

# La fertilización foliar como potencial herramienta de manejo para el control de *Phytophthora citrophthora* en cítricos

Aurora Moreno-Lora\*, Ana Aguado y Francisco J. Arenas-Arenas

Centro IFAPA Las Torres, Ctra. Sevilla-Cazalla Km 12.2, 41200, Sevilla.

## Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto antifúngico de un fertilizante foliar a base de cobre, zinc y azufre, sobre el crecimiento de *Phytophthora citrophthora* en medio de cultivo PDA y condiciones controladas, frente a un fungicida comercial a base de cobre y a un tratamiento con azufre. Para ello, se prepararon medios "envenenados" con el fertilizante a diferentes dosis (2, 3 y 4 cm<sup>3</sup> L<sup>-1</sup>), y con el fungicida (2,5 cm<sup>3</sup> L<sup>-1</sup>), como control negativo. También se incluyó un control positivo (sin tratamiento) y tres dosis de azufre (74,4; 111,6 y 148,8 mg L<sup>-1</sup>). Los medios se vertieron en placas Petri y se inocularon con micelio de *P. citrophthora*. A los 7 y 15 días después de la inoculación, se determinó el radio de crecimiento del micelio en las placas y se calculó el porcentaje de inhibición respecto al control positivo. El crecimiento del micelio fue menor en el medio fertilizado en comparación con el control positivo, mostrando una reducción significativa conforme al incremento de la concentración de fertilizante en el medio. De forma similar, el porcentaje de inhibición del crecimiento aumentó conforme a la dosis de fertilizante aplicada. A pesar de ello, no se observó un efecto fungicida con la aplicación del fertilizante. Los resultados mostraron que la aplicación del fertilizante tiene un efecto fungistático sobre el crecimiento de *P. citrophthora* en condiciones controladas. Esto sugiere que la fertilización foliar podría constituir una estrategia complementaria en el manejo integrado de enfermedades causadas por *Phytophthora* spp.

**Palabras clave:** Fungicida, fungistático, cobre, aguado, gomosis, podredumbre.

## Foliar fertilization as a potential management tool for controlling *Phytophthora citrophthora* in citrus

### Abstract

The objective of this study was to evaluate the antifungal effect of a copper, zinc, and sulphur-based foliar fertilizer on the growth of *Phytophthora citrophthora* in PDA culture medium under controlled conditions, and to compare it with a commercial copper-based fungicide and a sulphur treatment. To this end, "poisoned" media were prepared by adding the fertilizer at different doses (2, 3, and 4 cm<sup>3</sup> L<sup>-1</sup>), and the fungicide (2.5 cm<sup>3</sup> L<sup>-1</sup>) was used as a negative control. A positive control (untreated) and three sulphur doses (74.4, 111.6, and 148.8 mg L<sup>-1</sup>) were also included. The media were poured into Petri dishes before being inoculated with *P. citrophthora* mycelium. Seven and fifteen days after inoculation,

\* Autor para correspondencia: [aurora.moreno.lora@juntadeandalucia.es](mailto:aurora.moreno.lora@juntadeandalucia.es)

Cita del artículo: Moreno-Lora A., Aguado A., Arenas-Arenas F.J. (2025). La fertilización foliar como potencial herramienta de manejo para el control de *Phytophthora citrophthora* en cítricos. ITEA-Información Técnica Económica Agraria 121(4): 354-367. <https://doi.org/10.12706/itea.2025.012>



the mycelial growth radio on the plates was determined, and the percentage of inhibition was calculated relative to the positive control. Mycelial growth was lower in the fertilized medium compared to the positive control, exhibiting a significant reduction with increasing fertilizer concentration in the medium. Similarly, the percentage of growth inhibition increased with increasing applied dose. Despite of this, no fungicidal effect was observed with the application of the fertilizer. The results showed that fertilizer application had a fungistatic effect on the growth of *P. citrophthora* under controlled conditions. This suggests that foliar fertilization could be a complementary strategy in the integrated management of diseases caused by *Phytophthora* spp.

**Keywords:** Fungicide, fungistatic, copper, brown rot, gummosis, rot.

## Introducción

Uno de los principales problemas fitosanitarios en los cítricos es la incidencia de *Phytophthora* spp. (Tuset, 1995). Este oomiceto puede causar diversas enfermedades, como la caída de plántulas en viveros o “damping off”, la podredumbre de raíces, la podredumbre del pie o gomosis, y el aguado de frutos (Erwin y Ribeiro, 1996; Duran-Vila y Moreno, 2000; Vicent y Tuset, 2013). Aunque se encuentra fundamentalmente en el suelo, en forma de micelio o de estructura de resistencia (oosporas y clamidosporas), cuando las condiciones climáticas son favorables para su desarrollo (elevada humedad y temperatura suave) produce esporangios y libera zoosporas (Tuset et al., 1990). Las zoosporas son estructuras infectivas que se ven atraídas por los exudados radiculares y, una vez que entran en contacto con la raíz, infectan el tejido produciendo podredumbre. Estas zoosporas se mueven a través del agua, por lo que pueden ser transportadas a grandes distancias por efecto de las lluvias y los riegos abundantes, llegando a infectar el tronco y los frutos (Erwin et al., 1983; Matheron y Matejka, 1993). El ciclo se repite tantas veces como las condiciones climáticas sean favorables y los tejidos susceptibles (Graham y Menge, 1999).

En la cuenca mediterránea, *P. citrophthora* es la principal especie causante del aguado y la gomosis de los cítricos (Graham et al., 1998). Su control puede ser difícil y costoso ya que

puede desarrollar resistencia a los fungicidas sistémicos, y los productos de contacto a base de cobre parecen ofrecer únicamente una acción preventiva (Vicent y Tuset, 2013). No obstante, algunos estudios señalan que la aplicación foliar de micronutrientes, especialmente de cobre y zinc, puede ser efectiva en la reducción de *P. infestans* en patata (Trehan et al., 1995). En ese sentido, los compuestos de óxido de cobre parecen tener más eficacia que el sulfato de cobre (Henderson, 1945), aunque este último presenta una acción protectora frente a la infección cuando se aplica como una solución diluida (Halsall, 1977). Por ello, cabe suponer que la aplicación foliar de un fertilizante a base de cobre, zinc y azufre podría contribuir a reducir el crecimiento de *P. citrophthora* en los cítricos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto antifúngico de un fertilizante foliar a base de cobre, zinc y azufre sobre el crecimiento de *P. citrophthora* en medio de cultivo PDA y condiciones controladas, frente a un fungicida comercial en base a cobre.

