Totipotencialidad en plántulas de aguacate y la resistencia a *Phytophthora cinnamomi*

P. Andrade-Hoyos[1], MC. Espíndola Barquera[2], Carlos De León[3], D. Alvarado Rosales[3], A. López Jiménez[3], E. Molina Gayosso[4]

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

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

[3]. Postgrado en Fitopatología y Fruticultura. Colegio de Postgraduados, México.

[4]. Ingeniería en Biotecnología. Universidad Politécnica de Puebla, México

RESUMEN

La identificación de plántulas resistentes de aguacate criollo raza Mexicana, responden de forma natural a la infección por el oomicete *Phytophthora cinnamomi*. Esta respuesta se debe a la variación genética basada en la supervivencia y en la capacidad totipotencial después de la inoculación con el oomicete. El objetivo del presente trabajo fue seleccionar plántulas resistentes para inducir totipotencialidad (formación de nuevos rebrotes) después de la inoculación. En la selección de plántulas de aguacate para resistencia se realizaron dos ensayos, en el primer ensayo se inocularon plántulas de seis genotipos de aguacate Atlixco, Tepeyanco, Tepetl, Toliman, Colín V-33 y Thomas (de 5 cm de altura y de 15 a 20 cm de altura) con un aislamiento virulento de *P. cinnamomi,* en el segundo ensayo se inocularon solamente plántulas de los genotipos Tepeyanco y Atlixco (de 5 cm de altura). La inoculación de plántulas en etapas avanzadas de crecimiento (de 15 a 20 cm de altura) y en etapa juvenil (5 cm de altura) permite detectar resistencia a *P. cinnamomi*. La población de plántulas Atlixco es fuente importante de resistencia debido a que tuvo mayor número de nuevos brotes de plántulas totipotenciales y plántulas asintomáticas. Los genotipos Toliman, Tepetl y Thomas en etapa juvenil son considerados susceptibles. Colín V-33 puede ser portainjerto resistente a *P. cinnamomi*. Atlixco y Tepeyanco son considerados resistentes-tolerantes al marchitamiento del aguacatero y al cancro producido por *P. cinnamomi*.

Palabras clave: *Persea americana* var. *drymifolia*, Oomicete, Regeneración de brotes, Tristeza del aguacatero, Cancro.

INTRODUCCIÓN

El oomicete *Phytophthora cinnamomi* causa la pudrición de la raíz y es la enfermedad más destructiva e importante del aguacate en todo el mundo (Zentmyer, 1980 & Erwin *et al.* 1996). En México, una de las principales limitantes en la producción de aguacate es la pudrición de raíces producida por este patógeno. En 1994, esta enfermedad causó la muerte de 100,000 árboles de aguacate *Persea americana* variedad Hass en Uruapan, Michoacán, disminuyendo la producción con pérdidas económicas para los productores por más de 32 millones de pesos (Vidales *et al.* 1999 & Newett *et al.* 2002). Este oomicete, también ocasiona 90% de incidencia de cancros en el tronco del aguacate, reduciendo la producción y superficie cultivada en la región de Michoacán (Zentmyer 1980 & Ceja *et al.* 2000).

La pudrición de raíces y cancro del tronco del aguacatero causado por el patógeno *P. cinnamomi* se describió por primera vez en Puerto Rico, en 1927 (Zentmyer 1980,1985), y actualmente este patógeno se puede encontrar distribuido en casi todas las áreas productoras de aguacate del mundo (Erwin *et al.* 1996 & Pegg *et al.* 2008). Este patógeno invade la base del tronco en donde se desarrolla como un cancro que llega a alcanzar de 1 a 2 m de altura, y que se caracteriza por presentar coloraciones de café claro a oscuras y exudaciones acuosas (Zentmyer 1980 y Ceja *et al.* 2000). En 1959, en California EEUU., se observó por primera vez síntomas de cancro en árboles de macadamia (Macadamia integrifolia y Macadamia tetraphylla) y aguacate. En 1960, se comprobó que el agente causal del cancro en estos árboles es ocasionado por *P. cinnamomi* (Zentmyer *et al.* 1961 & Zentmyer 1980).

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 difícil. Las medidas de control para este fitopatógeno son la aplicación de fungicidas a base de metalaxil y prácticas culturales. Sin embargo, los intentos de control de esta enfermedad presenta algunas limitaciones y es necesario implementar medidas de control más sustentables tal es el caso del uso de portainjertos tolerantes o resistentes a la pudrición de la raíz causada por *P. cinnamomi* (Pegg *et al.* 2008).

