

■ Mecanismos de defensa en portainjertos de aguacate resistentes a *Phytophthora cinnamomi* Rands

P. Andrade-Hoyos¹, MC. Espíndola Barquera², E. Molina Gayosso³, Carlos De León⁴, D. Alvarado Rosales⁴, A. López Jiménez⁴.

¹. Ingeniería en Agrotecnología. Universidad Politécnica de Francisco I. Madero, México.

². Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX S. C., México

³. Ingeniería en Biotecnología. Universidad Politécnica de Puebla, México

⁴. Postgrado en Fitopatología y Fruticultura. Colegio de Postgraduados, México.

RESUMEN

El estudio de la resistencia en plantas, a enfermedades de la raíz, frecuentemente se evalúa a nivel macroscópico, seleccionando plantas con apariencia sana o sobrevivientes a patógenos, sin considerar los mecanismos de resistencia histológica ante patógenos de la raíz, como es el caso de *Phytophthora cinnamomi* causante de la tristeza del aguacatero. El objetivo fue identificar la presencia de micelio *P. cinnamomi* en el xilema de la raíz y la implicación de la formación de tilosas y depósito de fenoles como mecanismos de defensa histológica en plantas de aguacate. Se observó la presencia de hifas en xilema, formación de tilosas y acumulación de fenoles en raíces provenientes de plantas muertas, con síntomas de marchitez y asintomáticas de los portainjertos Duke-7 y Thomas, Tepetl, Atlixco y Tepeyanco, previamente inoculadas en condiciones de temperatura controlada en el suelo (17 y 28 °C). El contenido de micelio en el xilema de plantas muertas de Duke-7, Thomas y Tepetl a 17°C no mostró diferencias significativas; sin embargo, a 28 °C el contenido de micelio en Duke-7 fue altamente significativo ($p \leq 0.05$). En plantas con marchitez, la presencia de micelio fue abundante a 17 °C en Tepetl, por lo que se considera susceptible al patógeno. Atlixco mostró bajo contenido micelial a 28 °C, se considera tolerante. En plantas con síntomas de marchitez y asintomáticas, la formación de tilosas y la asociación de compuestos fenólicos contribuyeron a la defensa contra *P. cinnamomi*. Tepeyanco, Atlixco y Tepetl mostraron resistencia al activar oportunamente sus mecanismos de defensa.

Palabras clave: *Phytophthora cinnamomi*, Defensa histológica, Tilosas, *Persea americana* Mill.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad conocida como “tristeza del aguacatero” es causada por el oomicete *Phytophthora cinnamomi*. El control de esta enfermedad se basa generalmente en estudios epidemiológicos y manejo integrado del cultivo de aguacate. En varios países como EEUU, Sudáfrica, España, Israel y recientemente en México la prioridad ha sido la búsqueda y selección de portainjertos tolerantes-resistentes a *P. cinnamomi*; para lo que se requiere de una búsqueda de germoplasma de aguacate con resistencia a la enfermedad (Zentmyer *et al.* 1987, Vidales *et al.* 1999, Gallo 1992, Gallo *et al.* 1999 & Téliz *et al.* 2007).

El estudio de la resistencia en plantas a enfermedades de la raíz, frecuentemente se evalúa a nivel macroscópico, seleccionando plantas con apariencia sana o sobrevivientes a la presión de inóculo sin considerar los mecanismos de resistencia histológica ante un patógeno. En el caso de las enfermedades que afectan el sistema vascular de las plantas, estas reaccionan en presencia de esos patógenos produciendo estructuras y sustancias químicas que tratan de interferir en el desarrollo del mismo. Los factores de resistencia estructural son inducidos para formar barreras y limitar al patógeno en una región del xilema por medio de estructuras conocidas como tilosas, gomas y geles, las cuales tienen la finalidad de evitar el crecimiento del patógeno dentro del tejido de la raíz (Ouellette *et al.* 1992, Del Rio *et al.* 2002 & Hobbes 2004). La incorporación de ésta resistencia en el cultivo de aguacate probablemente sea la estrategia más efectiva a largo plazo.

En 1912, Petri observó en el cultivo de vid la presencia de tilosas como mecanismos de defensa a la enfermedad. La formación de tilosas se debe a cambios producidos en la pared celular. De igual manera, dentro de estos mecanismos de defensa, se producen compuestos fenólicos llamados fitoanticipinas (ácidos cinámicos, flavonoides, isoflavonoides, deoxiantocianinas, estilbenos, cumarinas, cromonas) alrededor de las células los cuales actúan de forma pasiva reforzando la pared celular e inhibiendo el crecimiento de hifas (Nyerges *et al.* 1975, Scalbert 1991, Schlosser 1994 & Vleeshouwers *et al.* 2000).