## Material y métodos

### Aislado de *Phytophthora citrophthora*

El aislado de *P. citrophthora* (nº de la cepa 23/078) fue suministrado por el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) y cultivado en placas con medio de Patata Dex-

trosa Agar PDA ( $39 \text{ g L}^{-1}$ ) que se refrescaron, al menos, cada 30 días. Para incrementar su virulencia frente a cítricos (Huang et al., 2019), se tomaron seis botones de PDA inoculados y se colocaron sobre la superficie de un fruto de naranja, previamente desinfectada con lejía. Se colocó en un recipiente estéril con gasas húmedas y se dejó crecer durante 7 días. Una vez que se observó crecimiento de micelio, se recogieron trozos de tejido sintomático y se colocaron de nuevo en placas con PDA. Las placas se mantuvieron en cámara de cultivo a  $28^\circ\text{C}$  en oscuridad.

### **Diseño experimental**

#### **Ensayo 1: Efecto del cobre**

La evaluación del efecto antifúngico del fertilizante (Elicimem zynergy, Ibermem) se realizó a tres dosis;  $2 \text{ cm}^3 \text{ L}^{-1}$ ,  $3 \text{ cm}^3 \text{ L}^{-1}$  y  $4 \text{ cm}^3 \text{ L}^{-1}$ , mientras que el producto fungicida se aplicó a su dosis comercial;  $2,5 \text{ cm}^3 \text{ L}^{-1}$  (Inacop L, Sipcam Iberia). La composición del fertilizante (p/v) fue de 2,66 %, 4,72 % y 9,10 % de cobre, zinc y trióxido de azufre, respectivamente, y del fungicida comercial del 38 % (p/v) de oxiclورو de cobre. Se incluyó un control sin tratar para conocer el crecimiento natural de *P. citrophthora* en placa.

Se establecieron los siguientes tratamientos:

- T1. Control sin tratamiento (control positivo).
- T2. Fertilizante foliar a dosis baja ( $2 \text{ cm}^3 \text{ L}^{-1}$ ; equivalente a 53,2 mg Cu).
- T3. Fertilizante foliar a dosis media ( $3 \text{ cm}^3 \text{ L}^{-1}$ ; equivalente a 79,8 mg Cu).
- T4. Fertilizante foliar a dosis alta ( $4 \text{ cm}^3 \text{ L}^{-1}$ ; equivalente a 106,4 mg Cu).
- T5. Fungicida a dosis comercial ( $2,5 \text{ cm}^3 \text{ L}^{-1}$ ; equivalente a 565,3 mg Cu) (control negativo).

El diseño experimental de este primer ensayo incluyó, por tanto, 5 tratamientos con 5 repeticiones (una placa por repetición) de cada uno ( $n = 25$ ), distribuidos aleatoriamente dentro de la cámara de cultivo.

#### **Ensayo 2: Efecto del cobre y el azufre**

El mismo diseño se utilizó para un segundo ensayo en el que se incluyeron, además de los tratamientos anteriores, tres nuevos tratamientos de azufre (98 % p/p); T6 ( $74,4 \text{ mg L}^{-1}$ ), T7 ( $111,6 \text{ mg L}^{-1}$ ) y T8 ( $148,8 \text{ mg L}^{-1}$ ) cuya concentración era equivalente a la de azufre en los tratamientos T2, T3 y T4, respectivamente. En total se incluyeron 8 tratamientos con 6 repeticiones de cada uno, distribuidos al azar. Este segundo ensayo se repitió por triplicado (bloques I, II y III), empleándose un total de 144 placas.

### **Condiciones de crecimiento**

Los tratamientos se mezclaron con el medio de cultivo PDA autoclavado justo antes de ser vertidos en las placas, por lo que se prepararon medios “envenenados” a las distintas dosis. Para la inoculación de *P. citrophthora* se tomó un disco de unos 6 mm de PDA con micelio de 15 días de crecimiento y se colocó en el centro de cada placa. El mismo procedimiento se siguió para el tratamiento control, empleándose PDA sin tratar. Las placas se sellaron con parafilm y se mantuvieron en cámara de cultivo en las condiciones descritas anteriormente.

### **Evaluación del efecto antifúngico de los tratamientos**

Para evaluar el efecto antifúngico de los tratamientos, se determinó el radio de crecimiento y el porcentaje de inhibición del crecimiento en cada placa, según Sale et al. (2021).

El radio de crecimiento (R) se obtuvo a partir de la media de dos medidas perpendiculares del diámetro que ocupa el micelio en la placa, menos el diámetro del disco, utilizando la siguiente fórmula:

$$R = [(D1 + D2) / 2] - D0 \quad [1]$$

Donde R es el ratio de crecimiento, D1 y D2 son los diámetros que ocupa el micelio en la placa, medidos en direcciones perpendiculares, y D0 es el diámetro del disco utilizado para el repicado (inoculación).

El porcentaje de inhibición del crecimiento, debido a los tratamientos, se obtuvo comparando el diámetro medio de crecimiento en las placas tratadas y control positivo:

$$I (\%) = [(Dc - Dt) / Dc] \times 100 \quad [2]$$

Donde I (%) es el porcentaje de inhibición del crecimiento, Dc es la media de los diámetros en las placas control positivo y Dt es la media de los diámetros en las placas tratadas.

Estas determinaciones se realizaron a los 7 y 15 días tras la inoculación de *P. citrophthora* (ddi).

#### **Determinación del efecto fungicida o fungistático de los tratamientos**

Transcurridos 7 ddi, se retiró el parafilm y se abrieron las placas, y se tomó una mitad del disco de PDA de 6 mm inicialmente utilizado para evaluar el efecto antifúngico de los tratamientos. Esta mitad se colocó sobre una placa con PDA sin tratamiento y se mantuvo en cámara de cultivo durante 7 días bajo las condiciones descritas anteriormente. Posteriormente, se observó la capacidad de crecimiento del aislado de *P. citrophthora* tras haber sido sometido a los diferentes tratamientos, y se determinó el efecto fungicida (eliminación por completo del patógeno) o fungistático (inhibición temporal y reversible de su crecimiento) de cada uno de ellos.

