



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO
Enseñar la explotación de la tierra, no la del hombre

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

MANEJO DE *Phytophthora cinnamomi* Rands. EN PLANTAS DE AGUACATE (*Persea americana* Mill)

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE**

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

Cintha Marisol Fernández Páez

Bajo la supervisión de: Dr. Marcelo Acosta Ramos



DIRECCION GENERAL ACADÉMICA
DIRECCION DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES



CHAPINGO, ESTADO DE MÉXICO, DICIEMBRE 2017

Manejo de *Phytophthora cinnamomi* Rands. en plantas de aguacate (*Persea americana* Mill).

Tesis realizada por **CINTHYA MARISOL FERNÁNDEZ PÁEZ** bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

DIRECTOR:



Dr. Marcelo Acosta Ramos

ASESOR:



Dr. Mateo Vargas Hernández

ASESOR:



M.C. Antonio Segura Miranda

DEDICATORIA

A mis padres Eladia Hermila Páez Salmerón y Alfredo Fernández Téllez.

A mis hermanas Sandra Lizbeth Fernández Páez y Wendy Margarita Fernández Páez, especialmente a nuestro amado y adorado ángel Citlaly Manuela Fernández Páez (†), te amo con toda mi alma y corazón.

A mi hijo José Manuel Unsueta Fernández.

A mis familiares y amigos, por estar conmigo y apoyarme en todo momento.

**“Es bueno amar tantas cosas como uno pueda;
es allí donde está la verdadera fuerza;
quién ama mucho hace mucho, puede mucho,
y aquello que está hecho con amor está bien hecho”**

Vincent Van Gogh

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por el apoyo económico otorgado para llevar a cabo los estudios de posgrado.

A la Universidad Autónoma Chapingo, por brindarme nuevamente la oportunidad de continuar creciendo profesionalmente.

Al Departamento de Parasitología Agrícola, especialmente al Posgrado de Maestría en Protección Vegetal por aceptarme en el programa y poder llevar a cabo dichos estudios.

Al Dr. Marcelo Acosta Ramos, por el apoyo en la coordinación y dirección de la presente investigación.

Al Dr. Mateo Vargas Hernández, por la asesoría y siempre disponibilidad para la realización y culminación de la presente.

Al M.C. Antonio Segura Miranda, por el apoyo brindado y la motivación que me brindó para la realización del presente trabajo.

A todos mis amigos: Flor, Pedro, Arturo, Dayana, Javier, Adrián, Imelda, Paola, Eduardo, Iván y a aquellas personas que formaron parte de esta meta y estancia, con quienes compartí grandes y agradables momentos. Especialmente a Aldo Guadalupe, por su gran amistad y estar siempre para mí apoyándome en todo momento, te quiero mucho.

DATOS BIOGRÁFICOS

La autora de la presente investigación de tesis, Cinthya Marisol Fernández Páez, nació el 29 de agosto de 1984, realizó estudios de preparatoria y licenciatura en la Universidad Autónoma Chapingo en la generación 1999-2006, obteniendo el título profesional de Ingeniero Agrónomo Especialista en Zootecnia.

En 2007 ingreso a laborar en la Secretaría de Desarrollo Rural del estado de Puebla, como Prestador de Servicios Profesionales en el Programa de Seguridad Alimentaria.

En 2008 ingreso al Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura con el cargo de Apoyo Técnico Administrativo para la Prevención del Ingreso y Diseminación de Plagas y Enfermedades Exóticas o Bajo Campaña en México, realizando actividades de Auxiliar Técnico Operativo en Verificación e Inspección de Productos y Subproductos Fitozoosanitarios de Importación y Exportación Comercial.

En el año 2012 ingreso al Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria con el cargo de Oficial de Sanidad Agropecuaria, Acuícola y Pesquera, realizando actividades de Inspección y Verificación de Mercancías Agropecuarias de Importación y Exportación Comercial.

En 2016 ingreso al Posgrado de Maestría en Ciencias en Protección Vegetal del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo.

CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE CUADROS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
RESUMEN GENERAL	1
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL	2
2. JUSTIFICACIÓN	5
3. OBJETIVOS.....	6
4. HIPÓTESIS.....	7
6. LITERATURA CITADA.....	8
CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA	10
2.1. Cultivo del aguacate.....	10
2.1.2. Clasificación taxonómica	10
2.1.3. Aspectos generales	10
2.1.4. Descripción botánica	11
2.1.5. Requerimientos nutricionales	12
2.1.6. Razas	13
2.1.7. Importancia del aguacate	15
2.1.8. Producción de aguacate en el estado de Michoacán	17
2.1.9. Comercialización	18
2.2. Aspectos generales del patógeno	19
2.2.1. Clasificación taxonómica	19
2.2.2. Morfología y características.....	20
2.2.3. Diseminación	23
2.2.4. Estructuras de sobrevivencia.....	24

2.2.5.	Ciclo de vida	24
2.2.6.	Sintomatología.....	26
2.2.7.	Importancia económica	27
2.2.8.	Manejo de la enfermedad en México.....	27
2.2.9.	Control químico	28
2.3.	LITERATURA CITADA.....	29

CAPÍTULO III. PATOGENICIDAD DEL AISLAMIENTO DE *Phytophthora cinnamomi* Rands. EN PLANTAS DE AGUACATE (*Persea americana* Mill).33

3.1.	INTRODUCCIÓN	33
3.2.	MATERIALES Y MÉTODOS	34
3.2.1.	Localización del experimento	34
3.2.2.	Material Vegetal.....	34
3.2.3.	Patogenicidad.....	35
3.2.3.1.	Aislamiento del patógeno.....	35
3.2.3.2.	Inóculo.....	35
3.2.3.3.	Prueba de patogenicidad	36
3.3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
3.4.	CONCLUSIONES	41
3.5.	LITERATURA CITADA.....	41

CAPÍTULO IV. EFECTIVIDAD BIOLÓGICA *in vitro* DE PRODUCTOS QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS EN *Phytophthora cinnamomi* Rands..... 45

4.1.	INTRODUCCIÓN	45
4.2.	MATERIALES Y MÉTODOS	46
4.2.1.	Preparación del medio + fungicidas.....	46
4.2.2.	Diseño de tratamientos y diseño experimental	48

4.2.3. Variables a medir.....	48
4.2.4. Análisis estadístico	49
4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	49
4.4. CONCLUSIONES	55
4.5. LITERATURA CITADA.....	55

CAPÍTULO V. EFECTIVIDAD BIOLÓGICA *in vivo* DE PRODUCTOS QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS EN *Phytophthora cinnamomi* Rands.....

5.1. INTRODUCCIÓN	58
5.2. MATERIALES Y MÉTODOS	59
5.2.1. Inoculación + fungicidas	59
5.2.2. Diseño de tratamientos y diseño experimental	59
5.2.3. Variables a medir.....	60
5.2.4. Análisis estadístico	60
5.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	60
5.4. CONCLUSIONES	64
5.5. LITERATURA CITADA.....	64

CAPÍTULO VI. EFECTIVIDAD BIOLÓGICA *in vivo* DE PRODUCTOS INDUCTORES DE DEFENSA Y ENRAIZADORES EN *Phytophthora cinnamomi* Rands.....

6.1. INTRODUCCIÓN	68
6.2. MATERIALES Y MÉTODOS	68
6.2.1. Inoculación + inductores de defensa y enraizadores.....	68
6.2.2. Diseño de tratamientos y diseño experimental	69
6.2.3. Variables a medir.....	70
6.2.4. Análisis estadístico	70

6.3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	70
6.4.	CONCLUSIONES	72
6.5.	RECOMENDACIONES GENERALES	73
6.6.	LITERATURA CITADA.....	73

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Intervalos de concentración nutrimental foliar para árboles de aguacatero.....	13
Cuadro 2. Producción nacional de aguacate en México.....	16
Cuadro 3. Distribución municipal de la superficie de la franja aguacatera en Michoacán.....	18
Cuadro 4. Tratamientos evaluados en pruebas de patogenicidad.....	36
Cuadro 5. Escala visual para evaluar severidad en raíz.....	37
Cuadro 6. Porcentaje de inóculo infectivo de <i>P. cinnamomi</i>	40
Cuadro 7. Tratamientos: productos, dosis utilizadas en la evaluación.....	47
Cuadro 8. Escala para la evaluación de la capacidad antagónica de <i>T. harzianum</i>	47
Cuadro 9. Medias de crecimiento micelial y porcentaje de efectividad.....	50
Cuadro 10. Comparación de crecimiento micelial del patógeno vs biocontrolador.....	53
Cuadro 11. Resultados del comportamiento de <i>T. harzianum</i> frente a <i>P. cinnamomi</i> de acuerdo a la escala de Ezziyani <i>et al.</i> (2004a).....	53

Cuadro 12.	Medias de PI y efectividad de productos químicos y biológicos.....	62
Cuadro 13.	Tratamientos: productos inductores de defensa y enraizadores.....	69
Cuadro 14.	Medias de PI y efectividad de productos inductores de defensa y enraizadores.....	71

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1.	Producción mundial de aguacate (toneladas).....	15
Figura 2.	Producción nacional de aguacate.....	16
Figura 3.	Franja aguacatera del estado de Michoacán.....	17
Figura 4.	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	21
Figura 5.	<i>P. cinnamomi</i> en medio de cultivo con aspecto de roseta.....	21
Figura 6.	Morfología de <i>P. cinnamomi</i> : esporangios no papilados, clamidosporas, oogonios y oosporas globosas.....	22
Figura 7.	Diagrama en que el hongo <i>P. cinnamomi</i> ataca las raíces, causa la tristeza del aguacatero y sobrevive en el suelo	26
Figura 8.	Sintomatología en raíz por <i>P. cinnamomi</i> : A) Testigo, B) Dosis 1 g, C) 3 g y D) 5 g.....	38
Figura 9.	Morfología de <i>P. cinnamomi</i> : A) Medio de cultivo, B), C) y D) Microscopio.....	39
Figura 10.	Desarrollo de <i>P. cinnamomi</i> en medio Agar - Agar + jugo V8: A) Testigo, B) Propamocarb + Fluopicolide (Infinito), C) Pyraclostrobin + Dimetomorf (Naria top), D) Propamocarb + Fosetilato (Previcur energy), E) Metalaxil / Mefenoxam (Ridomil gold 480), F) Metalaxil / Mefenoxam (Tokat 240) y G) Oxatiaprolin (Zorvec).....	51

Figura 11.	Desarrollo de <i>P. cinnamomi</i> en medio Agar - Agar + jugo V8: A) Testigo, H) <i>B. subtilis</i> cepa QST713 (Serenade max), I) <i>B. subtilis</i> variedad <i>amyloliquefaciens</i> (Taegro), J) <i>B. subtilis</i> (Probac BS) y K) <i>T. harzianum</i> (PHC T-22).....	51
Figura 12.	Gráfica de porcentaje de efectividad de tratamientos químicos y biológicos.....	52
Figura 13.	Confrontación de <i>P. cinnamomi</i> vs <i>T. harzianum</i> : A) 72 horas y B) 120 horas.....	53
Figura 14.	Severidad en raíz: A) Testigo, B) <i>B. subtilis</i> cepa QST 713 (Serenade max), C) <i>B. subtilis</i> (Probac BS), D) <i>B. subtilis</i> variedad <i>amyloliquefaciens</i> (Taegro), E) <i>T. harzianum</i> (PHC T-22), F) Pyraclostrobin + Dimetomorf (Naria top), G) Propamocarb + Fosetilato (Previcur energy), H) Metalaxil / Mefenoxam (Ridomil gold 480), I) Propamocarb + Fluopicolide (Infinito), J) Metalaxil / Mefenoxam (Tokat 240) y K) Oxatiapiprolin (Zorvec).....	61
Figura 15.	Gráfica de PI de <i>P. cinnamomi</i> : tratamientos químicos y biológicos.....	62
Figura 16.	Severidad en raíz: tratamientos inductores de defensa y enraizadores A) Testigo, B) Nutri Phite Magnum, C) Nutri Phite Hi Grade, D) Raizal, E) Rootex y F) QL Agri.....	71
Figura 17.	Gráfica de PI de <i>P. cinnamomi</i> : tratamientos inductores de defensa y enraizadores.....	72

RESUMEN GENERAL

MANEJO DE *Phytophthora cinnamomi* Rands. EN PLANTAS DE AGUACATE (*Persea americana* Mill)

MANAGEMENT OF *Phytophthora cinnamomi* Rands. ON AVOCADO PLANTS (*Persea americana* Mill)

Tesis de Maestría en Ciencias, Maestría en Protección Vegetal, Universidad Autónoma Chapingo. Fernández-Páez, Cinthya Marisol¹ y Acosta-Ramos, Marcelo²

Resumen: El aguacate (*Persea americana*) es afectado por insectos y patógenos que disminuyen el rendimiento y calidad de fruto. *Phytophthora cinnamomi* es el agente causal de la tristeza del aguacatero, enfermedad más destructiva del cultivo. En el presente estudio se evaluaron diez tratamientos de productos químicos y biológicos con un testigo en condiciones de laboratorio e invernadero, así como seis tratamientos de productos inductores de defensas y enraizadores con un testigo en invernadero. El objetivo fue determinar la efectividad biológica de los productos sobre *P. cinnamomi* en plantas de aguacate. El patógeno fue aislado de raíces de árboles de aguacate que presentaban síntomas característicos de la enfermedad e identificado con las claves de Waterhouse (1963). Fue inoculado por medio de semillas de trigo estériles a una concentración de 9.28×10^7 UFC g⁻¹ y a una dosis de 5 g por maceta. A los 50 días de inoculadas las plantas, se evaluó la severidad del aislamiento en la raíz por medio de una escala visual y se transformó a porcentaje de infección (PI) mediante la fórmula de Townsend y Heuberger (1943). Los datos de crecimiento micelial obtenidos en laboratorio, fueron expresados en porcentaje de eficacia (PE) mediante la fórmula de Abbott (1925). Los resultados permitieron concluir que pyraclostrobin + dimetomorf (Naria top), presentó el mayor PE (58.48%) y PI más bajo del 68.25%, seguido de los fosfitos de potasio (Nutri Phite Magnum) con un PI del 76.19%. Por otro lado, *Trichoderma harzianum* logró controlar a *P. cinnamomi*, debido a que a las 72 horas de incubación se observó una inhibición progresiva del patógeno, sin embargo no mostró diferencias significativas en el análisis de varianza y prueba de comparación múltiple de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$) comparado con los demás tratamientos químicos y biológicos ensayados.

Palabras clave: *P. americana*, *P. cinnamomi*, efectividad biológica, fungicidas.

Abstract: Avocado (*Persea americana*) is affected by insects and pathogens that decrease yield and fruit quality. *Phytophthora cinnamomi* is the causal agent of root rot, the most destructive disease of the crop. In this study, ten treatments of chemical and biological products plus a control were evaluated in laboratory and greenhouse conditions, as well as six treatments of defense inductors and rooting products plus a control in greenhouse. The aim was to determine the biological effectiveness of the products against *P. cinnamomi* in avocado plants. The pathogen was isolated from avocado tree roots that showed characteristic symptoms of the disease and was identified with Waterhouse morphological keys (1963). It was inoculated with sterile wheat seeds at a concentration of 9.28×10^7 CFU g⁻¹ and at a dose of 5 g per pot. At 50 days after plant inoculation, disease severity in the root caused by each isolate was assessed using a visual scale and transformed to percentage of infection (PI) using the Townsend and Heuberger formula (1943). The mycelial growth data obtained in the laboratory were expressed as percentage of efficiency (PE) using the Abbott formula (1925). The results showed that pyraclostrobin + dimethomorph (Naria top) presented the highest PE (58.48%) and a PI of 68.25%, followed by potassium phosphite (Nutri Phite Magnum) with a PI of 76.19%. On the other hand, *Trichoderma harzianum* showed control on *P. cinnamomi*, because at 72 hours of incubation a progressive inhibition of the pathogen was observed; however, it did not show significant differences in the analysis of variance and Tukey's multiple comparison test of means ($\alpha = 0.05$) compared to the other chemical and biological treatments tested.

Keywords: *P. americana*, *P. cinnamomi*, biological effectiveness, fungicides.

¹Tesista, ²Director

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL

El aguacate (*Persea americana* Mill) es originario de Mesoamérica, de entre el centro y sur de México, y norte de Guatemala. Se diseminó y adaptó en Centroamérica, el Caribe y así llegó hasta Colombia, Venezuela, Ecuador y Perú. Después del descubrimiento de América fue llevado a Europa (España e Israel), África (Ghana, Mauritius, Madagascar, Uganda, Egipto, y Sudáfrica), Asia (Singapur, India, Filipinas), y Oceanía (Australia y Nueva Zelanda). Es así que en 500 años, el aguacate ha sentado sus raíces en los cinco continentes de nuestro planeta (Téliz y Mora, 2007). Es un frutal tropical de clima templado que pertenece a la familia de las lauráceas; es originario de México y actualmente se cultiva en diversos países, produciéndose más de cuatro millones de toneladas en todo el mundo (FAOSTAT, 2013). Entre los primeros países productores se encuentran México, Chile, República Dominicana, Indonesia y Colombia con una participación de 27, 8, 7, 6 y 5% respectivamente (MADR, 2014). Actualmente, México es el principal país productor y exportador de aguacate a nivel mundial al aportar el 35% de la producción y el 36% de las exportaciones (FAOSTAT, 2016).

Las plantas de aguacate son afectadas por diversos insectos y patógenos que causan daños y pérdidas considerables en la producción del cultivo, ya que disminuyen su rendimiento y afectan la calidad del fruto (Vidales y Alcantar, 1999). Entre estos, encontramos al oomycete *Phytophthora cinnamomi*, uno de los principales problemas fitosanitarios en este cultivo, el cual causa pudrición de raíz y muerte progresiva de los árboles infectados. Otros patógenos importantes son los hongos *Verticillium* sp. agente causal de marchitez, *Sphaceloma perseae* causante de la roña y *Glomerella cingulata* responsable de la antracnosis, entre otros (Pérez *et al.*, 2014).

La pudrición de raíces en plantas de aguacate ocasionada por *P. cinnamomi* puede presentarse en plantas de cualquier edad y su desarrollo se ve favorecido

en suelos encharcados (Reyes y Morales, 2007). Las raíces más finas manifiestan necrosis parcial y se tornan de color café negro desprendiéndose con facilidad de la planta. Los árboles afectados se declinan gradualmente y su muerte puede demorar desde unos cuantos meses hasta dos o tres años, cuando la producción es disminuida (Tamayo, 2005). Consecuentemente, se genera retraso en el crecimiento, caída de hojas y necrosis en el follaje. Los frutos son más pequeños y delgados, como efecto de una floración y fructificación excesiva, provocando que los frutos no alcancen su tamaño normal (ICA, 2012). El oomicete forma clamidosporas, estructuras de resistencia que sobreviven por largos períodos en el suelo, incluso sin el hospedante, por lo que una vez establecido en una región determinada, su erradicación es muy difícil. Las medidas más comunes para el combate de este fitopatógeno son la aplicación de fungicidas a base de metalaxil y prácticas culturales (Pegg *et al.*, 2008). De acuerdo con Darvas *et al.* 1983 se han usado fungicidas como Alliette (fosetil aluminio) y Ridomil (metalaxil) solos o combinados con otros métodos; sin embargo, la mayoría de éstos han fallado en México, debido principalmente a que se han aplicado en forma aislada y al poco entendimiento de la relación que guardan entre sí el patógeno, la planta, las técnicas de producción y el ambiente.