La selección de portainjertos tolerantes-resistentes a la pudrición de raíz y su relación con el estudio de mecanismos de defensa histológica a *P. cinnamomi* no ha sido una prioridad en el cultivo de aguacate. El objetivo del presente trabajo fue identificar la presencia de micelio de *P. cinnamomi* en el xilema de la raíz y la implicación en la formación de tilosas y depósito de fenoles como mecanismos de defensa histológica en portainjertos de aguacate.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo de raíces y preparación de las muestras histopatológicas

El muestreo de raíces se realizó en portainjertos comerciales Duke-7 y Thomas, y en los genotipos Tepetl, Tepeyanco y Atlixco de raza Mexicana inoculados y mantenidos a temperaturas de 17 y 28°C como se describe en Andrade *et al.* 2012. Se tomaron muestras al azar de raíces adventicias con síntomas de pudrición de una planta muerta, dos plantas con síntomas de marchitez y 2 plantas asintomáticas. Posteriormente, para la realización de los cortes histológicos, de cada genotipo inoculado y sin inocular, las raíces colectadas se lavaron con agua destilada y se cortaron

segmentos de 1 cm de longitud. Las muestras colectadas se colocaron en solución FAA (formaldehído: 100 mL, ácido acético glacial: 50 mL, etanol: 500 mL y agua destilada: 350 mL) durante 24 h. Las raíces de aguacate fijadas en FAA se lavaron con agua y se colocaron para deshidratar en etanol a 50, 70, 96 y 100%. Posteriormente, se transfirieron a diluciones 3:1, 1:1 y 1:3 de alcohol-xileno y xileno a 100% durante 72 h. Posteriormente, las muestras de raíces se retiraron y embebieron en parafina fundida (Paraplast SIGMA®) por 24 h a $\pm 60^\circ\text{C}$ (López *et al.* 2005) en un procesador automático. Finalmente, las muestras de raíces se extrajeron del procesador, se vertió parafina fundida en cubos de papel (1 cm de ancho por 1.5 cm de largo) para embeber el tejido radical y se dejó enfriar hasta solidificarse. Los cubos con el tejido se montaron en cubos de madera y se procedió a realizar cortes de $15\ \mu$ de grosor con un micrótopo rotatorio (Spencer 820®). Los cortes se suspendieron en agua con grenetina a 55°C y se montaron en portaobjetos para secar a temperatura ambiente.

Tinción safranina-verde rápido

La parafina se removió de los portaobjetos colocándolos en estufa a 50°C por 20 min. Posteriormente, los cortes se pasaron por tres cambios de xileno por tres minutos cada uno y se hidrataron en 2 cambios de alcohol a 96 y 100%. Al final, las muestras se tñeron con la técnica de doble safranina y verde rápido Fast Green FCF (Anexo 4 y 5) (López *et al.* 2005). Las muestras se montaron en resina sintética (SIGMA®) y se observaron al microscopio de luz a 40X (VE-B6 Velab®) para identificar la presencia de micelio, tilosas y depósito de compuestos fenólicos en los tejidos radicales.

Evaluación de variables histológicas

La presencia de micelio, tilosas y depósito de compuestos fenólicos de color rojizo con paredes lignificadas se determinó visualmente. Para la evaluación microscópica de los cortes histológicos se consideraron 10 portaobjetos de cinco genotipos que presentaron plantas muertas, con síntomas de marchitez y plantas asintomáticas inoculadas con *P. cinnamomi* y sin inocular con temperaturas de 17 y 28°C . Para éstos, se revisaron 5 cortes de cada uno de los 10 portaobjetos (correspondiente a 10 repeticiones) y se observaron 5 campos con el objetivo 40X (250 observaciones). Los datos se arreglaron como un diseño factorial (5X2) en donde el nivel 5 correspondió a los 5 genotipos y el 2 a las temperaturas de 17 y 28°C . Los datos se analizaron mediante la comparación de las medias con la prueba de Duncan ($p \leq 0.05$) y se utilizó el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) versión 9.0 (SAS Institute, 2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los cortes histológicos de raíces de los genotipos de aguacate previamente infectados con el oomicete *P. cinnamomi*, causó infección y activación de mecanismos de defensa. Se detectó la presencia de micelio de *P. cinnamomi*, tilosas y depósito de compuestos fenólicos en plantas muertas, con síntomas de marchitez y plantas asintomáticas a 17 y 28°C (Cuadro 1, 2 y 3), se encontraron diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) con un coeficiente de variación elevado, indicativo de la variabilidad genética de los genotipos. En portainjertos testigo (sin inocular) a temperaturas de 17 y 28°C no se detectó la presencia de micelio, tilosas ni compuestos fenólicos.