#### **Análisis estadístico**

El efecto de los tratamientos sobre el radio y el porcentaje de inhibición del crecimiento de *P. citrophthora* se evaluó a partir de un ANOVA simple en el ensayo 1 y del modelo lineal general (GLM) en el ensayo 2, utilizando el software Statgraphics 5.1 Plus (StatPoint, 2000). Previamente, se comprobaron los requisitos de normalidad y homocedasticidad del conjunto de datos según los test de Shapiro-Wilks y Levene, respectivamente. Para cumplir con estos requisitos, se realizaron transformaciones de las variables porcentuales aplicando el arcoseno (Lin y Xu, 2020). Cuando el efecto de los tratamientos fue significativo, se realizó una comparación de medias según el test de Tukey (HSD).

### **Resultados**

#### **Ensayo 1**

El radio de crecimiento del micelio y el porcentaje de inhibición del desarrollo de *P. citrophthora* para los diferentes tratamientos se muestran en la Tabla 1. Se observó crecimiento de micelio en todas las placas control positivo (4/4) y en ninguna de las placas con fungicida (0/4), a los 7 ddi (Figura 1, izquierda) y a los 15 ddi (Figura 1, derecha). El radio de crecimiento del micelio fue significativamente menor en las placas fertilizadas respecto a las placas control positivo, independientemente de la dosis aplicada, tanto a los 7 como a los 15 ddi (Figura 1). No se observó crecimiento del micelio en las placas tratadas con el fungicida, como se ha mencionado anteriormente, por lo que el radio de crecimiento se consideró 0 para este tratamiento. El porcentaje de inhibición del crecimiento en las placas fertilizadas fue del 80-90 % a los 7 ddi y del 69,5-84,9 % a los 15 ddi, sin dife-

Tabla 1. Efecto de los tratamientos y las dosis aplicadas sobre el radio de crecimiento y el porcentaje de inhibición del crecimiento de *P. citrophthora* en placa (Ensayo 1).  
Table 1. Effect of treatments and applied doses on the growth radio and growth inhibition percentage of *P. citrophthora* on plate (Trial 1).

| Tratamiento  | Dosis                           | Radio 7 | Radio 15 | Inhibición 7 | Inhibición 15 |
|--------------|---------------------------------|---------|----------|--------------|---------------|
|              | cm <sup>3</sup> L <sup>-1</sup> | mm      |          | %            |               |
| Control      |                                 | 64,63a  | 77,75a   |              |               |
| Fertilizante | 2                               | 3,5b    | 16,0b    | 88,40        | 75,49         |
|              | 3                               | 7,75b   | 21,13b   | 83,19        | 69,49         |
|              | 4                               | 3,63b   | 9,63b    | 90,13        | 84,88         |
| Fungicida    | 2,5                             | 0*      | 0*       | 100          | 100           |
| p-valor      |                                 | 0,0000  | 0,0052   | 0,1217       | 0,0976        |

Radio 7 y 15: radio de crecimiento a los 7 y 15 días desde la inoculación; Inhibición 7 y 15: porcentaje de inhibición del crecimiento a los 7 y 15 días desde la inoculación.

Los valores promedio seguidos de distinta letra superíndice en una misma columna indican diferencia estadísticamente significativa según el test de Tukey (HSD). n = 4.

\* Los valores marcados con un asterisco no fueron incluidos en el test de comparación de medias. Se muestra el valor promedio de las repeticiones para ese tratamiento.

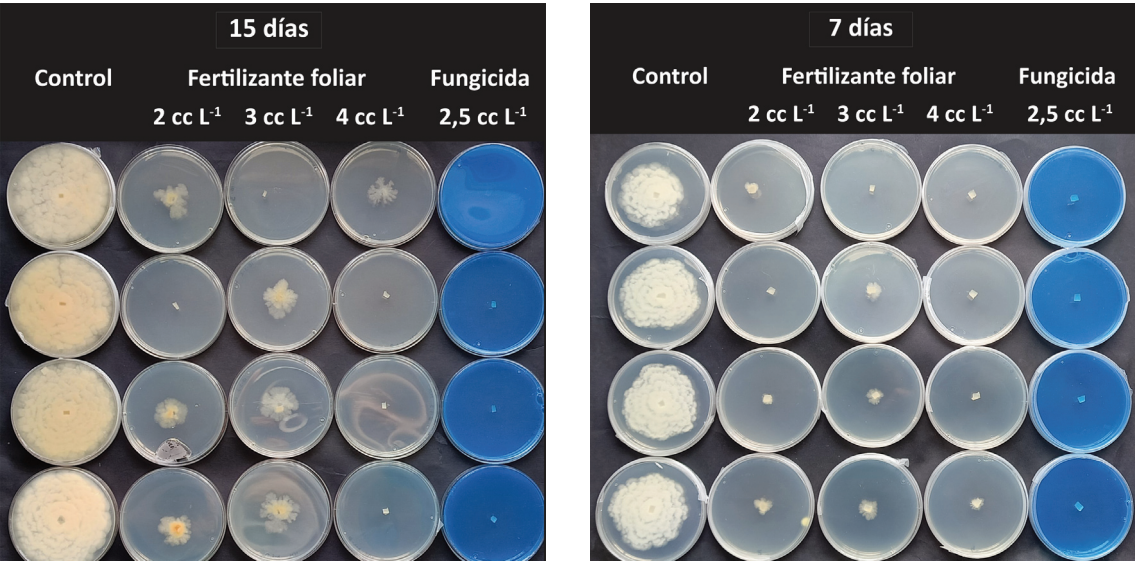


Figura 1. Detalle del crecimiento de *P. citrophthora* en placa, sobre PDA con los diferentes tratamientos, a los 7 (izquierda) y 15 (derecha) días tras la inoculación (Ensayo 1).  
Figure 1. Detail of *P. citrophthora* growth on PDA plates under different treatments, at 7 (left) and 15 (right) days after inoculation (Trial 1).

rencias significativas entre las dosis estudiadas ni respecto al fungicida comercial, cuyo porcentaje de inhibición fue del 100 %, tanto a los 7 como a los 15 ddi.

