



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE FITOSANIDAD

FITOPATOLOGÍA

DINÁMICA DE LA CONCENTRACIÓN DE FOSFITOS EN ÁRBOLES DE AGUACATE (*Persea americana* Mill) ATACADOS POR *Phytophthora cinnamomi* Rands

FABIÁN GUTIÉRREZ CHACÓN

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

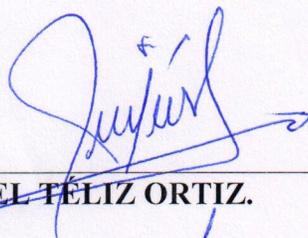
MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO
20014

La presente tesis titulada: **Dinámica de la concentración de fosfitos en árboles de aguacate (*Persea americana* Mill) atacados por *Phytophthora cinnamomi* Rands**, realizada por el alumno: **Fabián Gutiérrez Chacón**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS
FITOSANIDAD
FITOPATOLOGÍA**

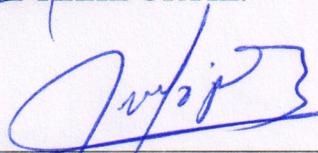
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



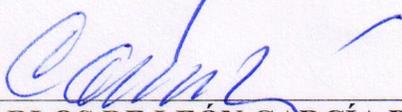
DR. DANIEL TELIZ ORTIZ.

ASESOR



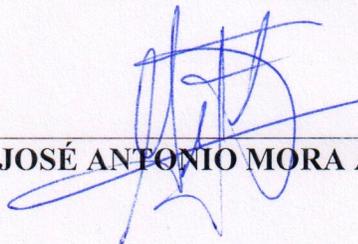
DR. ALFREDO LÓPEZ JIMÉNEZ.

ASESOR



DR. CARLOS DE LEÓN GARCÍA DE ALBA.

ASESOR



DR. JOSÉ ANTONIO MORA AGUILERA.

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Septiembre de 2014

DINÁMICA DE LA CONCENTRACIÓN DE FOSFITOS EN ÁRBOLES DE AGUACATE (*Persea americana* Mill) ATACADOS POR *Phytophthora cinnamomi*

Rands

Fabián Gutiérrez Chacón, MC

Colegio de Postgraduados, 2014

RESUMEN

Phytophthora cinnamomi Rands, provoca la “tristeza del aguacatero”, uno de los principales problemas fitosanitarios en Michoacán, México. En el presente estudio se evaluó el efecto del ácido fosforoso en la recuperación de árboles de aguacate “Hass” con síntomas iniciales, intermedios y avanzados de tristeza. El ácido fosforoso al 40% y a un pH de 5.5 se aplicó a la dosis de 45 mL/árbol (7.18 g i.a.) en noviembre de 2013. El pseudohongo fue aislado de raíces (noviembre, 2013; enero, 2014; junio, 2014: árboles con síntomas iniciales: 4, 4 y 6 aislamientos respectivamente; árboles con síntomas intermedios: 9, 7 y 6 aislamientos respectivamente; y árboles con síntomas avanzados: 9, 8 y 8 aislamientos respectivamente) y suelo (noviembre, 2013; enero, 2014; junio, 2014: árboles con síntomas iniciales: 11, 6 y 2 aislamientos respectivamente; árboles con síntomas intermedios: 27, 23 y 8 aislamientos respectivamente; y árboles con síntomas avanzados: 75, 70 y 20 aislamientos respectivamente) en medio específico P.A.R.P.H (Penicilina-Ampicilina-Rifamicina-PCNB-Hymexazol). El número de aislamientos de raíz y suelo fueron proporcional con la severidad de síntomas. El micelio toruloso, camelioide y esporangios alimonados fueron típicos de *P. cinnamomi*. La concentración de fosfitos en las raíces fluctuó en $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Noviembre, 2013, previo a la aplicación) a $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ en un periodo de ocho meses (junio, 2014). Uno de los árboles con síntomas avanzados murió, y el resto, incluyendo los árboles con síntomas iniciales e intermedios mantuvo su nivel de síntomas durante los 8 meses después de la aplicación. El contenido nutrimental foliar (N, P, K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+}) y suelo (más S, Mo^{2+} , B^{3+}) fue similar para árboles con síntomas iniciales e intermedios y significativamente superior al contenido en árboles con síntomas avanzados de la enfermedad.

PALABRAS CLAVES: *Persea americana*, *Phytophthora cinnamomi*, pudrición de raíces, severidad, ácido fosforoso, fosfitos.

DYNAMICS OF PHOSPHITES CONCENTRATION IN AVOCADO TREES (*Persea americana* Mill) ATTACKED BY *Phytophthora cinnamomi* Rands

Fabián Gutiérrez Chacón, MC

Colegio de Postgraduados, 2014

ABSTRACT

Phytophthora cinnamomi Rands causes "avocado tristeza", one of the main phytosanitary problems in Michoacán, Mexico. In the present study the effect of the phosphorous acid in the recovery of avocado trees 'Hass' with initial, intermediate and advanced symptoms were evaluated of tristeza. Phosphorous acid 40% and pH of 5.5 was applied to the dose of 45 mL/tree (7.18 g a.i.) in November 2013. The pseudohongo was isolated from roots (November 2013, January 2014, June, 2014: trees with initial symptoms: 4, 4 and 6 isolates respectively; trees with intermediate symptoms: 9 , 7 and 6 isolates, respectively, and trees with advanced symptoms: 9, 8 and 8 isolates, respectively) and soil (November 2013, January 2014, June, 2014: trees with initial symptoms: 11, 6 and 2 isolates, respectively; trees with intermediate symptoms: 27, 23 and 8 isolates, respectively, and trees with advanced symptoms: 75, 70 and 20 isolates, respectively) in specific medium P.A.R.P.H. (penicillin-ampicillin-rifamycin-PCNB-hymexazol). The number of isolates of root and soil were proportional to the severity of symptoms. The toruloso mycelium, camelioide and sporangia lemony were typical of *P. cinnamomi*. La. phosphite concentration in roots fluctuated 10 mg•kg⁻¹ (November, 2013, prior to the application) 50 mg•kg⁻¹ in a period of eight months (June, 2014). One of the trees with advanced symptoms died, and the rest, including the initial and intermediate trees with symptoms maintained it's level of symptoms during the 8 months after application. Foliar nutrient content (N, P, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Fe²⁺, Zn²⁺, Cu²⁺, Mn²⁺) and soil (more S, Mo²⁺, B³⁺) was similar for trees with initial and intermediate symptoms and significantly higher than the content in trees advanced disease symptoms.

KEYWORDS: *Persea americana*, *Phytophthora cinnamomi*, root-rot, severity, phosphorus acid, phosphites.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la beca proporcionada para realizar mis estudios de maestría.

Al Colegio de Postgraduados, por darme la oportunidad de estudiar la maestría, con especial agradecimiento al Postgrado de Fitosanidad-Fitopatología.

Al Dr. Daniel Téliz Ortiz por su amistad, enseñanza y la confianza que deposito en mi persona para la realización de este trabajo de investigación.

Al Dr. Alfredo López Jiménez por las aportaciones y sugerencias brindadas en la realización del presente trabajo de investigación y su trato siempre amable.

Al Dr. Carlos de León García de Alba por sus valiosas aportaciones y sugerencias que enriquecieron este trabajo de investigación.

Al Dr. J. Antonio Mora Aguilera por sus acertados consejos y contribuciones al desarrollo y escrito de esta tesis.

A la Dra. Rosa María López Romero por las facilidades que me brindo para que este trabajo de investigación siguiera adelante.

Al Ing. Francisco Marroquín por los recorridos de campo y sugerencias que contribuyeron a la elaboración de esta tesis.

Al C. Francisco Álvarez por los recorridos de campo y su gran disposición para que este proyecto siguiera adelante.

Al personal de la Huerta “Arroyo Colorado” por las facilidades brindadas para realizar el presente trabajo.

A todos, que de una u otra forma, contribuyeron para que esto fuera posible.

DEDICATORIA

A mi mamá Eligia Chacón Mejía, quien con ejemplo de vida me impulsa a dar lo mejor de mí.

A mi esposa Delia Gijón Pérez, con amor y agradecimiento por la paciencia que me tuvo en la realización de mis estudios de maestría.

A mi hija Valeria Gutiérrez Gijón, que con sus abrazos, sonrisas y cariño me alienta a seguir adelante.

A mis hermanos: Liliana, Diego y Alejandra por el apoyo que nos brindamos mutuamente.

A mis suegros, Venancio Gijón y Mariana Pérez, por su confianza y trato siempre cordial.

A mis sobrinos: Alejandra, Diego y Lenin para que la solidaridad de la familia continúe entre ustedes.

A todas aquellas personas que me apoyaron para que lograra este objetivo.