Presencia de micelio en genotipos muertos

En plantas muertas de los portainjertos Duke-7, y Thomas, y el genotipo Tepetl mantenidas a 17°C , el contenido de micelio en el xilema de raíces alimenticias (1 a 4 mm. de diámetro aproximadamente) no mostró diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$). Sin embargo, a 28°C Tepetl y Thomas tuvieron bajo porcentaje de micelio en el xilema en comparación con Duke-7 que presentó mayor contenido de micelio (13.92%), esto sugiere que la cantidad de micelio en el xilema de raíces de los portainjertos muertos está relacionado con la infección del oomicete y sobre todo por la incapacidad de las plantas para superar el efecto de invasión del micelio, la infección superó las barreras estructurales de defensa (Cuadro 1). La temperatura y alta humedad del suelo en las que se mantuvieron las plantas fueron determinantes para que el oomicete causara infección y se facilitara el establecimiento, colonización y progreso del patógeno en el sistema radical y finalmente culminara en la muerte de plantas susceptibles. El micelio logró penetrar las células adyacentes al xilema hasta llegar al xilema y células parenquimatosas, superando las barreras estructurales de resistencia, presentándose síntomas de marchitamiento y por último la muerte de las plantas (Grant *et al.* 1984 & Agrios 2010). Presencia de micelio en genotipos con síntomas de marchitez

En Tepetl, la presencia de micelio en el xilema de las plantas en condiciones de temperatura en el suelo a 17°C fue abundante (19.04%) en comparación con Thomas y Duke-7 (3.12 y 5.76%), el cual se considera susceptible histológicamente al observarse mayor colonización de las hifas de *P. cinnamomi* a nivel microscópico. Sin embargo, a 28°C presentó 7.92% de micelio en el xilema. Este efecto del patógeno en el hospedante sugiere que puede considerarse como un portainjerto tolerante. El alto y bajo contenido de micelio en el xilema en el genotipo Tepetl a 17 y 28°C posiblemente se debe a la variabilidad genética que resulta generalmente en susceptibilidad y cierta tolerancia al impedir la invasión vascular por este patógeno.

Cuando el portainjerto Thomas presentó síntomas de marchitamiento mostró menor desarrollo micelial (3.12%) en el xilema a 17°C ; sin embargo, a 28°C Thomas mostró mayor desarrollo micelial (15.12%) en comparación con los genotipos Tepetl, Tepeyanco y Atlixco. Sin embargo, el genotipo Tepeyanco presentó el menor contenido de micelio en el xilema (Cuadro 1), lo que sugiere que el alto o bajo porcentaje de micelio en el xilema es capaz de causar infección de marchitez y alteraciones microscópicas en la raíz de aguacate, debido a la formación de barreras físicas y contenido de compuestos antifúngicos (tilosas y polifenoles) como defensa de la planta ante la presencia del oomicete. Por otra parte, esta respuesta se debe a la habilidad del patógeno para avanzar sistémicamente a lo largo de la raíz y a la susceptibilidad del hospedante, coincidiendo con lo observado en raíces de *Ulmus minor* Mill, *Vitis vinifera* L. y *Capsicum* sp., que mostraron diferentes niveles de susceptibilidad y tolerancia a las enfermedades sistémicas causadas por *Verticillium* sp., *Fusarium* sp. y *Ophiostoma novo-ulmi* (Sepúlveda *et al.* 1979, Grant *et al.* 1984, Vleeshouwer *et al.* 2000 & Niks *et al.* 2004), respectivamente.

Los genotipos Tepetl y Atlixco mostraron un contenido micelial similar a 28°C , por lo que, a nivel histológico pueden considerarse como tolerantes a *P. cinnamomi*. Sin embargo, Tepeyanco obtuvo una importante disminución porcentual de desarrollo micelial en el xilema a 28°C , indicando que éste puede ser un portainjerto resistente al oomicete al activar sus mecanismos de defensa impidiendo el avance del patógeno

(Cuadro 1). A 28 °C se detectó una mayor cantidad de micelio indicando que la raíz en esta temperatura permitió la interacción con el patógeno y causó infección del sistema radical.