Para determinar el efecto fungicida o fungistático de los tratamientos, se determinó la capacidad de crecimiento del micelio procedente de las placas tratadas, tras colocarse sobre PDA sin tratar (Figura 2). Se observó cre-

cimiento de micelio en todos los botones procedentes de las placas control positivo (5/5) y en ninguno de los procedentes de las placas con fungicida (0/5). En el caso de los botones procedentes de las placas fertilizadas, se observó crecimiento de micelio en 4/5 placas cuando provenían de dosis de 2 y 4  $\text{cm}^3 \text{L}^{-1}$ , y en 3/5 placas cuando provenían de la dosis de 3  $\text{cm}^3 \text{L}^{-1}$  (Figura 2).



Figura 2. Detalle del crecimiento de *P. citrophthora* en placa sobre PDA sin tratar, a los 7 días tras la inoculación (Ensayo 1).  
Figure 2. Detail of *P. citrophthora* growth on PDA plates without treatments, at 7 days after inoculation (Trial 1).

## Ensayo 2

El micelio creció en todas las placas control positivo (18/18) y en las tratadas con azufre (18/18), independientemente de la dosis aplicada, mientras que en aquellas tratadas con fungicida no se observó crecimiento alguno

(0/18). El radio de crecimiento en las placas fertilizadas fue menor conforme al incremento de la concentración de fertilizante, tanto a los 7 como a los 15 ddi, mientras que en aquellas tratadas con azufre el crecimiento fue similar al control positivo. No obstante, dado que la interacción entre factores (*trata-*

miento  $\times$  bloque) resultó significativa (Tabla 2), el efecto de los tratamientos sobre el radio de crecimiento debe considerarse para cada bloque por separado. En el bloque I se observó un menor crecimiento del micelio en las placas fertilizadas respecto a las placas control a los 7 ddi, siendo el radio significativamente inferior a dosis de 3 y 4  $\text{cm}^3 \text{L}^{-1}$  en comparación a 2  $\text{cm}^3 \text{L}^{-1}$ , mientras que los tratamientos de azufre no mostraron diferencias significativas con el control. En cambio, en los bloques II y III los tratamientos de azufre redujeron ligeramente el crecimiento del micelio, con in-

dependencia de la dosis aplicada, mientras que en las placas fertilizadas este crecimiento fue aún más reducido y significativamente menor conforme al incremento de la dosis de fertilizante (Figura 4, izquierda). El mismo efecto se observó a los 15 ddi (Figura 4, derecha) en todos los bloques.

El porcentaje de inhibición del crecimiento a los 7 ddi fue muy superior en las placas fertilizadas respecto a las tratadas con azufre, oscilando entre el 63,5 y 98,2 % a los 7 ddi y entre el 34,4 y 89,3 % a los 15 ddi (Tabla 2).

Tabla 2. Efecto de los tratamientos y las dosis aplicadas sobre el radio de crecimiento y el porcentaje de inhibición del crecimiento de *P. citrophthora* en placa (Ensayo 2).  
Table 2. Effect of treatments and applied doses on the growth radio and growth inhibition percentage of *P. citrophthora* on plate (Trial 2).

| Tratamiento                 | Dosis                       | Radio 7 | Radio 15 | Inhibición 7 | Inhibición 15     |
|-----------------------------|-----------------------------|---------|----------|--------------|-------------------|
|                             | $\text{cm}^3 \text{L}^{-1}$ | mm      |          | %            |                   |
| Control                     |                             | 62,2    | 79,0*    |              |                   |
| Fertilizante                | 2                           | 24,2    | 53,3     | 63,5         | 34,4 <sup>c</sup> |
|                             | 3                           | 6,7     | 18,0     | 90,3         | 78,6 <sup>b</sup> |
|                             | 4                           | 1,7     | 7,8      | 98,2         | 89,3 <sup>a</sup> |
| Azufre                      | 1                           | 57,5    | 79,0*    | 7,4          | 0*                |
|                             | 2                           | 57,9    | 79,0*    | 7,2          | 0*                |
|                             | 3                           | 59,0    | 79,0*    | 7,5          | 0*                |
| Fungicida                   | 2,5                         | 0*      | 0*       | 100*         | 100*              |
| ANOVA                       |                             |         |          |              |                   |
| Tratamiento                 |                             | 0,0000  | 0,0000   | 0,0000       | 0,0000            |
| Bloque                      |                             | 0,0118  | 0,0058   | 0,1430       | 0,0018            |
| Tratamiento $\times$ Bloque |                             | 0,0000  | 0,0002   | 0,0000       | 0,6965            |

Radio 7 y 15: radio de crecimiento a los 7 y 15 días desde la inoculación; Inhibición 7 y 15: porcentaje de inhibición del crecimiento a los 7 y 15 días desde la inoculación.  
Los valores promedio seguidos de distinta letra superíndice en una misma columna indican diferencia estadísticamente significativa según el test de Tukey (HSD). n = 6.  
\* Los valores marcados con un asterisco no fueron incluidos en el test de comparación de medias. Se muestra el valor promedio de las repeticiones para ese tratamiento.