ÍNDICE

| | PÁG. |
|---|-------------|
| RESUMEN | iii |
| ABSTRACT | iv |
| AGRADECIMIENTOS | v |
| DEDICATORIA | vi |
| ÍNDICE | vii |
| ÍNDICE DE CUADROS | ix |
| ÍNDICE DE FIGURAS | xi |
| 1.- INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 2.- OBJETIVOS | 3 |
| 3.- HIPÓTESIS | 3 |
| 4.- REVISIÓN DE LITERATURA | 4 |
| 4.1 El Patógeno <i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands | 4 |
| 4.2.- Importancia..... | 4 |
| 4.2.1.- A nivel internacional..... | 4 |
| 4.2.2.- A nivel nacional | 5 |
| 4.3.- Taxonomía..... | 5 |
| 4.4.- Micelio | 6 |
| 4.5.- Fase asexual..... | 6 |
| 4.5.1.- Esporangióforo..... | 6 |
| 4.6.- Fase sexual | 8 |
| 4.6.1.- Oogonio..... | 8 |
| 4.6.2.- Anteridio | 9 |
| 4.6.3.- Oospora..... | 9 |
| 4.7.- Síntomas y hospederos | 10 |
| 4.7.1.- Síntomas..... | 10 |

| | |
|---|----|
| 4.7.2.- Hospederos..... | 11 |
| 4.8.- Epidemiología en el desarrollo de la enfermedad | 12 |
| 4.8.1- Diseminación del oomycete | 13 |
| 4.8.2.- Proceso de infección | 13 |
| 4.8.3.- Condiciones que favorecen el desarrollo | 13 |
| 4.8.4.- Factores que influyen en la biología y patogenicidad de <i>P. cinnamomi</i> | 14 |
| 4.9.- Ciclo de vida..... | 15 |
| 4.10.- Métodos de diagnóstico..... | 16 |
| 5.- MATERIALES Y MÉTODOS..... | 18 |
| 5.1.- Tratamientos..... | 21 |
| 5.2.- Aislamiento de raíz y suelo | 21 |
| 5.3.- Fosfito..... | 22 |
| 5.4.- Análisis nutrimental foliar y del suelo | 24 |
| 6.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 26 |
| 6.1.- Aislamientos de <i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands | 26 |
| 6.2.- Análisis de fosfitos | 30 |
| 6.3.- Análisis nutrimental foliar y del suelo | 34 |
| 7.- CONCLUSIONES..... | 38 |
| 8.- LITERATURA CITADA | 39 |

ÍNDICE DE CUADROS

- CUADRO 1.-** FRECUENCIA DE AISLAMIENTOS DE *PHYTOPHTHORA CINNAMOMI* OBTENIDOS DE RAÍZ Y SUELO DE ÁRBOLES DE AGUACATE CON SEVERIDAD INICIAL (3) DE SÍNTOMAS DE “TRISTEZA”. ARROYO COLORADO, URUAPAN, MICH. OCTUBRE, 2013.....26
- CUADRO 2.-** FRECUENCIA DE AISLAMIENTOS DE *PHYTOPHTHORA CINNAMOMI* OBTENIDOS DE RAÍZ Y SUELO DE ÁRBOLES DE AGUACATE CON SEVERIDAD INTERMEDIA (5) DE SÍNTOMAS DE “TRISTEZA”. ARROYO COLORADO, URUAPAN, MICH. OCTUBRE, 2013.....27
- CUADRO 3.-** FRECUENCIA DE AISLAMIENTOS DE *PHYTOPHTHORA CINNAMOMI* OBTENIDOS DE RAÍZ Y SUELO DE ÁRBOLES DE AGUACATE CON SEVERIDAD AVANZADA (7) DE SÍNTOMAS DE “TRISTEZA”. ARROYO COLORADO, URUAPAN, MICH. OCTUBRE, 2013.....27
- CUADRO 4.-** FRECUENCIA DE AISLAMIENTOS DE *PHYTOPHTHORA CINNAMOMI* OBTENIDOS DE RAÍZ Y SUELO DE ÁRBOLES DE AGUACATE CON SEVERIDAD INICIAL (3), INTERMEDIA (5) Y AVANZADA (7) DE SÍNTOMAS DE “TRISTEZA” DESPUÉS DE APLICAR ÁCIDO FOSFOROSO. ARROYO COLORADO, URUAPAN, MICH. ENERO, 2014.....29
- CUADRO 5.-** FRECUENCIA DE AISLAMIENTOS DE *PHYTOPHTHORA CINNAMOMI* OBTENIDOS DE RAÍZ Y SUELO DE ÁRBOLES DE AGUACATE CON SEVERIDAD INICIAL (3), INTERMEDIA (5) Y AVANZADA (7) DE SÍNTOMAS DE “TRISTEZA” DESPUÉS DE APLICAR ÁCIDO FOSFOROSO. ARROYO COLORADO, URUAPAN, MICH. JUNIO, 2014.29
- CUADRO 6.-** COMPARACIÓN DEL CONTENIDO DE NUEVE ELEMENTOS EN HOJAS DE AGUACATE CV HASS ANTES DE APLICAR ÁCIDO FOSFOROSO EN ÁRBOLES DE AGUACATE CON SEVERIDAD INICIAL (3), INTERMEDIA (5) Y AVANZADO (7) DE SÍNTOMAS DE “TRISTEZA” CAUSADA POR *PHYTOPHTHORA CINNAMOMI*. OCTUBRE, 2103.....34
- CUADRO 7.-** COMPARACIÓN DEL CONTENIDO DE NUEVE ELEMENTOS EN HOJAS DE AGUACATE CV HASS TRES MESES DESPUÉS DE APLICAR ÁCIDO FOSFOROSO EN ÁRBOLES DE AGUACATE CON SEVERIDAD INICIAL (3), INTERMEDIA (5) Y AVANZADO (7) DE

SÍNTOMAS DE “TRISTEZA” CAUSADA POR *PHYTOPHTHORA CINNAMOMI*. ARROYO COLORADO, URUAPAN, MICH. ENERO, 2104.35

CUADRO 8.- COMPARACIÓN DEL CONTENIDO DE MACROELEMENTOS ANALIZADOS EN HOJAS DE AGUACATE CV HASS TRES MESES DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DE ÁCIDO FOSFOROSO. EN ÁRBOLES TESTIGOS Y ÁRBOLES QUE SE LES APLICÓ ÁCIDO FOSFOROSO. EN ÁRBOLES CON SEVERIDAD INICIAL (3), INTERMEDIA (5) Y AVANZADO (7) DE SÍNTOMAS DE “TRISTEZA” CAUSADA POR *PHYTOPHTHORA CINNAMOMI*. ARROYO COLORADO, URUAPAN, MICH. ENERO, 2014.36

CUADRO 9.- COMPARACIÓN DEL CONTENIDO DE MICROELEMENTOS ANALIZADOS EN HOJAS DE AGUACATE CV HASS TRES MESES DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DE ÁCIDO FOSFOROSO. EN ÁRBOLES TESTIGOS Y ÁRBOLES QUE SE LES APLICÓ ÁCIDO FOSFOROSO. EN ÁRBOLES CON SEVERIDAD INICIAL (3), INTERMEDIA (5) Y AVANZADO (7) DE SÍNTOMAS DE “TRISTEZA” CAUSADA POR *PHYTOPHTHORA CINNAMOMI*. ARROYO COLORADO, URUAPAN, MICH. ENERO, 2014.36

CUADRO 10.- COMPARACIÓN DE MEDIAS DE ELEMENTOS ANALIZADOS EN MUESTRAS DE SUELO DE ÁRBOLES DE AGUACATE CON SEVERIDAD INICIAL (3), INTERMEDIA (5) Y AVANZADO (7) DE SÍNTOMAS DE TRISTEZA CAUSADA POR *PHYTOPHTHORA CINNAMOMI*. ARROYO COLORADO, URUAPAN, MICH. ENERO, 2014.36

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| FIGURA 1.- MICELIO TÍPICO DE <i>PHYTOPHTHORA CINNAMOMI</i> RANDES, OBSERVADO A MICROSCOPIO A 40X. | 6 |
| FIGURA 2.- PUDRICIÓN EN RAÍZ DE PERSEA AMERICANA A CAUSA DE <i>PHYTOPHTHORA CINNAMOMI</i> RANDES..... | 10 |
| FIGURA 3.- MUERTE DESCENDENTE, EL SÍNTOMA TÍPICO SON LAS RAMAS TERMINALES MUERTAS A CAUSA DE LAS RAÍCES DAÑADAS POR <i>PHYTOPHTHORA CINNAMOMI</i> EN PERSEA AMERICANA. | 11 |
| FIGURA 4.- DIAGRAMA DEL CICLO DE VIDA DE <i>PHYTOPHTHORA CINNAMOMI</i> QUE CAUSA LA TRISTEZA DEL AGUACATEIRO TOMADO DE MORA ET AL., (1994). | 16 |
| FIGURA 5.- ARBOLES CLASIFICADOS CON SEVERIDAD 3, A: APARIENCIA GENERAL DEL ÁRBOL. B: BROTES NUEVOS VIGOROSOS. C: AUSENCIA DE RAMAS O TERMINALES, D: ABUNDANCIA DE FLORACIÓN..... | 19 |
| FIGURA 6.- ARBOLES CLASIFICADOS CON SEVERIDAD 5. A: APARIENCIA GENERAL DEL ÁRBOL. B: PRESENCIA DE UNA O DOS RAMAS O TERMINALES MUERTAS, C: ALGUNOS BROTES CON DEFOLIACIÓN Y HOJAS CLORÓTICAS. | 19 |
| FIGURA 7.- ARBOLES CLASIFICADOS CON SEVERIDAD 7. A: APARIENCIA GENERAL DEL ÁRBOL. B: MÁS DE DOS RAMAS O TERMINALES MUERTAS, C: ALGUNOS BROTES CON DEFOLIACIÓN Y HOJAS CLORÓTICAS. | 20 |
| FIGURA 8.- FORMA DE LA APLICACIÓN DE LOS FOSFITOS A) CALIBRACIÓN DE LA HERRAMIENTA DE APLICACIÓN, B) PERFORACIÓN DEL FUSTE DEL AGUACATE, C) APLICACIÓN DEL ÁCIDO FOSFOROSO, D) VISTA DE LA PERFORACIÓN, E) APLICACIÓN DE LA CERA DE CAMPECHE Y F) AGUJERO SELLADO CON CERA DE CAMPECHE. | 21 |