Desde 1940 en California, E.U.A. se ha propiciado la investigación para la búsqueda de portainjertos tolerantes a éste oomicete *P. cinnamomi* Rands. En 1960, Zentmyer colectó semillas de aguacate de varias regiones de México y el Caribe, las colecciones más importantes fueron las provenientes de Atlixco, Puebla, región conocida por su gran variación genética (Anderson 1950). Estas colecciones de semillas y esquejes presentaban cierto nivel de tolerancia a la enfermedad (Zentmyer 1961). El origen de los portainjertos de aguacate no es importante para los viveristas ya que utilizaban cualquier tipo de semilla disponible; sin embargo, Pegg *et al.* (2008) mencionan que en Michoacán, Méx. los portainjertos se obtienen a partir de semilla seleccionada de árboles fuertes y sanos. En México, el éxito de la producción de aguacate Hass se debe a que se encuentra injertado sobre el material criollo de la raza Mexicana var. *drymifolia*.

Por otro lado Zentmyer *et al.* (1994) propuso la selección y desarrollo de portainjertos resistentes como el mejor método para el control de *P. cinnamomi*. Por lo antes expuesto, el objetivo del presente trabajo fue seleccionar portainjertos resistentes a *P. cinnamomi* a partir de plántulas de altura provenientes de semillas de la raza Mexicana (var. *drymifolia*). La resistencia en plántulas criollas de aguacate raza Mexicana responden de

forma natural a la infección de *P. cinnamomi*; esta respuesta de resistencia en genotipos criollos se debe a la fuente de riqueza genética basada en la supervivencia y en la capacidad de totipotencialidad después de la infección causada por el oomicete.

MATERIALES Y MÉTODOS

La selección de plántulas resistentes de aguacate se llevó a cabo en dos ensayos, en el primero se utilizaron de 90 a 148 semillas de la raza Mexicana (var. *drymifolia*), las semillas fueron colectadas de árboles en producción en Atlixco, Puebla y Tepeyanco, Tlaxcala. Estos genotipos se denominaron como Atlixco y Tepeyanco. El portainjerto comercial Thomas (20) y los genotipos Tepetl (20), Toliman (20) y Colín V-33 (51), provenientes de semilla de la raza Mexicana, fueron proporcionados por la Fundación Salvador Sánchez Colín, CICTAMEX S.C. ubicada en Coatepec Harinas, Estado de México (altitud de 2, 260 msnm, latitud de 18º 48' 08'' y longitud de 99º 42' 56'').

Como fuente de inóculo se utilizó el aislamiento de *P. cinnamomi* CPO-PCU (por sus siglas de registro en el Genbank: Colegio de Postgraduados-*Phytophthora cinnamomi* de Uruapan, número de acceso al Genbank JQ266267) muy virulento, aislado de raíces de aguacate provenientes de un huerto ubicado en Uruapan, Michoacán, Méx. El oomicete se reactivó en medio agar jugo-V8® a 28 °C durante 8 días. Posteriormente, se transfirieron 10 rodajas del medio de cultivo de 5 mm de diámetro a matraces de 500 mL con medio líquido jugo-V8® y se incubó a 28 °C. Diez días después de la incubación y multiplicación del oomicete, se procedió a cuantificar el número de fragmentos de micelio por mililitro con un citometro Neubauer.

Se utilizaron los sustratos de peat moss®, suelo agrícola y agrolita® (en proporción 2:2:1), posteriormente se realizó el llenado de macetas de plástico (capacidad de 1 L) con el sustrato previamente esterilizados por 4 h a 15 lb de presión, durante dos días consecutivos, ocho días después se procedió a sembrar las semillas de aguacate. Previo a la inoculación de los genotipos de aguacate, se hicieron cuatro orificios de 3 cm de profundidad en el suelo circundante a la raíz de plántulas de 5 cm y de 15 a 20 cm de altura en donde se depositaron 200 mL de la suspensión de micelio de *P. cinnamomi* (2.5 x 103 mL), durante el experimento la humedad del suelo se mantuvo a 90%. Las observaciones se realizaron ocho días después de la inoculación, los parámetros a evaluar fueron número de plántulas muertas, número de plantas con desarrollo de cancro y plántulas asintomáticas así como el porcentaje de plántulas que mostraban rebrotes totipotenciales, en 1959 Reinert utilizó este término refiriéndose a las plantas que tienen la capacidad de rebrotar y formar plantas completas (CIAT 1999 & Martínez-Gómez *et al.* 2004).