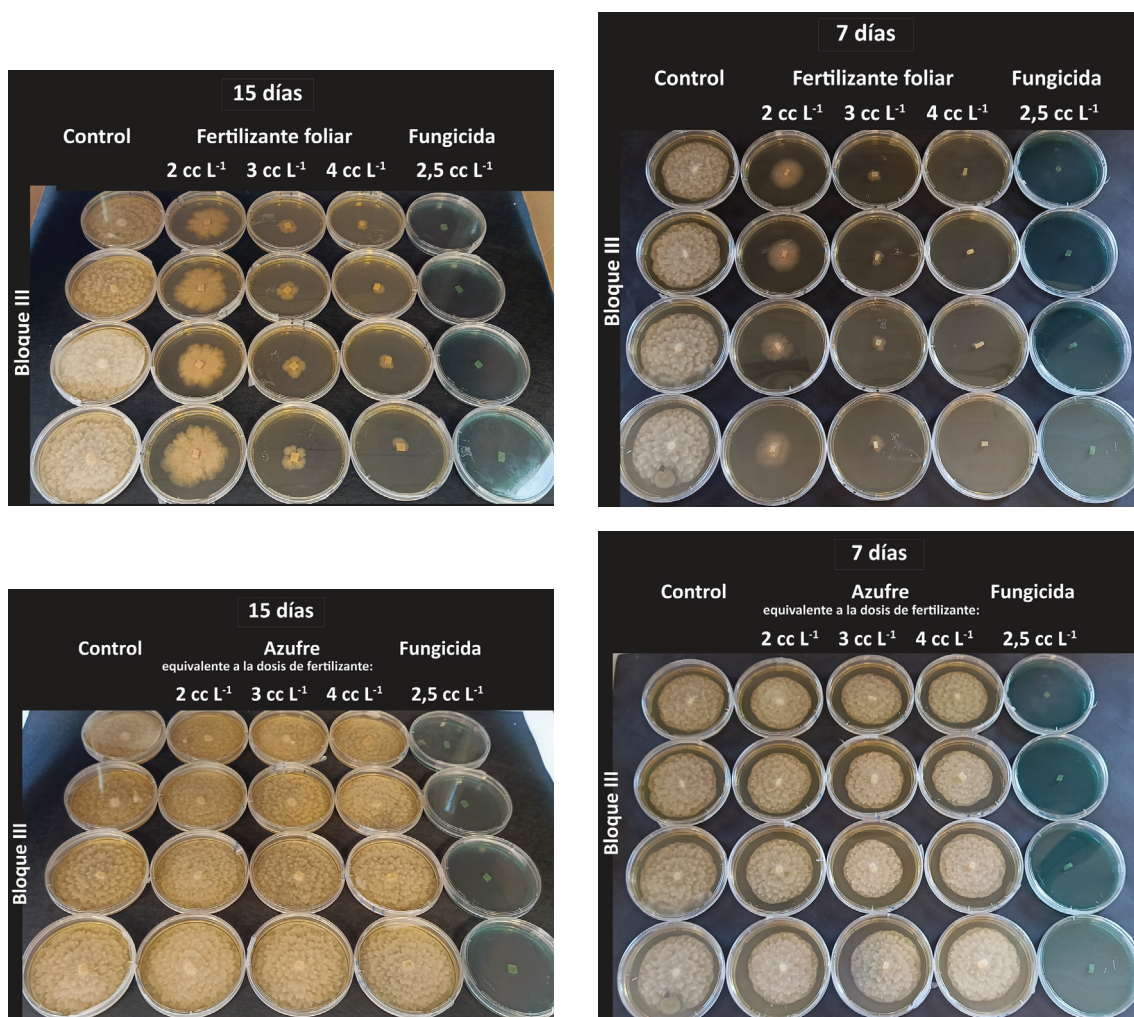


Figura 3. Detalle del crecimiento de *P. citrophthora* en placa, sobre PDA con los diferentes tratamientos, a los 7 (izquierda) y 15 (derecha) días tras la inoculación (Ensayo 2).

Figure 3. Detail of *P. citrophthora* growth on PDA plates under different treatments, at 7 (left) and 15 (right) days after inoculation (Trial 2).

Este porcentaje se incrementó conforme al aumento de la concentración de fertilizante, salvo en el bloque I, en el que no se observaron diferencias entre las dosis de 3 y 4 cm<sup>3</sup> L<sup>-1</sup> (Figura 5). Esta diferencia entre bloques explica que la interacción entre factores fuese significativa (Tabla 2). El porcentaje de inhibición del crecimiento se redujo a lo largo del

ensayo, pero el efecto de la fertilización siguió siendo significativo a los 15 ddi (Tabla 2).

Para comprobar el efecto fungicida o fungistático del fertilizante, al igual que en el ensayo anterior, se tomaron los botones procedentes de las placas tratadas, en este caso del bloque II, y se colocaron sobre PDA sin tratar. Se observó crecimiento de micelio a

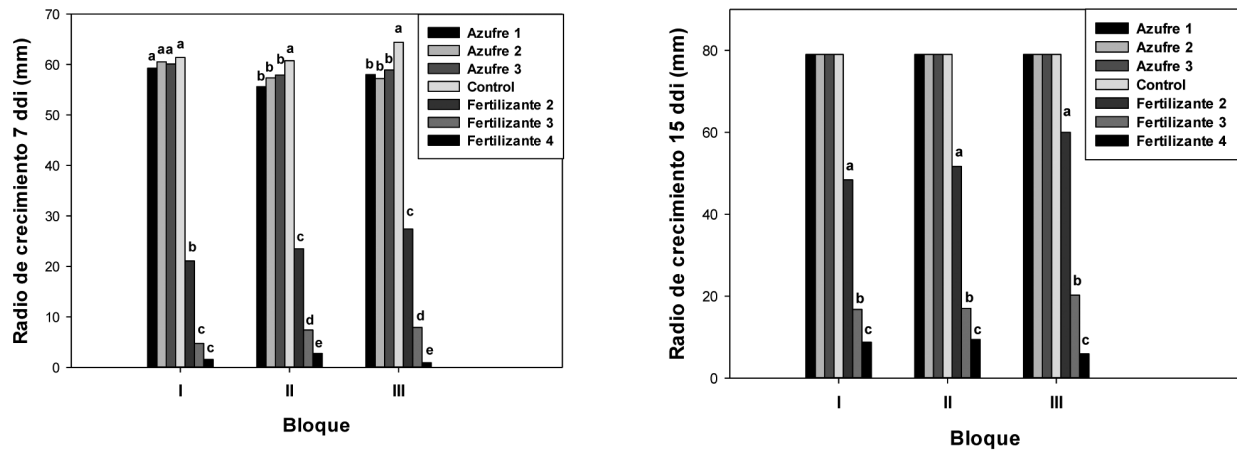


Figura 4. Efecto de los tratamientos sobre el radio de crecimiento del micelio a los 7 (izquierda) y 15 (derecha) días tras la inoculación (ddi) (Ensayo 2). Las barras de error representan el error estándar ( $n = 6$ ).

Figure 4. Effect of treatments on mycelial growth radio at 7 days (left) and 15 days (right) after inoculation (dai) (Trial 2). Error bars represent the standard error ( $n = 6$ ).