| | |
|--|----|
| FIGURA 9.- DIAGRAMA DEL PROCESO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FOSFITOS PRESENTES EN RAÍCES DE AGUACATE UTILIZANDO UN HPLC (HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY)..... | 23 |
| FIGURA 10.- A) RAÍZ DE ÁRBOL DE AGUACATE CV HASS CON SÍNTOMAS DE TRISTEZA, B) <i>PHYTOPHTHORA CINNAMOMI</i> CON CRECIMIENTO CAMELIOIDE EN MEDIO DE CULTIVO PARPH; C) MICELIO TORULOSO OBSERVADO A 40X. URUAPAN, MICH. OCTUBRE, 2013..... | 26 |
| FIGURA 11.- COMPARACIÓN DE FRECUENCIA DE AISLAMIENTOS DE <i>PHYTOPHTHORA CINNAMOMI</i> OBTENIDOS DE RAÍZ DE ÁRBOLES DE AGUACATE CON SEVERIDAD INICIAL (3), INTERMEDIA (5) Y AVANZADA (7) DE SÍNTOMAS DE “TRISTEZA”. ARROYO COLORADO, URUAPAN, MICH. OCTUBRE, 2013. | 28 |
| FIGURA 12.- COMPARACIÓN DE FRECUENCIA DE AISLAMIENTOS DE <i>PHYTOPHTHORA CINNAMOMI</i> OBTENIDOS DE SUELO DE ÁRBOLES DE AGUACATE CON SEVERIDAD INICIAL (3), INTERMEDIA (5) Y AVANZADA (7) DE SÍNTOMAS DE “TRISTEZA”. ARROYO COLORADO, URUAPAN, MICH. OCTUBRE, 2013. | 28 |
| FIGURA 13.- COMPORTAMIENTO DE LA CONCENTRACIÓN DE FOSFITOS EN RAÍCES DE ÁRBOLES DE AGUACATE CON NIVEL INICIAL (SEVERIDAD 3) DE SÍNTOMAS DE “TRISTEZA” CAUSADA POR <i>PHYTOPHTHORA CINNAMOMI</i> . A LOS ÁRBOLES QUE SE LES APLICÓ ÁCIDO FOSFOROSO APROXIMADAMENTE A LOS 37 DÍAS ALCANZARON 20 MG•KG ⁻¹ | 31 |
| FIGURA 14.- COMPORTAMIENTO DE LA CONCENTRACIÓN DE FOSFITOS EN RAÍCES DE ÁRBOLES DE AGUACATE CON NIVEL INTERMEDIO (SEVERIDAD 5) DE SÍNTOMAS DE “TRISTEZA” CAUSADA POR <i>PHYTOPHTHORA CINNAMOMI</i> . A LOS ÁRBOLES QUE SE LES APLICÓ ÁCIDO FOSFOROSO APROXIMADAMENTE A LOS 48 DÍAS ALCANZARON 20 MG•KG ⁻¹ | 32 |
| FIGURA 15.- DINÁMICA DE LA CONCENTRACIÓN DE FOSFITOS EN RAÍCES DE ÁRBOLES DE AGUACATE CON NIVEL AVANZADO (SEVERIDAD 7) DE SÍNTOMAS DE “TRISTEZA” CAUSADA POR <i>PHYTOPHTHORA CINNAMOMI</i> . A LOS ÁRBOLES QUE SE LES APLICÓ | |

ÁCIDO FOSFOROSO APROXIMADAMENTE A LOS 47 DÍAS ALCANZARON $20 \text{ MG}\cdot\text{KG}^{-1}$.
.....33

1.- INTRODUCCIÓN

México es el principal productor de aguacate a nivel mundial, en 2011 produjo 1, 264,140 t, seguido por Chile, Indonesia, República Dominicana, Colombia, Perú, Estados Unidos de América, Kenia y Brasil (FAOSTAT, 2013). Los principales estados productores de aguacate en México, son: Michoacán, Estado de México, Morelos, Nayarit, Jalisco. En Michoacán el volumen de la producción en 2011 fue de 1, 092,344 t con un rendimiento de 10.4 t•ha-1 (APEAM, 2013). México es el principal productor, exportador y consumidor de aguacate en el mundo. La producción nacional es de un millón de toneladas anuales en promedio, de este total, 326,127 t que representan el 20 % aproximadamente, las cuales generan ingresos superiores a los 594,010 millones de dólares anuales (FAOSTAT, 2013). En el estado de Michoacán, el cultivo del aguacate se encuentra establecido en una “franja” que abarca 30 municipios. Michoacán es el mayor productor de aguacate en el mundo, sin embargo presenta factores que limitan significativamente su producción y calidad, como la “tristeza del aguacatero”, ocasionada por *Phytophthora cinnamomi* Rands (Mora *et al.*, 1994; Vidales, 1999).

La franja aguacatera de Michoacán ocupa 7,752 km², equivalente al 13% de la superficie estatal y se caracteriza por un clima templado, húmedo y sub-húmedo, con temperatura de 8 a 21 °C y una precipitación anual de 1,200 a 1,600 mm (APROAM., 2005; Téliz y Marroquín, 2007). Los primeros arboles dañados se estimaron alrededor de 13, 000 en 1979, 100, 000 en 1994, y 550 000 en 1999 en los municipios de Uruapan, San Juan Nuevo, Tingüindín, Los Reyes, Tancítaro, Peribán y Ziracuaretiro, con pérdidas estimadas en alrededor de 640 millones de pesos (Vidales, 1999). *P. cinnamomi* se presentó en todos los municipios productores en el 2007 (Mora *et al.*, 2007). El manejo de esta enfermedad se ha realizado mediante poda, aplicación de materia orgánica al suelo, manejo adecuado de la fertilización,

riego y plagas y con el uso de hongos antagónicos (García y Téliz, 1984; Valenzuela *et al.*, 1985; Téliz *et al.*, 1992; Franco *et al.*, 1993; Chet *et al.*, 1997; Ahmed *et al.*, 2003; Larios *et al.*, 2007; Mora *et al.*, 2007).

La pudrición radical del aguacate ha sido el factor más destructivo y limitante económicamente en la producción mundial de aguacate. A lo largo de los años en que se ha investigado este problema no se ha encontrado una solución única y parece que un método integral es la mejor respuesta para controlar y tratar esta enfermedad (García y Téliz, 1984; Valenzuela *et al.*, 1985; Rosas *et al.*, 1986; Mora y Téliz, 1990; Mora *et al.*, 1999; Botha *et al.*, 2003; Mora *et al.*, 2007). Una parte integral de esta estrategia de control, es el uso de fungicidas derivados del ácido fosforoso (Mora y Téliz, 1990; Mora *et al.*, 1991; Botha *et al.*, 2003).

Guest, *et al.*, (1995) refieren que el ácido fosforoso (H_3PO_3), tienen iones fosfonato [$\text{HPO}(\text{O})^{-2}$], en la solución; y es equilibrada con hidróxido de potasio, resultando, fosfito de potasio (KH_2PO_3). Alrededor de la década de los 80's, aparecieron las inyecciones de fosfito de potasio, aplicándose en el tronco de árboles de aguacate y con esto se dio un gran giro para el control de esta enfermedad (Rosas *et al.*, 1986; Giblin *et al.*, 2005). El fosfito actúa de dos maneras contra *Phytophthora cinnamomi*: i) inhibiendo directamente el crecimiento; acción fungistática esto ocurre en altas concentraciones de fosfito. ii) indirectamente estimulando las defensas de la planta, con ello promueve la producción de ácido salicílico en plantas infectadas (Fenn and Cofey, 1984; Giblin *et al.*, 2005). Los fosfitos son derivados del ácido fosforoso y tienen uso comercial como fertilizantes foliares. Existe una gran variedad de presentaciones del producto mezclado con otros nutrientes como: K^+ , Ca^{+2} , B^{+3} , Zn^{+2} , Mn^{+2} que se vende como FitofosK[®], Phosphorus-K[®], Unifosfito[®] y Nutri-Phite[®]. La inyección del

ácido fosforoso al tronco mejora su absorción y traslocación y reduce la fitotoxicidad para los árboles. La concentración alta de ácido fosforoso proporciona una rápida y duradera protección contra *Phytophthora* spp. y reduce el daño físico de las inyecciones (Botha *et al.*, 2003).

2.- OBJETIVOS

- 1) Comparar la respuesta en árboles de aguacate cv Hass, con síntomas de tristeza del aguacatero (*P. cinnamomi*) mediante aplicaciones dirigidas al tronco del árbol de ácido fosforoso, en tres niveles de daño por el patógeno.
- 2) Determinar el efecto de las aplicaciones de ácido fosforoso sobre la población de *P. cinnamomi* en raíz.

3.- HIPÓTESIS

Mediante el uso de ácido fosforoso se logrará disminuir la severidad o la infección en árboles de aguacate a causa del daño *P. cinnamomi* Rands. La aplicación de ácido fosforoso recuperará árboles enfermos con un nivel inicial e intermedio pero no niveles avanzados.

