculado se debió a posibles problemas de fitotoxicidad al combinar estos productos.

El uso de los productos en forma individual limitó el progreso de la enfermedad. PGA+[®] resultó ser el producto más efectivo para el manejo de *Phytophthora parasitica*, obteniendo mejores resultados ($P \leq 0.05$) que el control inoculado en las variables analizadas.

Subdue Maxx[®] y pHORUS[®] fueron los tratamientos con los que se logró el mayor porcentaje de sobrevivencia. La razón por la cual se obtuvo mortalidades bajas (12%) con Subdue Maxx[®] (mefenoxam 22%) es porque este producto ejerce un buen control sobre *Phytophthora* limitando la reproducción y desarrollo del mismo. La mortalidad de los tratamientos con pHORUS fue baja (16%) debido a que el fosfito al entrar al tejido de la planta, es reconocido como un metabolito del patógeno, estimulando de esta manera el sistema de resistencia adquirida (SAR, por sus siglas en inglés). En respuesta la planta produce fitoalexinas, compuestos flavonoides que tienen un efecto directo sobre el patógeno. Las fitoalexinas formadas por el fosfito tienen un efecto específico sobre los oomicetes (Brunings *et al.* 2005, Mateos y Pérez 2003, Vivanco *et al.* 2005.).

Cuadro 8. Resumen de los contrastes y las variables analizadas, 56 días después de haber inoculado las plantas con *Phytophthora parasitica*.

Contraste		Condición de la planta	Altura de la planta	Peso del tallo	Peso de las raíces	Condición de las raíces	Mortalidad
Control ^{&}	Control (+)	++	++	++	++	++	++
PGA 1 lb y 5 lb	Control (+)	++	n.s.	++	++	++	++
pHORUS 0-31-23 y 0-31-0	Control (+)	++	n.s.	n.s.	n.s.	++	++
Subdue maxx	Control (+)	++	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	++
PGA 1 lb y 5 lb	pHORUS 0-31-23 y 0-31-0	--	++	--	--	--	--
PGA 1 lb y 5 lb	Subdue maxx	n.s.	n.s.	--	--	--	n.s.
PGA (1 lb) + Subdue maxx	Control (+)	++	n.s.	--	--	--	--
pHORUS 0-31-23	pHORUS 0-31-0	n.s.	--	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

[&] Control sin el inóculo.

++ Indica que existe diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre estos contrastes, siendo el tratamiento de la columna 1 mejor que el tratamiento de la columna 2.

-- Indica que existe diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre estos contrastes, siendo peor el tratamiento de la columna 1.

n.s. No existe diferencia significativa ($P > 0.05$) en las variables medidas en estos contraste.

CONCLUSIONES

- El uso de PGA+[®], pHORUS[®] y Subdue Maxx[®] en forma individual limitó el progreso de la enfermedad.
- Los resultados de las combinación de PGA+[®] con pHORUS[®] y Subdue Maxx[®] fueron iguales o peores que los del control inoculado.
- La menor mortalidad se obtuvo con Subdue Maxx[®] y pHORUS[®], siendo Subdue Maxx[®] el más efectivo.

RECOMENDACIONES

- Evaluar la combinación de Subdue Maxx[®] junto con pHORUS[®] ya con estos se obtuvo la menor mortalidad y presentaron condiciones superiores a las del control inoculado.
- Evitar la combinación de PGA+[®] con pHORUS[®] y de PGA+[®] con Subdue Maxx[®] ya que estos obtuvieron mayor mortalidad y condiciones iguales o peores que los de control inoculado
- Hacer aplicaciones preventivas de productos a base de fosfito ya que estos ayudan a inducir el mecanismo de defensa de las plantas mediante la producción de fitoalexinas.
- Evaluar el uso de PGA+[®] en suelos con drenaje óptimo.
- Repetir el ensayo utilizando una menor cantidad de agua de riego.

LITERATURA CITADA

Agrios, G. 2005. Plant Pathology: Plant diseases caused by fungi. Ed. D Dreibelbis. 5.ed. San Diego, California, US. Elsevier Academic Press. 922 p.

APS (American Phyttopathological Society, US). 1988. Compendium of Rhododendron and azaleas Diseases; diseases caused by infectious agents. St. Paul, Minnesota, US. 4 p.

Brunings, A.M., L.A. Datnoff y E.H. Simonne. 2005. Phosphorous Acid and Phosphoric Acid: When all P Sources are not Equal. Consultado 28 mar. 2008. Disponible en <http://edis.ifas.ufl.edu/HS254>

CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Costa Rica). 2004. Control biológico de plagas agrícolas; Control biológico de enfermedades de plantas. Costa Rica. 224 p.