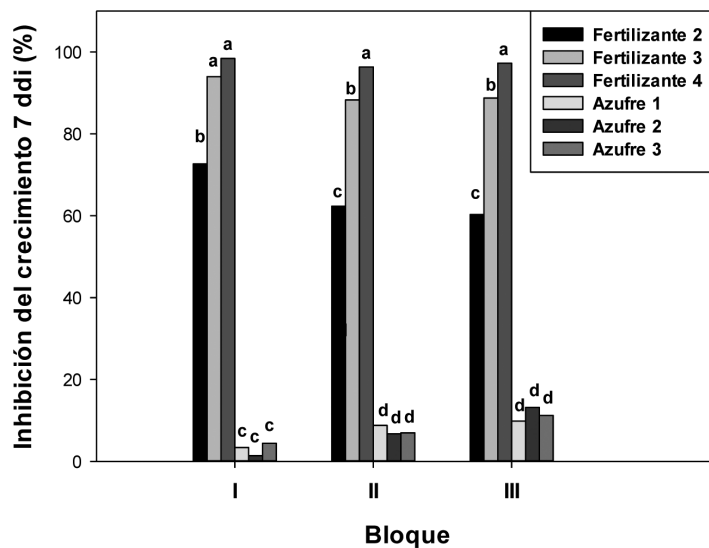


Figura 5. Efecto de los tratamientos sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento a los 7 días tras la inoculación (ddi) (Ensayo 2). Las barras de error representan el error estándar ( $n = 6$ ).

Figure 5. Effect of treatments on the percentage of growth inhibition at 7 days after inoculation (dai) (Trial 2). Error bars represent the standard error ( $n = 6$ ).

los 5 días en todas las placas procedentes del control positivo (4/4) y en ninguna de las que procedían del tratamiento con fungicida (0/4). También creció micelio en todas las

placas que provenían de la aplicación del fertilizante a  $2 \text{ cm}^3 \text{ L}^{-1}$  (4/4) y  $3 \text{ cm}^3 \text{ L}^{-1}$  (4/4), y en 3/4 placas procedentes de  $4 \text{ cm}^3 \text{ L}^{-1}$  (Figura 6).

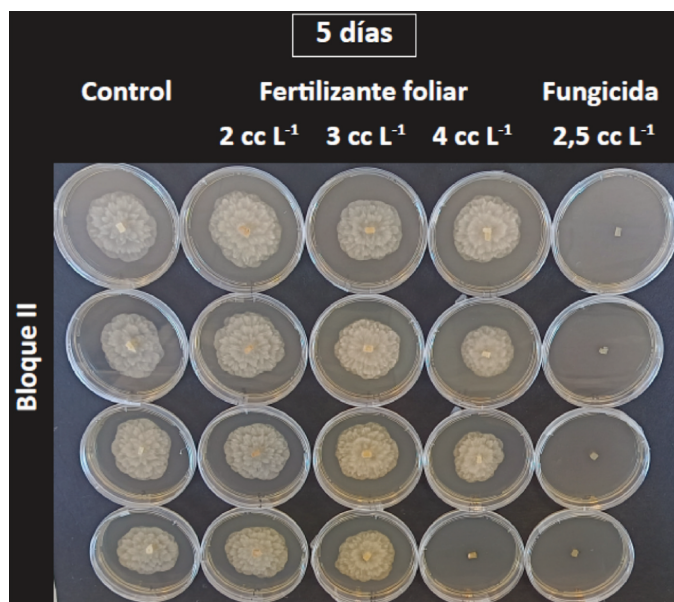


Figura 6. Detalle del crecimiento de *P. citrophthora* en placa sobre PDA sin tratar, 5 días tras la inoculación (Ensayo 2).

Figure 6. Detail of *P. citrophthora* growth on untreated PDA plate, 5 days after inoculation (Trial 2).

## Discusión

El efecto de los fungicidas de contacto a base de cobre y/o azufre sobre el desarrollo de las enfermedades causadas por *Phytophthora* spp. se ha estudiado ampliamente, tanto para cultivos agrícolas como para especies forestales (Henderson, 1945; Rolando et al., 2019). Sin embargo, pocos trabajos abordan el efecto de la fertilización sobre este patógeno. Además, los resultados publicados parecen ser contradictorios. Por ejemplo, un estudio de Morales et al. (2019) relacionó la aplicación de concentraciones crecientes de nitrógeno con un menor crecimiento de micelio de *P. cinnamomi*,

pese a que la fertilización nitrogenada ha sido comúnmente asociada a una mayor severidad de las enfermedades causadas por *Phytophthora* spp. En cambio, Yandoc et al. (2007) observaron que la severidad de *P. nicotinae* tiende a aumentar conforme aumenta la concentración de sales de la solución nutritiva de riego, mientras que Endes (2024) observó que la severidad de *P. citrophthora* es mayor en condiciones deficitarias de hierro. Por tanto, hay una gran diversidad en la respuesta de este patógeno a las distintas fuentes de fertilización, referidas a la severidad de las enfermedades que causa.

Este trabajo trató de evaluar el efecto de dosis crecientes de un fertilizante foliar a base de cobre, zinc, y azufre sobre el crecimiento de *P. citrophthora* en condiciones controladas. En general, se observó un detrimento de su crecimiento, ya que el radio que ocupó el micelio fue significativamente menor en las placas tratadas con fertilizante respecto a las no tratadas (control positivo), tanto a los 7 como a los 15 ddi. Este resultado coincide con el obtenido en un estudio similar, en el que se observó una inhibición completa del crecimiento del micelio de *P. nicotianae* con la aplicación de fosfitos de cobre y zinc, a una concentración de 10 ppm (Lucero et al., 2014). En nuestro caso, las dosis ensayadas no mostraron un efecto de inhibición completa, pero sí se redujo de forma significativa el crecimiento del micelio conforme al aumento de la concentración de fertilizante en el medio de cultivo (Vincent et al., 2018) observándose, además, un claro deterioro de sus estructuras de crecimiento (Figura 7). Las hifas no se extendieron adecuadamente, por lo que presentaron un aspecto atrofiado. Esta alte-

ración del crecimiento dio lugar a malformaciones y, probablemente, a una reducción de la capacidad reproductiva del hongo. La actividad antimicrobiana del cobre se atribuye a los daños que provoca en la membrana celular y a la alteración de la homeostasis, que depende en gran medida de la expresión de los genes transportadores de cobre (Vincent et al., 2018). El efecto de control puede atribuirse tanto a la toxicidad del cobre para los microorganismos como al efecto del zinc en mejora de la nutrición y en la activación de los mecanismos de defensa de la planta (Elmer et al., 2018), a través de la regulación de las rutas de señalización asociadas a hormonas defensivas (Cabot et al., 2019) y de la mejora de la expresión de los genes de resistencia a la infección (Martos et al., 2016). Sin embargo, no puede afirmarse que el azufre tenga un papel relevante en el control de *P. citrophthora*, al menos a las dosis ensayadas, ya que solo se ha observado un ligero efecto de reducción de su crecimiento en placa durante los primeros 7 días tras la inoculación.