4.- REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 El Patógeno *Phytophthora cinnamomi* Rands

El oomycete o pseudohongo *Phytophthora cinnamomi* Rands es un fitopatógeno que habita en el suelo, capaz de inducir enfermedades destructivas en muchas especies vegetales. Una de las principales plantas leñosas atacadas y de gran interés económico es el aguacate (*Persea americana* Mills). Sin embargo, este oomycete es un patógeno de una gran amplia variedad de plantas herbáceas, frutales, hortalizas y de un buen número de plantas ornamentales (Zentmyer, 1980). Este pseudohongo se considera como uno de los patógenos más ampliamente distribuidos y más notorios que existen, además de que tienen un potencial destructivo muy elevado (Zentmyer, 1980). La enfermedad considerada como de gran importancia, causada por este patógeno, es la pudrición de raíces de aguacate, conocida como “la tristeza del aguacatero”. El primer reporte publicado de esta enfermedad fue en Puerto Rico en 1927, pero fue hasta 1942 cuando *Phytophthora cinnamomi* se aisló del aguacate (Marais *et al.*, 2002). En México se ha detectado en las zonas aguacateras de Michoacán, Puebla, Chiapas, Veracruz, Nayarit y Morelos (Téliz *et al.*, 1992). En Querétaro, Qro. y Comonfort, Gto. *P. cinnamomi* causó la desaparición casi completa del cultivo del aguacate (Téliz *et al.*, 1992).

4.2.- Importancia

4.2.1.- A nivel internacional

La tristeza es la enfermedad más importante del aguacatero en el mundo y es causada por el oomycete *P. cinnamomi* Rands uno de los patógenos más destructivos que ocasiona la muerte de los árboles (Weste, 1994). En Australia el patógeno se ha encontrado como parte

de la microflora de suelos forestales y en 1965 se le considero el problema más fuerte. En Perú 1950, se calcularon 50 mil árboles enfermos. También se le ha encontrado en Brasil, Trinidad, Cuba, Puerto Rico, Hawai, Honduras y Argentina (Vidales, 1999).

4.2.2.- A nivel nacional

En México se ha encontrado en Tamaulipas, Puebla, Chiapas, Veracruz, Nayarit, Morelos. En Michoacán, se detectó en 1977 y se encontraron 13 mil árboles enfermos. En el año de 1999 se estimaron unos 350 mil árboles enfermos en los municipios de: Uruapan, San Juan Nuevo, Tancítaro, Tingüindín, Los Reyes y Ziracuaretiro (Vidales, 1999).

4.3.- Taxonomía

Dominio: Protista

Phyllum: Heterokontophyta

Clase: Oomycetes

Orden: Peronosporales

Familia: Pythiaceae

Género: *Phytophthora*

Especie: *P. cinnamomi*

Phytophthora cinnamomi Rands presentan dos tipos de reproducción: asexual (con la formación de clamidosporas y esporangios, que contienen las zoosporas) y sexual (mediante la formación de oosporas).

4.4.- Micelio

Pose un micelio hialino, continuo, de paredes paralelas o irregularmente calibradas, donde pueden observarse abundantes gotas oleaginosas. El micelio es cenocítico, toruloso, observándose solo raramente la presencia de algunos tabiques que normalmente se encuentran separando las partes viejas carentes de protoplasma (Waterhouse, 1963).



Figura 1.- Micelio típico de *Phytophthora cinnamomi* Rands, observado a microscopio a 40X.

4.5.- Fase asexual

4.5.1.- Esporangióforo

El esporangióforo no se diferencia normalmente de las hifas, aunque en algunas ocasiones este puede ser más ancho o delgado que estas y puede presentar hinchamientos. La presencia de esporangios es común, son incoloros o de color amarillo tenue y de manera general se insertan terminalmente en el esporangióforo, aunque también puede estar intercalado. El esporangio muchas veces presenta vacuolas y al microscopio se observa un aspecto granuloso en su interior (Goodwin, 1997). Existen características del esporangio que son muy importantes para la taxonomía de las especies como su forma y tamaño, la presencia o no de

la papila y sus dimensiones, la manera en que estos se producen, así como la mayor o menor facilidad de este para desprenderse del esporangióforo, siendo también importante desde el punto de vista taxonómico la longitud del pedicelo que va unido al esporangio cuando este se desprende del esporangióforo (Zentmyer y Mitchell, 1986).

En la mayoría de las especies los esporangios se producen más abundantemente en presencia de luz, aunque el efecto de la misma es muy variable, llegando a estimularla en algunos casos e inhibiéndola en otros. La temperatura óptima para la producción de esporangios es diferente y específica para cada especie, por lo que juega un papel destacado en la taxonomía, las mismas están comprendidas entre los 20 y los 28 °C (Zentmyer y Mitchell, 1986). Las especies de este género presentan además una forma de germinación directa, en la cual el tubo germinativo se origina, principalmente, a partir de la papila del esporangio, este a su vez puede dar lugar rápidamente al micelio o producir un nuevo esporangio, todo lo cual depende de las condiciones del medio de cultivo (Zentmyer y Mitchell, 1986). Las zoosporas son las estructuras primarias que causan una nueva infección de las raíces. Estas esporas pueden nadar cortas distancias en el suelo con elevada humedad, así como también pueden ser transportadas grandes distancias en el agua de irrigación o por las lluvias. Además de esta forma de dispersión *Phytophthora cinnamomi* pueden dispersarse en la naturaleza por el aire o siendo transportadas por la actividad de los humanos y algunos invertebrados (Ristaino y Gumpertz, 2000).

Los miembros de este género producen además clamidosporas, las cuales constituyen un órgano de conservación y supervivencia (Fernández y Martínez, 1987). Generalmente son de forma redondeada con una pared bien definida (más de 2 micras de espesor), siendo comúnmente intercalares aunque también pueden encontrarse en el extremo terminal de la

hifa. Al principio las clamidosporas son hialinas, tornándose de un color amarillo o ligeramente marrón con la edad. Es importante señalar que no se forman en todas las especies, por lo cual su presencia es importante para la taxonomía de las mismas (Fernández y Martínez, 1987). En cuanto a la influencia de la temperatura se plantea que un rango entre 18 – 30 °C es óptimo para que ocurra la germinación de las clamidosporas, aunque también se ha producido germinación entre 9 – 12 °C y a 33 °C. El pH óptimo para que ocurra este proceso está comprendido entre 5 – 7, aunque a valores de pH de 3 – 9 también se ha producido germinación de las clamidosporas (Zentmyer y Mitchell, 1986). Además es importante mencionar que las clamidosporas que persisten en el suelo constituyen también unidades infectivas (Gallo *et al.*, 2001).

4.6.- Fase sexual

Los órganos sexuales constituyen el elemento taxonómico más constantes y por tanto son de gran valor en la clasificación de las especies. No todas las especies los producen o se muestran inconstantes en cuanto a su formación, por lo que en algunos casos se requieren medios de cultivo especiales. Incluso en la naturaleza existen casos, donde no se ha observado la producción de estos órganos de reproducción (Ho, 1990).

4.6.1.- Oogonio

Es de forma esférica o ligeramente ahusada, usualmente se encuentra en el ápice de una hifa, aunque también puede aparecer intercalado, separado del resto de la hifa por un grueso tabique. En cultivos jóvenes es hialino pero posteriormente, con el envejecimiento, se torna

amarillo o ligeramente marrón. En la mayoría de las especies es suave y puede presentar ligeras protuberancias o verrugas en algunos casos (Zentmyer y Mitchell, 1986).

4.6.2.- Anteridio

Presenta una forma variable, puede ser esférico, oval, en forma de clavo o cilíndrico. Observándose de manera habitual solitario, hialino y con una pared externa delgada. Su disposición respecto al oogonio puede ser anfígino o paragino, o ambas a la vez, siendo importante tener en cuenta esta disposición para realizar la clasificación taxonómica de las especies (Zentmyer y Mitchell, 1986).

4.6.3.- Oospora

Esta especie es heterotálica, las oosporas se forman cuando los tipos A1 y A2 se aparean (Zentmyer *et al.*, 1983). Las esporas se pueden formar sin fertilización en cultivos del tipo A2, cuando es incubado en extracto de raíces o en granos de avena. (Zentmyer *et al.*, 1983). Siempre se presenta de manera individual, ocupando relativamente toda la cavidad del oogonio. Es de forma esférica, lisa o moderadamente verrugosa, y su coloración puede ser hialina o ligeramente amarillo oscuro (Zentmyer *et al.*, 1983). La formación de la oospora es el resultado de la fertilización de una oosfera uninucleada, la cual tiene lugar de diferentes formas según la posición del anteridio. Una vez que se ha formado la oospora esta entra en un período de reposo en el cual se distinguen dos estados: Latencia constitutiva y Latencia exógena. Una vez terminado este período la oospora germina dando lugar a un tubo germinativo, que a su vez deriva en la formación de un esporangio, o con la formación del talo micelial (Zentmyer y Mitchell, 1986).

4.7.- Síntomas y hospederos

4.7.1.- Síntomas

El pseudohongo vive en el suelo y pudre las puntas de las raíces con diámetro menor a 5 mm produciendo una coloración café negruzca. Las raíces dañadas se fragmentan fácilmente. La absorción de agua y su transporte ascendente se reducen y este es el origen de los síntomas en follaje. Incluso, es interesante observar que los arboles sanos, debido a que esa agua no es absorbida por las raíces, no se logra enviar hacia arriba y transpirada por las hojas (Téliz *et al.*, 1993).



Figura 2.-Pudrición en raíz de *Persea americana* a causa de *Phytophthora cinnamomi* Rands.

Las raíces presentan una pudrición con el centro de coloración oscura y consistencia quebradiza. La absorción de agua y su transporte ascendente se reduce, lo que produce el origen de los síntomas en el follaje. Cuando el árbol pierde más agua por transpiración que la absorbida por un sistema radical podrido por el hongo, empieza a mostrar signos de síntomas de marchitamiento de hojas o tristeza, (Mora *et al.*, 2007).