Cuadro 1. Presencia de micelio de *P. cinnamomi* en raíces de genotipos de aguacate muertos, con síntomas de marchitez y asintomáticos a dos temperaturas

Genotipos	Contenido de micelio en raíz (%)					
	Muertos		Con marchitez		Asintomáticos	
	17 °C	28 °C	17 °C	28 °C	17 °C	28 °C
Duke-7	9.84 a*	13.92 a	5.76 b	‡-	‡-	3.68 bc
Thomas	7.76 a	3.44 b	3.12 b	15.12 a	3.92 b	0.08 c
Tepetl	6.32 a	3.20 b	19.04 a	7.92 b	2.56 b	11.68 a
Tepeyanco	†-	†-	†-	2.08 c	8.08 a	6.88 ab
Atlixco	†-	†-	†-	8.40 b	5.44 ab	7.20 ab

*Valores de medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Duncan 0.05)

†Sin evaluación por ausencia de plantas muertas y con marchitez.

‡Sin evaluación por ausencia de plantas con marchitez y asintomáticas.

Presencia de micelio en genotipos asintomáticos

Las plantas asintomáticas de los genotipos Tepeyanco y Atlixco, de la raza Mexicana, presentaron el mayor porcentaje de desarrollo micelial en el xilema de la raíz cuando fueron seleccionados a 17 y 28 °C. De acuerdo con los resultados macroscópicos obtenidos a 28 °C, estos genotipos tuvieron resistencia al oomicete al presentar mayor número de plantas asintomáticas, ausencia de plantas muertas y solamente 10% de plantas con síntomas de marchitez (Andrade *et al.* 2012). De acuerdo con García & Fraile (1996), el daño causado por el patógeno puede resultar en una alteración microscópica sin presentar síntomas o alteraciones macroscópicas, como se observó en plantas asintomáticas de aguacate, que no desarrollaron síntomas de marchitamiento causado por *P. cinnamomi*. De acuerdo a la definición de resistencia de plantas a enfermedades, se requiere de plantas con atributos genéticos que regulen y permitan restringir el crecimiento del patógeno y, consecuentemente el desarrollo de la enfermedad en el hospedante (Nicks *et al.* 2004 & Cruz *et al.* 2006).

El portainjerto comercial Thomas y el genotipo de la selección Tepetl resultaron asintomáticos ya que presentaron poco desarrollo micelial a 17 °C. Tepetl a 28 °C tuvo el mayor contenido de micelio. En la selección para resistencia a *P. cinnamomi* a 28 °C se observó una disminución del desarrollo micelial en los portainjertos asintomáticos Thomas y Duke-7, por lo que, a nivel histológico pueden considerarse con tolerancia moderada.

Cuando se evaluaron los síntomas macroscópicos de marchitez y mortalidad en materiales de la raza Mexicana Atlixco y Tepeyanco, éstos mostraron más de 90% de plantas asintomáticas y al evaluar a nivel histopatológico se detectó el avance inter e intracelular de las hifas de *P. cinnamomi* (Figura 1 A y B). Éstos resultados sugieren que las plantas asintomáticas restringen el avance del micelio, por lo que, Tepeyanco y Atlixco de la raza Mexicana, pueden ser portainjertos promisorios debido a su capacidad de impedir la invasión y avance micelial del oomicete en el tejido de la raíz. Esto, posiblemente se debe a la activación oportuna de los mecanismos de resistencia estructural y química considerados como los más eficaces para disminuir la infección del patógeno (Ouellette *et al.* 1992 & Hobbes 2004).