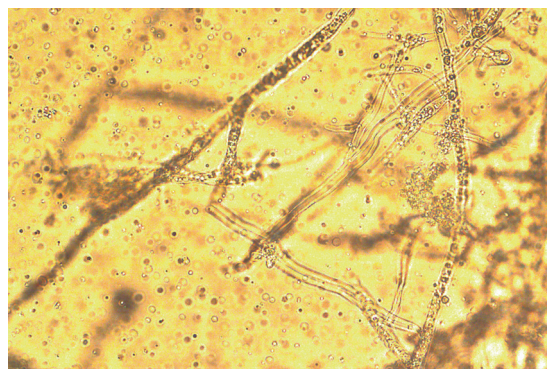
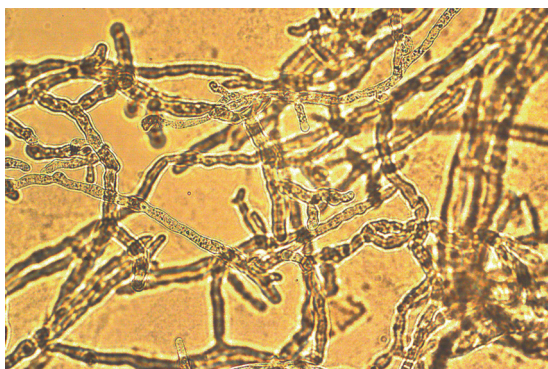


Figura 7. Detalle del estado del micelio y de la concentración de zoosporas de *P. citrophthora* procedente de una placa fertilizada con  $2 \text{ cm}^3 \text{ L}^{-1}$  (izquierda) y de una placa control positivo (derecha) (Ensayo 2). Las observaciones se realizaron empleando microscopía óptica de campo claro (x400).

Figure 7. Detail of mycelial condition and zoospore concentration of *P. citrophthora* from a plate treated with  $2 \text{ cm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$  (left) and from a positive control plate (right) (Trial 2). Observations were made using bright-field optical microscopy (400x).

Por otro lado, el porcentaje de inhibición del crecimiento superó el 80 % a los 7 ddi y el 70 % a los 15 ddi en el ensayo 1. Esto sugiere que el crecimiento de *P. citrophthora* puede inhibirse significativamente, durante al menos 15 días, a partir de una dosis de  $2 \text{ cm}^3 \text{ L}^{-1}$  ( $53,2 \text{ mg L}^{-1}$  de Cu) del fertilizante estudiado, la cual podría equipararse a una dosis de  $2,5 \text{ cm}^3 \text{ L}^{-1}$  de un fungicida comercial a base de oxiclورو de cobre ( $565,3 \text{ mg L}^{-1}$  de Cu), cuyo efecto puede perdurar en torno a 3 meses (Rolando et al., 2019). Los resultados obtenidos en el ensayo 2 indicaron, además, que este porcentaje aumenta de forma significativa conforme al incremento de la dosis de fertilizante.

El micelio de los botones que estuvieron en contacto con el fungicida no creció al ser colocado sobre PDA sin tratar, mientras que aquellos que procedían de las placas fertilizadas y del control positivo crecieron en la mayoría de los casos, indicando que las distintas dosis de fertilizante inhibieron el crecimiento de *P. citrophthora*, pero no tuvieron un efecto fungicida. Este resultado puede atribuirse, en parte, al tiempo de exposición (Keast et al., 1985) y a la menor sensibilidad al cobre observada en el crecimiento del micelio en comparación a las esporas asexuales de algunas especies de *Phytophthora* spp. (Hooley y Shaw, 1985; Slade y Pegg, 1993). También se ha observado que el número de esporangios puede reducirse considerablemente con la aplicación de cobre y azufre (Halsall, 1977), lo que explicaría, además del daño observado en las estructuras de crecimiento, que la concentración de zoosporas en las placas fertilizadas con  $2 \text{ cm}^3 \text{ L}^{-1}$  se viese drásticamente reducida en comparación al control positivo (Figura 7).

## Conclusiones

El presente estudio mostró que la aplicación de un fertilizante foliar a base de cobre, zinc y azufre puede inhibir significativamente el

crecimiento de *P. citrophthora*, constituyendo una estrategia complementaria en el manejo integrado de enfermedades causadas por este patógeno. No obstante, dado que la eficacia de las aplicaciones de cobre y zinc sobre el control de *Phytophthora* spp. puede variar considerablemente entre los ensayos *in vitro* e invernadero (AlHarethi et al., 2024), se requiere experimentación adicional para contrastar su eficacia en condiciones de campo. En ese sentido, además del efecto *per se* del producto, la mejora de la nutrición y la activación de los mecanismos de defensa de la planta podrían mejorar los resultados observados en este trabajo.

## Declaración de contribución de autoría

- Aurora Moreno-Lora: Conceptualización, curación de datos, análisis formal, investigación, metodología, software, validación, visualización y redacción (borrador original y revisión).
- Ana Aguado: Conceptualización, análisis formal, investigación, metodología, recursos, software, supervisión, validación, visualización, redacción (revisión).
- Francisco J. Arenas-Arenas: Conceptualización, adquisición de fondos, administración del proyecto, recursos, supervisión.

## Agradecimientos

Este trabajo fue financiado bajo el convenio de colaboración entre la empresa IBERMEM BIOTECH S.A. y el Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA).