Dentro de las estrategias de control integral para el combate de la tristeza del aguacatero, se encuentra la incorporación de materia orgánica, el manejo del suelo, del agua de riego y el control químico. Desde el punto de vista del control químico, la aplicación de fosetil aluminio o ácido fosforoso han contribuido a solucionar este problema; sin embargo, una vez realizadas las aplicaciones químicas, es común observar la reaparición del problema (Georgi, 1993). Otra táctica importante es el uso de organismos benéficos, los cuales pueden invadir y parasitar a los fitopatógenos del suelo. Los más comunes son *Trichoderma harzianum* y algunas especies de Straminipilas, del género *Pythium*, que inhiben el crecimiento o parasitan especies de *Phytophthora*; así como las bacterias de los géneros *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* y *Pantoea* (Agrios, 2007).

El manejo de la enfermedad se ha centrado en la aplicación de productos químicos como fungicidas y fosfitos de K y Ca. Uno de los productos más usados es el Aliette, fungicida con ingrediente activo fosetil aluminio, de acción sistémica acropétala y basipétala que pertenece al grupo de los alcohol fosfonatos (PLM, 2015).

Duvenhage (1994), dio a conocer que aislados de *P. cinnamomi* obtenidos de plantas de aguacate constantemente tratadas con fosfitos en forma de ácido fosforoso (H_3PO_3), son más resistentes a este compuesto que las que no se tratan de dicha manera.

2. JUSTIFICACIÓN

El aguacate es uno de los cultivos más importantes en el mercado internacional, siendo México, uno de los principales productores y exportadores de este fruto. Tiene una gran importancia socioeconómica a nivel nacional, debido a la derrama económica que deja a los productores, comercializadores, industrializadores y consumidores; es un amplio generador de empleo por la demanda de mano de obra para realizar las actividades básicas de podas, riegos, fertilización, manejo fitosanitario, cosechas, por citar algunas. Sin embargo, uno de los problemas fitosanitarios que cada año afectan al cultivo y demeritan seriamente la sanidad de los árboles haciéndolos menos productivos y disminuyendo la vida productiva de los mismos, es la presencia del oomycete *P. cinnamomi*, agente causal de la tristeza del aguacatero, una de las enfermedades más importante y destructivas del cultivo a nivel mundial.

Los costos del manejo químico de esta enfermedad representan más del 25% del mercado anual de fungicidas en el mundo (Romero *et al.*, 2014). Actualmente, el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) incluye sólo el uso de fosetil aluminio para el combate de la tristeza del aguacatero dentro de los plaguicidas autorizados para este cultivo; mientras que en otros se usan también los ácidos fosfóricos de manera recurrente y en altas dosis. Todo esto, ha generado que algunas cepas de este hongo se comporten resistentes a estas moléculas (SENASICA, 2015).

Existen varias alternativas de manejo para este patógeno, como son la búsqueda de patrones tolerantes (Engelbrecht y Van den Berg, 2013), prácticas culturales como el uso de acolchados (Costa *et al.*, 1996) y control biológico (Dae Lee *et al.*, 2015); sin embargo, los fungicidas siguen siendo un componente indispensable en cualquier programa de manejo de enfermedades. Por esta razón, el manejo de las plantas de aguacate infectadas con *P. cinnamomi* debe

hacerse bajo un esquema de manejo integral que incluya el uso de productos enraizadores, inductores de defensa, fungicidas biológicos y/o químicos que hagan más eficiente dicho manejo, ya que una sola táctica de combate ha mostrado ser ineficiente en los campos de cultivo. Esto genera la necesidad de evaluar nuevas y diversas estrategias de combate de la pudrición radical del aguacate, por lo que los objetivos planteados en este trabajo son los siguientes:

3. OBJETIVOS

- Evaluar la efectividad biológica *in vitro* de productos químicos y biológicos sobre *P. cinnamomi*.

- Determinar la efectividad biológica de productos químicos y biológicos sobre *P. cinnamomi* en plantas de aguacate en condiciones de invernadero.

- Evaluar el efecto de productos inductores de defensa y enraizadores en plantas de aguacate infectadas con *P. cinnamomi* en invernadero.

4. HIPÓTESIS

- Al menos uno de los productos químicos y biológicos mostrará una efectividad del 60% *in vitro* sobre *P. cinnamomi*.

- Al menos uno de los productos químicos y biológicos mostrará eficacia del 80% en el control de *P. cinnamomi* en plantas de aguacate en condiciones de invernadero.

- Al menos uno de los productos inductores de defensa y enraizadores en plantas de aguacate, mostrará una eficacia del 80% contra *P. cinnamomi* en invernadero.

6. LITERATURA CITADA

- Agrios, G. N. 2007. Fitopatología. Editorial Limusa, S.A. de C.V. Segunda edición. Pp. 278.
- Costa, J. L, Menge J. A. y Casale W. L. 1996. Investigations on some of the mechanisms by which bioenhanced mulches can suppress *Phytophthora* root rot of avocado. Microbiol. Res. 151, 183-192.
- Dae Lee, B., Dutta, S., Ryu, H., Yoo, S. J., Suh D. S. y Park K. 2015. Induction of systemic resistance in *Panax ginseng* against *Phytophthora cactorum* by native *Bacillus amyloliquefaciens* HK34. J Ginseng Res 39, 213-220.
- Darvas, J. M., Toerien, J. C. y Milne, D. L. 1983. Inyection of established avocados for the effective control oh *Phytophthora* rootrot. SAAGA Yearbook 6: 76-81.
- Duvenhage, J. 1994. Monitoring the resistance of *Phytophthora cinnamomi* to fosetyl-Al and H₃PO₃. South African Avocado Growers' Association year book 17: 35-37.
- Engelbrecht J. y Van Den Berg N. 2013. Development of a Nested Quantitative Real-Time PCR for Detecting *Phytophthora cinnamomi* in *Persea americana* Rootstocks. Plant Disease. Vol. 97. No. 8.
- FAOSTAT. 2013. Producción mundial de aguacate. Disponible en: <http://faostat.fao.org/site/535/DesktopDefault.aspx?PageID=535#ancor>. Consultado en mayo de 2017.
- FAOSTAT. 2016. "Statistics of crops production by country" Food and Agriculture Organization. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>. Consultado en mayo 2017.
- Georgi, J., K. I. 1993. Metodología para la evaluación de la incidencia y severidad de la enfermedad "tristeza del palto" aislamiento, identificación y patogenicidad de cepas de *Phytophthora* asociadas. Taller de titulación. Universidad Católica de Valparaíso, Quillota, Chile. Pp. 7
- ICA. 2012. Instituto Colombiano Agropecuario. Manejo fitosanitario del cultivo del aguacate Hass (*Persea americana* Mill), medidas para la temporada invernal. Bogotá, D.C.
- MADR. 2014. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Estado actual y perspectivas de la cadena del aguacate en Colombia. Disponible en

https://www.finagro.com.co/sites/default/files/node/basicpage/files/cadena_de_aguacate.pdf. Consultado en mayo de 2017.

- Pegg, K., Smith, L., Dann, L., Coates, L. y Whiley, T. 2008. *Phytophthora* resistance in avocado rootstocks. *In*: Burke, T. MP Minister for agriculture, fisheries and forestry presenting the RIRDC Australian rural woman of the year award 2008 to Mrs Ros Smerdon. Canberra. 19(2):52.
- Pérez, C., Hernández G. y Fuentes C. 2014. Uso de bacterias endófitas como control biológico sobre *Phytophthora cinnamomi* Rands, causante de la pudrición radicular del aguacate (*Persea americana* Mill.). *Rev. Colombiana cienc. Anim* 6(1): 213-222
- PLM. 2015. Diccionario de Especialidades Agroquímicas. Disponible en <http://www.agroquimicos-organicosplm.com/>. Consultado en junio 2017.
- Romero, M., Villa R., Castro E. y García E. 2014. The avocado defense compound phenol-2,4-bis (1,1-dymethylethyl) is induced by arachidonic acid and acts via the inhibition of hydrogen peroxide production by pathogens. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 87, 32-41.
- SENASICA, 2015. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Lista de Plaguicidas de Uso Agrícola Autorizados. Listado de plaguicidas para el cultivo de "Aguacate". Disponible en [file:///C:/Users/Jessika/Downloads/LISTADEPLAGUICIDASAGUACATE%20\(2\).PDF](file:///C:/Users/Jessika/Downloads/LISTADEPLAGUICIDASAGUACATE%20(2).PDF). Consultado en junio de 2017.
- Tamayo, P. 2005. Enfermedades del aguacate. Ponencia presentada en el marco del Encuentro Nacional de la Cadena Productiva del Aguacate. 20 p.
- Téliz, O., D. y Mora, A., G. 2007. El Aguacate y su Manejo Integrado. Segunda Edición. Grupo Mundi-Prensa. México, D.F. 321 p.
- Vidales-Fernández, J. A. y Alcantar-Rocillo, J. 1999. Acción de la solarización y de la materia orgánica en el control de la tristeza *Phytophthora cinnamomi* Rands del aguacate *Persea americana* L. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 5: 255-259.
- Waterhouse, G. M. 1963. Key to the specie of *Phytophthora* de Bary. *Mycological Papers No 92 Commonwealth Mycol Inst., Assoc. Apl. Biol, Kew, Surrey, England.* 22 p.

CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Cultivo del aguacate

2.1.2. Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica del aguacate, de acuerdo con Téliz *et al.* (2000) es la siguiente:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Laurales

Familia: Lauraceae

Género: *Persea*

Especie: *Persea americana* Mill

2.1.3. Aspectos generales

El aguacate (*Persea americana* Mill) es un árbol perenne originario de Mesoamérica, su origen tuvo lugar en la parte centro de México y en algunas partes altas de Guatemala, donde se cultivaba desde antes de la llegada de los españoles. El nombre aguacate proviene del náhuatl (Ahuacatl), palabra que significa “testículos del árbol” (SAGARPA, 2011).

Es un fruto delicioso que enriquece el sabor, contenido, vista y placer en el consumo de muchos platillos. Es muy benéfico a la salud humana por ser rico en vitaminas y minerales, y tener propiedades contra el colesterol dañino, al aumentar las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y reducir triglicéridos. Puede ser un sustituto saludable, principalmente por su contenido nulo de colesterol, de la mantequilla o queso crema y de los aderezos. También ayuda a reducir

enfermedades cardiovasculares por su contenido de α -tocoferol, a prevenir el cáncer de colon, mama y próstata por su contenido de β -sistosterol, a disminuir el riesgo de trastornos oculares y cataratas por su contenido de luteína y retinol. Tiene acción benéfica sobre la presión arterial, resistencia a la insulina, sobre la agregación y sistemas de coagulación, metabolismo lipídico, e incluso, sobre el tipo de distribución de grasa corporal. Su alto contenido de ácido fólico ayuda a la desintoxicación del hígado. Ayuda a la absorción de vitamina B en nuestro sistema digestivo, absorción que disminuye con la edad, por lo que su consumo es muy recomendable para personas de edad avanzada. Su alto contenido de potasio puede influir en disminuir problemas de calambres musculares. Por lo anterior el aguacate es un alimento que contribuye a la salud humana y al placer de comer (Téliz y Mora, 2007).

El aguacate, dependiendo de la variedad alcanza en la pulpa niveles de hasta 25% de aceite, con valores promedios de 15-19%, lo que permite lograr rendimientos de alrededor de 10% de la fruta fresca, la composición del aceite crudo de aguacate contiene alrededor de un 80-85% de ácidos grasos insaturados así como un importante nivel de materia insaponificable. Debido a su alto contenido de ácidos grasos monoinsaturados, se ha comparado en la calidad nutricional con el aceite de oliva. Se conoce que ayuda a reducir las lipoproteínas de baja densidad (colesterol malo), también ayuda a reducir el contenido de triglicéridos en la sangre y por lo tanto disminuye el riesgo de desarrollar arterosclerosis (SAGARPA, 2011).

2.1.4. Descripción botánica

El árbol de aguacate pertenece a la familia Lauraceae, la cual comprende alrededor de 50 géneros y más de 2,500 especies. El aguacate, como la mayoría de los miembros de esta familia, es una especie muy variable que ha generado diferentes razas. Hasta el momento se han descrito tres razas de importancia

económica y que forma parte de la alimentación humana: Mexicana (*Persea americana* variedad *drymifolia*), Guatemalteca (*Persea americana* variedad *guatemalensis*) y Antillano (*Persea americana* variedad *americana*) (Galindo *et al.*, 2008).

El árbol es de porte vigoroso, pudiendo alcanzar hasta 30 metros de altura, el sistema radical es superficial, es perennifolio con hojas alternas, pedunculadas, muy brillantes, presenta flores perfectas en racimos subterminales (Reyes y Morales, 2007).

El fruto es una drupa, en forma de pera, de color verde claro a verde oscuro y de violeta a negro, cáscara rugosa con una pulpa verde amarillenta. Existen aproximadamente 400 variedades, por lo que podemos encontrar frutos de formas y pesos diferentes, que pueden llegar a pesar de 150 a 350 gramos (SAGARPA, 2011).

2.1.5. Requerimientos nutricionales

El aguacate es, hasta cierto punto, un cultivo rústico, en condiciones subtropicales con clima templado todo el año, inviernos benignos, lluvias abundantes y suelos ligeros y bien drenados puede prosperar y producir rendimientos aceptables (4-6 ton/ha), prácticamente sin riego y sin fertilización (Téliz y Mora, 2007). De cualquier forma Ruíz *et al.* (1999) mencionan que existe diferencia entre las razas predominantes de aguacate, así, la antillana prefiere climas con temperatura media mayor de 22°C, la guatemalteca entre 22 y 25°C y la mexicana de 20°C. Para todas las razas, la humedad relativa debe ser alta, con alta insolación, lluvias abundantes de más de 800 mm y suelos francos, drenables y ricos en materia orgánica.

El análisis es una herramienta importante para conocer el estado nutrimental de huertos comerciales, particularmente para el desarrollo de programas de fertilización, ya que puede ayudar a mejorar no sólo el rendimiento si no el tamaño y la calidad de la fruta (Salazar y Lazcano, 1999); esta técnica se basa en el concepto de la concentración de un elemento esencial en la planta, o parte de la planta, indica la habilidad en el suelo para proporcionar este nutrimento, considerando hasta cierto punto que el contenido de un nutrimento en la planta está directamente relacionado con la producción (Robinson, 1980).

De acuerdo con Maldonado (2002) los intervalos de suficiencia nutrimental determinados para el aguacatero varían según lo reportado por algunos autores (Cuadro 1).

Cuadro 1. Intervalos de concentración nutrimental foliar para árboles de aguacatero (Maldonado, 2002)

Nutrimento	Óptimo
Nitrógeno (%)	1.94 - 2.31
Fósforo (%)	0.15 - 0.18
Potasio (%)	0.81 - 1.09
Calcio (%)	1.28 - 2.59
Magnesio (%)	0.62 - 0.77
Hierro (mg / kg ⁻¹)	85 - 114
Manganeso (mg / kg ⁻¹)	87 - 182
Zinc (mg / kg ⁻¹)	20 - 51
Cobre (mg / kg ⁻¹)	7 - 32
Boro (mg / kg ⁻¹)	126 - 352

2.1.6. Razas

Hay básicamente tres grupos ecológicos o razas de aguacate: mexicana, guatemalteca y antillana. Las variedades más comercializadas

internacionalmente son las de origen guatemalteca y mexicana, especialmente Hass, Fuerte y Nabal (FAO, 2005).

La raza mexicana tiene como principal característica ser muy resistente al frío, así como también alto contenido de aceite. El tamaño del fruto es variable, con tendencia a pequeño (SAGARPA, 2011). Téliz y Mora (2007) indican que la raza mexicana tiene como principal ventaja la resistencia a frío, así como su alto contenido de aceite. Otras características son el olor anís de las hojas en casi todos los individuos.

La raza guatemalteca posee un fruto de tamaño pequeño y forma redonda, cuya característica principal es cáscara gruesa (SAGARPA, 2011). Téliz y Mora (2007) indican que presenta una cáscara bastante gruesa si se compara con las otras razas, lo que permite resistencia del fruto al transporte, sin embargo, como está formada por tejidos esclerificados son bastante duros y no permite saber con facilidad mediante el tacto si los frutos ya están en madurez de consumo. Otra característica favorable es el tamaño pequeño y forma redonda de la semilla en varios individuos de esta raza.

La raza antillana se adapta a clima tropical y es más tolerante a la salinidad, también tiene un lapso de flor a fruto bastante corto y el tamaño del fruto es mayor que en las otras razas (SAGARPA, 2011). Téliz y Mora (2007) indican que esta raza se adapta a clima tropical y como portainjerto es más tolerante a la salinidad, también tiene un lapso de flor a fruto bastante corto, entre otras características.

Ben-Ya'acov y colaboradores (1995) indicaron que en Costa Rica no hay aguacate de la raza mexicana y guatemalteca, y la raza antillana se encuentra en formas comunes en las partes bajas. Sin embargo, existe un tipo endémico en ese país que se conoce como "aguacate de monte" que es una variante muy primitiva de la especie *Persea americana*, sugerida como una variedad botánica

aparte y propuesta como variedad *costaricensis*. Téliz y Mora (2007) indican que la raza *costaricensis* se adapta a condiciones subtropicales de Costa Rica y no se conocen caracteres de interés, la semilla es redonda como la raza guatemalteca, la cáscara como la raza antillana y las hojas son medianas a pequeñas similares a las de la raza mexicana pero sin olor a anís.

2.1.7. Importancia del aguacate

A nivel mundial, México es el principal productor de aguacate: en 2012 concentró 30.19% de la producción mundial, seguido de Indonesia y de República Dominicana (6.75% y 6.65% respectivamente) (Figura 1) (FAOSTAT, 2016).

