

## **EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A *Phytophthora cinnamomi* EN GENOTIPOS DE AGUACATE RAZA MEXICANA POR CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA**

Sánchez-González, Enrique Ignacio<sup>1</sup>; Barrientos-Priego, Alejandro F.<sup>2</sup>; Ochoa-Ascencio, Salvador<sup>3</sup>; Gutiérrez-Soto, Guadalupe<sup>1</sup>; Gutiérrez-Díez, Adriana<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Nuevo León, Correo-e: ei\_sanchez@hotmail.com, <sup>2</sup>Universidad Autónoma Chapingo, <sup>3</sup>Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

### **Resumen**

La susceptibilidad a *Phytophthora cinnamomi* se puede detectar mediante cambios en la conductividad eléctrica (CE) cuando fragmentos de raíz son expuestos al patógeno, siendo más susceptibles aquellos genotipos donde exista un mayor aumento de CE. En este estudio se evaluaron doce genotipos de aguacate frente a dos aislados de *P. cinnamomi*. Fragmentos de raíz se colocaron en vasos con 20 mL de agua bidestilada, se inocularon con 0.5 mL de micelio (85 mg mL<sup>-1</sup>) y se incubaron a temperatura ambiente. La CE (mS cm<sup>-1</sup>) de cada tratamiento se registró a las 24, 48, 72 y 96 h. El diseño experimental utilizado fue un arreglo factorial A x B completamente al azar con cinco repeticiones, donde el factor A fueron los doce genotipos de aguacate y el factor B fueron los dos aislados de *P. cinnamomi*. No se encontró efecto en la interacción genotipos x aislados, pero si diferencias significativas ( $P \leq 0.001$ ) entre genotipos y entre aislados. Ningún genotipo se consideró resistente al no presentar un nivel de CE igual o menor que 'Duke 7' (portainjerto resistente). El aislado Pc2 resultó ser el más patogénico durante la comparación de medias. Por el aumento en la CE del cv. Hass, esta puede ser considerado moderadamente resistente-susceptible.

**Palabras clave adicionales:** *Persea americana* var. *drymifolia*.

## **EVALUATION OF RESISTANCE TO *Phytophthora cinnamomi* IN MEXICAN RACE AVOCADO GENOTYPES BY MEANS OF ELECTRICAL CONDUCTIVITY**

### **Abstract**

The susceptibility to *Phytophthora cinnamomi* can be detected by changes in the electrical conductivity (EC) when root fragments are exposed to the pathogen, being more susceptible those genotypes where there is a greater increase of EC. In this study twelve avocado genotypes were evaluated against two *P. cinnamomi* isolates. Root fragments were placed in beakers with 20 mL of bidistilled water, inoculated with 0.5 mL of mycelium (85 mg mL<sup>-1</sup>) and incubated at room temperature. The EC (mS cm<sup>-1</sup>) of each treatment was recorded at 24, 48, 72 and 96 h. The experimental design used was a factorial arrangement A x B completely randomized with five replicates, where factor A were the twelve avocado genotypes and factor B were the two *P. cinnamomi* isolates. No interaction effect was found on genotypes x isolated but there were significant differences ( $P \leq 0.001$ ) among genotypes and between isolates. No genotype was considered resistant due none presented a level of EC equal or less than 'Duke 7' (resistant rootstock). The isolated Pc2 was found to be the most pathogenic during the comparison of means. Per the increase in EC of cv. Hass, it can be considered moderately resistant-susceptible.

**Additional keywords:** *Persea americana* var. *drymifolia*.

## Introducción

El aguacate (*Persea americana* Mill.) es un frutal perteneciente a la familia Lauraceae y se considera originario de México y Centro América (Williams, 1977). La principal enfermedad que afecta los sistemas de producción de aguacate alrededor del mundo es la pudrición radicular causada por *Phytophthora cinnamomi* Rands (Hardham, 2005). Se ha indicado que esta enfermedad ataca al aguacate en unos 70 países (Pegg et al., 2002). En México es una de las principales limitantes en la producción de aguacate, en el estado de Puebla se observaron incidencias del 75% de los árboles, en Querétaro ocasionó la desaparición del cultivo; en Michoacán en 1979 se encontraron trece mil árboles afectados, en 1994 se encontraron cien mil árboles afectados, posteriormente en 1999 la severidad subió a 550 mil árboles afectados causando una pérdida de 640 millones de pesos y evidenciando un creciente incremento de la enfermedad (Rodríguez, 2015).