En el segundo ensayo, se utilizaron 320 semillas de raza Mexicana colectadas, de árboles en etapa de producción, de Atlixco, Puebla y Tepeyanco, Tlaxcala, estos genotipos se denominaron Atlixco y Tepeyanco, de los cuales se inocularon 160 plántulas de 5 cm de altura. La tolerancia-resistencia se determinó contabilizando el número de plántulas muertas, con síntomas de cancro y número de plántulas asintomáticas. Entre los 10 a 30 días, simultáneamente, se registró la frecuencia de brotes nuevos después de la muerte de la primera plántula. Con el propósito de evitar escape a la infección los nuevos brotes se reinocularon con 200 mL del concentrado micelial de *P. cinnamomi* (2.5 x 103 mL). Posteriormente, en los brotes nuevos se registró el porcentaje de mortalidad causada por *P. cinnamomi* y el número de plántulas asintomáticas.

Los datos del número de plántulas muertas, con cancro, asintomáticas y el número de brotes nuevos entre genotipos se analizaron con la prueba de 2 (Herrera *et al.* 2005); los datos fueron analizados con el software SAS® V. 9.0 para Windows (SAS Institute 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Primer ensayo

Los primeros síntomas de la enfermedad se presentaron de 10 a 20 días después de la inoculación. Estos se caracterizaron por una marchitez en la parte aérea, pudrición de raíces, clorosis general y pérdida de turgencia. Estos síntomas pueden presentarse en cualquier etapa biológica de la planta, desde plántula hasta árboles en producción (Zentmyer 1985 & Téliz *et al.* 2007). Otro síntoma observado frecuentemente fue el desarrollo de cancro en el tallo que se caracterizó por presentar coloraciones de café claro a oscuras y exudaciones acuosas (Zentmyer 1980 & Ceja *et al.* 2000); estos síntomas son severos y se presentan cuando las plantas son es susceptibles a la infección causada por el patógeno y generalmente provocan la muerte. La variación genética de los genotipos evaluados en plántulas asintomáticas permitirá obtener portainjertos promisorios tolerantes-resistentes a *P. cinnamomi* (Cuadro 1).

La prueba de 2 mostró que existen diferencias altamente significativas ($p<0.001$) entre los genotipos evaluados, donde los genotipos Atlixco y Tepeyanco de la raza Mexicana, al inocularse en su etapa de desarrollo de 5 cm de altura con *P. cinnamomi,* presentaron mayor número de plantas con cancro (21 y 8), mientras que las selecciones Tepeyanco, Atlixco y Colín V-33 mostraron un mayor número de plantas muertas (60, 38 y 21) y altos porcentajes de mortalidad que oscilaron entre 40 y 90% (Cuadro 1). Sin embargo, en los genotipos Tepetl, Toliman y Thomas hubo muerte total de plantas, aun cuando el número de plantas evaluadas fue variable en cada genotipo de aguacate (Cuadro 1).

Los genotipos Tepeyanco y Atlixco de raza Mexicana presentaron mayor número de plantas asintomáticas (22 y 31) y mostraron mejor tolerancia-resistencia ante la infección de *P. cinnamomi*. En el presente trabajo se obtuvieron resultados similares a los reportados por Menge (1999) en el portainjerto Thomas, el cual se comporta susceptible en la etapa de plántula (Cuadro 1).

Cuadro 1. Ensayo 1. Síntomas en plántulas de aguacate raza Mexicana de 5 cm de altura inoculadas con *P. cinnamomi* para selección de tolerancia-resistencia

Genotipos	Número de Plántulas inoculadas	Frecuencia de síntomas por *P. cinnamomi* en plántulas de 5 cm de altura					
		Cancro		Mortalidad		Asintomáticas	
		No.	%	No.	%	No.	%
Atlixco	90	21†	23	38	42	31	34
Colín V-33	23	0	0	21	91	2	9
Thomas	10	0	0	10	100	0	0
Toliman	10	0	0	10	100	0	0
Tepetl	10	0	0	10	100	0	0
Tepeyanco	90	8	9	60	67	22	24
		$c^2 = 43.09$		$c^2 = 18.36$		$c^2 = 18.0037$	
		$p < 0.001$		$p<0.0025$		$p < 0.0029$	

† c^2 con $p<0.001$).