Figura 3.- Muerte descendente, el síntoma típico son las ramas terminales muertas a causa de las raíces dañadas por *Phytophthora cinnamomi* en *Persea americana*.

El oomicete puede atacar la base del tronco y causar pudriciones en forma de manchas oscuras con exudaciones azucaradas y apariencia blanquecina, (Zentmyer, 1980). La nutrición también se afecta. El nitrógeno se incrementa, se detiene el movimiento del fósforo hacia los tejidos y se afecta la absorción del manganeso, cobre y hierro. Estos problemas nutrimentales causan amarillamiento, follaje escaso y aborto de flores y frutos pequeños. La enfermedad puede atacar árboles en cualquier edad, en las plantas enfermas se observa un decaimiento general de la parte aérea, una clorosis progresiva en todo el follaje, las hojas presentan un color amarillo y al mismo tiempo, el árbol produce gran cantidad de frutos pequeños que son generalmente abortados antes de llegar a su madurez. Los árboles pierden progresivamente su vigor con el avance de la enfermedad, posteriormente se presenta una defoliación y el árbol termina por morir (Zentmyer, 1985).

4.7.2.- Hospederos

P. cinnamomi es un parasito 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, aguacate, castaño, encinos, vid, cacao, eucaliptos, pinos, juníferos, pseudotsuga, cupresus, entre otras (Zentmyer, 1980; Shearer *et al.*, (2004a).

4.8.- Epidemiología en el desarrollo de la enfermedad

El microorganismo puede sobrevivir como clamidosporas en ausencia de hospederos o bajo condiciones desfavorables. Las raíces de plantas hospederas secretan sustancias químicas que estimulan la germinación de las clamidosporas y orientan el crecimiento del oomycete hacia la zona subapical de las raíces. El oomycete penetra y pudre las raíces afectando la absorción de agua. La cantidad de raíces absorbente disminuida a través del tiempo (Téliz *et al.*, 1993). El patógeno continúa su desarrollo vegetativo en la raíz en forma de micelio, esporula en forma de esporangios, los cuales germinan e infectan directamente nuevas raíces. Los esporangios producen zoosporas en su interior, las cuáles migran hacia la región subapical de nuevas raíces. Las clamidosporas son la fuente de inóculo primario, el micelio, esporangios y zoosporas causan infecciones secundarias repetidas (Téliz *et al.*, 1993). Si las condiciones del suelo favorecen al patógeno, habrá una pudrición abundante de raíces y una disminución en la absorción de agua y nutrimentos que el árbol necesita para mantener la turgencia, vigor y crecimiento del follaje y para la producción del fruto. Bajo estas condiciones se manifestarán síntomas de marchitamiento de hojas, defoliación y disminución de cantidad y calidad de frutos (Téliz *et al.*, 1993).

4.8.1- Diseminación del oomycete

En el campo puede efectuarse de diversas maneras, siendo más efectiva a través del movimiento del suelo, agua de riego (Zentmyer *et al.*, 1994) y plantas de vivero; esta última es la más importante en el movimiento del patógeno a zonas libres del problema como ha sucedido en el área aguacatera del estado de Michoacán (Vidales, 1999).

4.8.2.- Proceso de infección

Las oosporas y clamidosporas junto con el micelio saprófito pueden ser transportados por el agua, en la tierra donde se encuentran, por el hombre en las labores agrícolas, animales, etc. dispersando la enfermedad hacia otras zonas. Cuando las condiciones de humedad y temperatura del suelo son favorables (15 – 30 °C) las oosporas y clamidosporas germinan, produciendo zoosporas que continúan el ciclo.

4.8.3.- Condiciones que favorecen el desarrollo

Las condiciones del suelo que predisponen a la planta al ataque del oomycete, son la compactación y la poca aireación en suelos pesados y arcillosos. El riego por aspersión aumenta más la incidencia que cuando es aplicado por goteo debido al exceso de humedad. El patógeno requiere un pH de 6.5 para desarrollarse rápidamente y con las labores normales de cultivo puede desplazarse en el suelo (Gallo *et al.*, 2001). El ciclo asexual puede ser muy rápido en condiciones húmedas. Los esporangios se producen en esporangióforos y éstos liberan entre 20 a 30 zoosporas. La formación de zoosporas se altera por disminución de la temperatura, resultando en cambios en la expresión de un gran número de genes (Hardham,

2005). La germinación ocurre rápidamente después del enquistamiento y los tubos germinativos penetran la epidermis de la raíz. El tejido del hospedante es colonizado progresivamente y en tejidos susceptibles, la esporulación ocurre dentro de los tres días (Hardham, 2005).

Morfológicamente, el citoplasma se delimita en compartimentos uninucleados, con membranas formándose alrededor de cada uno, y éstos a su vez desarrollan flagelos y vacuolas de agua para la expulsión. En *P. cinnamomi*, pero no en todas las especies de *Phytophthora*, el material de la pared celular en el ápice del esporangio se expande dentro de una vesícula extra-esporangial dentro del cual las zoosporas se liberan. La vesícula es efímera y las zoosporas se liberan rápidamente en el ambiente. Estas pueden viajar distancias que van desde varios centímetros y son atraídas hacia los potenciales sitios de infección en donde se enquistan. Posteriormente, un material mucilaginoso es secretado sobre la superficie que le sirve para fijarse (quiste) a la superficie del hospedante a pocos minutos del arribo e inmediatamente forma una pared celular (Hardham, 2005).

4.8.4.- Factores que influyen en la biología y patogenicidad de *P. cinnamomi*

La temperatura del suelo óptima para el desarrollo de la enfermedad es de 20 °C. El micelio se desarrolla entre 7.5 y 28 °C con un óptimo entre 17.5 y 19.5 °C. Los esporangios se producen a temperaturas de 12 a 30 °C, la óptima es de 24 °C. Las zoosporas no se producen a temperaturas inferiores de 17 °C éstas zoosporas al estar libres nadan a través del agua e infectan a raíces sanas del huésped (Zentmyer, 1985). La curva de crecimiento de *P. cinnamomi* es similar a la del aguacatero, excepto a 35 °C, temperatura a la cual el aguacate puede crecer y el patógeno no. La humedad en el suelo es el principal factor ambiental que

influye en el desarrollo de *P. cinnamomi*. Las zoosporas y clamidosporas no sobreviven cuando la humedad es menor del 3% por dos semanas. El agua del suelo influye en el crecimiento de las hifas, formación de esporangios y movimiento de zoosporas. Por otra parte le permite al oomyceto sobrevivir cuando no está en contacto con la raíz del hospedero (Aveling y Rijkenberg, 1991).

4.9.- Ciclo de vida

El hongo sobrevive en el suelo por varios años en forma de 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 cepa compatible del hongo) (Téliz, 2000). Las clamidosporas actúan como “semillas” de propagación y son resistentes a condiciones adversas del ambiente como sequía, temperaturas bajas, falta de alimento, etc. Cuando la temperatura sube 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 cuerpo del hongo que tiene aspecto de telaraña y se conoce como micelio. El micelio origina otras estructuras especializadas en forma de “cantaros” llamadas esporangios que contienen en su interior un tipo de “semilla” llamadas 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 arboles vecinos.

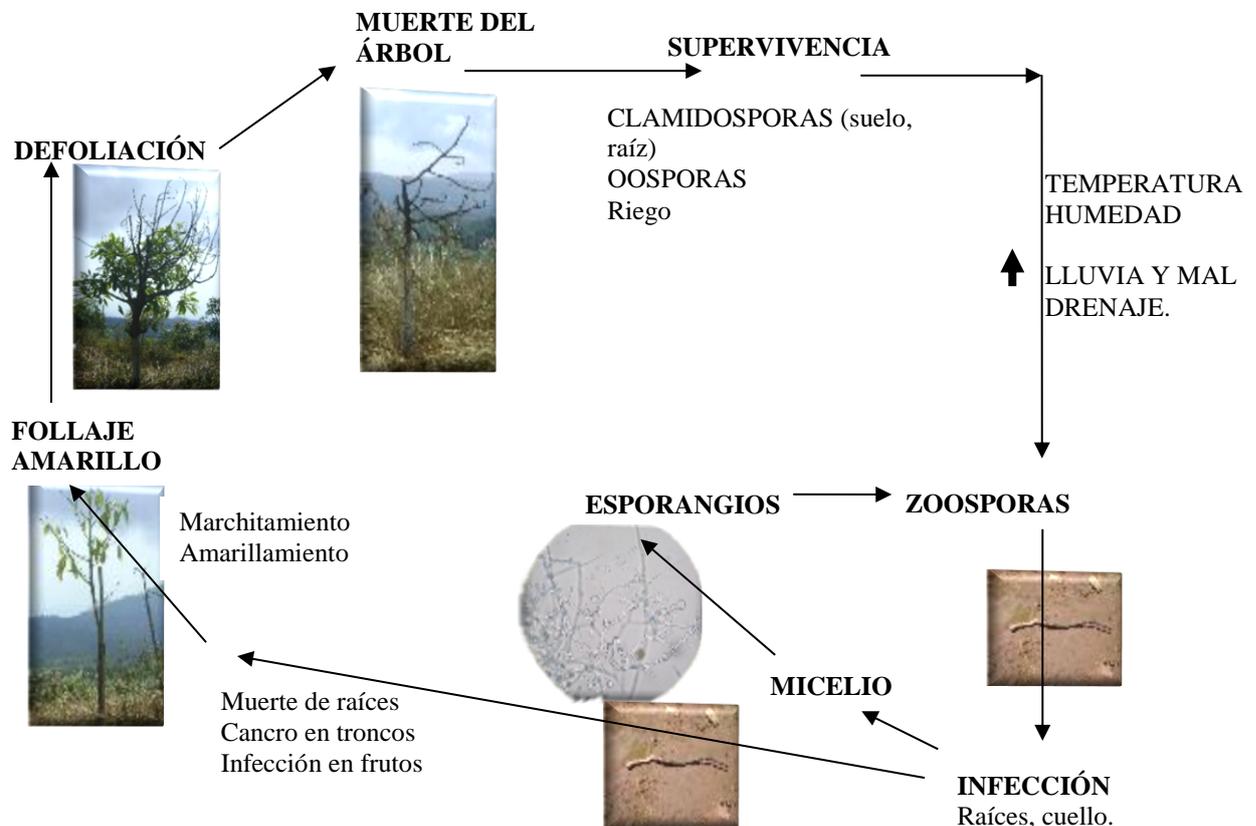


Figura 4.- Diagrama del ciclo de vida de *Phytophthora cinnamomi* que causa la tristeza del aguacatero tomado de Mora *et al.*, (1994).