Fertitec S.A. 2007. La tristeza de palto (*Phytophthora cinnamomi* Rands.) y el uso de fosfito de potasio. Consultado 18 abr. de 2008. Disponible en http://www.fertitec.com/PDF/Tristeza%20del%20palto%20y%20Fosfito%20de%20Potasio_Peru.pdf

Hagan, A. y J. Mullen. 1996. *Phytophthora* root rot on ornamentals. (en línea). Consultado 7 may. 2008. Disponible en <http://www.aces.edu/pubs/docs/A/ANR-0571/>

Linderman, R.G. y E.A. Davis. 2005. Evaluation of chemicals and biological agents for control of *Phytophthora* species on intact plants or detached leaves of *Rhododendron* and Lilac. (en línea). Consultado 23 mar. 2008. Disponible en http://www.fs.fed.us/psw/publications/documents/psw_gtr196/psw_gtr196_005_040Linderman.pdf

Lovatt, C.J., R.L. Mikkelsen. 2006. Fosfito: ¿Que es? ¿Se puede usar? ¿Que puede hacer? (en línea). Consultado 11 may. 2008. Disponible en [www.ipni.net/ppiweb/iaecu.nsf/\\$webindex/F42BE8104FD8DE5305257348005CB9B9/\\$file/Fosfito.pdf](http://www.ipni.net/ppiweb/iaecu.nsf/$webindex/F42BE8104FD8DE5305257348005CB9B9/$file/Fosfito.pdf)

Mateos, R. y R. Pérez. 2003. Fitoalexinas: Mecanismo de defensa de las plantas (en línea). Consultado 22 may. 2008. Disponible en <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/629/62990101.pdf>

Organica Biotech Inc, EE.UU. 2004. Plant growth activator plus biologically diverse microbial systems (en línea). Pennsylvania, US. Consultado 8 mar. 2008. Disponible en <http://www.organica.net/agrihortipga.asp>

Syngenta Crop Protection, Inc. 2008. Syngenta professional products: Subdue Maxx fungicide (en línea). North Carolina, US. Consultado 2 abr. 2008. Disponible en www.syngentaprofessionalproducts.com/PPMain.aspx.

United States Agency of International Development (USAID). 2006. El uso del ácido salicílico y fosfonatos (fosfito) para activar el sistema de resistencia de la planta (SAR). (en línea). Consultado 20 may. 2008. Disponible en http://www.fintrac.com/docs/RED/USAID_RED_Produccion_Uso_de_Acido_Salicilico_08_06.pdf

University of Illinois Extension. 1998. *Phytophthora* Root Rot and Dieback of Rhododendrons and Azaleas in the Midwest. (en línea). Consultado 15 jun. 2008. Disponible en <http://ipm.uiuc.edu/diseases/series600/rpd664/index.html>

Vivanco, J.M., E. Cosío, V.M. Loyola-Vargas y H.E. Flores. 2005. Mecanismos químicos de defensa en las plantas. (en línea). Consultado 7 may. 2008. Disponible en <http://crb.colostate.edu/home/Design/Assets/papers/Investigacion2005.pdf>

ANEXOS

Anexo 1.

Protocolo para la reproducción de esporas de *Phytophthora parasitica*

- a) Colocar el inóculo en un plato petri en Papa Dextrosa Agar Acidificado $\frac{1}{4}$ (APDA) por un periodo de 48-72 horas.
- b) Pasar un pedazo de micelio activo del APDA a un plato petri vacío. Llenar el plato petri con jugo V8 clarificado hasta alcanzar la superficie del “plug”. No sumergir ni que inundar el plato. Incubar los platos en la oscuridad a una temperatura de 28 °C por un periodo de 24-48 horas para que produzcan un “mycelial mat”.
- c) Remover el jugo V8 con una pipeta y lavar el “mycelium mat” tres veces con agua estéril (remover el agua con una pipeta).
- d) Luego del lavado se le agrega agua estéril a los platos con el “mat” y se incuban a temperatura ambiente bajo luz constante por un periodo de 24 horas.
- e) Examinar los cultivos para comprobar si hay presencia de esporangio. Si hay presencia de esporangio se prosigue a poner los platos en la refrigeradora por 15 a 20 minutos a una temperatura de 5 ° C y se dejan reposar por una hora a temperatura ambiente.
- f) Se prosigue a confirmar la presencia de zoosporas motiles con un microscopio
- g) Se recolectan los platos y se homogeniza el contenido con una licuadora.
- h) Determinar la concentración de zoosporas con un hemocitómetro.