## Referencias bibliográficas

- AlHarethi A.A., Abdullah Q.Y., AlJobory H.J., Anam A.M., Arafa R.A., Farroh K.Y. (2024). Zinc oxide and copper oxide nanoparticles as a po-

- tential solution for controlling *Phytophthora infestans*, the late blight disease of potatoes. *Discover Nano* 19: 105. <https://doi.org/10.1186/s11671-024-04040-6>
- Cabot C., Martos S., Llugany M., Gallego B., Tolrà R., Poschenrieder C. (2019). A role for zinc in plant defense against pathogens and herbivores. *Frontiers in Plant Science* 10: 1-15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01171>
- Duran-Vila N., Moreno P. (2000). Enfermedades de los cítricos. Monografía de Sociedad Española de Fitología 2. Ed. Mundi-Prensa, Madrid. 165 pp.
- Elmer W., Ma C., White J. (2018). Nanoparticles for plant disease management. *Current Opinion in Environmental Science & Health* 6: 66-70. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.coesh.2018.08.002>
- Endes A. (2024). The effect of *Phytophthora citrophthora* infection of strawberry physiology and histology in the presence of calcium, iron, and zinc deficiencies. *Applied Fruit Science* 66: 1767-1775. <https://doi.org/10.1007/s10341-024-01160-2>
- Erwin D.C., Bartnicki-Garcia S., Tsao P.H. (1983). *Phytophthora*: its biology, taxonomy, ecology, and pathology. Ed. American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota. 392 pp.
- Erwin D.C., Ribeiro O.K. (1996). *Phytophthora* diseases worldwide. Ed. American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota. 592 pp.
- Graham J.H., Timmer L.W., Drouillard D.L., Peever T.L. (1998). Characterization of *Phytophthora* spp. causing outbreaks of citrus brown rot in Florida. *Phytopathology* 88: 724-729. <https://doi.org/10.1094/phyto.1998.88.7.724>
- Graham J.H., Menge J.A. (1999). Root diseases. En: *Citrus Health Management* (Eds. Timmer, L.W., Duncan, L.W.), pp. 126-135. American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota.
- Halsall D.M. (1977). Effects of certain cations on the formation and infectivity of *Phytophthora zoospores*. 2. Effects of copper, boron, cobalt, manganese, molybdenum, and zinc ions. *Canadian Journal of Microbiology* 23: 1002-1010. <https://doi.org/10.1139/m77-149>
- Henderson R.G. (1945). Further testing of copper fungicides for control of tomato blight in Southwest Virginia. *Phytopathology* 35: 120-128.
- Hooley P., Shaw D.S. (1985). Inheritance of sensitivity to heavy metals in *Phytophthora drechsleri*. *Transactions of the British Mycological Society* 85: 677-681. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(85\)80263-1](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(85)80263-1)
- Huang X., Sun M., Lu X., Li S. (2019). Serial passage through resistant and susceptible cucumber cultivars affects the virulence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. *MicrobiologyOpen* 8: e00641. <https://doi.org/10.1002/mbo3.641>
- Keast D., Tonkin C., Sanfelieu L. (1985). Effects of copper salts on growth and survival of *Phytophthora cinnamomi* *in vitro* and on the antifungal activity of actinomycete populations from the roots of *Eucalyptus marginata* and *Banksia grandis*. *Australian Journal of Botany* 33: 115-129. <https://doi.org/10.1071/bt9850115>
- Lin L., Xu C. (2020). Arcsine-based transformations for meta-analysis of proportions: Pros, cons, and alternatives. *Health Science Reports* 3: e178. <https://doi.org/10.1002/hsr2.178>
- Lucero G., Boiteux J., Pizzuolo P., Hapon M.V. (2014). Effect of Copper, Zinc and Potassium Phosphites on the Mycelium Growth of *Phytophthora nicotianae* in Olive Tree Dry Branch Disease. VII International Symposium on Olive Growing, 30 octutubre, San Juan, Argentina, pp. 437-442. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2014.1057.55>
- Martos S., Gallego B., Cabot C., Llugany M., Barceló J., Poschenrieder C. (2016). Zinc triggers signaling mechanisms and defense responses promoting resistance to *Alternaria brassicicola* in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Science* 249: 13-24. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.05.001>
- Matheron M.E., Matejka J.C. (1993). Seasonal differences in susceptibility of three citrus rootstocks to root lesions caused by *Phytophthora citrophthora* and *P. parasitica*. *Plant Disease* 77: 729-732. <https://doi.org/10.1094/pd-77-0729>
- Morales J., Besoain X., Cuneo I.F., Larach A., Alvarado L., Cáceres-Mella A., Saa S. (2019). Impact of nitrogen fertilization on *Phytophthora cinnamomi* root-related damage in *Juglans regia*

- Saplins. HortScience 54: 2188-2194. <https://doi.org/10.21273/hortsci14299-19>
- Rolando C., Somchit C., Bader M.K.F., Fraser S., Williams N. (2019). Can copper be used to treat foliar *Phytophthora* infections in *Pinus radiata*?. Plant Disease 103: 1828-1834. <https://doi.org/10.1094/pdis-07-18-1247-RE>
- Sale C.E., Dooh J.P.N., Heu A., Tueguem W.K., Nganti D.M., Ngatsi P.Z., Chewachong G., Ambang Z. (2021). Efficacy of methanolic and aqueous extracts of *Thevetia peruviana* (pers.) K. Schum on growth of *Phytophthora colocasiae* Racib, causal agent of taro late blight in cameroon. Journal of Applied Life Sciences International 24: 44-54. <https://doi.org/10.9734/jalsi/2021/v24i430233>
- Slade S.J., Pegg G.F. (1993). The effect of silver and other metal ions on the *in vitro* growth of root-rotting *Phytophthora* and other fungal species. Annals of Applied Biology 122: 233-251. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1993.tb04030.x>
- Trehan S.P., Sharma K.K., Grewal J.S. (1995). Effect of soil and foliar application of micronutrients and fungicides on late blight (*Phytophthora Infestans*) and tuber yield of potato (*Solanum-Tuberosum*). The Indian Journal of Agricultural Sciences 65: 836-841.
- Tuset, J.J. (1995). La incidencia de las especies de "Phytophthora" en los agrios. Phytoma 72: 159-161.
- Tuset J.J., Hinarejos C., García J. (1990). Phytophthora foot rot control in citrus with *Myrothecium roridum*. EPPO Bulletin 20: 169-176. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.1990.tb01195.x>
- Vicent A., Tuset J.J. (2013). Enfermedades causadas por Phytophthora en cítricos. Descripción y bases para su gestión integrada. Levante Agrícola 419: 332-336.
- Vincent M., Duval R.E., Hartemann P., Engels-Deutsch M. (2018). Contact killing and antimicrobial properties of copper. Journal of Applied Microbiology 124: 1032-1046. <https://doi.org/10.1111/jam.13681>
- Yandoc C.B., Roskopf E.N., Shah D.A., Albano J.P. (2007). Effect of fertilization and biopesticides on the infection of *Catharanthus roseus* by *Phytophthora nicotianae*. Plant Disease 91: 1477-1483. <https://doi.org/10.1094/pdis-91-11-1477>

(Aceptado para publicación el 20 de octubre de 2025)