4.10.- Métodos de diagnóstico

En el caso específico de *P. cinnamomi* comúnmente se utilizan como “cebo” plántulas de semillero de eucalipto, agujas de coníferas y leguminosas del género *Lupinus* spp. (Eden *et al.*, 2000). Para realizar el aislamiento a partir del suelo existen otras técnicas descritas conocidas como método de plaqueo de diluciones de suelo y determinación del punto final con diluciones seriadas (Tsao and Guy, 1977), las cuales constituyen además técnicas para estimar el número de propágulos del patógeno en el suelo (Erwin and Ribeiro, 1996).

Además de las técnicas convencionales para el aislamiento y cuantificación de las especies de *Phytophthora* existen otras técnicas descritas más recientemente que hacen más sensibles y reproducibles estos ensayos. Existe un sistema de ELISA basado en un anticuerpo monoclonal que ha sido empleado satisfactoriamente para detectar la presencia de *Phytophthora* en las raíces, este sistema se ha aplicado para la detección de zoosporas del hongo en el agua de irrigación así como de los niveles de *Phytophthora* en el suelo, previo a que sea plantado. Demostrando ser altamente específico y sensible, por lo que constituye una herramienta útil que permite un diagnóstico más rápido que las técnicas convencionales de cultivo (Timmer *et al.*, 1993).

Actualmente la aplicación de las técnicas moleculares de diagnóstico en la patología vegetal ha mejorado grandemente la capacidad de los investigadores para detectar dichos patógenos y obtener mayores conocimientos sobre su ecología y epidemiología. Por ejemplo la comparación de regiones I.T.S. dentro de los patógenos fúngicos (aplicable a *Phytophthora*) ha probado ser muy útil para la taxonomía de las especies. Por ejemplo se han desarrollado sistemas de detección basados en la técnica del P.C.R. específicos para hongos, así como también se han aplicado métodos basados en la combinación de las técnicas de ELISA y P.C.R. para mejorar la sensibilidad en la detección de estos patógenos (Martin *et al.*, 2000).

5.- MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en la huerta propiedad del Señor Francisco Álvarez, ubicada a los 19°59'47.25'' N y 101°18'49.40'' O, a 1921 msnm, en la localidad de Arroyo Colorado, municipio de Uruapan, Michoacán. Este municipio tiene un clima semicálido, subhúmedo, con lluvias en verano, las temperaturas medias máximas y mínimas son de 28 y 12°C, con una precipitación anual de 1450 mm (García, 1981). Los suelos son de tipo andosol, con una profundidad media de 1.5 m (I.N.E.G.I., 1985).

El periodo de estudio fue durante el segundo flujo de crecimiento radical (Rocha *et al.*, 2011), de septiembre a diciembre de 2013, y enero y junio de 2014. Los árboles Hass están plantados a 6 x 6 m, en lomo alto (un metro de altura), con riego por goteo con goteros separados a 50 cm y con un gasto de 2 L/gotero fueron seleccionados por síntomas de tristeza en tres grupos: síntomas iniciales (nivel 3), intermedios (nivel 5) y avanzados (nivel 7), con base en una escala del 1 al 10, en que 1 corresponde a árbol sano y 10 a árbol muerto. Esta escala fue diseñada por el Ing. Francisco Marroquín (consultor privado en Michoacán) y basada principalmente en la calidad de brotes nuevos (tamaño y color) y en la presencia de terminales o ramas muertas (Figs. 5 al 7). Complementariamente esta escala considera la abundancia de flores y el tamaño grande de frutos.



Figura 5.- Arboles clasificados con severidad 3, **a:** Apariencia general del árbol. **b:** Brotes nuevos vigorosos. **c:** Ausencia de ramas o terminales, **d:** Abundancia de floración.



Figura 6.- Arboles clasificados con severidad 5. **a:** Apariencia general del árbol. **b:** Presencia de una o dos ramas o terminales muertas, **c:** Algunos brotes con defoliación y hojas cloróticas.



Figura 7.- Árboles clasificados con severidad 7. **a:** Apariencia general del árbol. **b:** Más de dos ramas o terminales muertas, **c:** Algunos brotes con defoliación y hojas cloróticas.

Se seleccionaron 30 árboles de 10 a 15 años de edad. En cada uno de los tres niveles de severidad se eligieron diez árboles; a cinco se les inyectó en el tronco Nutri-Phite[®], a base de ácido fosforoso neutralizado con hidróxido de potasio a pH de 7.0; y los otros árboles no se les inyectó ácido fosforoso y se dejaron como testigo. Un litro de Nutri-Phite[®] se mezcló con tres litros de agua, y de esta mezcla se inyectaron 45 mL por árbol (7.18 g i.a.). Se muestreo en la línea de riego a 1.5 m del tronco del árbol. Con una barrena cilíndrica de aproximadamente 500 g de volumen se obtuvieron 15 submuestras para un total aproximado de 5 kg de suelo, el cual fue cernido con un tamiz número 10, para separar terrones, raíces, y material diferente al aguacate. Aproximadamente un kilogramo del suelo cernido y el total de raíces fueron embolsadas. Para el análisis nutrimental foliar se colectaron cinco hojas completas (peciolo + lamina foliar, 200 g) de los cuatro puntos cardinales por cada árbol.

5.1.- Tratamientos

Los árboles referentes a los tres niveles de severidad fueron asignados de forma aleatoria, con la ayuda de la persona especialista en esta escala de severidad. Para cada nivel de severidad se utilizaron diez árboles, donde cinco fueron inyectados con ácido fosforoso y los otros cinco fueron utilizados como testigos a los cuales no se les aplicó ácido fosforoso.

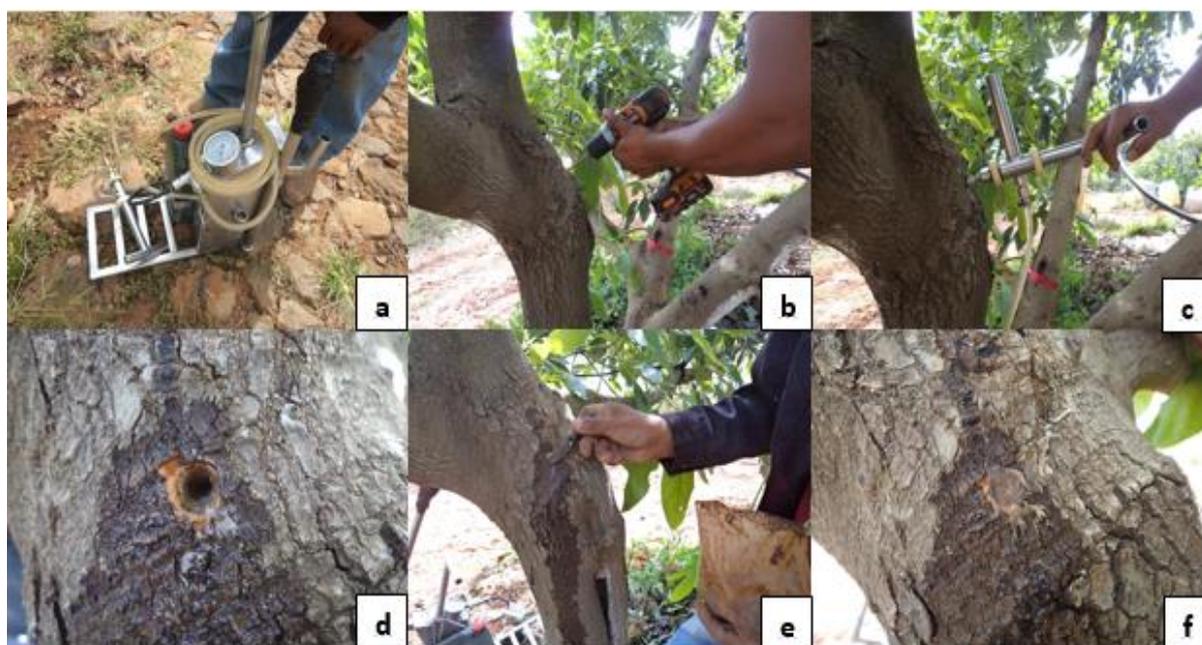


Figura 8.-Forma de la aplicación de los fosfitos **a)** calibración de la herramienta de aplicación, **b)** perforación del fuste del aguacate, **c)** aplicación del ácido fosforoso, **d)** vista de la perforación, **e)** aplicación de la cera de campeche y **f)** agujero sellado con cera de campeche.