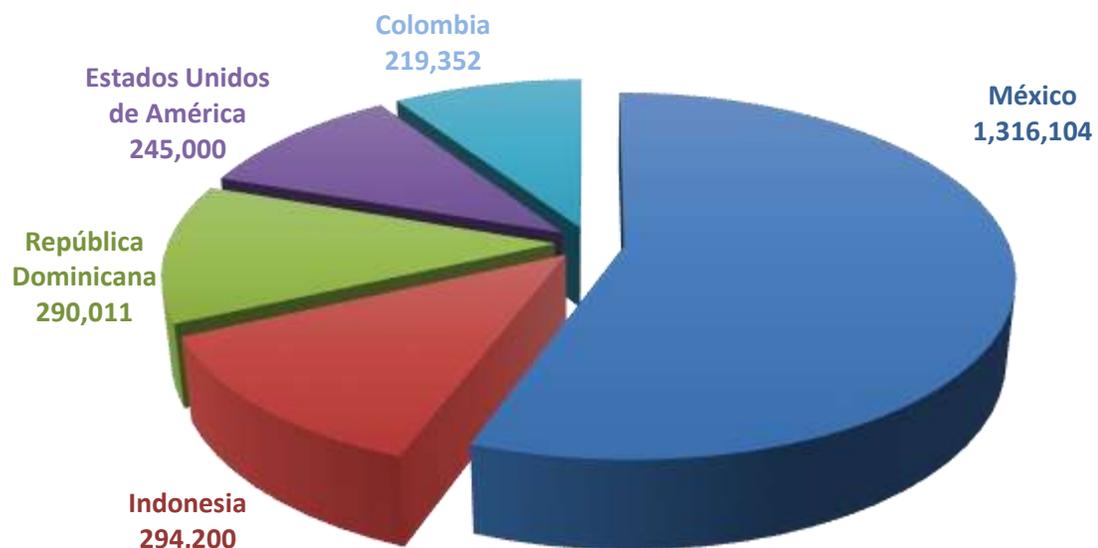


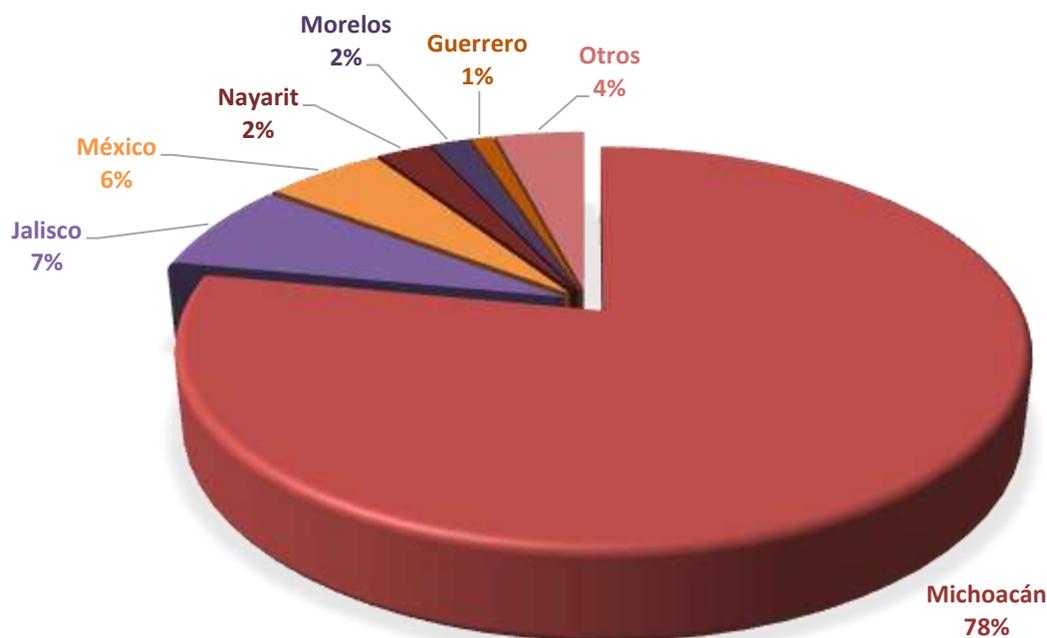
Figura 1. Producción mundial de aguacate (toneladas). Elaboración propia con datos de FAOSTAT, 2016.

Debido a las condiciones climáticas requeridas se cultiva en 26 estados de la república, entre los cuales destacan por superficie cosechada en primer lugar el estado de Michoacán con 126,468.91 ha, seguido de Jalisco con 13,062.65 ha y el estado de México con 7,499.21 ha (Cuadro 2 y Figura 2) (SIAP, 2015).

Cuadro 2. Producción nacional de aguacate en México (SIAP, 2015)

Ubicación	Superficie sembrada (ha)	Superficie cosechada (ha)	Producción (t)
Michoacán	134,941.76	126,468.91	1,283,313.29
Jalisco	17,040.85	13,062.65	119,647.41
México	8,162.21	7,499.21	89,040.10
Nayarit	5,385.54	4,259.12	39,148.73
Morelos	3,963.00	3,582.00	29,548.01
Guerrero	4,439.29	2,791.79	16,522.36
Total	173,932.65	157,663.68	67,005.96

Figura 2. Producción nacional de aguacate. Elaboración propia con datos de SIAP, 2015



2.1.8. Producción de aguacate en el estado de Michoacán

A nivel nacional, Michoacán aporta ocho de cada diez toneladas que se producen en México; lo cual lo consolida como el líder productor de aguacate en la República Mexicana; los estados que lo siguen en mayor producción son: estado de México, Jalisco, Nayarit y Morelos, en conjunto generan el 95% de la producción nacional (SAGARPA, 2015).

La franja aguacatera del estado de Michoacán es una región volcánica reciente que ocupa 7,752 km² y representa el 12.9% de la superficie estatal. El clima relevante es templado, húmedo y subhúmedo, con temperatura media de 8 a 21 °C y una precipitación anual de 1200 a 1600 mm. También tiene una zona de transición (subtropical) entre trópico seco y zona templada (APROAM, 2005). Actualmente existen 22 municipios productores de aguacate en Michoacán (Figura 3) y suman 85,709.32 ha (SAGARPA, 2005).

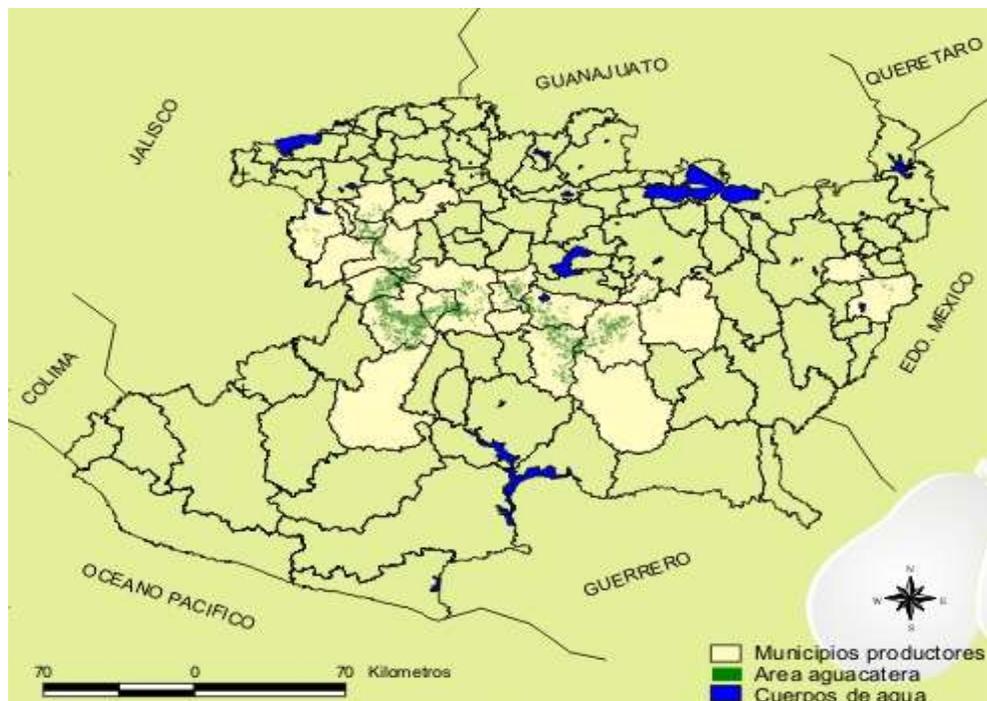


Figura 3. Franja aguacatera del estado de Michoacán (CONAPA, 2005)

El 80.8% de la superficie con aguacate en Michoacán corresponde a los municipios de Tancítaro, Uruapan, Peribán, Ario de Rosales, Tacámbaro, Nuevo Parangaricutiro y Salvador Escalante (Cuadro 3) (SAGARPA, 2005).

Cuadro 3. Distribución municipal de la superficie de la franja aguacatera en Michoacán (SAGARPA, 2005)

Municipio	Superficie (ha)	% del total
Tancítaro	15,177	17.7
Uruapan	14,878	17.4
Peribán de Ramos	12,839	15.0
Ario de Rosales	8,000	9.3
Tacámbaro	7,401.5	8.6
Nuevo Parangaricutiro	5,688	6.6
Salvador Escalante	5,291	6.2
Tingüindín	3,684	4.3
Los Reyes	2,849	3.3
Nuevo Zirosto (pertenece a Uruapan)	1,720	2.0
Turicato	1,455	1.7
Tingambato	1,415	1.7
Ziracuaretiro	1,120	1.3
Zitácuaro	995	1.2
Acuitzio	690	0.8
Tangamandapio	575	0.7
Apatzingán	448.82	0.5
Cotija	410	0.5
San Andrés Corú (pertenece a Ziracuaretiro)	318	0.4
Tocumbo	285	0.3
Villa Madero	262	0.3
Taretan de Michoacán	208	0.2
Total:	85,709.32	100

2.1.9. Comercialización

El sistema de comercialización del aguacate está compuesto por un flujo del producto en el cual se involucran una serie de empresas e instituciones mediante

la prestación de servicios de transporte, almacenamiento, empaque, distribución y publicidad, entre otras; con el propósito de que el aguacate vaya desde la huerta hasta la mesa del consumidor final (SE, 2012).

La comercialización se realiza a través de centros de acopio y empacadoras privadas. La mayor cantidad y capacidad instalada de centros de acopio y empacadoras para el mercado nacional e internacional se encuentran en Uruapan, Peribán y Tacámbaro. En total, estas tres poblaciones suman una comercialización aproximadamente del 75% de la producción total del estado de Michoacán. Respecto a los mercados nacionales, los principales centros de distribución del producto se encuentran en las ciudades de México, (Central de Abastos de Iztapalapa, CDM), Guadalajara, Monterrey, y de manera secundaria, Ciudad Juárez, Torreón, San Luis Potosí, León, Aguascalientes y Nuevo Laredo (SE, 2012).

2.2. Aspectos generales del patógeno

2.2.1. Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica de *Phytophthora cinnamomi*, de acuerdo con Agrios (2007) es la siguiente:

Reino: Protista

Filo: Oomycota

Clase: Oomycetes

Orden: Peronosporales

Familia: *Pythiaceae*

Género: *Phytophthora*

Especie: *Phytophthora cinnamomi* Rands.

2.2.2. Morfología y características

Las especies del género *Phytophthora*, de acuerdo con sus características morfológicas, están agrupadas en siete grupos. La especie *Phytophthora cinnamomi* se encuentra en el sexto grupo, ya que posee esporangios no papilados, con proliferación y persistentes; el anteridio es mayoritariamente anfígeno; en la producción de oosporas existen especies homotáticas y heterotáticas (Waterhouse, 1963).

Zamora y Casín (1986) mencionan que las especies del género *Phytophthora*, presentan dos tipos de reproducción: asexual (con la formación de clamidosporas y esporangios, que contienen las zoosporas) y sexual (mediante la formación de oosporas).

Phytophthora cinnamomi se distingue por su micelio tipo coraloide con abundantes hifas hinchadas. Vesículas hinchadas sésiles terminales o laterales, protuberancias producidas en forma simple o en racimo (Figura 4). Forma tres tipos de esporas diferentes, los esporangios y clamidosporas que dan origen a la reproducción vegetativa o asexual sin variación genética las oosporas dan origen a la reproducción sexual. Los esporangios germinan directamente a través de tubos germinales o indirectamente produciendo zoosporas móviles biflageladas, generalmente son elipsoides u ovoides, sin papilas y persistentes, redondeadas en la base y terminales (Rodríguez, 2015).



Figura 4. *Phytophthora cinnamomi* (Fotografía: Elizabeth Bush, Virginia Polytechnic Institute and State University, Bugwood.org: <https://www.forestryimages.org/browse/subthumb.cfm?sub=527>)

El micelio de *P. cinnamomi* es cenocítico con hifas moderadamente ramificadas y con hinchamientos vesiculares, el diámetro de las hifas varía de 8 a 25 micras. El aspecto de la colonia en medio de cultivo es tipo roseta o camelia debido al crecimiento deprimido y algodonoso del micelio que tiene lugar a intervalos irregulares (Figura 5). Los esporangióforos son simples y sobre ellos se forman esporangios ovales u oval alargados, grandes con medidas de 23 y 63 micras de largo por 15 a 30 micras de ancho sin papila. Forma abundantes clamidosporas esféricas, terminales e intercalares. Las esporas son heterotálicas (Coria, 2009).



Figura 5. *P. cinnamomi* en medio de cultivo

Los oogonios miden en promedio 40 μm de diámetro, con anteridios anfígenos (18 μm de ancho a 20 μm de largo), algunos anteridios pueden ser bicelulares, y muchas de las oosporas son pleróticas (llena la cavidad del oogonio) de 35 μm (Figura 6) (Andrade, 2012).

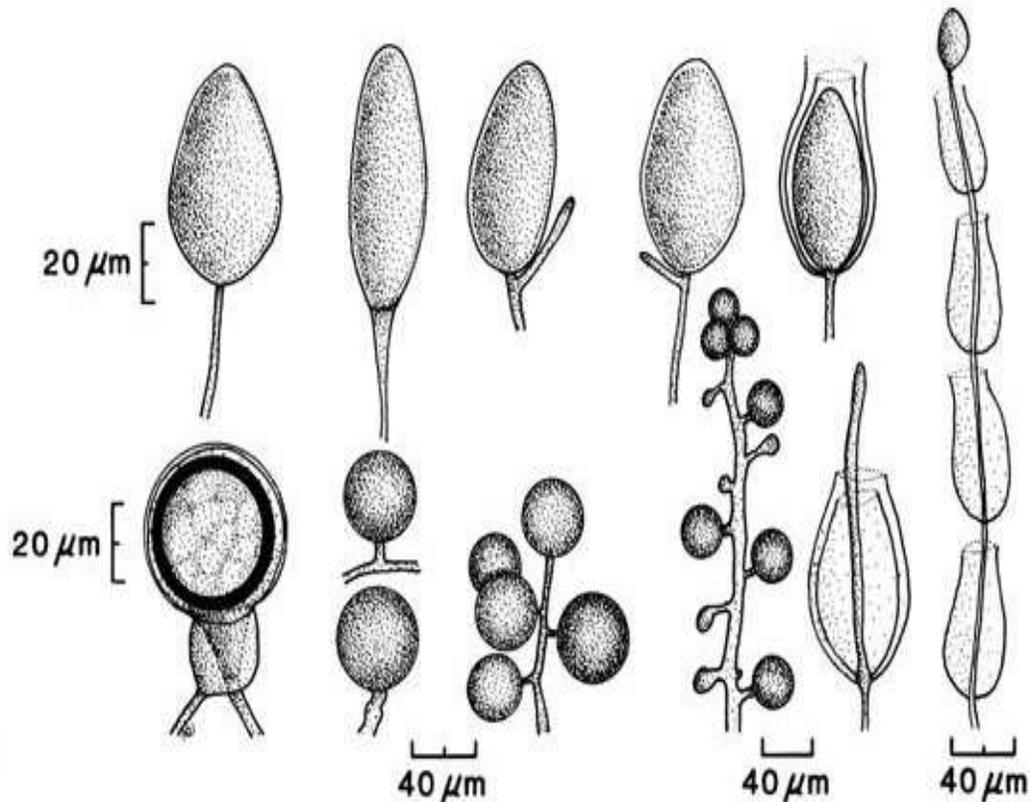


Figura 6. Morfología de *P. cinnamomi*: esporangios no papilados, clamidosporas, oogonios y oosporas globosas (Dibujo de A. Vaziri: http://www.phytophthoradb.org/file/html_fppd/phytophthora/cinnamomi/Figure_1.htm)

Respecto a la aireación, se puede mencionar que la infección es acelerada con una buena aireación pues la falta de oxígeno o exceso de CO_2 , afectan negativamente la producción de esporangios, a pesar de que es compleja la interrelación entre potencial hídrico y la aireación. Por otro lado, los esporangios

son estructuras reproductivas que tienen la capacidad de incrementar el inóculo en muy poco tiempo a través de la producción de zoosporas (Zentmyer, 1980).

2.2.3. Diseminación

La diseminación juega un papel importante en la distribución nacional y mundial del oomicete, *P. cinnamomi* puede ser diseminado a nuevas áreas por movimiento del suelo, movimiento de material vegetal con suelo, paso de maquinaria, en el equipo y agua de riego, en los zapatos, por transporte en las pezuñas de los animales y llantas de vehículos. Sin embargo, por lo que se ha observado en los bosques de Australia se puede indicar que es el hombre el que más ha contribuido a la diseminación de la enfermedad. Así mismo, la humedad del suelo está directamente ligada al crecimiento, esporulación, diseminación e infección causada por *P. cinnamomi*, especie que sólo forma esporangios en medios líquidos a diferencia de otros representantes del mismo género (Zentmyer, 1980).

De acuerdo con Erwin y Ribeiro (1996) la temperatura mínima para que se produzca la infección es de 5-6 °C, teniendo un óptimo entre 24 y 28 °C y un máximo que va de 32 a 34 °C.

Phytophthora cinnamomi crece mejor en suelos ácidos y tiene un rango óptimo de pH entre 6 y 6.5 para la producción de esporangios, aunque es factible que crezca en un rango que va de 4 a 7. Se puede mencionar que la infección es acelerada con una buena aireación pues la falta de oxígeno o exceso de CO₂ afectan negativamente la producción de esporangios, a pesar de que es compleja la interrelación entre potencial hídrico y la aireación (Zentmyer, 1980).

2.2.4. Estructuras de supervivencia

Phytophthora cinnamomi forma diferentes estructuras involucradas en el desarrollo de la enfermedad y en la supervivencia del oomycete: los esporangios (origen de las zoosporas), clamidosporas y oosporas. Los factores que limitan la supervivencia son: carencia de agua, bajas temperaturas y competencia con microorganismos antagonistas (Weste, 1994).

Sobrevive primero como clamidospora en raicillas afectadas. Este tipo de estructura es liberada eventualmente en el suelo en donde persiste por largos períodos. La producción, tanto de clamidosporas como esporangios, ocurre en el suelo con temperaturas sobre 13°C hasta 30°C, siendo el rango de temperatura óptima entre 21°C y 24°C. En la mayoría de los suelos este patógeno sobrevive como clamidospora, pero la estructura dormante con mayor habilidad para sobrevivir bajo condiciones extremas es la oospora (Coffey, 1992).

De acuerdo con Weste (1994) la supervivencia de especies de *Phytophthora* puede ser en forma de micelio, esporangios, quistes, clamidosporas y oosporas. El micelio es un propágulo muy vulnerable, de fácil destrucción por bacterias, por ello el periodo de supervivencia varía de 1-60 días. Mientras para esporangios de 3-42 días. En relación a las clamidosporas, por su gruesa pared y tolerancia a humedad mínima la supervivencia es 84-365 días, las oosporas estructuras de latencia, pueden permanecer viables más de 365 días.