En los genotipos de aguacate inoculados en etapa de plántula de 15 a 20 cm de altura, las pruebas de c^2 ($p<0.001$) mostraron diferencias estadísticas significativas en los diferentes síntomas causados por *P. cinnamomi*. Las selecciones Tepeyanco y Atlixco, tuvieron mayor número de plántulas con cancro y mortalidad en comparación con Thomas, Toliman, Tepetl y Colín V-33, que tuvieron menor valor porcentual de plantas con cancro (Cuadro 2).

Los síntomas del cancro del tallo en plántulas se observaron a los 10 y 25 días después de la inoculación mostraron una necrosis en la epidermis del tallo desde su base de la plántula y hasta 1 cm de longitud arriba de la base. En el tallo, la necrosis se extendió de 15 a 20 cm a los 90 días (Figura 1) cuando las plántulas mostraron síntomas de cancro en la epidermis del tallo, posteriormente se observó marchitez y finalmente murieron. Estos síntomas coinciden con las observaciones realizadas por Ceja *et al.* (2000). Desde 1959, se determinó por primera vez en California, EEUU., que *P. cinnamomi* era el agente causal del cancro en árboles de macadamia (*Macadamia integrifolia*) y aguacate (*Persea americana*) (Zentmyer *et al.* 1961 & Zentmyer 1980).

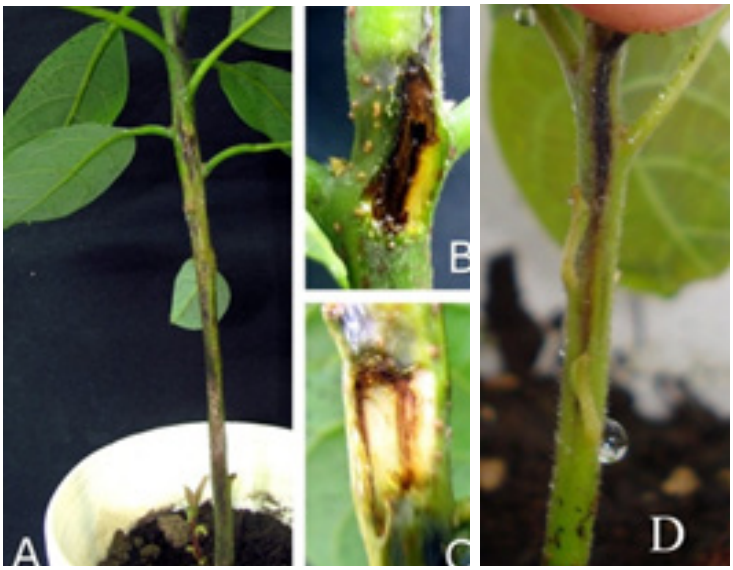

Figura 1. Síntomas inducidos por *Phytophthora cinnamomi* en plántulas de aguacate (*Persea americana* var *drymifolia*) A) cancro (plántulas inoculadas de 15 a 20 de altura), B) cancro con exudaciones acuosas, C) cancro con coloraciones de café claro a oscuras D) plántulas con necrosis y constricción del tallo (inoculadas a 5 cm de altura).

Los genotipos Tepeyanco, Atlixco, Colín V-33, Toliman y Tepetl presentaron mayor mortalidad de plántulas en comparación con Thomas (Cuadro 2) la variabilidad genética y la respuesta en mortandad se debe a que los genotipos provienen de colectas realizadas de árboles de polinización abierta, con respecto al portainjerto Thomas, el cual proviene de semilla colectada de un árbol clonado y con información genética fija, es decir genéticamente homogénea, el cual le confiere una mejor tolerancia a patógenos del suelo. Entre los genotipos se encontraron 99 y 62 plántulas de los genotipos Tepeyanco y Atlixco como tolerantes-resistentes a *P. cinnamomi,* al mostrar mayor cantidad de plántulas asintomáticas la alta variabilidad genética encontrada en genotipos provenientes de polinización abierta es una opción para encontrar resistencia y posteriormente para clonar y evaluar el comportamiento de la resistencia. Thomas se considera tolerante cuando presentó 6 (60%) plantas asintomáticas. Las selecciones de Tepetl y Toliman se consideran susceptibles al presentar 1 respectivamente, plantas asintomáticas debido a que la mayor población de plántulas se distribuyó en síntomas de cancro y mortalidad (Cuadro 2).