5.2.- Aislamiento de raíz y suelo

Para la cuantificación de propágulos de *P. cinnamomi* en raíz, se hizo la limpieza de las raíces con agua destilada y luego se prosiguió a fragmentar en trozos de aproximadamente centímetro para luego hacer la desinfección con hipoclorito de sodio al 1 % por 5 minutos. Y en un paso último, se hizo la siembra en cajas Petri con medio P.A.R.P.H. (pimaricina,

ampicilina, rifampicina, PCNB e hymexazol) (Erwin y Ribeiro, 1996). Para la cuantificación de propágulos de *P. cinnamomi* en suelo, un gramo de suelo se suspendió en 9 mL de agua destilada-estéril y se hicieron diluciones hasta la 10^{-2} . De esta última dilución se vertieron 100 μ L en cajas Petri con medio específico P.A.R.P.H. y con un triángulo de vidrio se extendió uniformemente en la caja. Una caja con 10 trozos raíz y cinco cajas con la suspensión de suelo de cada árbol se incubaron a 28 °C por 48 horas. La identificación se hizo mediante características del cultivo y morfología del hongo (Erwin y Ribeiro, 1996).

5.3.- Fosfito

Para la determinación de fosfitos en raíz de aguacate se utilizó el método de Schroetter *et al.*, (2006) y Brezovska *et al.*, (2010). Las raíces se lavaron hasta eliminar el suelo del rizoplaneo, y secaron a 70 °C \pm 2 por 72 h en una estufa de secado (Riossa[®]). Cada muestra compuesta se integró con raíces de los árboles 1 al 5 de cada grupo de severidad, y del 6 al 10 de sus correspondientes árboles testigo, haciendo un total de seis muestras compuestas por muestreo. Las raíces se trituraron en un mortero y el polvo obtenido se pasó por un tamiz malla 70. Se pesó 0.0250 g de polvo de raíz, se colocó en frasco de 25 mL y se le adicionaron 20 mL de agua deionizada.

La muestra se colocó en un agitador de vaivén a 220 rpm y se dejó reposar por 5 minutos y las muestras fueron pasadas por un papel filtro Whatman[®] grado 42 y el extracto se colectó en frascos de 50 mL. Se tomó 2 mL del extracto con una jeringa de plástico de 3 mL, y se conectó un filtro cromafil[®] poliamida (15 mm x 0.45 μ m) y el filtrado se recibió en un cartucho Hypersep[®] C18 (200mg/3mL) los cuales se acondicionaron según el método de Schroetter *et al.*, (2006) y este último filtrado se pasó a un vial para HPLC (High

Performance Liquid Chromatography) (2 mL, 12 x 32 mm con septa) se recibió un filtrado aproximado de 1.5 mL.

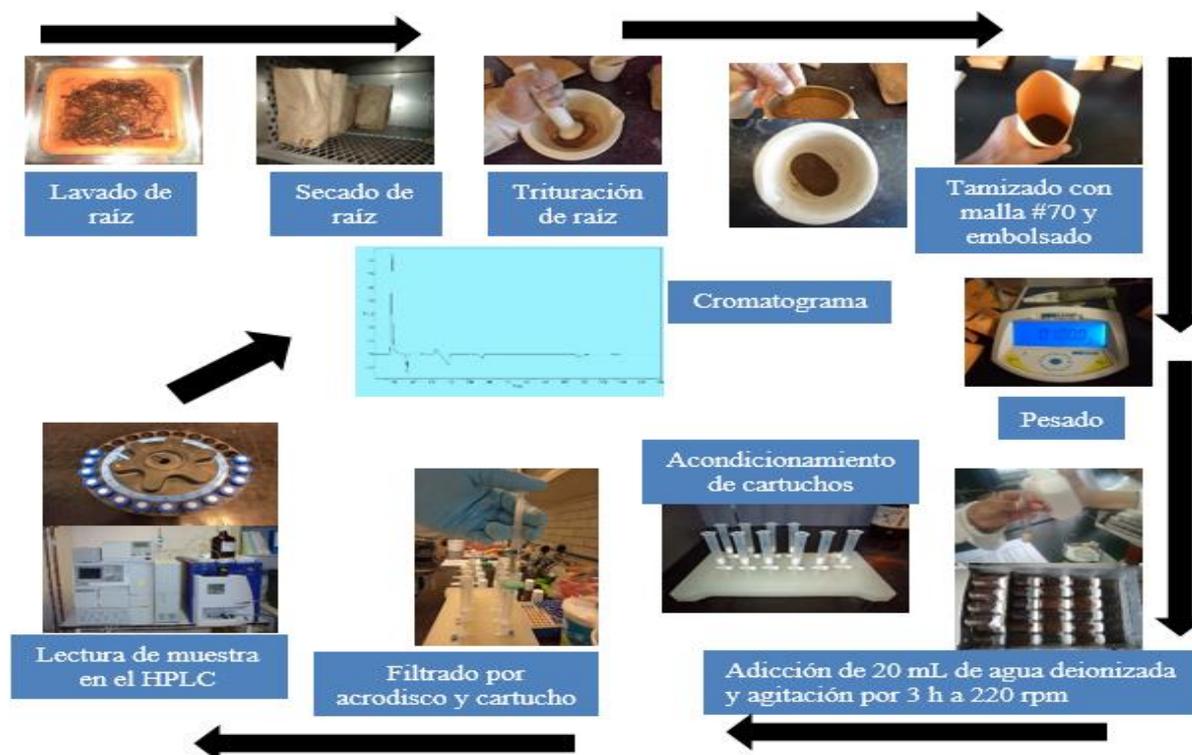


Figura 9.- Diagrama del proceso para la cuantificación de fosfitos presentes en raíces de aguacate utilizando un HPLC (High Performance Liquid Chromatography).

La separación cromatográfica se realizó en una columna Nucleodur[®] C18 (100 x 4.6 mm, 5 μ) a la cual se le conectó una pre-columna (Cartidge Nucleodur[®] C18 5 μ 100A - 4mm x 3.0mm) con la finalidad de limpiar la muestra inyectada. La fase móvil quedó formada por una solución buffer a pH 8.2 (1 mM Bifalato de potasio ACS J.T. BAKER y 0.5 mM Tetra-n-butilamonium hidroxide ~40%, MCA FLUKA) y acetonitrilo MCA J.T BAKER en una proporción 95 + 5 v/v). El flujo de la fase móvil fue de 1 mL por minuto. La columna se mantuvo a una temperatura de 28 °C \pm 0.3. El volumen de inyección por muestra fue de 10 μ L. A cada 5 muestras se hizo un lavado con agua deionizada con un volumen de inyección de 25 μ L. El tiempo del método para fosfitos se dejó en 13 minutos. La longitud de onda a la que se leyó fue de 248 nm. El estándar utilizado fue fosfito de sodio dibásico pentahidratado

($\text{Na}_2\text{HPO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) $\geq 98\%$ (SIGMA-ALDRICH) y se realizó una curva de calibración de 10, 15, 20, 25, 30 y 40 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.

5.4.- Análisis nutrimental foliar y del suelo

Para el análisis mineral del tejido foliar, las hojas de aguacate se lavaron dos veces con agua destilada y se secaron a $70\text{ }^\circ\text{C} \pm 2$ por 72 h en la estufa de secado (Riossa[®]). Las muestras se trituraron en una licuadora de 800 watts, se cernió con un tamiz número 70, y 0.5 g del material seco se colocaron en un tubo de ensaye de 30 mL, a los cuales se le agregó 10 mL de HNO_3 concentrado y después de una hora de reposo se les adicionaron 2 mL de HClO_4 + 1.5 mL de H_2SO_4 (concentrados). Las muestras se colocaron en una plancha de digestión; a baja temperatura (no mayor de $100\text{ }^\circ\text{C}$) y gradualmente la temperatura se aumentó hasta $350\text{ }^\circ\text{C}$. La digestión terminó cuando el líquido se tornó a un color claro y el volumen se redujo a 2.0 – 3.0 mL.

Las muestras frías se transfirieron a matraces volumétricos de 25 mL, y se aforaron con agua deionizada, para el extracto se utilizó un papel filtro WHATMAN[®] grado 42. El extracto de cada muestra se recolectó en un frasco de 50 mL y quedó listo para las determinaciones de P, K, Ca, Mg, S, Cu, Mo, Mn, Fe, Zn y B en un OES-ICP Varian 725-ES. El nitrógeno total se determinó por el procedimiento microKjeldahl, adaptado a plantas descritos por Bremner (1965). Las muestras de suelo se les practico las siguientes determinaciones: nitrógeno total se realizó con el método microKjeldahl (Modificado por Bremner, 1965). Para la medición del P soluble se utilizó el método de Bray (Bray y Kurtz, 1945). La determinación de sulfatos extraíbles en suelo se hizo mediante bicarbonato de sodio (NaHCO_3) 0.5 M (Krol *et al.*, 2000). Para bases intercambiables (Ca^{2+} , Mg^{2+} , y K^+), se empleó acetato de amonio. Para Fe^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} y Zn^{2+} se extrajo estos micronutrientes con

una solución de ácido dietilentríaminopentaacético (DTPA) (López y López, 1990; Byong-Hun *et al.*, 2001; García-Serrano *et al.*, 2010). Para la determinación de boro, se utilizó la técnica del agua caliente propuesta por Berger y Truog (1939).