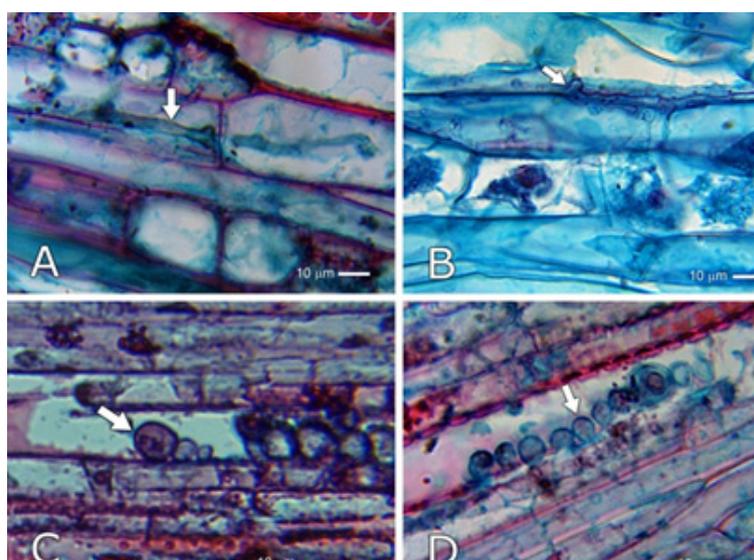


Figura 1. Micrografías de corte longitudinal de raíz tomadas a 40X con microscopio de luz. Las flechas indican: A) Genotipo de Atlixco, raza Mexicana, con crecimiento del micelio intercelular, B) Genotipo de Tepeyanco, raza Mexicana, con micelio intracelular, C) Portainjerto Thomas asintomático a 28 °C con presencia de tilosas maduras, D) Genotipo de Atlixco asintomático a 28 °C con presencia de tilosas inmaduras.

Presencia de tilosas en genotipos muertos

En los portainjertos muertos de Thomas y Duke-7, reportados como tolerantes a *P. cinnamomi*, se encontró mayor cantidad de tilosas en la raíz a 17 °C, mientras que a 28 °C en Tepetl y Duke-7 el porcentaje de tilosas en el xilema fue de 0%. El mayor porcentaje de tilosas se observó en Thomas con 1.12% (Cuadro 2).

Cuadro 2. Presencia de tilosas en el xilema de genotipos de aguacate muertos, con marchitez y asintomáticos cultivados a dos temperaturas

Genotipos	Contenido de tilosas (%)					
	Muertos		Con marchitez		Asintomáticos	
	17 °C	28 °C	17 °C	28 °C	17 °C	28 °C
Duke-7	4.00 ab*	0.08 b	4.40 a	-‡	-‡	2.96 b
Thomas	4.80 a	1.12 a	0.00 b	4.00 b	1.60 b	0.56 c
Tepetl	0.08 b	0.00 b	1.44 b	2.56 b	14.72 a	13.44 a
Tepeyanco	†-	†-	†-	13.52 a	3.76 b	2,24 b
Atlixco	†-	†-	†-	7.52 ab	1.52 b	11.92 a

*Valores de medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Duncan 0.05)

†Sin evaluación por ausencia de plantas muertas y con marchitez.

‡Sin evaluación por ausencia de plantas con marchitez y asintomáticas.

El patógeno superó las estructuras de defensa penetrando las tilosas del xilema, mostrando la destrucción del tejido celular causado por la enfermedad, por lo que se deduce que las plantas son susceptibles por activar lentamente sus mecanismos de defensa contra *P. cinnamomi*. Respecto a la formación de tilosas, Dimond (1955), Misaghi *et al.* (1978) & Cruz *et al.* (2006) señalan que la sintomatología de marchitamiento se debe principalmente a que el micelio supera las barreras estructurales avanzando inter e intracelularmente, induciendo hidrólisis de la pared celular al causar la destrucción de raíces e impedir la absorción de agua, nutrientes y finalmente la muerte de las plantas.

Presencia de tilosas en genotipos con síntomas de marchitez

En los portainjertos comerciales conocidos por su resistencia a síntomas de marchitamiento, Duke-7 mostró un elevado porcentaje (4.40%) de tilosas en el xilema a 17 °C, mientras que Thomas presentó 0% de tilosas. El genotipo Tepetl a 17 y 28 °C presentó entre 1.44 y 2.56% de tilosas en comparación con Thomas que presentó entre 0 y 4% a 17 y 28 °C, respectivamente. El porcentaje más elevado de tilosas a 28 °C lo obtuvieron la raza Mexicana de Atlixco y Tepeyanco (Cuadro 2) genotipos que pueden ser considerados como resistentes a la marchitez causada por *P. cinnamomi*. Aparentemente, las tilosas son producidas para limitar la invasión del micelio, de aquí que no todas las variedades tienen la capacidad de producir una o más tilosas como mecanismo de defensa para impedir el avance del micelio. Estas tilosas se forman debido a los cambios producidos en la pared celular, al penetrar el patógeno a través de las células del xilema de la raíz, enviando señales de bloqueo celular a las demás células para impedir el paso del micelio (Sepúlveda *et al.* 1979 & Grant *et al.* 1984).