Cuadro 2. Ensayo 1. Síntomas en plántulas de aguacate raza Mexicana de 15 a 20 cm de altura inoculadas con *P. cinnamomi* para selección de tolerancia-resistencia

Genotipos	Número de Plántulas inoculadas	Frecuencia de infección por *P. cinnamomi* en plántulas de 15 a 20 cm de altura					
		Cancro		Mortalidad		Asintomáticas	
		No.	%	No.	%	No.	%
Atlixco	132	38†	29	32	24	62	47
Colín V-33	28	4	14	19	68	4	14
Tepetl	10	4	40	5	50	1	10
Tepeyanco	148	13	9	36	24	99	67
Thomas	10	1	10	3	30	6	60
Toliman	10	3	30	6	60	1	10
		$c^2 = 23.1463$		$c^2 = 29.7182$		$c^2 = 44.6981$	
		p<0.0003		p<0.0001		p<0.0001	
† c^2 con p<0.001.							

En genotipos de aguacate inoculados a edad temprana (5 cm de altura) es posible encontrar resistencia a *P. cinnamomi,* debido a que se pueden detectar diferencias entre los genotipos de aguacate evaluados. Los genotipos Atlixco y Tepeyanco mostraron ser fuente importante de resistencia ya que presentaron mayor número de plantas sanas (asintomáticas) en etapa de plántulas (5 cm de altura) y aún en la etapa más avanzada de crecimiento (15 a 20 cm de altura).

Los materiales evaluados para resistencia en plántulas inoculadas con *P. cinnamomi* emitieron brotes nuevos tras morir el primer brote, como expresión de resistencia al oomicete o mecanismo de respuesta de la planta que se conoce como totipotencialidad (CIAT 1991). En el Cuadro 3 se muestra el número de rebrotes que se producen después de la inoculación con el oomicete. Las plántulas de 5 cm de altura en los genotipos de Colín V-33, Tepetl, Tepeyanco y Atlixco presentaron valores porcentuales similares; los resultados posiblemente se deben a que provienen de una población genéticamente variable, es decir que la población de semillas colectadas de árboles en producción tiene un amplio pool de genes por encontrarse en un huerto de polinización abierta, como resultado la prueba de 2 (p<0.05) no mostró diferencias estadísticas significativas entre los genotipos de aguacate para la generación de nuevas plántulas. Sin embargo, Thomas y Toliman no formaron nuevos brotes después de la inoculación con *P. cinnamomi*; la ausencia de nuevos brotes se debe a la incapacidad y baja frecuencia genética del carácter.

Cuadro 3. Ensayo 1. Totipotencialidad y síntomas en plántulas de aguacate raza Mexicana de 5 cm de altura inoculadas con *P. cinnamomi* para selección de tolerancia-resistencia

Genotipos	Número de Plántulas inoculadas	Frecuencia totipotencial e infección por *P. cinnamomi* en plántulas de 5 cm de altura					
		Nuevos brotes		Mortalidad		Asintomáticas	
		No.	%	No.	%	No.	%
Atlixco	90	12†	13	2	17	10	83
Colín V-33	23	4	17	1	25	3	75
Tepetl	10	2	20	2	100	0	0
Tepeyanco	90	15	17	5	33	10	67
Thomas	10	0	0	0	0	0	0
Toliman	10	0	0	0	0	0	0
		$c^2 = 4.29$		$c^2 = 5.77$		$c^2 = 5.77$	
		p< 0.5081		p< 0.1231		p< 0.1231	
† c^2 con p <0.001.							

El genotipo Atlixco presentó bajo porcentaje de mortalidad (Cuadro 3), mientras que Colín V-33 y Tepeyanco mostraron 25 y 33% de muerte, respectivamente, mientras que Tepetl presentó 100% de mortalidad después de 10 días de la inoculación. Los genotipos Atlixco y Tepeyanco se consideran resistentes a *P. cinnamomi,* al mostrar el porcentaje más alto de rebrotes asintomáticos (equivalente a 10 nuevos brotes) en comparación con el genotipo Colín V-33 que emitió 3 brotes de plántulas asintomáticas (Cuadro 3).