El patógeno afecta plantas de cualquier edad causando daños primeramente a nivel de raíz, posteriormente la planta muestra síntomas secundarios en la parte aérea, desde marchitez foliar, retraso del crecimiento, pérdida de vigor, color y brillo y, amarillamiento de las hojas, hasta la presencia de llagas a nivel del tallo, reduciendo así la producción y por tanto la superficie cultivada (Rodríguez, 2015; Andrade-Hoyos et al., 2015). Las medidas de control para este patógeno son el químico, el biológico, y las buenas prácticas culturales; sin embargo, los intentos de control de esta enfermedad presentan algunas limitaciones y es necesario implementar medidas de control sustentables. Una alternativa es el uso de portainjertos resistentes-tolerantes a *P. cinnamomi*, aunque tras décadas de investigación apenas se ha logrado un nivel moderado de resistencia. De las tres razas de aguacate utilizadas como portainjertos, la Mexicana (*Persea americana* var. *drymifolia*) ha mostrado tener una mayor tolerancia e incluso resistencia moderada a *P. cinnamomi* (Sánchez, 2007; Gómez y Apaza, 2015).

La resistencia del aguacate a *P. cinnamomi* ha sido determinada mediante el uso de diferentes métodos tanto directos como indirectos, entre los que se encuentran el uso de soluciones nutritivas, macetas y camas germinadoras con suelo, infestadas con material patogénico; así como callos de tejido inoculado, plantaciones infestadas en campo y, el incremento o disminución de la conductividad eléctrica de fragmentos de raíz inoculados con el patógeno (Salgado y Fucikovsky, 1996). El objetivo en este estudio fue evaluar la resistencia de doce genotipos de aguacate raza Mexicana con dos aislados de *P. cinnamomi* a través de su conductividad eléctrica (CE).

## **Materiales y Métodos**

El material vegetal utilizado fueron cinco plántulas de seis meses de edad provenientes de semilla de doce genotipos de aguacate raza Mexicana, diez genotipos fueron recolectados en los municipios de Aramberri y General Zaragoza, Nuevo León, México. Los dos genotipos restantes corresponden a la variedad 'Hass' (proveniente de semilla) utilizado como testigo susceptible (Ramírez et al., 2014; Rodríguez et al., 2017) y al portainjerto 'Duke 7' (de origen clonal) utilizado como testigo resistente (Coffey, 1987). Los genotipos utilizados fueron: 1) 'Bola', 2) 'Criollo 3', 3) 'Criollo 6', 4) 'Leonor', 5) 'María Elena', 6) 'Plátano', 7) 'Plátano Delgado', 8) 'Plátano Temprano', 9) 'Silvestre', 10) 'Todo el año', 11) 'Hass' y 12) 'Duke 7'.

A cada una de las cinco plántulas por genotipo, se le retiró el sustrato mediante inmersión en un contenedor con agua, después se tomaron seis fragmentos de raíz de 40 mm de longitud y se enjuagaron con agua bidestilada, cinco se depositaron en un vaso de 25 mL de capacidad con 20 mL de agua bidestilada, los fragmentos restantes de cada plántula por genotipo se colocaron en un vaso con 20 mL de agua bidestilada que se utilizó como control sin inocular. Se utilizaron cinco repeticiones por genotipo más el control sin inocular y un doble control que consistió en un vaso con 20 mL de agua bidestilada inoculada con el material patogénico sin fragmentos de raíz. El inóculo consistió en 0.5 mL de suspensión de micelio de *P. cinnamomi* (85 mg mL<sup>-1</sup>) en cada vaso con fragmentos de raíz. Se probaron dos aislados obtenidos del Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agrobiología de la UMSNH, Pc1 y Pc2. La conductividad eléctrica se registró a las 24, 48, 72 y 96 h para cada uno de los tratamientos, enjuagando la sonda con agua bidestilada entre la toma de cada lectura.

El diseño experimental utilizado fue un arreglo factorial A x B completamente al azar con 5 repeticiones, donde el factor A fueron los doce genotipos de aguacate y el factor B fueron los dos aislados de *P. cinnamomi*. El análisis de varianza y la comparación de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) se realizó utilizando el programa estadístico Diseños Experimentales FAUANL v. 1.6 (Olivares-Sáenz, 2015).