Presencia de tilosas en genotipos asintomáticos

La presencia de tilosas en los genotipos de aguacate asintomáticos fue estadísticamente diferente (Cuadro 2). El genotipo Tepetl presentó mayor porcentaje de tilosas a 17 y 28 °C, mientras que Atlixco presentó mayor contenido de tilosas en el xilema a 28 °C (Figura 1 D). La menor formación de tilosas en el xilema a 17 °C la presentaron Thomas, Atlixco y Tepeyanco y el porcentaje más bajo se observó en Thomas a 28 °C (Figura 1 C). Cruz *et al.* (2006) señalan que en algunas variedades, las tilosas se forman cuando el patógeno se encuentra en raíces jóvenes y tienen la función de obstruir el paso del patógeno, bloqueando su avance y permitiendo que las plantas permanezcan libres del patógeno, a lo cual se atribuye la tolerancia-resistencia de los genotipos de Tepeyanco y Atlixco.

Compuestos fenólicos en genotipos muertos

En los cortes histológicos, otra característica observada como mecanismo de defensa química en genotipos muertos frente a la infección causada por *P. cinnamomi* fue la acumulación de compuestos fenólicos de color rojo. El depósito de compuestos fenólicos más elevado se presentó en Tepetl y Thomas a 17 °C, mayores que en Duke-7 (Cuadro 3). Los porcentajes más bajos de contenido de fenoles a 28 °C se presentaron en los portainjertos comerciales Duke-7 y Thomas en comparación con el genotipo Tepetl en el que se observó mayor cantidad de depósito de compuestos fenólicos (Cuadro 3).

Cuadro 3. Presencia de compuestos fenólicos en células de raíces en genotipos de aguacate muertos, con marchitez y asintomáticos inoculados con *Phytophthora cinnamomi* a dos temperaturas

Contenido de fenoles en raíz (%)						
Genotipos	Muertos		Con marchitez		Asintomáticos	
	17 °C	28 °C	17 °C	28 °C	17 °C	28 °C
Duke-7	37.44 b*	34.24 c	42.88 b	†	†	44.40 c
Thomas	62.08 a	59.92 b	51.12 b	58.48 b	41.52 b	89.20 a
Tepetl	70.32 a	73.60 a	67.8 a	56.16 b	71.36 a	57.00 b
Tepeyanco	†	†	†	83.92 a	71.92 a	34.96 c
Atlixco	†	†	†	47.28 b	18.40 c	58.40 b

*Valores de medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Duncan 0.05)

† Sin evaluación por ausencia de plantas muertas y con marchitez.

‡ Sin evaluación por ausencia de plantas con marchitez y asintomáticas.

El incremento de compuestos fenólicos es un mecanismo de respuesta ante la presencia de micelio (Cruz *et al.* 2006). El depósito de estos fenoles está estrechamente relacionado con la defensa histológica frente a la severidad de la infección y supervivencia de la planta ante la invasión del patógeno en plantas muertas (Del Río *et al.* 2002). Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que la mayor acumulación de compuestos fenólicos en células colapsadas en ambas temperaturas. Asimismo, se observaron depósitos de compuestos fenólicos en el xilema y una reducida presencia de micelio en células adyacentes al xilema (información no presentada). Los compuestos fenólicos encontrados por Bekker *et al.* (2007) en raíces de árboles de aguacate infectados con *P. cinnamomi* fueron el ácido 3,4-hidroxibenzoico y el ácido vanilínico, compuestos que al contacto con el patógeno funcionan como barreras físicas y confieren a la pared celular cierta resistencia a la penetración de *P. cinnamomi*.

Compuestos fenólicos en genotipos con síntomas de marchitez

En la cuantificación del depósito de fenoles en plantas con síntomas de marchitez, Tepetl mostró el porcentaje de contenido más alto a 17 °C (67.68%) y el más bajo contenido lo tuvieron los portainjertos Thomas y Duke-7 (procedentes de semilla en segregación). El contenido de fenoles fue significativamente mayor ($P < 0.05$) en Tepeyanco (83.92%) a 28 °C (Cuadro 3). En Atlixco, Tepetl y Thomas a 28 °C, el contenido de compuestos fenólicos fue entre 47.28 y 58.48%. La presencia de compuestos fenólicos inhibió el desarrollo del patógeno, indicando que la planta se encuentra activando sus mecanismos de defensa asociados a la severidad de la infección causada por el oomicete *P. cinnamomi* (Talboys 1958, Nyerges *et al.* 1975, Oullette *et al.* 1992 & Schlosser 1994). La presencia de compuestos fenólicos está asociada a la resistencia a éste patógeno, lo que se ha probado *in vitro* y demostrado que la presencia de polifenoles tiene la capacidad de inhibir el crecimiento del oomiceto (Candela *et al.* 1995, Fernández *et al.* 1997 & Vidhyasekaran 2008).