La inoculación en plántulas de 5 cm de altura estimuló la totipotencialidad (capacidad de rebrotación). En la Figura 2, se muestra la muerte de la primera plántula tras la inoculación con *P. cinnamomi* y la formación del nuevo brote con el desarrollo de una raíz principal y raíces adventicias vigorosas. La capacidad de regenerar nuevas raíces en estos genotipos es un mecanismo de respuesta de resistencia genética basada en la supervivencia y capacidad totipotencial ante la inoculación de plántulas con el patógeno. Esta respuesta de la plántulas se puede observan cuando las plántulas o portainjertos provienen principalmente de semillas de raza Mexicana. Por lo anterior, la mayoría de los árboles de aguacate en Australia y México están injertados sobre portainjertos de semillas procedentes de árboles de polinización libre, de raza Mexicana, que provee

la posibilidad de que exista una variación genética en sus huertos para la selección de resistencia a *P. cinnamomi*. Pegg *et al.* (2008) mencionan que los portainjertos australianos cultivar Thomas y genotipo de raza Mexicana como Duke sobreviven y prosperan en condiciones de alta presión de inóculo debido a la capacidad de los portainjertos para regenerar rápidamente nuevas raíces.

Figura 2. A) Totipotencialidad en plántulas de Atlixco y B) Totipotencialidad en plántulas de Tepeyanco con 5 cm de altura, 10 días después de la inoculación con *P. cinnamomi*

Los resultados obtenidos en los estudios de la formación de nuevos brotes después de la inoculación sugieren que Tepeyanco, Atlixco y Colín V-33 pueden considerarse como tolerantes-resistentes a *P. cinnamomi*. Este fitopatógeno, de acuerdo a la observación en plántulas, podría ser el responsable de provocar mutaciones naturales al inocular en plántulas y provocar la muerte de estas, posteriormente algunas tienen la capacidad regenerar brotes nuevos de plántulas con raíces vigorosas. Aún se desconocen los mecanismos involucrados en la resistencia a la infección de *P. cinnamomi* en plántula de aguacate. Una explicación podría corresponder con los estudios realizados por Ehrenberg *et al.* (1956) quienes mencionan que otras sustancias químicas producidas por hongos pueden llegar raramente a provocar mutaciones; sin embargo, pueden aumentar la proporción de las mutaciones génicas visibles. Tal es el caso del hongo Clitocybe nebularis que aumenta la frecuencia de las mutaciones visibles.

En la inoculación de plántulas de 15 a 20 cm de altura, c^2 ($p<0.05$) no se observaron diferencias estadísticas significativas entre los genotipos que emitieron nuevas plántulas (Cuadro 4).

Cuadro 4. Ensayo 1. Totipotencialidad y síntomas en plántulas de aguacate raza Mexicana de 15 a 20 cm de altura reinoculadas con *P. cinnamomi* para selección de resistencia

Genotipos	Número de Plántulas inoculadas	Frecuencia totipotencial e infección por *P. cinnamomi* en plántulas de 15 a 20 cm de altura					
		Nuevos brotes		Mortalidad		Asintomáticas	
		No.	%	No.	%	No.	%
Atlixco	132	8†	6	3	38	5	63
Colín V-33	28	5	18	2	40	3	60
Tepetl	10	3	30	1	33	2	67
Tepeyanco	148	8	5	3	38	5	63
Thomas	10	0	0	0	0	0	0
Toliman	10	1	10	0	0	1	100
		$c^2 = 14.03$		$c^2 = 0.62$		$c^2 = 0.621$	
		$p< 0.015$		$p< 0.960$		$p<0.960$	
† c^2 con $p <0.001$.							

En los brotes reinoculados, el porcentaje de mortalidad fue superior en Colín V-33, Atlixco, Tepeyanco y Tepetl (entre 30 y 40%), se incrementó el porcentaje de plántulas asintomáticas. Los resultados indican que los genotipos Colín V-33, Tepeyanco, Atlixco y Tepetl tienen comportamiento tolerante-resistente a *P. cinnamomi* (Cuadro 4) y pueden utilizarse en zonas productivas de aguacate. Entre los genotipos estudiados Tepeyanco y Atlixco han sido seleccionados por su resistencia a la infección en inoculación de plántulas en la etapa de 5 cm de altura y por producir nuevos brotes con mayor número de plántulas asintomáticas después de la reinoculación.

Segundo ensayo

Con la finalidad de inducir la estimulación de nuevos brotes y poder obtener individuos que muestran esta capacidad de resistencia promisoria a *P. cinnamomi,* se evaluó un segundo ensayo utilizando plántulas de los genotipos Tepeyanco y Atlixco, posiblemente tienen mayor variabilidad genética por este carácter formación de nuevos brotes.