## **Resultados y Discusión**

Los doce genotipos de aguacate mostraron un incremento en la conductividad eléctrica a las 24 y 48 horas de que fueron inoculados con los aislados Pc1 y Pc2 (Figura 1 A y B), mientras que los testigos mostraron una tendencia a ser estables, salvo el portainjerto 'Duke 7' y el cv. Hass que presentaron un incremento en su CE (Figura 1 B y D). A partir de las 72 h se observó una reducción en el cambio de la CE en el portainjerto 'Duke 7', además la CE en 'Hass' tendió

a estabilizarse en la inoculación con Pc1 y disminuyó cuando se encontraba inoculado con Pc2.

En el caso de la inoculación con Pc1, el genotipo 'Bola' fue el más susceptible al presentar el valor de incremento más alto de CE con  $0.640 \text{ mS cm}^{-1}$ , seguido por 'Criollo 3' ( $0.594 \text{ mS cm}^{-1}$ ) y 'Leonor' ( $0.566 \text{ mS cm}^{-1}$ ). Para la inoculación con Pc2 los genotipos más susceptibles fueron 'Leonor' con  $0.754 \text{ mS cm}^{-1}$ , 'Criollo 6' con  $0.668 \text{ mS cm}^{-1}$  y 'Plátano Temprano' con  $0.664 \text{ mS cm}^{-1}$ . El portainjerto 'Duke 7' se comportó como el más resistente al presentar el menor valor de incremento de CE tanto para el aislado Pc1 ( $0.044 \text{ mS cm}^{-1}$ ) como para Pc2 ( $0.238 \text{ mS cm}^{-1}$ ). A pesar de que 'Hass' ha sido reportado como susceptible (Ramírez et al., 2014; Rodríguez et al., 2017), en el presente estudio se encontró que pudiera presentar cierto nivel de resistencia a *P. cinnamomi* ya que para ambos aislados fue el segundo genotipo en presentar menor valor de incremento de CE después de 'Duke 7', con valores de  $0.364 \text{ mS cm}^{-1}$  para Pc1 y  $0.384 \text{ mS cm}^{-1}$  para Pc2.

El análisis de varianza mostró diferencias significativas ( $P \leq 0.001$ ) para los genotipos de aguacate y los aislados de *P. cinnamomi*, mientras que para la interacción genotipos x aislados no se encontraron diferencias significativas (Cuadro 1).

Durante la prueba de comparación de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) se identificó al portainjerto 'Duke 7' como altamente resistente al presentar el valor promedio más bajo de CE de los diferentes genotipos evaluados (Cuadro 2). Las diferencias presentadas por los genotipos en el nivel de susceptibilidad o resistencia pueden ser resultado de las posibles diferencias que existen a nivel genético, fisiológico y bioquímico presentado por los diferentes genotipos. Los resultados obtenidos para el portainjerto 'Duke 7' coinciden a los reportados por Zilberstein y Pinkas (1987) y Salgado y Fucikovsky (1996) al corroborar dicho portainjerto como resistente debido al bajo valor de CE que presentó respecto a los genotipos que resultaron ser susceptibles. La variedad 'Hass' mostró un nivel de resistencia moderado coincidiendo con lo indicado por Neilsen (2016); por otro lado, Smith et al. (2011) encontraron que plántulas de 'Hass' propagadas clonalmente permanecen saludables en suelos con alta presión por *P. cinnamomi*.