2.2.5. Ciclo de vida

El oomycete sobrevive en el suelo por varios años en forma abundante como clamidosporas u oosporas en raíces o residuos de aguacate y de otras plantas cultivadas o en la maleza (en México no se forman oosporas debido a la ausencia de la cepa compatible del oomycete). Las clamidosporas actúan como semillas

de propagación y son resistentes a condiciones adversas del ambiente como sequía, temperaturas bajas y falta de alimento entre otras. Cuando la temperatura se eleva y hay humedad excesiva por efecto de riegos pesados, lluvia abundante o por inundación o cuando hay mal drenaje, las clamidosporas germinan y dan origen al micelio. El micelio origina los esporangios donde se formarán posteriormente las zoosporas; estas tienen movimiento propio y se desplazan con agilidad sobre la superficie del agua e infectan raíces nuevas y el cuello del árbol o contagian árboles vecinos. Las zoosporas se forman siempre que hay excesos de humedad. Con el avance de la infección se pudre gran cantidad de raíces y los árboles desarrollan los síntomas de la enfermedad. Al morir el árbol el patógeno forma nuevamente abundantes clamidosporas para soportar la falta de alimento. Cuando se vuelven a presentar condiciones favorables, las clamidosporas germinan y reinician el ciclo de la enfermedad sobre árboles de aguacate de replante o sobre otros cultivos que también son afectados por el oomycete (Mora *et al.*, 1994).

De acuerdo con Andrade (2012) *P. cinnamomi* tiene reproducción sexual y asexual, este oomycete en su ciclo biológico de infección, tiene la capacidad de sobrevivir por mucho tiempo, incluso años sobre el tejido de las raíces en la rizosfera del cultivo en forma de clamidosporas, aun en ausencia de plantas que hospeden la enfermedad. Cuando las condiciones son óptimas para la infección, las clamidosporas re infectan la planta. Estas condiciones se presentan con excesiva humedad en el suelo por efecto de abundantes lluvias o suelos con mal drenaje y temperaturas ideales para la manifestación de la enfermedad, las cuales se encuentran en un rango de 24 a 28°C, ya que se presenta mayor producción de esporangios y mejores condiciones para la liberación y movimiento de las zoosporas hacia las raíces de las plantas. Las clamidosporas germinan y dan origen al micelio el cual reinicia el ciclo de la infección. El micelio puede formar clamidosporas como estructuras de resistencia y también esporangios donde se encuentran las zoosporas biflageladas que dan inicio a la infección.



Figura 7. Diagrama en que el hongo *P. cinnamomi* ataca las raíces, causa la tristeza del aguacatero y sobrevive en el suelo (Téliz y Mora, 2007)

2.2.6. Sintomatología

La penetración primaria del oomycete normalmente ocurre por el ápice de las raíces absorbentes, donde ocasiona una pudrición firme café negruzca. El micelio avanza inter e intracelularmente a través del cambium, induciendo hidrólisis de la pared celular y colapso de protoplastos (Coffey, 1992). Con la destrucción de raíces se afecta la absorción de agua y nutrientes, provoca deficiencias de elementos (Pegg y Whiley, 1987). Cuando el árbol pierde más agua por transpiración que la absorbida por un sistema radical descompuesto por el patógeno, empieza a mostrar los síntomas de marchitamiento de hojas o tristeza. La falta de agua también reduce la capacidad de las hojas para formar clorofila y

esto es causa de la clorosis o amarillamiento de las hojas. Las hormonas que controlan la caída de las hojas también se ven afectadas por la deficiencia de agua y ocasionan la caída prematura de hojas (Téliz *et al.*, 2000).

El oomycete puede atacar la base del tronco y causar pudriciones en forma de manchas oscuras con exudaciones azucaradas y apariencia blanquecina. El fruto que se infecta por salpique del agua o contacto con suelo infestado presenta una pudrición firme de coloración café o negra (Coffey, 1992).

2.2.7. Importancia económica

Phytophthora cinnamomi es un parásito facultativo y cosmopolita, es decir, es un habitante natural de la mayoría de los suelos de todo el mundo; se alimenta de restos de cosechas en descomposición, pero bajo condiciones favorables puede atacar las raíces vivas y el cuello de más de 600 plantas de interés económico para el hombre incluyendo piña, durazno, manzano, mango, macadamia, papaya, azalea, pino, ciprés, eucalipto y encino, entre otras (Zentmyer, 1980).

2.2.8. Manejo de la enfermedad en México

Debido a la capacidad de las zoosporas de movilizarse en el agua y diseminarse hacia árboles vecinos, se recomienda aplicar riegos ligeros y en forma individual por medio de goteo, microaspersión, cajetes o pozas (sistema conocido como espina de pescado) para evitar que *P. cinnamomi* se extienda. Las técnicas regionales basadas en la aplicación aislada de métodos de control han sido inefectivas. Se han usado fungicidas como Alliette (fosetil aluminio) y Ridomil (metalaxil) solos o combinados con estiércoles, manejo de la nutrición y del agua de riego, plásticos para incrementar la temperatura en el área de goteo, etc. (Martínez, 1989). Sin embargo, la mayoría de estos métodos han fallado en México, debido principalmente a que se han aplicado en forma aislada y al poco

entendimiento de la relación que guardan entre sí el patógeno, la planta, las técnicas de producción y el ambiente. En Sudáfrica el uso de fosetil aluminio es práctica común para el control de este hongo (Darvas *et al.*, 1983).

Phytophthora cinnamomi ha desarrollado gran capacidad de supervivencia que hace imposible su erradicación del suelo. Las mayores poblaciones se localizan en los primeros 30 cm, aunque es posible detectarlo a profundidades de hasta 110 cm donde se encuentra fuera del alcance de los fungicidas que se incorporan al suelo para su control. La erradicación de este patógeno por medio de control químico es irracional por lo difícil, costoso, inefectivo y por los daños al ambiente. Esta situación impone la necesidad de convivir con *P. cinnamomi* por medio de estrategias de manejo integral de la enfermedad y del cultivo, que den vigor a los árboles y mantengan bajas las poblaciones del organismo para que no cause daños económicos (Téliz y Mora, 2007).

2.2.9. Control químico

Varios fungicidas han sido desarrollados para el control químico de *P. cinnamomi*. El metalaxil es específico contra *P. cinnamomi* y organismos afines. Sin embargo su efectividad disminuye con el tiempo debido a la resistencia que este patógeno desarrolla hacia el fungicida como ha sucedido con enfermedades importantes como el tizón tardío de la papa (*Peronospora destructor*). Después del metalaxil apareció el fosetil aluminio (Aliette) como producto específico y efectivo contra los *pythiaceos*, a los que pertenece *P. cinnamomi*, tiene movimiento basipétalo, por lo que puede dirigirse hacia el follaje o hacia las raíces, dependiendo de la intensidad del ritmo de crecimiento activo de la estación. El fosetil aluminio puede aplicarse al suelo, en aguas de riego, aspersión foliar, como pintura al tronco o inyecciones al tronco. A diferencia del metalaxil, el fosetil aluminio tiene un reducido efecto como fungicida; su efecto consiste en incrementar la resistencia en la planta por mecanismos que aún no son claros (Téliz y Mora, 2007).

2.3. LITERATURA CITADA

- Agrios, G. N. 2007. Fitopatología. Editorial Limusa, S.A. de C.V. Segunda edición. Pp. 278.
- Andrade H., P. 2012. Selección de portainjertos de aguacate para tolerancia-resistencia a *Phytophthora cinnamomi* Rands. Tesis de Doctorado en Ciencias en Fitopatología. Colegio de Postgraduados. Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas. Campus Montecillo, México. 110 p.
- APROAM. 2005. Asociación Profesional de Agentes Medioambientales. Características de la región Aguacatera de Michoacán. Disponible en <http://www.aproam.com>. Consultado en agosto 2017.
- Ben-Ya'acov, A. 1995. The adaptation of the avocado tree to saline conditions in Israel by rootstock selection. Program and Book of Abstracts of the World avocado Congress III. October 22-27, Tel Aviv, Israel. 98 p.
- Coffey, M. D. 1992. *Phytophthora* root rot of avocado. Plant Diseases of Fruit Crops. J. Kumar, H.S. Chaube, U.S. Singh, and A.N. Mukhopadhyay, eds. Prentice Hall, Englewood Cliffs, N.J. 423:444.
- CONAPA. 2005. Comité Nacional del Sistema Producto Aguacate A.C. Disponible en <http://www.agustindelcastillo.com/2013/06/michoacan-la-fiebre-del-oro-verde.html>. Consultado en septiembre 2017.
- Coria, A., V. M. 2009. Tecnología para la producción de aguacate en México. Libro técnico Núm. 8. SAGARPA – INIFAP. Segunda edición y primera reimpresión. Uruapan, Michoacán, México.
- Darvas, J. M., Toerien, J. C. y Milne, D. L. 1983. Injection of established avocados for the effective control of *Phytophthora* rootrot. SAAGA Yearbook 6: 76-81.
- FAO. 2005. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Segmentación de los productos y perspectivas de mercado en los mercados del aguacate de la Comunidad Europea y los Estados Unidos. Consultado en abril de 2017.
- FAOSTAT. 2016. "Statistics of crops production by country" Food and Agriculture Organization. <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>> Consultado en mayo 2017.
- Galindo, T. M. E., Arzate F. A. M., Aguilar O., Murgía G. J., Lee E. H. y Landero T. I. 2008. Origen y domesticación de aguacate (*Persea americana* Mill),

XXI Reunión científica-tecnológica forestal y agropecuaria Veracruz y I del trópico mexicano. Veracruz, México.

- Maldonado, T. R. 2002. Diagnóstico nutrimental para la producción de aguacate "Hass". Informe de investigación. UACH. Texcoco, México. Pp. 167.
- Mora, A. G., Téliz O. D., Etchevers J. D. y Huerta de la Parra A. 1994. Manejo integrado de la tristeza del aguacate (*Persea americana*): Validación de tecnología en Puebla, México. Revista Mexicana de Fitopatología 12: 51-62.
- Martínez, B. R. 1989. Actividades actuales para el control de *Phytophthora cinnamomi* Rands (tristeza del aguacatero) en la región de Uruapan, Michoacán, México. Revista Mexicana de Fitopatología 7: 240-242.
- Pegg, K. G. y Whiley A. W. 1987. *Phytophthora* control in Australia. S. Afr. Avocado Growers' Assoc. Yearrb. 10: 94-96.
- Reyes, C. y L. Morales. 2007. Determinación de la temperatura óptima de desarrollo *in vitro* de *Phytophthora parasitica* Dastur en aguacate "Hass", en la zona aguacatera de Michoacán, México. Actas VI Congreso Mundial del Aguacate. Viña del Mar, Chile.
- Robinson, J., B. D. 1980. Soil and tissue analysis in predicting nutrient needs. In: Atkinson D., Jackson J. E., Sharples R. O. and Waller W. (eds). Mineral Nutrition of fruit trees. Studies in the Agricultural and Food Sciences. Us Department of Agriculture. Pp 355-364.
- Rodríguez, H., E. 2015. Caracterización morfológica y evaluación de la resistencia de materiales criollos de aguacate *Persea americana* Mill. a la pudrición radical del aguacate *Phytophthora cinnamomi* Rands en el Centro de Investigación Palmira de CORPOICA. Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Palmira, Colombia. 98 p.
- Ruíz C. A., Medina G. G., Ortiz C. T., Martínez R. P., González I. J. A., Flores H. E. L. y Byerly K. F. M. 1999. Requerimientos agroecológicos de los cultivos. INIFAP. Guadalajara, Jalisco. 324 p.
- SAGARPA, 2011. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Monografía de cultivos: aguacate. Subsecretaría de Fomento a los Agronegocios, Noviembre. P.p. 1-2.
- SAGARPA. 2005. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y

Pesquera. Disponible en www.siea.sagarpa.gob.mx. Consultado en agosto 2017.

SAGARPA. 2015. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Disponible en <http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/michoacan/boletines/Paginas/B0342015.aspx>. Consultado en agosto 2017.

Salazar, G. S. y Lazcano F. I. 1999. Diagnóstico nutrimental del aguacate "Hass" bajo condiciones de temporal. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 5:173-184.

SE. 2012. Secretaria de Economía. Dirección General de Industrias Básicas. Monografía del Sector Aguacate en México: Situación Actual y Oportunidades de Mercado. Febrero, 2012. Pp. 12-13.

SIAP. 2015. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Disponible en: http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/icultivo/index.jsp. Consultado en abril de 2017.

Téliz, O., D. y Mora, A., G. 2007. *El Aguacate y su Manejo Integrado*. Segunda Edición. Grupo Mundi-Prensa. México, D.F. 321 p.

Téliz, O., D., Mora A., G. y Morales G., L. 2000. Importancia histórica y socioeconómica del aguacate. En: *El aguacate y su manejo integrado*. Téliz Ortiz, D. (coord.). Mundi Prensa. México.

Waterhouse, G. M. 1963. Key to the specie of *Phytophthora* de Bary. *Mycological Papers No 92 Commonwealth Mycol Inst., Assoc. Apl. Biol, Kew, Surrey, England*. 22 p.

Weste, G. 1994. Impact of *Phytophthora* species on native vegetation of Australia and Papua, New Guinea. *Austr. Plant Pathol*. 23:190-209.

Zamora, V. y Casín, J. C. 1986. El género *Phytophthora* como causante de enfermedades en los cítricos. *Boletín de Reseñas. Cítriy otros Frutales*. Número 24.

Zentmyer, G. A. 1980. *Phytophthora cinnamomi* and the diseases it causes. Monography #10. The American Phytopathological Society, St, Paul, Mn. 96 p.

PATOGENICIDAD DEL AISLAMIENTO DE *Phytophthora cinnamomi* Rands. EN PLANTAS DE AGUACATE (*Persea americana* Mill)

PATHOGENICITY OF ISOLATION OF *Phytophthora cinnamomi* Rands. ON AVOCADO PLANTS (*Persea americana* Mill)

Tesis de Maestría en Ciencias, Maestría en Protección Vegetal, Universidad Autónoma Chapingo. **Fernández-Páez**, Cinthya Marisol¹ y **Acosta-Ramos**, Marcelo².

Resumen¹: *Phytophthora cinnamomi* es un oomycete que causa pudrición de raíz, siendo el problema más importante en la fitosanidad del cultivo, las raíces más finas presentan necrosis y se tornan de color oscuro desprendiéndose con facilidad. El estudio tuvo como objetivo aislar, identificar y determinar la cantidad de inóculo infectivo del patógeno en plantas de aguacate en invernadero, estableciendo un método de inoculación a la raíz de la planta que reprodujera los síntomas de la enfermedad. Granos de semilla de trigo estéril con micelio del hongo fueron inoculados. Las dosis de inóculo evaluadas correspondieron a 1, 3 y 5 g de semilla por maceta, ensayando tres tratamientos y un testigo absoluto con tres repeticiones y una unidad experimental en un diseño de bloques completos al azar. A los 45 días de inoculadas y por medio de una escala visual se determinó la severidad del aislamiento obtenido, transformándolo a porcentaje de infección (PI) mediante la fórmula de Townsend y Heuberger (1943). Los datos fueron sometidos a análisis de varianza y prueba de comparación múltiple de medias usando el método de Tukey ($\alpha = 0.05$). Los resultados permitieron concluir que las dosis de inóculo ensayadas fueron patogénicas con un PI=76.29 (1 g), 80.95 (3 g) y 85.71% (5 g) respectivamente, produciendo la sintomatología típica de la enfermedad y presentando las características morfológicas de *P. cinnamomi*, sin mostrar diferencias significativas entre ellas.

Palabras clave: *Phytophthora cinnamomi*, inoculación, patogenicidad.

Abstract¹: *Phytophthora cinnamomi* is an oomycete that causes root rot, being the most important problem in the crop phytosanity, the finer roots have necrosis and become dark colored with easy detachment. The objective of the study was to isolate, identify and determine the amount of infective inoculum of the pathogen in greenhouse avocado plants, establishing a method of inoculation to the root of the plant that reproduced the symptoms of the disease. Grains of sterile wheat seed with mycelium of the fungus were inoculated. The inoculum doses evaluated corresponded to 1, 3 and 5 g of seed per pot, testing three treatments and an absolute control with three replicates and one experimental unit in a randomized complete block design. At 45 days of inoculation and by means of a visual scale the severity of the obtained isolation was determined, transforming it to percentage of infection (PI) by the formula of Townsend and Heuberger (1943). The data were subjected to analysis of variance and multiple comparison test of means using the Tukey method ($\alpha = 0.05$). The results allowed to conclude that the doses of inoculum tested were pathogenic with a PI = 76.29 (1 g), 80.95 (3 g) and 85.71% (5 g) respectively, producing the typical symptomatology of the disease and presenting the morphological characteristics of *P. cinnamomi*, without showing significant differences between them.

Key words: *Phytophthora cinnamomi*, inoculation, pathogenicity.

¹Tesista, ²Director

CAPÍTULO III. PATOGENICIDAD DEL AISLAMIENTO DE *Phytophthora cinnamomi* Rands. EN PLANTAS DE AGUACATE (*Persea americana* Mill)

3.1. INTRODUCCIÓN

La tristeza del aguacatero es la enfermedad más importante y destructiva del cultivo en el mundo, ataca árboles de todas las edades, incluyendo los de vivero, destruye las raicillas delgadas provocando la muerte al árbol. Los árboles afectados presentan un decaimiento progresivo el cual ofrece un aspecto general de marchitez, en el follaje se observa un color verde pálido, clorosis, defoliación, necrosis y hojas más pequeñas de lo normal. Posteriormente las hojas se caen empezando por las puntas de las ramas iniciándose así la defoliación. La fructificación va decayendo, aunque a veces se puede producir una fructificación excesiva, con muchos frutos de tamaño pequeño que no llegan a lograr un tamaño comercial. En la zona radical se observa la ausencia de raicillas y las raíces más viejas y gruesas desarrollan en su interior manchas de color castaño rojizo cuando el árbol presenta un estado avanzado de la enfermedad. Cuando la enfermedad se detecta en sus inicios únicamente se observa que las raíces absorbentes se tornan de un color oscuro, se vuelven quebradizas y finalmente mueren. Los síntomas mencionados anteriormente se detectan fácilmente en época de lluvias (Morales, 2011).

La causa de la pérdida de árboles de aguacate en diferentes etapas del cultivo es debido principalmente a la tristeza del aguacatero, enfermedad causada por *P. cinnamomi* Rands., oomicete perteneciente a la familia *Pythiaceae*, que afecta plantas de cualquier edad, causando marchitez de raíces y cáncer en el tallo (Andrade, 2012). El objetivo del estudio fue aislar, identificar y determinar la cantidad de inóculo infectivo del patógeno en plantas de aguacate de un año de edad en condiciones de invernadero, estableciendo un método de inoculación a la raíz de la planta que reprodujera los síntomas de la enfermedad.