Compuestos fenólicos en genotipos asintomáticos

El mayor contenido de compuestos fenólicos se presentó en los genotipos Tepeyanco y Tepetl a 17 °C y en el portainjerto Thomas a 28 °C. Sin embargo, el genotipo Atlixco a 17 °C presentó 18.40% de fenoles en la raíz y Tepeyanco a 28 °C tuvo el porcentaje más bajo de éstos compuestos fenólicos. Las plantas asintomáticas tuvieron resistencia al activar sus mecanismos de defensa química. Los compuestos fenólicos actúan como inhibidores bioquímicos producidos en respuesta al daño ocasionado por *P. cinnamomi*. Estos resultados muestran que la temperatura no es un factor determinante en la presencia de fenoles en la raíz. La resistencia de la planta está relacionada con el depósito de fenoles, ya que la acumulación rápida y temprana de compuestos fenólicos en el sitio de infección es una respuesta de defensa. Esta respuesta de acumulación de fenoles antifúngicos generalmente se producen en mayor cantidad en el momento de la infección (De Ascensao *et al.* 2000). Estas barreras químicas forman bandas en las células con compuestos fenólicos antifúngicos que refuerzan la pared celular brindándole resistencia (Oullette *et al.* 1992 & Cruz *et al.* 2006). Lo anterior explica por qué algunas plantas son asintomáticas tras la inoculación de *P. cinnamomi*.

CONCLUSIONES

La cantidad de micelio en el xilema de genotipos de aguacate muertos se debió a su susceptibilidad que culmina con la muerte; sin importar la temperatura en la que fueron sometidas las plantas. Los porcentajes más altos de presencia de micelio en el xilema se observó en Tepetl y el portainjerto comercial Thomas cuando presentaron síntomas de marchitez a 17 y 28 °C, lo que indica que permiten el establecimiento y desarrollo del patógeno dentro de la raíz. A nivel histológico, las plantas de las selecciones Tepeyanco y Atlixco, raza Mexicana, son genotipos resistentes por presentar síntomas de marchitez a 28 °C, las tilosas fueron suficientes para impedir el desarrollo de *P. cinnamomi* y mostrar mayor porcentaje de plantas asintomáticas macroscópicamente aún con presencia de micelio en el xilema.

Los portainjertos Thomas a 17 °C y Duke-7 a 28 °C se consideran tolerantes por mostrar porcentaje similar de tilosas en plantas con síntomas de marchitez. En los genotipos asintomáticos de las selecciones de Tepetl y Tepeyanco tuvieron un aumento porcentual en la presencia de micelio en el xilema a 17 y 28 °C. Estos genotipos son considerados resistentes por estar en contacto íntimo con *P. cinnamomi* a pesar de que no presentaron síntomas macroscópicos. Las selecciones de la raza Mexicana de Tepeyanco, Atlixco y Tepetl mostraron resistencia al activar oportunamente sus mecanismos de defensa histológica estructural y química.