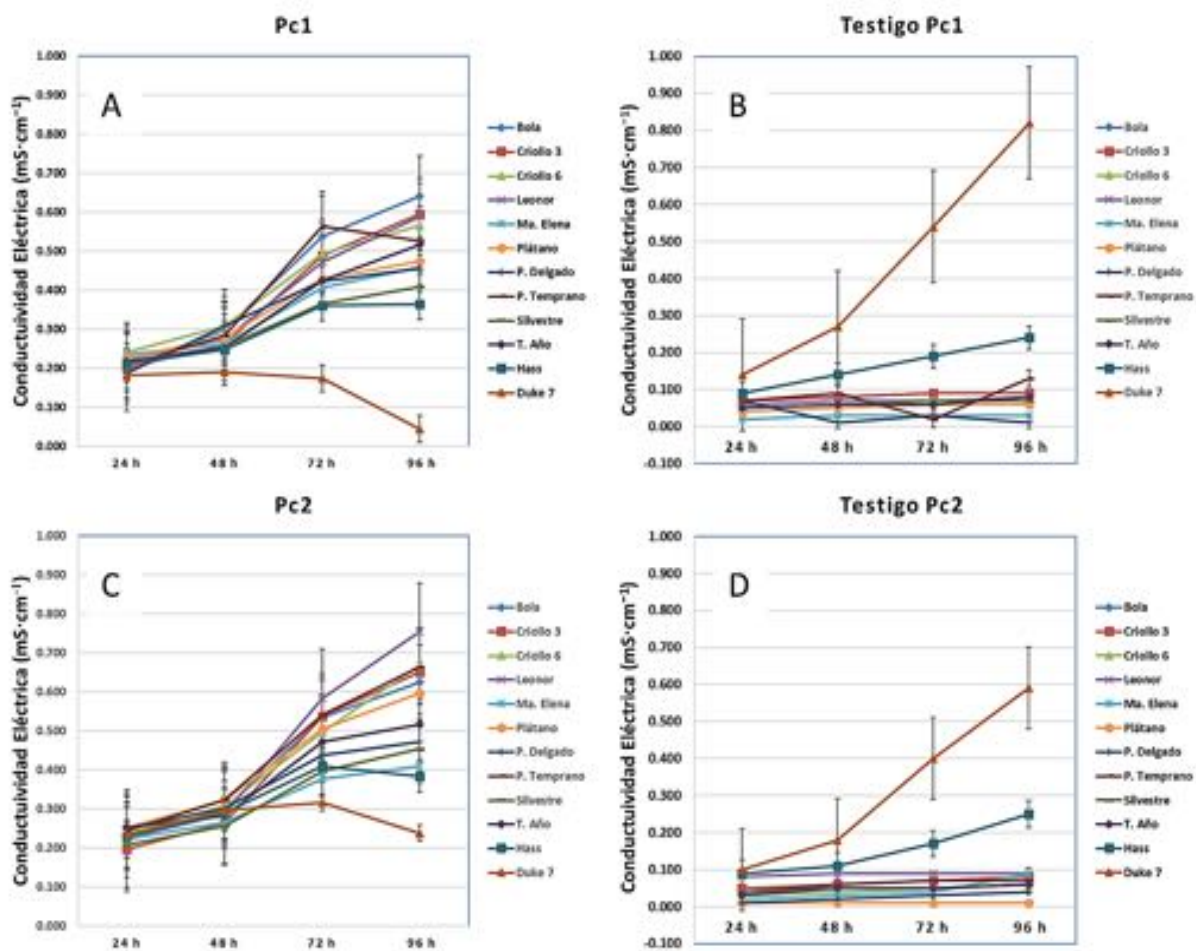


Figura 1. Cambio en la CE de raíces de los genotipos de aguacate a través del tiempo. A) y C) 12 genotipos evaluados para resistencia con Pc1 y Pc2, respectivamente. B) y D) genotipos sin inocular con Pc1 y Pc2.

Cuadro 1. Análisis de la varianza.

Factor	gl	SC	CM	Fc	Significancia
Genotipos	11	2.408	0.219	20.966	0.000
Aislados	1	0.132	0.132	12.641	0.001
G x A	11	0.163	0.015	1.419	0.177
Error	96	1.002	0.010		
Total	119	3.706			

Cuadro 2. Comparación de medias.

Genotipo	Media	$P \leq 0.05$				
Leonor	0.671	a				
Bola	0.632	a	b			
Criollo 3	0.622	a	b			
Criollo 6	0.617	a	b	c		
Plátano Temprano	0.595	a	b	c		
Plátano	0.535	a	b	c	d	
Todo el año	0.516		b	c	d	e
Plátano Delgado	0.464			c	d	e
Ma. Elena	0.434				d	e
Silvestre	0.431				d	e
Hass	0.374					e
Duke 7	0.141					f

El aislado Pc2 de *P. cinnamomi* mostró mayor patogenicidad al presentar un valor promedio de CE ( $0.536 \text{ mS cm}^{-1}$ ) significativamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor que el aislado Pc1 ( $0.470 \text{ mS cm}^{-1}$ ). Las diferencias de patogenicidad entre aislados de *P. cinnamomi* han sido reportadas anteriormente y pueden ser el resultado de la variabilidad genética dentro de la especie (Ochoa-Fuentes et al., 2009, 2015). Por lo tanto, resulta necesario continuar en la búsqueda y evaluación para resistencia a *P. cinnamomi* de germoplasma no caracterizado, así como investigar las actividades enzimáticas que utiliza *P. cinnamomi* durante el proceso de infección con el fin de obtener un mayor entendimiento del proceso y desarrollar mejores estrategias para su control. Como conclusiones generales en este estudio tenemos que el portainjerto 'Duke 7' mostró la menor variación en la CE; respecto a la patogenicidad de los dos aislados evaluados, Pc2 fue el de mayor virulencia al aumentar significativamente la CE entre los genotipos nativos. Finalmente, los resultados de CE observados en el cv. Hass sugieren que esta puede ser moderadamente resistente-susceptible.