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1. Localización del experimento

El presente estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Fitopatología y un invernadero del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo (19°29'34.0"N 98°53'01.5"W) Texcoco, Estado de México (INEGI, 2014).

3.2.2. Material Vegetal

El ensayo se realizó en plantas de aguacate criollo de raza mexicana, provenientes de semillas sanas de árboles de un huerto ubicado en el municipio de Tacámbaro, estado de Michoacán. Los frutos fueron despulpados y las semillas lavadas para eliminar residuos; para acelerar la germinación, se removió la testa y se hizo un corte apical tipo candado entre 10 y 20 mm. Las semillas se desinfectaron por inmersión en Headline (pyraclostrobin) a una dosis de 1.5 ml L⁻¹ de agua, Previcur energy (propamocarb + fosetilato) a una dosis de 2 ml L⁻¹ de agua y Cercobín (tiofanato metílico) a una dosis de 1 g L⁻¹ de agua durante cinco minutos y posteriormente fueron sembradas en suelo previamente desinfectado con Busan 30W (TCMTB: tiocianometiltio benzotiazol) a una dosis de 10 ml L⁻¹ de agua y colocadas en bolsas de 15 cm de ancho por 20 cm de alto, una vez sembradas se aplicó a cada una de las semillas 50 ml de la solución obtenida de la mezcla de los tres fungicidas.

3.2.3. Patogenicidad

3.2.3.1. Aislamiento del patógeno

El aislamiento empleado en esta investigación se obtuvo de raíces de árboles de *Persea americana* procedentes de Tuxpan, Michoacán. Los árboles mostraban síntomas característicos que causa *P. cinnamomi* (tristeza del aguacatero). Las raíces fueron extraídas del suelo bajo el área de gotera de árboles de ocho años de edad de un huerto ubicado en el municipio de Tuxpan, estado de Michoacán. Las raíces fueron lavadas y desinfectadas en el laboratorio con hipoclorito de sodio al 3% durante 30 segundos y se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril para eliminar residuos de cloro. Fragmentos de 2 cm de longitud, fueron sembrados en medio PARPH (pimaricina, ampicilina, rifampicina, PCNB [pentacloronitrobenzeno] e himexazol) (Jeffer y Martín, 1986; Erwin y Ribeiro, 1996). El aislamiento obtenido fue purificado e incrementado en medio Agar – Agar + jugo V8. La identificación morfológica se llevó a cabo usando las claves de Waterhouse (1963).

3.2.3.2. Inóculo

La inoculación de *P. cinnamomi* consistió en trigo estéril colonizado por el hongo y las dosis de inóculo fueron de 1, 3 y 5 g. El trigo se incorporó en cada una de las plantas en hoyos realizados en el suelo cerca de la raíz que enseguida fueron tapados. Previamente, las plantas fueron sometidas a inundación para propiciar las condiciones adecuadas para el desarrollo del hongo fitopatógeno.

3.2.3.3. Prueba de patogenicidad

Se realizaron las pruebas de acuerdo con los postulados de Koch y la técnica descrita por Agrios (2007).

El aislamiento obtenido fue inoculado en plantas sanas de aguacate de raza mexicana de un año de edad, así mismo, se contó con un testigo. Las plantas se mantuvieron bajo condiciones de invernadero. Después de la inoculación a cada planta se le cubrió con una bolsa de plástico, para generar condiciones de alta humedad relativa.

Se registró el comportamiento temporal de severidad de la enfermedad en la raíz a los 45 días después de inoculadas las plantas y a una dosis de inóculo por planta correspondiente a 1, 3 y 5 g de semilla de trigo colonizado de *P. cinnamomi* a diferente concentración de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) del patógeno, cuantificadas por medio de la cámara de Neubauer. Se ensayaron tres tratamientos y un testigo, los cuales se arreglaron en un Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA) con tres repeticiones. La unidad experimental fue de una planta (Cuadro 4).

Cuadro 4. Tratamientos evaluados en pruebas de patogenicidad

Tratamiento	Inóculo	(UFC) / g ⁻¹
T1	1 g	1.856 x 10 ⁷
T2	3 g	5.568 x 10 ⁷
T3	5 g	9.28 x 10 ⁷
T0	---	---

La evaluación se realizó por medio de la escala visual propuesta en el Cuadro 5, registrando la severidad de la enfermedad en la raíz a los 45 días de inoculado el patógeno. Los datos obtenidos de severidad en raíz, se transformaron a porcentaje de infección (PI) mediante la fórmula de Townsend y Heuberger (1943):

$$\% I = \Sigma \frac{n * V}{CM * N} * 100$$

Donde:

% I = Porcentaje de infección.

n = Numero de observaciones en una misma escala.

V = Valor numérico de la escala.

CM = Valor máximo de la escala.

N = Total de observaciones a evaluar.

Cuadro 5. Escala visual para evaluar severidad en raíz

Índice	Descripción
0	Planta sana
1	Del 1 al 10% de la Superficie de la Raíz Dañada (SRD)
2	Del 11 al 20% de la SRD
3	Del 21 al 30% de la SRD
4	Del 31 al 40% de la SRD
5	Del 41 al 50% de la SRD
6	Más de 51% de la SRD
7	Planta muerta

Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis estadístico de los datos, el cual consistió en un análisis de varianza y una prueba de comparación múltiple de medias usando el método de la diferencia significativa honesta de Tukey, con nivel de significancia al 5% ($\alpha= 0.05$), utilizando el paquete estadístico SAS (SAS, 2017) para determinar el comportamiento del aislamiento de *P. cinnamomi* y posteriormente realizar el reaislamiento y poder verificar los postulados de Koch.

3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El aislamiento obtenido de *P. cinnamomi*, mostró ser patogénico al ser inoculado en las plantas de *P. americana* de un año de edad. Las dosis de inóculo ensayadas ocasionaron síntomas de daño en la raíz: cancro en tallo, raíces absorbentes quebradizas y de color oscuro, así como disminución del área radicular (Figura 8). Estos síntomas coinciden con los reportados por (Pegg y Whiley, 1987; Coffey, 1992; Téliz *et al.*, 2000; Ochoa-Fuentes *et al.*, 2014). En ningún caso se observó esta sintomatología en las plantas testigo.



Figura 8. Sintomatología en raíz por *P. cinnamomi*: A) Testigo, B) Dosis 1 g, C) 3 g y D) 5 g

Una vez manifestados los síntomas de la enfermedad en las pruebas, se procedió a realizar el reislamiento del patógeno del tejido infectado, lo que permitió comprobar los postulados de Koch, verificando que la necrosis en raíz correspondió al desarrollo del patógeno inoculado en la misma. Así mismo, fue reproducido en laboratorio donde se observó la morfología típica de *P. cinnamomi*: micelio cenocítico con hifas moderadamente ramificadas y con hinchamientos vesiculares, clamidosporas y aspecto de la colonia en medio de cultivo tipo roseta o camelia debido al crecimiento deprimido y algodonoso del micelio (Figura 9). Características que coinciden con las reportadas por (Erwin y Ribeiro, 1996; Zentmyer, 1980; Almaraz *et al.*, 2016).

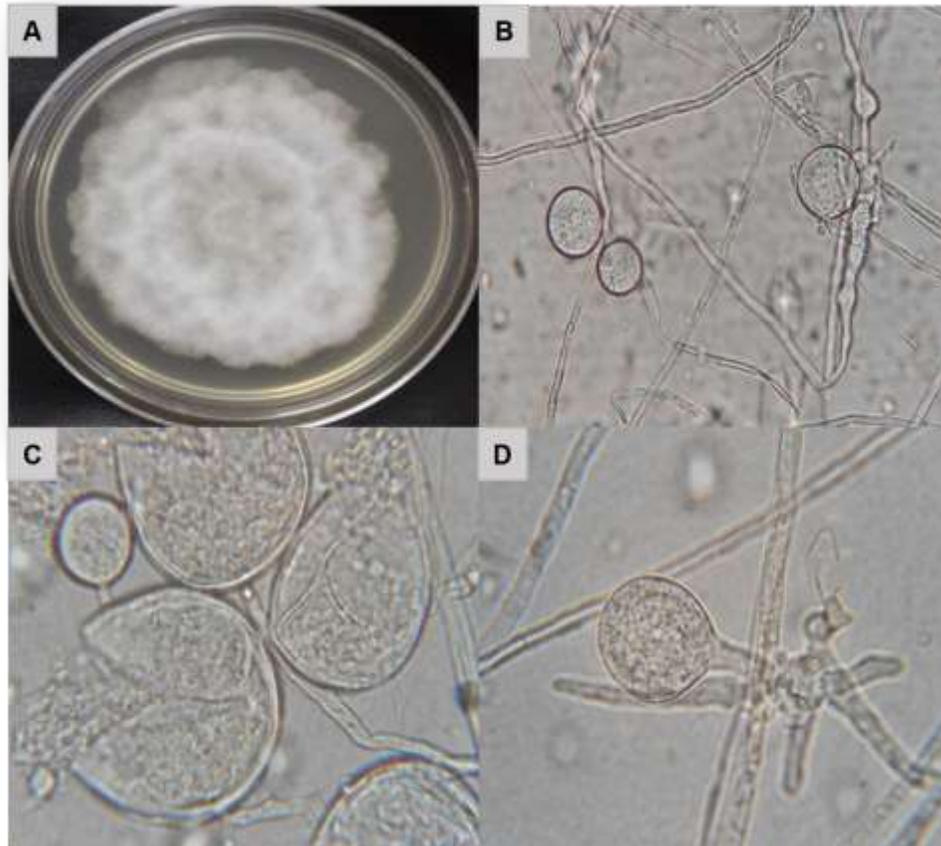


Figura 9. Morfología de *P. cinnamomi*: A) Medio de cultivo, B), C) y D) Microscopio.

Con base en los resultados del análisis de varianza y prueba de comparación múltiple de medias con el método Tukey, ($\alpha= 0.05$), no se observaron diferencias significativas entre las dosis utilizadas en las pruebas de patogenicidad, solo se diferenciaron del testigo; sin embargo, la dosis de inóculo infeccioso correspondiente a 5 gramos de semilla de trigo estéril colonizado por el patógeno, mostró el mayor PI con un 85.71% (Cuadro 6).

Cuadro 6. Porcentaje de inóculo infeccioso de *P. cinnamomi*

Tratamiento	UFC / gramo	Media \pm E.E.	PI
1 g	1.856×10^7	5.33-0.23 a*	76.19%
3 g	5.568×10^7	5.66-0.23 a	80.95%
5 g	9.28×10^7	6.00-0.23 a	85.71%
Testigo	-----	0.0 b	-----

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey=0.05)

Maurel *et al.* (2001), evaluaron un aislamiento patogénico de *P. cinnamomi* en raíces de castaño (*Castanea sativa*), utilizando dosis de inóculo infeccioso de 5 mililitros de semillas de mijo infectadas con el patógeno, éstas fueron puestas a remojar durante 24 horas para posteriormente ser esterilizadas dos veces en viales de vidrio de 350 mililitros y por medio de autoclave a 120 °C en un intervalo de 24 horas durante 20 minutos. Las semillas de mijo estériles fueron inoculadas con diez discos que contenían micelio activo del patógeno reproducido en medio Agar + jugo V8.

Pérez y colaboradores (2003) reportan dosis de inóculo infeccioso de 4 gramos de trigo estéril colonizado del aislado CH53-RN400 de *Rosellinia necatrix* (sobre plantas de *Persea americana*) hongo que ocasiona la pudrición blanca de raíz en el cultivo de aguacate en España.

Andrade (2012) reportó dosis de 1 y 2 gramos de semilla estéril como efectivas para inoculación de aguacate (*Persea americana*) en estudios de resistencia a *P. cinnamomi*.

Rodríguez y colaboradores (2015) evaluaron dosis de inóculo infectivo del aislamiento ARFRE-008 de *P. cinnamomi* previamente caracterizado como virulento, correspondientes a 1, 2, 3, 5 gramos de micelio crecido en granos de trigo estéril por kilogramo de sustrato, concluyendo que la dosis de 3 y 5 gramos de inóculo favorecieron la reproducción de los síntomas de la enfermedad, lo cual coincide con los resultados obtenidos en el presente estudio.

3.4. CONCLUSIONES

El aislamiento de *Phytophthora cinnamomi* obtenido de raíces con síntomas característicos de la enfermedad, mostró morfología típica del hongo y una patogenicidad correspondiente al 86% en plantas de aguacate de un año de edad a una dosis de 5 gramos de semilla de trigo estéril infectadas con el patógeno y a una concentración de 9.28×10^7 UFC / g⁻¹.

3.5. LITERATURA CITADA

Agrios, G. N. 2007. Fitopatología. Editorial Limusa, S.A. de C.V. Segunda edición. Pp. 278.

Almaraz-Sánchez, Alejandra, Alvarado-Rosales, Dionicio, Leyva-Mir, Gerardo, Equihua-Martínez, Armando, Aranda-Ocampo, Sergio y Hernández-Morales, Javier. 2016. Pruebas de patogenicidad de *Phytophthora cinnamomi* Rands. en *Pseudotsuga mensiezii*. Revista Mexicana de Fitopatología 34 (2): 142-157.

Andrade H., P. 2012. Selección de portainjertos de aguacate para tolerancia-resistencia a *Phytophthora cinnamomi* Rands. Tesis de Doctorado en Ciencias en Fitopatología. Colegio de Postgraduados. Institución de

Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas. Campus Montecillo, México. 110 p.

- Coffey, M. D. 1992. *Phytophthora* root rot of avocado. Plant Diseases of Fruit Crops. J. Kumar, H.S. Chaube, U.S. Singh, and A.N. Mukhopadhyay, eds. Prentice Hall, Englewood Cliffs, N.J. 423:444.
- Erwin, D. C. y Ribeiro, O. K. 1996. *Phytophthora* diseases worldwide. American Phytopathol. Soc., MN. Pp. 270-271.
- INEGI. 2014. Instituto Nacional de Estadística y Geografía e Informática. Serie estadísticas sectoriales. 304 p.
- Jeffer, N. y Martín, J. B. 1986. Comparison of two media selective for *Phytophthora* and *Pythium* species. Plant Dis. 70, 1038-1043. <http://dx.doi.org/10.1094/PD-70-1038>.
- Maurela, M., Robina, C., Capdevielle, X., Loustaub D. y Desprez-Loustau, M.-L. 2001. Effects of variable root damage caused by *Phytophthora cinnamomi* on water relations of chestnut saplings. INRA, EDP Sciences, France. Ann. For. Sci. 58 (2001) 639–651.
- Morales, G., J. L. 2011. Enfermedades de importancia económica en el cultivo de aguacate. III Congreso latinoamericano del Aguacate memorias. Disponible en www.corpoaguacate.com/pdf/.../pdf/enfermedadesimportanciaeconomica.pdf
- Ochoa-Fuentes, J. M., Cerna-Chávez, E., Gallegos-Morales, G., Cepeda-Siller, M., Landeros-Flores, J. y Flores Olivas, A. 2014. Variabilidad patogénica de *Phytophthora cinnamomi* Rands en *Persea americana* Mill de Michoacán, México. Nota científica. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios 2(5):211-215.
- Pegg, K. G. y Whitley A. W. 1987. *Phytophthora* control in Australia. S. Afr. Avocado Growers' Assoc. Yearrb. 10: 94-96.
- Pérez Jiménez R. M., Zea Bonilla T., Imbroda Solano, I., Pliego Alfaro, F., López Herrera C. J. y Barceló Muñoz A. 2003. Selección de portainjertos de aguacate tolerantes a la podredumbre blanca causada por *Rosellinia necatrix*. V Congreso Mundial del Aguacate. Instituto de Agricultura Sostenible. Córdoba, España. 537-541 p.
- Rodríguez, P., Murcia R., N. y Martínez, M. 2015. Desarrollo de un protocolo de infección en raíz para cuantificación de resistencia genética a *Phytophthora cinnamomi*, en aguacate. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA. VIII Congreso Mundial de la

Palta. Del 13 al 18 de septiembre. Lima, Perú. 121-127 p. Disponible en www.wacperu2015.com.

SAS Institute. 2017. Institute, Inc. Cary. Versión 9.0.

Téliz, O., D., Mora A., G. y Morales G., L. 2000. Importancia histórica y socioeconómica del aguacate. En: El aguacate y su manejo integrado. Téliz Ortiz, D. (coord.). Mundi Prensa. México.

Townsend, C. R. y Heuberger J. W. 1943. Methods for estimating losses caused by disease in fungicides experiments. Plant disease report. pp. 340-343.

Waterhouse, G. M. 1963. Key to the specie of *Phytophthora* de Bary. Mycological Papers No 92 Commonwealth Mycol Inst., Assoc. Apl. Biol, Kew, Surrey, England. 22 p.

EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA *in vitro* DE PRODUCTOS QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS EN *Phytophthora cinnamomi* Rands.

BIOLOGICAL EFFECTIVENESS *in vitro* OF CHEMICAL AND BIOLOGICAL PRODUCTS IN *Phytophthora cinnamomi* Rands.

Tesis de Maestría en Ciencias, Maestría en Protección Vegetal, Universidad Autónoma Chapingo. **Fernández-Páez**, Cinthya Marisol¹ y **Acosta-Ramos**, Marcelo².

Resumen²: El cultivo de aguacate, es afectado por insectos y patógenos que causan daños importantes, ya que disminuyen rendimiento y afectan la calidad del fruto. El estudio tuvo como objetivo evaluar la efectividad biológica *in vitro* de productos químicos y biológicos sobre *P. cinnamomi*. Se ensayaron seis tratamientos químicos, cuatro biológicos y un testigo absoluto, con tres repeticiones y unidad experimental de una caja petri en un diseño completamente al azar. El crecimiento micelial del aislado, fue medido durante cinco días y expresado como porcentaje de eficacia del tratamiento a través de la fórmula de eficacia de Abbott (1925). Los datos fueron sometidos a análisis de varianza y una prueba de comparación múltiple de medias usando el método de Tukey ($\alpha = 0.05$). Los resultados permitieron concluir que pyraclostrobin + dimetomorf (Naria top), es significativamente diferente con respecto a los demás tratamientos, presentando una efectividad del 58.48%, seguido de propamocarb + fluopicolide (Infinito) y metalaxil / mefenoxam (Tokat 240) con una efectividad del 56.13 y 53.61% respectivamente. *Trichoderma harzianum* mostró buen control sobre *P. cinnamomi*, debido a que se observó una inhibición progresiva del patógeno a las 72 horas de incubación, por lo que el patógeno ya no tuvo crecimiento micelial. A las 120 horas de incubación, *T. harzianum* sobrecreció por completo al patógeno.

Palabras clave: *P. cinnamomi*, *T. harzianum*, fungicida, efectividad biológica.