LITERATURA CITADA

- Andrade, H, P, De León, C, Espíndola, B, M, C, Alvarado, R, D, López, J, A, & García, E, R. 2012. Selección de porta-injertos de aguacate para tolerancia-resistencia a *Phytophthora cinnamomi* Rands. usando temperaturas controladas. Spanish J. of Rural Development. 4:1-8.
- Agrios, G, N. 2010. Fitopatología. 2da. ed. Edit. Limusa. D.F., México. 856 p.
- Bekker, T, Aveling, T, Kaiser, C, Labuschagne, N, & Regnier, T. 2007. Accumulation of total phenolics due to silicon application in roots of avocado trees infected with *Phytophthora cinnamomi*. Sixth World Avocado Cong. Villa del Mar, Chile. 1-11 pp.
- Candela, M, E; Alcazar, M, D; Espín, A; Egea, C, & Almela, L. 1995. Soluble phenolic acids in capsicum annum stems infected with *Phytophthora capsici*. Plant Pathol. 44:116-123.
- De Ascensao, A, R & Dubery, I, A. 2003. Soluble and wall-bound phenolics and phenolic polymers in *Musa acuminata* roots exposed to elicitors from *Fusarium oxysporum* f.sp. cubense Phytochem. 63:679-686.
- Del Río, J, A; González, A; Fuster, M, D; Botía, J, M, Gómez, P, Frías, V, & Ortuño, A. 2002 Tylose formation and changes in phenolic compounds of grape roots infected with *Phaeoconiella chlamydospora* and *Phaeoacremonium* species. Phytopathol. Medit. 40:S394-S399.
- Dimond, A, E, 1955, Pathogenesis in the wilt diseases. Ann. Rev. Plant Physiol. 6:329-350.
- Fernández, P, S, & Liddell, C, M. 1997. Resistance of capsicum annum CM-334 to *Phytophthora* root rot and phenol biosynthesis. Phytopathol. 87:529.
- Gallo, L, L. 1992. Update of Canary Island research on West Indian avocado rootstocks tolerant/resistance to *Phytophthora* root rot. Proc. of second world avocado Cong. 105-110 pp.
- Gallo, L, L, Pérez, Z, S, & Siverio, D, R, F. 1999. Búsqueda de resistencia a *Phytophthora cinnamomi* Rands. en patrones de aguacate de raza antillana. Rev. Chapingo, Serie Hortíc. 5:275-277.
- García, A, F; & Fraile, A. 1996. Patología vegetal. Edit. Phytoma. Soc. Española Fitopatol. 25 p.
- Hobbes, M. 2004. Induced resistance for the control of Dutch elm disease. Invest. Agrar. Sist. Recur. For. 13:185-196.
- López, C, M, L, Márquez, G, J, & Murguía, S, G. 2005. Técnicas para el estudio del desarrollo de angiospermas. 2a. ed. Las prensas de ciencias. Fac. Ciencias, UNAM. Méx. 178 p.
- Misaghi, I, J, Devay, J, E, & Duniway, J, M, 1978, Relationship between occlusions of xylem elements and disease symptoms in leaves of cotton plants infected with *Verticillium dahlia*. Can. J. Bot. 56:339-342.
- Nyerges, P, Szabo, E, & Donko, E. 1975. The role of anthocyan and phenol compounds in the resistance of grapes against *Botrytis* infection. Acta Phytopathol. Acad. Scient. Hung. 10:21-32.
- Ouellette, G, B, & Rioux, D. 1992. Anatomical and physiological aspects of resistance to Dutch Elm Disease. In: Blanchette, A, Biggs, R, Defense Mechanisms of woody plants against fungi. Edits. Springer-Verlag, Berlin. 257-310 pp.
- Petri, L. 1912. Observations on grapevine wood alterations following wounding. Speriment. Agr. Italiane 45:501-547.
- SAS Institute, Inc. 2001. SAS/STAT User guide. Release 9.0. ed. North Carolina, USA. 1289 p.
- Scalbert, A, 1991, Antimicrobial properties of tannins. Phytochem. 30:3875-3883.
- Schlosser, E. 1994. Preformed phenols as resistance factors. Acta Hort. 381:615-630.
- Talboys, P, W. 1958. Association of tylosis and hyperplasia of the xylem with vascular invasion of the hop by *Verticillium albo-atrum*. Rev. Appl. Micol. 37: 673.
- Téliz, O, D, & Mora, A, J, A. 2007. El manejo integral parcial del aguacate. In Téliz, OD; Mora, A. El aguacate y su manejo integral. 2a. ed. (Eds.). Editorial Mundi- Prensa, Méx. D. F., p. 287-306.
- Vidales, F, J, A, & Alcántar, R, J, J. 1999. Acción de la solarización y de la materia orgánica en el control de la tristeza (*Phytophthora cinnamomi* Rands) del aguacate (*Persea americana* Mill.). Rev. Chapingo, Serie Hortíc. 5:255-259.
- Vidhyasekaran, P. 2008. Fungal pathogenesis in plant and crops. Molecular biology and host defense mechanisms. 2nd. ed. CRC Press. Florida, USA. 509 p.
- Zentmyer, G, A, & Schieber, E. 1987. The search for resistance to *Phytophthora* root rot in Latin America. South African Avocado Growers Assoc. Yearbook 10:109-110.



ACTAS • PROCEEDINGS

VIII CONGRESO MUNDIAL DE LA PALTA 2015

del 13 al 18 de Septiembre. Lima, Perú 2015

www.wacperu2015.com