#### Literatura Citada

- Andrade-Hoyos, P., M.C. Espíndola-Barquera, E. Molina-Gayosso, C. De León, D. Alvarado-Rosales, y A. López-Jiménez. 2015. Totipotencialidad en plántulas de aguacate en la resistencia a *Phytophthora cinnamomi*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 6(2):361-373.
- Coffey, M. D. 1987. *Phytophthora* root rot of avocado: an integrated approach to control in California. *Plant Disease* 71:1046-1052.
- Gómez, C. J. y T. W. Apaza, 2015. Reacción a la pudrición radicular causada por *Phytophthora cinnamomi* Rands en dos raza y dos cultivares de palto, *Persea americana* Miller. Universidad Nacional Agraria La Molina, Perú. pp.1-9.
- Hardham, A. R. 2005. *Phytophthora cinnamomi*. *Molecular Plant Pathology* 6(6):589-604.

- Neilsen, M. J. 2016. Evaluation of phytophthora root rot resistance in avocado. PhD Thesis, Queensland Alliance for Agriculture and Food Innovation, The University of Queensland, Australia. 176 p.
- Ochoa-Fuentes, Y. M., E. Cerna, J. Landeros, O. Vazquez, V. Olalde, y A. Flores. 2009. Diversidad genética de *Phytophthora cinnamomi* Rands de aguacate de Michoacán, México, por medio de RAPD. *Phyton* 78(1):25-30.
- Ochoa-Fuentes, Y. M., E. Cerna-Chávez, G. Gallegos-Morales, M. Cepeda-Siller, J. Landeros-Flores y A. Flores-Olivas. 2015. Variabilidad patogénica de *Phytophthora cinnamomi* Rands en *Persea americana* Mill., de Michoacán, México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 2(5):211-215.
- Olivares-Sáenz, E. 2015. Programa Diseños Experimentales FAUANL v. 1.6. Facultad de Agronomía, UANL.
- Pegg, K. G., L. M. Coates, L. Korsten, and R. M. Harding. 2002. Foliar, fruit and soilborne diseases. pp. 299-338. In: Schaffer, B., B.N. Wolstenholme and A.W. Whiley (Eds.). *The Avocado*, 2nd Edition, Botany, Production and Uses. CABI, Oxfordshire, UK.
- Ramírez-Gil, J., D. A. Castañeda-Sánchez, y J. G. Morales-Osorio. 2014. Estudios etiológicos de la marchitez del aguacate en Antioquia-Colombia. *Revista Ceres* 61(1):50-61.
- 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. Universidad Nacional de Colombia. Palmira, Colombia. 98 p.
- Rodríguez-Henao, E., A. Álvaro-Caicedo, A. L. Enriquez-Valencia, y J. E. Muñoz-Florez. 2017. Evaluation of tolerance to *Phytophthora cinnamomi* Rands in avocado (*Persea americana* Miller.) germplasm. *Acta Agronómica* 66(1):128-134.
- Salgado-Siclán, M. L. y L. Fucikovsky-Zak. 1996. Detección de materiales del genero *Persea* spp tolerantes a *Phytophthora cinnamomi* mediante conductividad eléctrica. Memoria Fundación Salvador Sánchez Colín CICTAMEX S.C. Coatepec Harinas, México. pp. 101-110.
- Sánchez-Perez, J. de la L. 2007. Identificación de marcadores asociados a la resistencia del aguacate raza mexicana (*Persea americana* Mill. var. *drymifolia*) al oomiceto *Phytophthora cinnamomi* Rands. Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México. 147 p.
- Smith, L.A., E.K. Dann, K.G. Pegg, A.W. Whiley, F.R. Giblin, V. Doogan, y R. Kopittke. 2011. Field assessment of avocado rootstock selections for resistance to *Phytophthora* root rot. *Australasian Plant Pathology* 40(1):39-47.
- Williams, L.O. 1977. The avocados, a synopsis of the genus *Persea*, subg. *Persea*. *Economic Botany*, 31:315-320.
- Zilberstein M. y Y. Pinkas. 1987. Detached root inoculation. A new method to evaluate resistance to *Phytophthora* root in avocado trees. *Phytopathology* 6: 841-844.