Las plántulas reinoculadas de 5 cm de altura no mostraron diferencias significativas a la infección entre ambos genotipos, los cuales presentaron número similar de plántulas (40 y 45) con síntomas de cancro. Sin embargo, Atlixco mostró mayor número (81) y porcentaje de plántulas muertas (51%) en comparación con Tepeyanco que presentó 27 plántulas muertas (Cuadro 5). En los resultados obtenidos en plántulas asintomáticas, Tepeyanco tuvo mayor frecuencia de plántulas resistentes (93 que correspondió a 58%), mientras que Atlixco tuvo menos número de plántulas sin presencia de síntomas (34 correspondiente a 21%).

En la prueba para resistencia en plántulas a la marchitez del aguacatero, se está llevando a cabo simultáneamente un método de selección para resistencia a cancro del tronco, ya que recientemente esta enfermedad en la región de Michoacán alcanzó incidencia de 90% (Ceja *et al.* 2000). Por tanto es de suma importancia contar con portainjertos resistentes no sólo a la marchitez del aguacatero sino también al cancro del tronco.

Cuadro 5. Ensayo 2. Síntomas en plántulas de aguacate raza Mexicana de 5 cm de altura reinoculadas con *P. cinnamomi* para selección de resistencia

Genotipos	Número de Plántulas inoculadas	Frecuencia de infección por *P. cinnamomi* en plántulas de 5 cm de altura					
		Cancro		Mortalidad		Asintomáticas	
		No.	%	No.	%	No.	%
Atlixco	160	45†	28	81	51	34	21
Tepeyanco	160	40	25	27	17	93	58
		$c^2 = 0.400$		$c^2 = 40.75$		$c^2 = 45.44$	
		p< 0.5268		p< 0.0001		P< 0.0001	
† c^2 con p<0.001.							

La estimulación de rebrotes inducidos por la inoculación de los genotipos Atlixco y Tepeyanco fue de 13 y 11 que correspondió a 8% y 54%, respectivamente, de una población de 160 plántulas inoculadas (Cuadro 6). La frecuencia de plántulas totipotenciales fue baja debido a que en la naturaleza ocurre al azar y en bajas frecuencias. Para aumentar la frecuencia de nuevos brotes de ejes embrionarios de aguacate se utiliza la inducción por hormonas de crecimiento (citocininas) (Mohamed *et al.* 1993 & Keightley *et al.* 2009). La reinoculación asegura la infección por *P. cinnamomi* en los nuevos brotes, lo cual fue posible comprobar en esta investigación, debido a que no se encontraron diferencias estadísticas significativas en el número de plántulas de los genotipos Atlixco y Tepeyanco. Además, el número de plántulas asintomáticas en Atlixco y Tepeyanco no fue significativo, pudiéndose considerar que ambos genotipos son resistentes al cancro y la marchitez del aguacatero (Cuadro 6).

Cuadro 6. Ensayo 2. Totipotencialidad en plántulas de aguacate raza Mexicana de 5 cm de altura inoculadas con *P. cinnamomi* para selección de resistencia

Genotipos	Número de Plántulas inoculadas	Frecuencia totipotencial e infección por *P. cinnamomi* en plántulas de 5 cm de altura					
		Nuevos brotes		Mortalidad		Asintomáticas	
		No.	%	No.	%	No.	%
Atlixco	160	13†	8	7	54	6	46
Tepeyanco	160	11	7	6	55	5	45
		$c^2 = 0.1802$		$c^2 = 0.0012$		$c^2 = 0.0012$	
		p≤ 0.671		p>0.972		p>0.972	
† c^2 con p ≤0.001.							

CONCLUSIONES

La inoculación de plántulas permite inducir la totipotencialidad y detectar resistencia a *P. cinnamomi*. Es posible obtener portainjertos resistentes a *P. cinnamomi* de las poblaciones Atlixco y Tepeyanco por su totiponcialidad y sanidad. La totipotencialidad de las poblaciones Tepeyanco, Atlixco y Colín V-33 las convierte en poblaciones tolerantes-resistentes a *P. cinnamomi*. Estos resultados muestran nuevas perspectivas para profundizar en los mecanismos de formación de rebrotes como reacción para defensa en plántulas de aguacate raza Mexicana contra la infección causada por *P. cinnamomi*.

LITERATURA CITADA

Anderson, E. 1950. Variation in avocado at the rodiles plantation. Ceiba, vol.1, pp. 50-55.

Ceja, T, L, F, Téliz, O, D, Osada, K, S. & Morales, G. J. L 2000, Etiología, distribución e incidencia del cancro del aguacate *Persea americana* Mill. en cuatro municipios del estado de Michoacán, Méx. Rev. Mexi. Fitopatol, Vol. 18, pp. 79-86.