Abstract²: The cultivation of avocado is affected by insects and pathogens that cause significant damage, since they diminish yield and affect the quality of the fruit. The objective of this study was to evaluate the *in vitro* biological effectiveness of chemical and biological products on *P. cinnamomi*. Six chemical treatments, four biological and one control, were tested with three replicates and experimental unit of a petri dish in a completely randomized design. The mycelial growth of the isolate was measured over five days and expressed as a percentage of treatment efficacy through the Abbott efficacy formula (1925). The data were subjected to analysis of variance and a multiple comparison test of means using the Tukey method ($\alpha = 0.05$). The results showed that pyraclostrobin + dimetomorph (Naria top) is significantly different from the other treatments, showing an effectiveness of 58.48%, followed by propamocarb + fluopicolide (Infinito) and metalaxyl / mefenoxam (Tokat 240) with an effectiveness of 56.13 and 53.61% respectively. *Trichoderma harzianum* showed good control over *P. cinnamomi*, due to a progressive inhibition of the pathogen at 72 hours of incubation, so that the pathogen did not have mycelial growth. At 120 hours of incubation, *T. harzianum* completely overgrew the pathogen.

Key words: *P. cinnamomi*, *T. harzianum*, fungicide, biological effectiveness.

¹Tesista, ²Director

CAPÍTULO IV. EFECTIVIDAD BIOLÓGICA *in vitro* DE PRODUCTOS QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS EN *Phytophthora cinnamomi* Rands.

4.1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, se ha logrado controlar eficazmente a las pudriciones de la raíz y la parte inferior del tallo ocasionadas por *Phytophthora* utilizando varios fungicidas sistémicos como el metalaxil, fosetil aluminio, ethazol y propamocarb, los cuales se emplean para tratar semillas y suelos o se aplican como inmersiones de trasplante o como aspersiones, o bien utilizando agua de riego. En el caso de algunos cultivos como la fresa, la pudrición de la raíz por *Phytophthora* también se ha logrado controlar eficazmente fumigando los suelos con una mezcla de bromuro de metilo y cloropicrina. En algunos casos, las pudriciones de raíz ocasionadas por este hongo se han controlado al sembrar las plántulas en suelos supresores que contienen microorganismos antagónicos a este patógeno o sustancias inorgánicas que son tóxicas al mismo (Agrios, 2007).

El control biológico de plagas, una de las alternativas que existe, debe basarse en técnicas preventivas, fomentando el desarrollo óptimo de las plantas y su resistencia natural a plagas y enfermedades. En el caso de *Trichoderma*, la especie *Trichoderma harzianum* ejerce su actividad de hiperparásito competitivo con la producción de metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas, que provocan cambios estructurales a nivel celular, sin atacar a las plantas superiores; mientras que las cepas de *Bacillus subtilis* se caracterizan por producir antibióticos y otras sustancias con capacidad antifúngica que impiden el establecimiento de los patógenos (Ezziyani *et al.*, 2004b). El objetivo del estudio fue evaluar la efectividad biológica de productos químicos y biológicos, en condiciones de laboratorio sobre el aislamiento obtenido de *P. cinnamomi*.

4.2. MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1. Preparación del medio + fungicidas

Se prepararon medios de cultivo con Agar - Agar + jugo V8, adicionando seis fungicidas por separado a una temperatura entre 32 y 36°C: pyraclostrobin + dimetomorf, propamocarb + fosetilato, metalaxil / mefenoxam, propamocarb + fluopicolide, metalaxil / mefenoxam y oxatiapiprolin a dosis comercial.

Los fungicidas se mezclaron uniformemente con el medio Agar - Agar + jugo V8, posteriormente se llevó a cabo el vaciado de la mezcla en cajas petri de plástico. El medio se dejó reposar y se procedió a realizar la siembra del aislamiento en cada uno de los tratamientos. Una rodaja de 10 mm de diámetro de medio que contenía micelio activo del patógeno, se colocó en el centro de una caja petri con Agar - Agar + jugo V8 + fungicidas (Acosta, 2002).

Así mismo, se purificaron cuatro productos biológicos: *Bacillus subtilis* (cepa QST 713), *Bacillus subtilis*, *Bacillus subtilis* variedad *amyloliquefaciens* y *Trichoderma harzianum* en medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA). Se realizaron cultivos duales en cajas petri con Agar - Agar + jugo V8 enfrentando cada uno de los biológicos con el aislamiento obtenido. Para las pruebas con bacterias, estas se rayaron por medio de hifa en toda la caja petri situando en el centro de la caja una rodaja de 10 mm de diámetro con micelio de *P. cinnamomi*. En el caso de *T. harzianum*, fue colocado una rodaja de 10 mm de diámetro del patógeno y otro del posible biocontrolador en lados opuestos a 1 cm del borde (Correa *et al.*, 2007).

El crecimiento micelial (diámetro de las colonias en mm) del aislamiento de *P. cinnamomi* sembrado en diez tratamientos y un testigo (Cuadro 7), fueron evaluados diariamente usando un vernier. La eficacia de los tratamientos en el

aislamiento de *P. cinnamomi* se determinó después de cinco días de crecimiento, a través de la fórmula de eficacia de Abbott (Abbott, 1925). Para la evaluación de la capacidad biocontroladora de *T. harzianum* se empleó la escala utilizada por Ezziyyani *et al.* (2004a) (Cuadro 8).

Cuadro 7. Tratamientos: productos y dosis utilizadas en la evaluación

Trat.	Producto	Ingrediente activo	Dosis comercial	Dosis en 20 mL
B1*	Serenade max	<i>Bacillus subtilis</i> (cepa QST 713)	6 g L ⁻¹	0.12 g L ⁻¹
B2	Probac BS	<i>Bacillus subtilis</i>	6 mL ⁻¹	0.12 mL ⁻¹
B3	Taegro	<i>Bacillus subtilis</i> variedad <i>amyloliquefaciens</i>	1 g L ⁻¹	0.02 g L ⁻¹
B4	PHC T-22	<i>Trichoderma harzianum</i>	4 mL ⁻¹	0.08 mL ⁻¹
Q1	Naria top	Pyraclostrobin + Dimetomorf	2 g L ⁻¹	0.04 g L ⁻¹
Q2	Previcur energy	Propamocarb + Fosetilato	3 mL ⁻¹	0.06 mL ⁻¹
Q3	Ridomil gold 480	Metalaxil / Mefenoxam	1.5 mL ⁻¹	0.03 mL ⁻¹
Q4	Infinito	Propamocarb + Fluopicolide	2 mL ⁻¹	0.04 mL ⁻¹
Q5	Tokat 240	Metalaxil / Mefenoxam	3 mL ⁻¹	0.06 mL ⁻¹
Q6	Zorvec	Oxatiapirolin	0.5 mL ⁻¹	0.01 mL ⁻¹
T0	Testigo	-----	-----	-----

*: B: producto biológico, Q: producto químico, T: testigo

Cuadro 8. Escala para la evaluación de la capacidad antagónica de *T. harzianum*

Grado	Capacidad antagónica	Potencial biocontrolador
0	Ninguna invasión de la superficie de la cepa patógena	Muy malo
1	¼ invasión de la superficie de la cepa patógena	Malo
2	½ invasión de la superficie de la cepa patógena	Deficiente
3	Total invasión de la superficie de la cepa patógena	Bueno
4	Total invasión de la superficie de la cepa patógena esporulación sobre ella	Muy bueno

4.2.2. Diseño de tratamientos y diseño experimental

Se ensayaron seis tratamientos químicos, cuatro biológicos y un testigo (Cuadro 7) para el aislamiento. Los tratamientos se arreglaron en un Diseño Completamente al Azar (DCA) con tres repeticiones. La unidad experimental fue una caja petri para cada tratamiento.

4.2.3. Variables a medir

Eficacia de tratamientos

Medido a través de crecimiento micelial de la colonia en milímetros y expresado como porcentaje de eficacia del tratamiento a través de la fórmula de eficacia de Abbott (Abbott, 1925).

$$ET = \frac{RT - rt}{RT} \times 100$$

Donde:

ET = % eficacia del tratamiento.

RT = diámetro en mm de cada uno de los aislamientos en el testigo absoluto.

rt = diámetro en mm de cada uno de los aislamientos en los fungicidas evaluados.

Capacidad biocontroladora

Medida a través de la escala visual propuesta por Ezziyyani *et al.* (2004a) para la evaluación de la capacidad antagónica de *T. harzianum*.

4.2.4. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos consistió en un análisis de varianza y una prueba de comparación múltiple de medias usando el método de la diferencia significativa honesta de Tukey, con nivel de significancia al 5% ($\alpha = 0.05$), utilizando el paquete estadístico SAS (SAS, 2017).

4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con base en los resultados del análisis de varianza y prueba de comparación múltiple de medias del método de la diferencia significativa honesta de Tukey, con nivel de significancia al 5% ($\alpha = 0.05$), se observó que las pruebas *in vitro* mostraron diferencias significativas en el crecimiento de *P. cinnamomi* entre los tratamientos ensayados, ya que pyraclostrobin + dimetomorf (Naria top) mostró mayor eficacia en la inhibición del aislamiento, debido a que la media de crecimiento micelial del patógeno fue menor con respecto a los demás tratamientos, presentando una efectividad del 58.48%, seguido de propamocarb + fluopicolide (Infinito) y metalaxil / mefenoxam (Tokat 240) con una efectividad del 56.13 y 53.61% respectivamente (Cuadro 9 y Figura 10, 11 y 12).

Cuadro 9. Medias de crecimiento micelial y porcentaje de efectividad

Tratamientos	Nombre comercial	Media \pm E.E.	Efectividad (%)
Testigo	-----	3.6933-0.2296 a*	-----
<i>T. harzianum</i>	PHC T-22	2.8533-0.2296 ab	22.74
Propamocarb + Fosetilato	Previcur energy	2.6333-0.2296 abc	28.70
Oxatiapiprolin	Zorvec	2.5267-0.2296 bcd	31.58
<i>B. subtilis</i> variedad <i>amyloliquefaciens</i>	Taegro	2.3733-0.2296 bcd	35.74
<i>B. subtilis</i>	Probac BS	2.3733-0.2296 bcd	35.74
<i>B. subtilis</i> (cepa QST 713)	Serenade max	2.2867-0.2296 bcd	38.08
Metalaxil / Mefenoxam	Ridomil gold 480	1.9667-0.2296 bcd	46.75
Metalaxil / Mefenoxam	Tokat 240	1.7133-0.2296 cd	53.61
Propamocarb + Fluopicolide	Infinito	1.6200-0.2296 cd	56.13
Pyraclostrobin + Dimetomorf	Naria top	1.5333-0.2296 d	58.48

*Medias con al menos una letra igual no son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha= 0.05$)

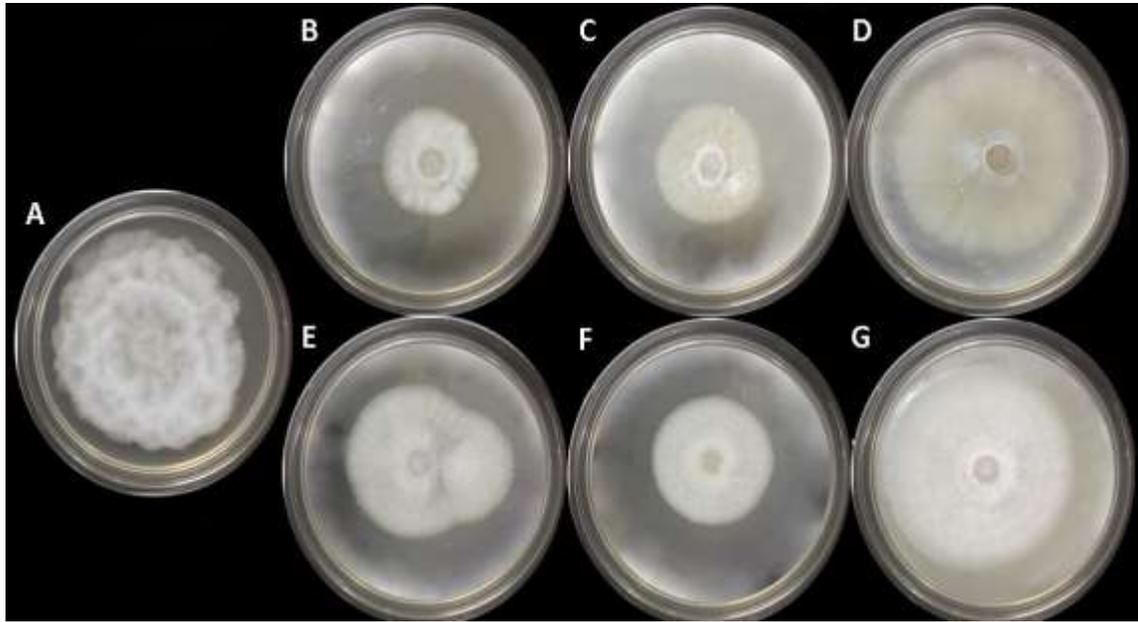


Figura 10. Desarrollo de *P. cinnamomi* en medio Agar - Agar + jugo V8: A) Testigo, B) Propamocarb + Fluopicolide (Infinito), C) Pyraclostrobin + Dimetomorf (Naria top), D) Propamocarb + Fosetilato (Previcur energy), E) Metalaxil / Mefenoxam (Ridomil gold 480), F) Metalaxil / Mefenoxam (Tokat 240) y G) Oxatiapiprolin (Zorvec)



Figura 11. Desarrollo de *P. cinnamomi* en medio Agar - Agar + jugo V8: A) Testigo, H) *B. subtilis* cepa QST713 (Serenade max), I) *B. subtilis* variedad *amyloliquefaciens* (Taegro), J) *B. subtilis* (Probac BS) y K) *T. harzianum* (PHC T-22)

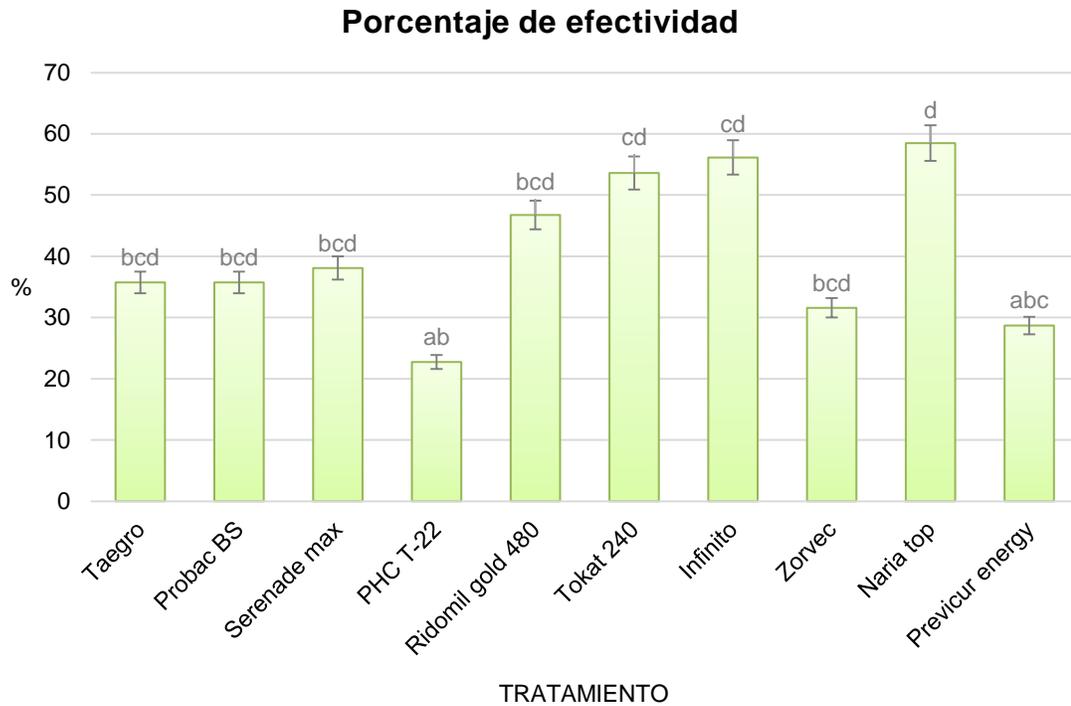


Figura 12. Gráfica de porcentaje de efectividad de tratamientos químicos y biológicos

Sin embargo, *Trichoderma harzianum* mostró buen control sobre el aislamiento de *P. cinnamomi*, debido a que se observó una inhibición progresiva del patógeno a las 72 horas de incubación, por lo que el patógeno ya no tuvo crecimiento micelial. Así mismo, a las 120 horas de incubación *T. harzianum* sobrecreció por completo al patógeno con un crecimiento micelial de 6.0 cm de radio con respecto del patógeno, el cual solo tuvo un crecimiento micelial de 1.6 cm de radio (Cuadro 10), por lo que de acuerdo a la escala de Ezziyyani *et al.* (2004a) *T. harzianum* obtuvo un grado de 4 que lo califica con muy buen potencial biocontrolador (Cuadro 11 y Figura 13).

Cuadro 10. Comparación de crecimiento micelial del patógeno (*Phytophthora cinnamomi*) vs *Trichoderma harzianum* (biocontrolador)

Tiempo (horas)	Media: crecimiento micelial (centímetros)	
	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	<i>Trichoderma harzianum</i>
24	0.80	1.00
48	1.33	2.26
72	1.66	3.53
96	1.66	5.40
120	1.66	6.00

Cuadro 11. Resultados del comportamiento de *Trichoderma harzianum* frente a *Phytophthora cinnamomi* de acuerdo a la escala de Ezziyyani *et al.* (2004a)

Biocontrolador	Grado	Capacidad antagónica	Potencial
<i>Trichoderma harzianum</i>	4	Total invasión de la superficie de la cepa patógena esporulación sobre ella	Muy bueno

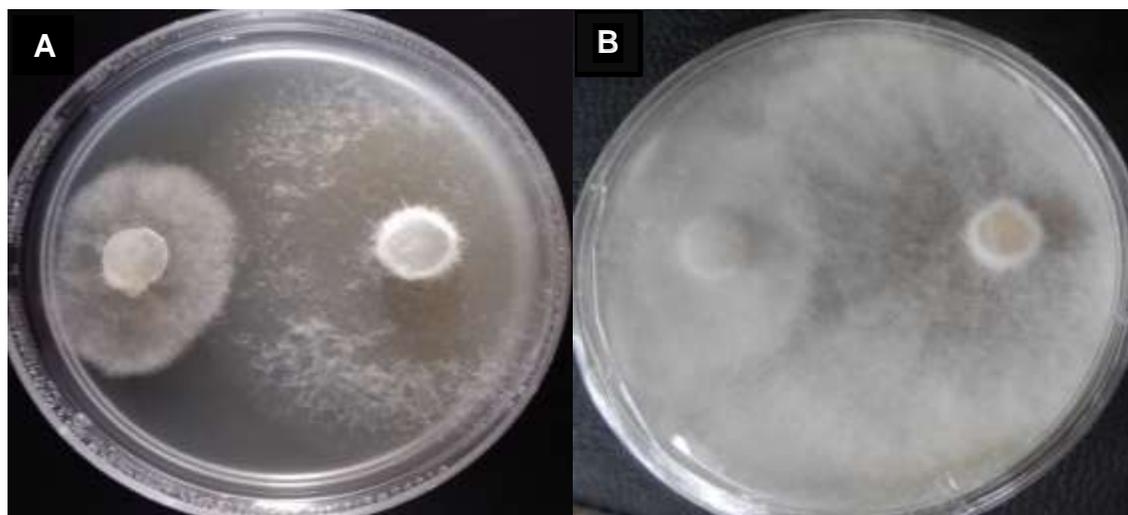


Figura 13. Confrontación de *Phytophthora cinnamomi* vs *Trichoderma harzianum*: A) 72 horas y B) 120 horas

En el año 1986, Rodríguez determinó que el mejor tratamiento para el control de la enfermedad fue la mezcla entre el fungicida metalaxil y el estiércol vacuno, lo cual fue atribuido a que dicho fungicida es tomado rápidamente por la planta (ya sea a partir de hojas, tallo o raíces) y es traslocado hacia arriba (acropétalo) a través del sistema apoplástico de la planta y también a que la materia orgánica aplicada al suelo, le proporciona muchas características benéficas entre las cuales se cuentan: el favorecimiento de una fuerte actividad microbiana dentro de la cual pueden actuar múltiples organismos antagónicos al patógeno, la formación de una barrera microbiológica que puede contribuir a la tolerancia de algunas especies de plantas hacia ciertas enfermedades radicales, mayor cantidad de nutrimentos aprovechables y mejoramiento de la estructura del suelo.