CIAT. 1991. Cultivo de tejidos en la agricultura: Fundamentos y aplicaciones. Roca, W. M. y Mroginski, L.A. Eds. Cali, Colombia. 970 p. (En línea) Consultado 10 jun. 2013, de http://webapp.ciat.cgiar.org/biotechnology/cultivo_tejidos/capitulo6.pdf.

Ehrenberg, L, A, Gustafsson, D, and Von Wettstein. 1956. Studies on the mutation process in plants. Regularities and intentional control. Wagenningen Chromosome Conf. In: Brauer, H.O. Fitogenética aplicada. 1987. Mutaciones Cap. 16. Editorial Limusa, pp. 514.

Erwin, D, and Ribeiro, O. 1996. *Phytophthora* diseases worldwide. American Phytopathol. Soc., MN. pp. 270-271.

FAOSTAT 2010, Food and Agriculture Organization of the United Nations. (In line) Database consulted 28 April 2013: http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx

Herrera, H, J, G, y Barreras, S, A. 2005. Manual de procedimientos (Aplicación del Programa SAS) Análisis estadístico de experimentos pecuarios. 2 ed. Colegio de Postgraduados, México, pp. 215.

Keightley, P, D, and Halligan, D, L. 2009. Analysis and implications of mutational variation. Genetica vol. 136, pp. 359-369.

Martínez-Gómez, P, Sánchez-Pérez, R, Dicenta, F, y Gradziel, T, M. 2004. Caracterización de embriones múltiples en almendro. In: Laurens, F. and Evans, k. (eds). XI the Eucarpia Symp. On Fruit Breed and Genetics. Acta Hort, vol. 663, pp. 819-822.

Menge, J, A. 1999. Screening and Evaluation of New Rootstocks with resistance to *Phytophthora cinnamomi*. Calif. Avocado Research Symposium. Calif. Avocado Soc. and Univ. of Calif., Riverside, pp. 69-72.

Mohamed-Yasseen, Y. 1993. In Vitro Propagation of Avocado (*Persea americana* Mill.). Calif. avocado Society Yearbook. vol. 77, pp. 107-111.

Newett, S, D, E, Crandy, J, H, and Balerdi, C, F. 2002. Cultivars and rootstocks. In: Whiley, AW; Schaffer, B; Wolstenholme. Avocado: Botany, production and uses. BN. Eds. CABI Publ, pp. 161-187.

Pegg, K, Smith, L, Dann, L, Coates, L, and Whiley, T. 2008. *Phytophthora* resistance in avocado rootstocks. In: The Hon. Tony Burke MP Minister for Agriculture, Fisheries and Forestry presenting the RIRDC Australian Rural Woman of the Year Award 2008 to Mrs Ros Smerdon. Canberra. Vol. 19, no. 2. pp. 52.

SAS Institute Inc. 2001. SAS/STAT User guide. Release 9.0. North Carolina, USA, pp. 1289.

Téliz, O, D, y Mora, A, A 2007, Enfermedades del aguacate. In: Téliz, O. D. y Mora, A. A. El aguacate y su manejo integrado, Eds. Mundi-Prensa, Méx, pp. 171-208.

Zentmyer, G, A, and Storey, W, B. 1961. *Phytophthora* canker of macadamia trees. Calif. Avocado Soc. Yearbook, vol. 45. pp. 107-109.

Zentmyer, G, A. 1980. *Phytophthora cinnamomi* the diseases it causes. Monograhp. No. 10, The American Phytopathol. Soc, pp. 96.

Zentmyer, G, A. 1985. Origen and distribution of *Phytophthora cinnamomi*. Calif. Avocado Soc. Yearbook, vol. 69, pp. 89-94.

Zentmyer, G, A, Menge, J, and Ohr, H. 1994. Compedium of tropical fruit diseases. In: Ploetz, R, C, Zentmyer, G, A, Nishijima, W, T, Rohrbach, K, G, and Orh, H.D. Phythophthora root rot. Eds. St. Paul, MN. American Phytopathol. Soc. pp. 77-79.

ACTAS · PROCEEDINGS

VIII CONGRESO MUNDIAL DE LA PALTA 2015

del 13 al 18 de Septiembre. Lima, Perú 2015

www.wacperu2015.com

PERÚ ProHass

ASOCIACIÓN DE PRODUCTORES DE PALTA HASS DEL PERÚ