Por otro lado, Ezziyani y colaboradores (2011) estudiaron la capacidad antifúngica *in vitro* de *Trichoderma harzianum* sobre el oomycete *Phytophthora capsici* en cultivos duales, obteniendo como resultado el efecto antagónico del patógeno, ya que el antagonista sobrecreció y redujo totalmente la colonia del patógeno. La zona de inhibición producida por *T. harzianum*, frente al patógeno, aumentó a medida que transcurrió el tiempo, acompañado de la destrucción del micelio fúngico desarrollado. Se observó una zona de inhibición progresiva debido a la mayor velocidad de crecimiento de *T. harzianum*, mostrando un efecto de hiperparasitismo por la inhibición del crecimiento micelial, así mismo, continuó creciendo hasta invadir totalmente la superficie de la colonia del hongo patógeno e incluso esporulando sobre el mismo.

Almaraz-Sánchez *et al.* (2012) evaluaron bioensayos contra *P. cinnamomi* utilizando aislamientos obtenidos del género *Trichoderma*, mediante la observación de los mecanismos de competencia, micoparasitismo y antibiosis; observando que todos los aislamientos de *Trichoderma* invadieron las colonias de *P. cinnamomi* por el mecanismo de competencia, y en algunos casos debido al micoparasitismo ocasionaron lisis. En todas las confrontaciones, los

aislamientos de *Trichoderma* fueron capaces de reducir el crecimiento y desarrollo del patógeno, lo que permitió visualizar que *Trichoderma* es un buen candidato en el control biológico de *P. cinnamomi*.

4.4. CONCLUSIONES

Los resultados permitieron concluir que pyraclostrobin + dimetomorf (Naria Top), fue el mejor producto al mostrar una mayor inhibición del crecimiento de *P. cinnamomi* con respecto a los demás tratamientos químicos y biológicos, presentando una efectividad del 58.48%, seguido de propamocarb + fluopicolide (Infinito) y metalaxil / mfenoxam (Tokat 240) con una efectividad del 56.13 y 53.61% respectivamente. *Trichoderma harzianum* mostró buen control sobre el aislamiento de *P. cinnamomi* hasta llenar por completo la caja petri, ya que se observó una inhibición progresiva en el crecimiento micelial del patógeno a las 72 horas de incubación.

4.5. LITERATURA CITADA

- Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an Insecticide. *Jurnal of Economic Entomology* 18:265-267.
- Acosta Ramos, M. 2002. Patogenicidad y agresividad de aislamientos de *Colletotrichum gloeosporioides* en hojas de mango en campo y laboratorio. Tesis Doctoral en Ciencia Agrícolas. Instituto de Fitosanidad del Colegio de Postgraduados. Montecillo, estado de México. Cap. 3.
- Agrios, G. N. 2007. Fitopatología. Editorial Limusa, S.A. de C.V. Segunda edición. Pp. 278.
- Almaraz-Sánchez, A., Alvarado-Rosales, D., Tlapal-Bolaños, B. y Espinoza Victoria, D. 2012. Identificación de hongos antagonistas a *Phytophthora cinnamomi* Rands en bosques de encino en el Arrayanal, Colima y Tecoaanapa, Guerrero. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. : 341-355

- Correa, S., Mello, M., Ávila, Z., Minare, L., Pádua, R. y Gomes, D. 2007. Cepas de *Trichoderma* spp. para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* SAAC. *Fitosanidad* 11(1): 3-9.
- Ezziyyani, M., Pérez S. C., Requena M. E. y Candela M. E. 2004b. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L). *Anales de Biología* 26: 35-45. Consultado en agosto de 2017. Disponible en: [http://www.phycoelementa.es/Documents/05-Trichoderma\[1\].pdf](http://www.phycoelementa.es/Documents/05-Trichoderma[1].pdf).
- Ezziyyani, M., Pérez S. C., Requena M. E., Rubio L. y Candela M. E. 2004a. Biocontrol por *Streptomyces rochei* –Ziyani–, de la podredumbre del pimiento (*Capsicum annuum* L.) causada por *Phytophthora capsici*. *Anales de Biología* 26: 69-78. Consultado en agosto 2017. Disponible en: <http://www.um.es/analesdebiologia/numeros/26/PDF/08-BIOCONTROL.pdf>.
- Ezziyyani, M., Hamdache, A., Requena, A., Egea G., C., Candela, M. E., Laura, González R., L. y Requena, M. E. 2011. Mejora de la capacidad antifúngica *in vitro* e *in vivo* de un combinado de antagonistas compatibles frente a *Phytophthora capsici* Leonian. *Anales de Biología. Revista Científica de la Universidad de Murcia, España* 33: 67-77.
- Rodríguez, M. 1986. Ecología de la Enfermedad “Tristeza del aguacatero”, bajo Manejo Integrado Experimental del Cultivo de Aguacate, en la región de Atlixco, Puebla. Colegio de Posgraduados. Texcoco, México.
- SAS Institute. 2017. Institute, Inc. Cary. Versión 9.0.

EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA *in vivo* DE PRODUCTOS QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS EN *Phytophthora cinnamomi* Rands.

BIOLOGICAL EFFECTIVENESS *in vivo* OF CHEMICAL AND BIOLOGICAL PRODUCTS IN *Phytophthora cinnamomi* Rands.

Tesis de Maestría en Ciencias, Maestría en Protección Vegetal, Universidad Autónoma Chapingo. **Fernández-Páez**, Cinthya Marisol¹ y **Acosta-Ramos**, Marcelo².

Resumen³: La tristeza del aguacatero es la enfermedad más importante y destructiva del cultivo en el mundo, ataca árboles de todas las edades, incluyendo los de vivero, destruye las raicillas delgadas provocando la muerte al árbol. El estudio tuvo como objetivo evaluar la efectividad biológica de productos químicos y biológicos sobre *P. cinnamomi* en condiciones de invernadero. Se ensayaron seis tratamientos químicos, cuatro biológicos y un testigo absoluto con tres repeticiones y unidad experimental de tres plantas en un diseño de bloques completos al azar. Las dosis de inóculo fue de 5 g de semilla de trigo estéril con micelio del hongo a una concentración de 9.28×10^7 de UFC / g⁻¹. A los 50 días de aplicados los tratamientos y por medio de una escala visual se determinó la severidad de la enfermedad en raíz, transformándolo a porcentaje de infección (PI) mediante la fórmula de Townsend y Heuberger (1943), determinando así la eficacia de los tratamientos aplicados. Los datos fueron sometidos a análisis de varianza y una prueba de comparación múltiple de medias usando el método de la Diferencia Mínima Significativa (DMS) ($\alpha = 0.05$). Los resultados permitieron concluir que pyraclostrobin + dimetomorf (Naria top) y propamocarb + fluopicolide (Infinite), son significativamente diferentes con respecto a los demás tratamientos, presentando un PI del 68.25 y 69.84% respectivamente, seguido de metalaxil / mefenoxam (Ridomil gold 480) con un PI del 71.42%.

Palabras clave: *P. cinnamomi*, químicos, biológicos, efectividad biológica.

Abstract³: The sadness of the aguacatero is the most important and destructive disease of the crop in the world, it attacks trees of all the ages, including those of nursery, it destroys the thin rootlets causing death to the tree. The study aimed to evaluate the biological effectiveness of chemical and biological products on *P. cinnamomi* under greenhouse conditions. Six chemical treatments, four biological treatments and an absolute control with three replications and three-stage experimental unit were tested in a randomized complete block design. The inoculum doses were 5 g of sterile wheat seed with mycelium of the fungus at a concentration of 9.28×10^7 CFU / g⁻¹. After 50 days of treatment, the severity of the root disease was determined by transforming it to percentage of infection (PI) using the Townsend and Heuberger formula (1943), thus determining the efficacy of the applied treatments. The data were subjected to analysis of variance and a multiple comparison test of means using the Least Significant Difference (LSD) method ($\alpha = 0.05$). The results showed that pyraclostrobin + dimetomorph (Naria top) and propamocarb + fluopicolide (Infinite) are significantly different from the other treatments, presenting a PI of 68.25 and 69.84% respectively, followed by metalaxyl / mefenoxam (Ridomil gold 480) with a PI of 71.42%.

Key words: *P. cinnamomi*, chemical, biological, biological effectiveness.

¹Tesista, ²Director

CAPÍTULO V. EFECTIVIDAD BIOLÓGICA *in vivo* DE PRODUCTOS QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS EN *Phytophthora cinnamomi* Rands.

5.1. INTRODUCCIÓN

Tanto *T. harzianum* como *B. subtilis* crecen rápidamente en cultivo líquido, forman endosporas y producen metabolitos secundarios que reducen la posibilidad de desarrollar resistencia por parte del patógeno. También presentan la ventaja de que se degradan de forma paulatina. El grado de ataque de estos antagonistas depende de factores como el ambiente, el estado del tejido vegetal y, en el caso de los hongos, de la cantidad y calidad del inóculo (Hernández *et al.*, 2007). Varios autores han analizado la liberación de compuestos con propiedades antifúngicas como la subtilina y otros antibióticos de la familia de las iturinas. Se ha demostrado que *B. subtilis* no solo produce compuestos antibacteriales sino también antifúngicos (Santander, 2012).

Se ha demostrado que varios hongos y bacterias parasitan a las oosporas de *Phytophthora* o son antagónicos de este hongo, pero hasta ahora ninguno de ellos se ha utilizado para controlar eficazmente a este patógeno. Sin embargo, en los últimos años, la corteza de árboles usada como composta mezclada con suelo o con mezclas carentes del mismo y que se utilizan para obtener plantas cultivadas en macetas o en lotes de invernadero, ha reducido en forma significativa las infecciones de las plantas causadas por *Phytophthora* (Agrios, 2007).

De acuerdo con Téliz y colaboradores (2000) metalaxil es un producto específico contra *P. cinnamomi*. Sin embargo su efectividad disminuye con el tiempo, debido a la resistencia que el patógeno desarrolla hacia el fungicida, como ha sucedido con enfermedades importantes como el tizón tardío de la papa, *P. infestans* y el mildiu del tabaco *Peronospora destructor*. El objetivo del presente estudio fue

determinar la efectividad biológica de productos químicos y biológicos sobre el aislamiento de *P. cinnamomi* en plantas de aguacate en condiciones de invernadero.

5.2. MATERIALES Y MÉTODOS

5.2.1. Inoculación + fungicidas

El ensayo se llevó a cabo en plantas de aguacate criollo raza mexicana de un año de edad, las cuales se inocularon con 5 g de trigo colonizado por el aislamiento obtenido de *P. cinnamomi*, a una concentración de 9.28×10^7 UFC / gramo de semilla. Los productos químicos y biológicos evaluados fueron: pyraclostrobin + dimetomorf, propamocarb + fosetilato, metalaxil / mfenoxam, propamocarb + fluopicolide, metalaxil, oxatiapirolin, *Bacillus subtilis* (cepa QST 713), *Bacillus subtilis* y *Bacillus subtilis* variedad *amyloliquefaciens* a dosis comercial (Cuadro 7) en 200 ml de agua por planta. Los productos se aplicaron 12 horas después de la inoculación. Se hicieron tres aplicaciones de cada producto a los 0, 21 y 42 días.

Se registró el comportamiento temporal de severidad de la enfermedad en la raíz a los 50 días después de aplicados los tratamientos. La evaluación se realizó por medio de la escala visual propuesta en el Cuadro 5. Previamente, las plantas fueron sometidas a inundación para propiciar las condiciones adecuadas para el desarrollo del hongo fitopatógeno.

5.2.2. Diseño de tratamientos y diseño experimental

Nuevamente, al igual que en la evaluación *in vitro*, en este experimento se usaron seis tratamientos químicos, cuatro biológicos y un testigo (Cuadro 7), los cuales

se arreglaron en un Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA) con tres repeticiones. La unidad experimental fueron tres plantas.

5.2.3. Variables a medir

Severidad

Las evaluaciones se realizaron a los 50 días después de aplicados los tratamientos. La severidad fue determinada con la escala visual propuesta en el Cuadro 5.

Eficacia de tratamientos

Los datos obtenidos de severidad en raíz, se transformaron a porcentaje de infección (PI) mediante la fórmula de Townsend y Heuberger (1943) descrita anteriormente para las pruebas de patogenicidad.

5.2.4. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos consistió en un análisis de varianza y una prueba de comparación múltiple de medias usando el método de la Diferencia Mínima Significativa (DMS), con nivel de significancia al 5% ($\alpha= 0.05$), utilizando el paquete estadístico SAS (SAS, 2017).

5.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con base en los resultados del análisis de varianza y prueba de comparación múltiple de medias con el método de la DMS, con nivel de significancia al 5% ($\alpha=0.05$), se observó que en los ensayos realizados en invernadero para determinar la efectividad biológica de los productos, se presentaron diferencias

significativas entre los tratamientos. Pyraclostrobin + dimetomorf (Naria top) y propamocarb + fluopicolide (Infinito) mostraron mayor eficacia en la inhibición del desarrollo del patógeno, la media del porcentaje de infección fue menor con respecto a los demás tratamientos con un PI del 68.25 y PI del 69.84% respectivamente, seguido de metalaxil / mfenoxam (Ridomil gold 480) con PI del 71.42% (Cuadro 12, Figura 14 y 15).

Se realizaron pruebas de contrastes entre el efecto promedio de los tratamientos químicos vs los tratamientos biológicos, donde los resultados mostraron diferencias significativas ($\alpha=0.05$) de que los productos químicos lograron mayor control del patógeno que los productos biológicos.



Figura 14. Severidad en raíz: A) Testigo, B) *B. subtilis* cepa QST 713 (Serenade max), C) *B. subtilis* (Probac BS), D) *B. subtilis* variedad *amyloliquefaciens* (Taegro), E) *T. harzianum* (PHC T-22), F) Pyraclostrobin + Dimetomorf (Naria top), G) Propamocarb + Fosetilato (Previcur energy), H) Metalaxil / Mefenoxam (Ridomil gold 480), I) Propamocarb + Fluopicolide (Infinito), J) Metalaxil / Mefenoxam (Tokat 240) y K) Oxatiapiprolin (Zorvec)

Cuadro 12. Medias de PI y efectividad de productos químicos y biológicos

Tratamientos	Nombre comercial	Media	PI (%)
Testigo	-----	85.714 a*	85.71
<i>T. harzianum</i>	PHC T-22	80.952 abc	80.95
Propamocarb + Fosetilato	Previcur energy	76.190 abcd	76.19
Oxatiapiprolin	Zorvec	76.190 abcd	74.60
<i>B. subtilis</i> variedad <i>amyloliquefaciens</i>	Taegro	84.127 a	84.12
<i>B. subtilis</i>	Probac BS	79.365 abcd	79.36
<i>B. subtilis</i> (cepa QST 713)	Serenade max	82.540 ab	82.53
Metalaxil / Mefenoxam	Ridomil gold 480	71.429 cd	71.42
Metalaxil / Mefenoxam	Tokat 240	73.016 bcd	73.01
Propamocarb + Fluopicolide	Infinito	69.841 d	69.84
Pyraclostrobin + Dimetomorf	Naria top	69.841 d	68.25

*Medias con al menos una letra igual no son estadísticamente diferentes (DMS $\alpha = 0.05$)

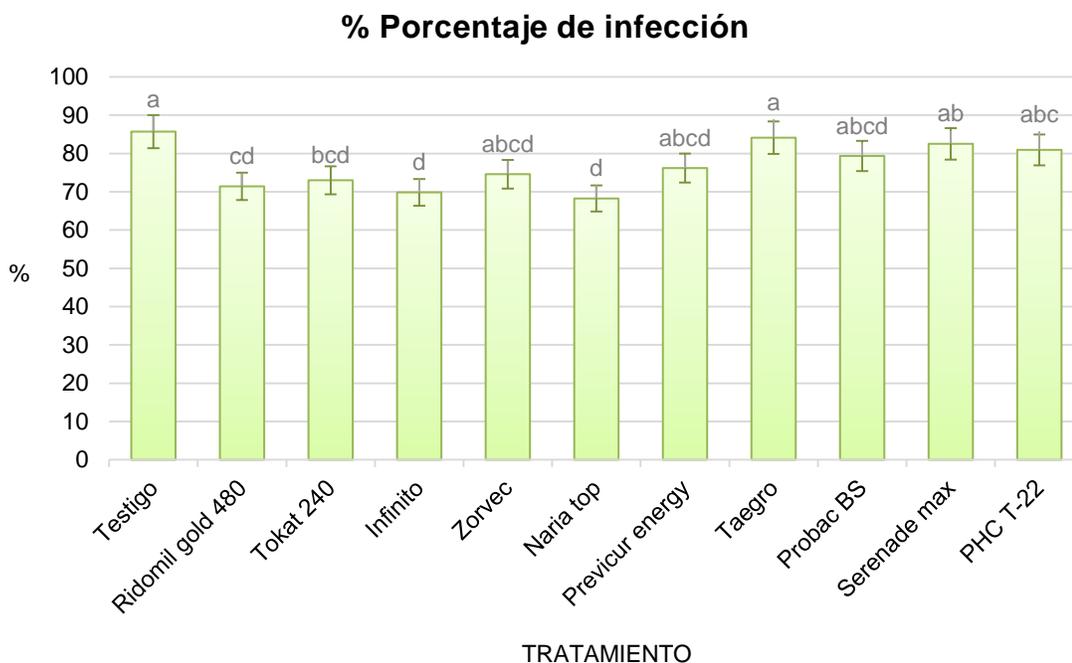


Figura 15. Gráfica de PI de *P. cinnamomi*: tratamientos químicos y biológicos

Vidales-Fernández y Alcantar-Rocillo (1999) experimentaron la combinación de diferentes tratamientos: solarización, descope, estiércol de bovino, paja de alfalfa e inyección al tronco con fosetil aluminio para el control de *P. cinnamomi* en árboles de aguacate. El objetivo fue cuantificar el efecto de los tratamientos sobre el patógeno y la población de hongos saprofitos, actinomicetes y bacterias saprofitas en el suelo. Concluyendo que uno los mejores tratamientos para el control de la tristeza del aguacatero fue el descope de árboles, solarización, inyección de fosetil aluminio al tronco del árbol y aplicación al cajete de 150 kg de estiércol de bovino más 100 kg de harina de alfalfa.

Ramírez *et al.* (2014) ensayaron tratamientos con productos químicos a base de metalaxil + mancozeb, fosfitos de potasio y cepas comerciales de *Trichoderma sp.* en condiciones de invernadero, para el manejo del aislamiento CIB-35 de *P. cinnamomi* sobre *Persea americana*, en donde *Trichoderma* presentó los mejores resultados en la reducción del progreso de la enfermedad de marchitez en las plantas inoculadas con *P. cinnamomi* con un nivel superior al tratamiento con los fungicidas.

Por otro lado Leal y colaboradores (2014) observaron que mancozeb 64% + metalaxil 4%, mancozeb 35% + fosetil aluminio 35%, fosfito de potasio, *T. harzianum* y cobertura orgánica a base de bagazo de caña con alto contenido de celulosa y suelos fértiles con alto contenido de materia orgánica en condiciones de invernadero, disminuyeron significativamente la enfermedad de tristeza del aguacatero, indicando que pueden ser utilizados en programas de manejo integral de *P. cinnamomi*.

5.4. CONCLUSIONES

Los resultados permitieron concluir que en condiciones de invernadero, pyraclostrobin + dimetomorf (Naria top) y propamocarb + fluopicolide (Infinito), presentan una mayor efectividad biológica con respecto a los demás tratamientos químicos y biológicos, exhibiendo un porcentaje de infección del 68.25 y 69.84% respectivamente, seguido de metalaxil / mefenoxam (Ridomil gold 480) con un PI del 71.42%. En las pruebas de contrastes, los productos químicos lograron mayor control del patógeno que los productos biológicos.

5.5. LITERATURA CITADA

- Agrios, G. N. 2007. Fitopatología. Editorial Limusa, S.A. de C.V. Segunda edición. Pp. 278.
- Hernández, A., Bautista S., Velázquez M. y Hernández A. 2007. Uso de microorganismos antagonistas en el control de enfermedades pos cosecha en frutos. Revista Mexicana de Fitopatología 25: 66-74.
- Leal, J. M., Castaño, J. y Bolaños, M. M. 2014. Manejo de la pudrición radical (*Phytophthora cinnamomi* Rands) del aguacate (*Persea americana* Linneo). Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica 17(1): 105-114.
- Ramírez Gil, Joaquín G., Castañeda Sánchez, Darío A. y Morales Osorio, Juan G. 2014. Alternativas microbiológicas para el manejo de *Phytophthora cinnamomi* rands., en *Persea americana* Mill bajo condiciones de casa-malla. Revista Cultivos Tropicales 35 (4): 19-27.
- Rodríguez, M. 1986. Ecología de la Enfermedad "Tristeza del aguacatero", bajo Manejo Integrado Experimental del Cultivo de Aguacate, en la región de Atlixco, Puebla. Colegio de Posgraduados. Texcoco, México.
- Santander, A. 2012. Uso de *Trichoderma harzianun* Rifai y *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn para el control de (*Colletotrichum gloeosporioides* Pens.) causante de la antracnosis en mango (*Mangifera indica* L.). Consultado en agosto 2017. Disponible en: <http://saber.ucv.ve/jspui/handle/123456789/3595>.

- Téliz, O., D., Mora A., G. y Morales G., L. 2000. Importancia histórica y socioeconómica del aguacate. En: El aguacate y su manejo integrado. Téliz Ortiz, D. (coord.). Mundi Prensa. México.
- Townsend, C. R. y Heuberger J. W. 1943. Methods for estimating losses caused by disease in fungicides experiments. Plant disease report. pp. 340-343.
- Vidales-Fernández, J. A. y Alcantar-Rocillo, J. 1999. Acción de la solarización y de la materia orgánica en el control de la tristeza *Phytophthora cinnamomi* Rands del aguacate *Persea americana* L. Revista Chapingo Serie Horticultura 5: 255-259.

EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA *in vivo* DE PRODUCTOS INDUCTORES DE DEFENSA Y ENRAIZADORES EN *Phytophthora cinnamomi* Rands.

BIOLOGICAL EFFECTIVENESS *in vivo* OF DEFENSE INDUCTOR PRODUCTS AND ROOTING IN *Phytophthora cinnamomi* Rands.

Tesis de Maestría en Ciencias, Maestría en Protección Vegetal, Universidad Autónoma Chapingo. **Fernández-Páez**, Cinthya Marisol¹ y **Acosta-Ramos**, Marcelo².

Resumen⁴: *Phytophthora cinnamomi*, es un oomycete perteneciente a la familia Pythiaceae, que afecta plantas de cualquier edad, causando marchitez de raíces y cáncer en el tallo. El estudio tuvo como objetivo evaluar en invernadero la efectividad biológica de productos inductores de defensa y enraizadores sobre *P. cinnamomi*. Se ensayaron dos tratamientos inductores de defensas, tres enraizadores y un testigo absoluto, con tres repeticiones y unidad experimental de tres plantas en un diseño de bloques completos al azar. Las dosis de inóculo fue de 5 g de semilla de trigo estéril con micelio del hongo, a una concentración de 9.28×10^7 de UFC / g⁻¹. A los 50 días de aplicados los tratamientos y por medio de una escala visual se determinó la severidad de la enfermedad en raíz, transformándolo a porcentaje de infección (PI) mediante la fórmula de Townsend y Heuberger (1943), determinando así la eficacia de los tratamientos aplicados. Los datos fueron sometidos a análisis de varianza y una prueba de comparación múltiple de medias usando el método de Tukey ($\alpha = 0.05$). Los resultados permitieron concluir que los fosfitos de potasio (Nutri Phite Magnum), fueron significativamente diferente con respecto a los demás tratamientos, presentando un PI del 76.19%, seguido de los fosfitos de cobre (Nutri Phite Hi Grade) y *Quillaja saponaria* (QL Agri) con un PI del 80.95 y 82.53% respectivamente.

Palabras clave: *P. cinnamomi*, efectividad biológica, inductores de defensas, enraizadores.

Abstract⁴: *Phytophthora cinnamomi*, is an oomycete belonging to the family Pythiaceae, which affects plants of any age, causing root wilt and cancer in the stem. The study aimed to evaluate in greenhouse the biological effectiveness of defense inducing products and rooting on *P. cinnamomi*. Two defensive inducer treatments, three rotifers and an absolute control with three replicates were tested in a randomized complete block design. Each experimental unit consisted in three plants. The inoculum doses were 5 g of sterile wheat seed with mycelium of the fungus, at a concentration of 9.28×10^7 CFU / g⁻¹. After 50 days of treatment, the severity of the root disease was determined by transforming it to percentage of infection (PI) using the Townsend and Heuberger formula (1943), thus determining the efficacy of the applied treatments. The data were subjected to analysis of variance and a multiple comparison test of means using the Tukey method ($\alpha = 0.05$). The results showed that potassium phosphites (Nutri Phite Magnum) were significantly different from the other treatments, presenting a PI of 76.19%, followed by the copper phosphites (Nutri Phite Hi Grade) and *Quillaja saponaria* (QL Agri) with an IP of 80.95 and 82.53% respectively.

Key words: *P. cinnamomi*, biological effectiveness, inducers of defenses, rooting.

¹Tesista, ²Director

CAPÍTULO VI. EFECTIVIDAD BIOLÓGICA *in vivo* DE PRODUCTOS INDUCTORES DE DEFENSA Y ENRAIZADORES EN *Phytophthora cinnamomi* Rands.

6.1. INTRODUCCIÓN

El uso de los fosfitos en la agricultura se ha investigado principalmente por su efecto contra las enfermedades en plantas, más que como fuente de nutrición en ellas. Esto último puede ocurrir únicamente si los fosfitos se aplican al suelo y entran en contacto con géneros de bacterias que pueden oxidarlos a fosfatos (McDonald *et al.*, 2001). La aplicación de sales de fosfito pueden reducir la susceptibilidad de las plantas a las enfermedades causadas por hongos y pseudohongos (Deliopoulos *et al.*, 2010).

El éxito en el control de enfermedades ha sido reportado en diversos trabajos experimentales, así, Cervera y colaboradores (2007), investigaron el efecto del fosfito de calcio, potasio y magnesio en el control de *Phytophthora cinnamomi* en plantas de aguacate, encontrando que además de reducir el efecto del patógeno en las plantas, los tratamientos mejoraron las variables agronómicas: número de hojas, rendimiento fotosintético y densidad radicular. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de productos inductores de defensa y enraizadores en plantas de aguacate en condiciones de invernadero infectadas con *P. cinnamomi*.

6.2. MATERIALES Y MÉTODOS

6.2.1. Inoculación + inductores de defensa y enraizadores

El ensayo se llevó a cabo en plantas de aguacate criollo raza mexicana de un año de edad, las cuales se inocularon con 5 g de trigo colonizado por el

aislamiento obtenido de *P. cinnamomi*, a una concentración 9.28×10^7 UFC/ g⁻¹. Los inductores de defensas y enraizadores evaluados fueron: Nutri Phite Magnum, Nutri Phite Hi Grade, Raizal, Rootex y QL Agri 35 a dosis comercial (Cuadro 13). Los productos se aplicaron 12 horas después de la inoculación. Se hicieron tres aplicaciones de cada producto a los 0, 21 y 42 días.

Se registró el comportamiento temporal de severidad de la enfermedad en la raíz a los 50 días después de aplicados los tratamientos. La evaluación se realizó por medio de la escala visual propuesta en el Cuadro 5. Previamente, las plantas fueron sometidas a inundación para propiciar las condiciones adecuadas para el desarrollo del hongo fitopatógeno.

Cuadro 13. Tratamientos: productos inductores de defensa y enraizadores

Treat.	Producto	Ingrediente activo	Dosis comercial	Dosis en 200 mL
ID1*	Nutri Phite Magnum	Fosfitos de K	3 mL ⁻¹	0.6 mL ⁻¹
ID2	Nutri Phite Hi Grade	Fosfitos de Cu	2 mL ⁻¹	0.4 mL ⁻¹
E1	Raizal	N, P ₂ O ₅ , K ₂ O, Mg, S y complejo auxínico	4 g L ⁻¹	0.8 g L ⁻¹
E2	Rootex	N, P ₂ O ₅ , K ₂ O, aminoácidos y ácidos orgánicos y fitohormonas	4 g L ⁻¹	0.8 g L ⁻¹
E3	QL Agri 35	<i>Quillaja saponaria</i>	20 mL ⁻¹	4 mL ⁻¹
T0	Testigo	-----	-----	-----

*: ID: Inductor de defensa; E: Enraizador; T: Testigo

6.2.2. Diseño de tratamientos y diseño experimental

Se ensayaron seis tratamientos obtenidos de dos inductores de defensa, tres enraizadores y un testigo (Cuadro 13), los cuales se arreglaron en un Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA) con tres repeticiones. La unidad experimental fueron tres plantas.

6.2.3. Variables a medir

Severidad

Las evaluaciones se realizaron a los 50 días después de aplicados los tratamientos. La severidad fue determinada con la escala visual propuesta en el Cuadro 5.

Eficacia de tratamientos

Los datos obtenidos de severidad en raíz, se transformaron a porcentaje de infección (PI) mediante la fórmula de Townsend y Heuberger (1943) descrita anteriormente para las pruebas de patogenicidad.

6.2.4. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos consistió en un análisis de varianza y una prueba de comparación múltiple de medias usando el método de la diferencia significativa honesta de Tukey, con nivel de significancia al 5% ($\alpha = 0.05$), utilizando el paquete estadístico SAS (SAS, 2017).

6.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con base en los resultados del análisis de varianza y prueba de comparación múltiple de medias del método de la diferencia significativa honesta de Tukey, con nivel de significancia al 5% ($\alpha = 0.05$), se observó que en los ensayos realizados en invernadero para determinar la efectividad biológica de los productos inductores de defensa y enraizadores, mostraron diferencias significativas. Nutri Phite Magnum presentó mayor eficacia en la inhibición del patógeno, ya que la media en porcentaje de infección fue menor con respecto a

los demás tratamientos, presentando un PI del 76.19%, seguido de Nutri Phite Hi Grade y QL Agri con un PI del 80.95 y 82.53% respectivamente (Cuadro 14 y Figura 16 y 17).

Se realizaron pruebas de contrastes entre el efecto promedio de los tratamientos inductores de defensa vs los tratamientos enraizadores, donde los resultados mostraron diferencias significativas ($\alpha=0.05$), debido a que los productos inductores de defensas presentaron un menor porcentaje de infección del patógeno que los productos enraizadores.

Cuadro 14. Medias de PI y efectividad de productos inductores de defensa y enraizadores

Tratamientos	Media	PI (%)
Testigo	85.714 a*	85.71
Nutri Phite Magnum	76.190 b	76.19
Nutri Phite Hi Grade	80.952 ab	80.95
Raizal	85.714 a	85.71
Rootex	85.714 a	85.71
QL Agri	82.540 ab	82.53

*Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha= 0.05$)



Figura 16. Severidad en raíz: tratamientos inductores de defensa y enraizadores A) Testigo, B) Nutri Phite Magnum, C) Nutri Phite Hi Grade, D) Raizal, E) Rootex y F) QL Agri

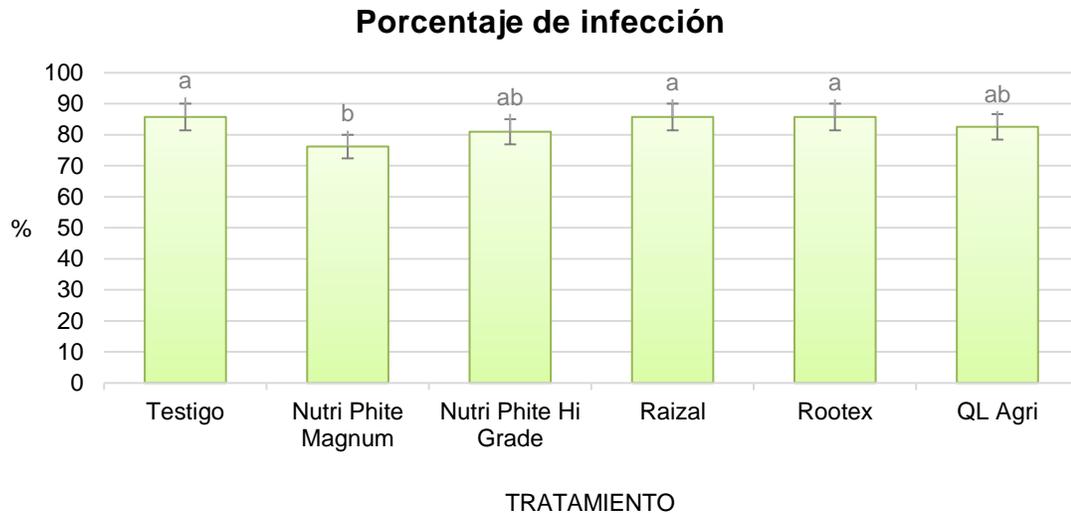


Figura 17. Gráfica de PI de *P. cinnamomi*: tratamientos inductores de defensa y enraizadores

Cervera *et al.* (2007) evaluaron el fosfito de calcio, potasio y magnesio para el control de *P. cinnamomi* en plantas de aguacate con el objetivo de determinar los efectos de los fosfitos sobre el desarrollo del patógeno, midiendo las variables de número de hojas, densidad de raíces y rendimiento fotoquímico del fotosistema II. Los resultados mostraron que los fosfitos estimularon la producción de hojas en alta tasa en las plantas y estas con un alto rendimiento cuántico del fotosistema II, además de presentar mayor densidad de raíces que los testigos con inoculación de *P. cinnamomi* y sin control químico.

6.4. CONCLUSIONES

Los resultados permitieron concluir que en condiciones de invernadero, Nutri Phite Magnum presenta una mayor efectividad biológica respecto a los demás tratamientos inductores de defensa y enraizadores, mostrando un porcentaje de infección del 76.19%, seguido de Nutri Phite Hi Grade y QL Agri con un porcentaje de infección del 80.95 y 82.53% respectivamente. En las pruebas de contrastes, los productos inductores de defensa presentaron un menor porcentaje de infección del patógeno que los productos enraizadores.

6.5. RECOMENDACIONES GENERALES

- Evaluar la combinación de los mejores tratamientos en la inhibición del desarrollo de *P. cinnamomi* en el cultivo de aguacate, ensayados en el presente estudio: pyraclostrobin + dimetomorf (Naria top), propamocarb + fluopicolide (Infinito), metalaxil / mefenoxam (Ridomil gold 480), metalaxil / mefenoxam (Tokat 240), *Trichoderma harzianum* (PHC T-22), fosfitos de potasio (Nutri Phite Magnum), fosfitos de cobre (Nutri Phite Hi Grade) y *Quillaja saponaria* (QL Agri), elaborando diferentes paquetes para el manejo del patógeno.
- Estimar y determinar el uso de aplicaciones preventivas de los productos a base de fosfito, debido a que estos ayudan a inducir el mecanismo de defensa de las plantas mediante la producción de fitoalexinas, para obtener mejores resultados.

6.6. LITERATURA CITADA

- Cervera, M., Cautín R. y Jeria G. 2007. Evaluación del fosfito cálcico, potásico y magnésico en el control de *Phytophthora cinnamomi* en paltos (*Persea americana* Hill.) cv. Hass plantados en contenedor. Proceedings VI World Avocado Congress (Actas VI Congreso Mundial del Aguacate). Viña Del Mar, Chile. 12 – 16 Nov. 2007. ISBN No. 978-956-17-0413-8.
- Deliopoulos, T., Kettlewell P. S. y Hare M. C. 2010. Fungal disease suppression by inorganic salts: A review. *Crop Protection* 29(10):1059-1075.
- McDonald, A. E., Grant B. R., Plaxton W. C., 2001. Phosphite (phosphorous acid): its relevance in the environment and agriculture and influence on plant phosphate starvation response. *Journal Plant Nutrition* 24:1505-1519.
- SAS Institute. 2017. Institute, Inc. Cary. Versión 9.0.
- Townsend, C. R. y Heuberger J. W. 1943. Methods for stimating losses caused by disease in fungicides experiments. *Plant disease report*. pp. 340-343.