6.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1.- Aislamientos de *Phytophthora cinnamomi* Rands

Los caracteres morfológicos observados en las cepas aisladas fueron: coloración blanca, consistencia algodonosa del crecimiento micelial y crecimiento en forma de camelia (Erwin y Ribeiro, 1996).

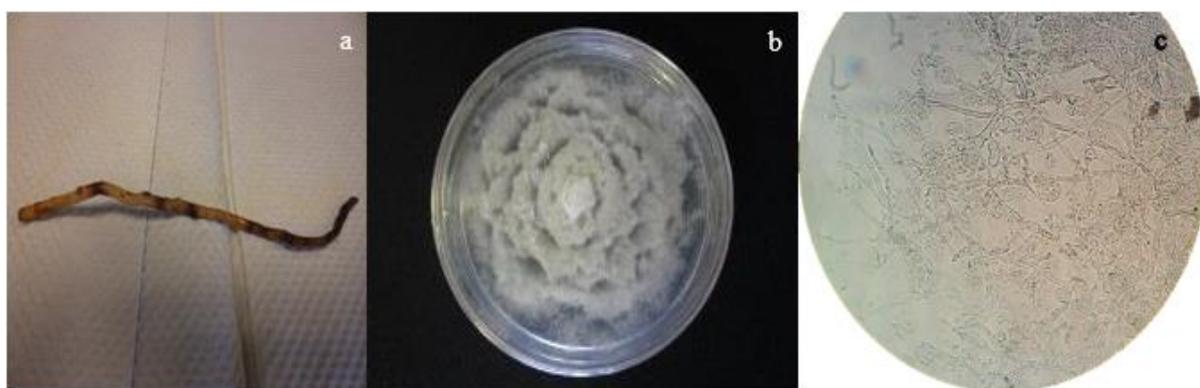


Figura 10.- a) raíz de árbol de aguacate cv Hass con síntomas de tristeza, b) *Phytophthora cinnamomi* con crecimiento camelioide en medio de cultivo PARPH; c) micelio toruloso observado a 40X. Uruapan, Mich. Octubre, 2013.

Los aislamientos de *Phytophthora cinnamomi* de raíz y suelo se muestran en el **cuadro 1, 2 y 3**.

Cuadro 1.- Frecuencia de aislamientos de *Phytophthora cinnamomi* obtenidos de raíz y suelo de árboles de aguacate con severidad inicial (3) de síntomas de “tristeza”. Arroyo Colorado, Uruapan, Mich. Octubre, 2013.

| Severidad inicial (3) | Raíz | Suelo |
|-----------------------|------|-----------------|
| Árbol 1 | 3* | 20 ⁺ |
| Árbol 2 | 10 | 21 |
| Árbol 3 | 5 | 33 |
| Árbol 4 | 4 | 7 |
| Árbol 5 | 2 | 5 |
| Árbol 6 | 0 | 8 |
| Árbol 7 | 6 | 4 |
| Árbol 8 | 3 | 7 |

| | | |
|----------|---|---|
| Árbol 9 | 3 | 7 |
| Árbol 10 | 3 | 1 |

* Aislamientos obtenidos en la siembra de diez trozos de raíz de un centímetro en una caja Petri.

+ Promedio de aislamientos obtenidos en la siembra de 100uL de suspensión de suelo a la 10⁻² de cinco cajas Petri.

Cuadro 2.- Frecuencia de aislamientos de *Phytophthora cinnamomi* obtenidos de raíz y suelo de árboles de aguacate con severidad intermedia (5) de síntomas de “tristeza”. Arroyo Colorado, Uruapan, Mich. Octubre, 2013.

| Severidad intermedia (5) | Raíz | Suelo |
|--------------------------|------|-----------------|
| Árbol 1 | 7* | 52 ⁺ |
| Árbol 2 | 10 | 18 |
| Árbol 3 | 8 | 33 |
| Árbol 4 | 9 | 29 |
| Árbol 5 | 10 | 15 |
| Árbol 6 | 6 | 23 |
| Árbol 7 | 5 | 37 |
| Árbol 8 | 10 | 41 |
| Árbol 9 | 10 | 18 |
| Árbol 10 | 10 | 7 |

* Aislamientos obtenidos en la siembra de diez trozos de raíz de un centímetro en una caja Petri.

+ Promedio de aislamientos obtenidos en la siembra de 100uL de suspensión de suelo a la 10⁻² de cinco cajas Petri.

Cuadro 3.- Frecuencia de aislamientos de *Phytophthora cinnamomi* obtenidos de raíz y suelo de árboles de aguacate con severidad avanzada (7) de síntomas de “tristeza”. Arroyo Colorado, Uruapan, Mich. Octubre, 2013.

| Severidad intermedia (7) | Raíz | Suelo |
|--------------------------|------|-----------------|
| Árbol 1 | 10* | 37 ⁺ |
| Árbol 2 | 7 | 57 |
| Árbol 3 | 7 | 37 |
| Árbol 4 | 9 | 55 |
| Árbol 5 | 10 | 62 |
| Árbol 6 | 9 | 59 |
| Árbol 7 | 9 | 91 |
| Árbol 8 | 10 | 156 |
| Árbol 9 | 8 | 118 |
| Árbol 10 | 10 | 78 |

* Aislamientos obtenidos en la siembra de diez trozos de raíz de un centímetro en una caja Petri.

+ Promedio de aislamientos obtenidos en la siembra de 100uL de suspensión de suelo a la 10⁻² de cinco cajas Petri.

La frecuencia de aislamientos de raíz de los árboles con severidad 3 fue significativamente menor a la de los árboles con severidad 5 y 7. Esto es debido a la sanidad que presentan la raíces de los árboles con síntomas iniciales (severidad 3) y no así para los árboles con

síntomas intermedios y avanzados (severidad 5 y 7 respectivamente). La frecuencia de aislamientos de suelo en árboles de aguacate severidad 7 fue significativamente mayor que en los árboles severidad 3 y 5.



Figura 11.- Comparación de frecuencia de aislamientos de *Phytophthora cinnamomi* obtenidos de raíz de árboles de aguacate con severidad inicial (3), intermedia (5) y avanzada (7) de síntomas de “tristeza”. Arroyo Colorado, Uruapan, Mich. Octubre, 2013.



Figura 12.- Comparación de frecuencia de aislamientos de *Phytophthora cinnamomi* obtenidos de suelo de árboles de aguacate con severidad inicial (3), intermedia (5) y avanzada (7) de síntomas de “tristeza”. Arroyo Colorado, Uruapan, Mich. Octubre, 2013.

A los tres meses (enero, 2014) después de la aplicación de ácido fosforoso la frecuencia de aislamientos de *P. cinnamomi* obtenidos de raíz y suelo no existió diferencias entre árboles que se les aplicó ácido fosforoso y los testigos, en este muestreo la concentración de fosfitos va descendiendo.

Cuadro 4.- Frecuencia de aislamientos de *Phytophthora cinnamomi* obtenidos de raíz y suelo de árboles de aguacate con severidad inicial (3), intermedia (5) y avanzada (7) de síntomas de “tristeza” después de aplicar ácido fosforoso. Arroyo Colorado, Uruapan, Mich. Enero, 2014.

| | Tratamiento | Raíz | Suelo |
|--------------------|--------------------|-------------|--------------|
| Severidad 3 | Ácido fosforoso | 3a | 6a |
| | Testigo | 5a | 6a |
| Severidad 5 | Ácido fosforoso | 6a | 22a |
| | Testigo | 8a | 25a |
| Severidad 7 | Ácido fosforoso | 8a | 73a |
| | Testigo | 8a | 68a |

²Medias con distinta letra en un mismo tratamiento son estadísticamente diferentes (DMS, $p \leq 0.05$).

El segundo (enero, 2014) y tercer muestreo (junio, 2014) el efecto de los fosfitos no redujo la población del pseudohongo se considera que la concentración mínima inhibitoria para *P. cinnamomi* en este contexto es mayor a las $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ que reportan varios autores. A los 3 y 8 meses después de la inyección de ácido fosforoso la población de *P. cinnamomi* en raíces se mantuvo similar a cuando no se había aplicado ácido fosforoso. Sin embargo, para los aislamientos obtenidos de suelo a través del tiempo fueron disminuyendo, esto se debió al manejo del huerto por parte del productor.

Cuadro 5.- Frecuencia de aislamientos de *Phytophthora cinnamomi* obtenidos de raíz y suelo de árboles de aguacate con severidad inicial (3), intermedia (5) y avanzada (7) de síntomas de “tristeza” después de aplicar ácido fosforoso. Arroyo Colorado, Uruapan, Mich. Junio, 2014.

| | Tratamiento | Raíz | Suelo |
|--------------------|--------------------|-----------------|--------------|
| Severidad 3 | Ácido fosforoso | 5a ^z | 2a |
| | Testigo | 6a | 2a |
| Severidad 5 | Ácido fosforoso | 7a | 6a |
| | Testigo | 5a | 9a |
| Severidad 7 | Ácido fosforoso | 8a | 18a |

| Testigo | 7a | 21a |
|---------|----|-----|
|---------|----|-----|

²Medias con distinta letra en un mismo tratamiento son estadísticamente diferentes (DMS, $p \leq 0.05$).

6.2.- Análisis de fosfitos

La colonización de *P. cinnamomi* no fue congruente en los aislamientos obtenidos en raíces de árboles severidad 3, debido a que el último muestreo aumento el número de aislamientos obtenidos y no así para los árboles severidad 5 y 7, los cuales mostraron una disminución en el número de aislamientos. La colonización de *P. cinnamomi* fue mayor en árboles testigos y menor en árboles tratados. Del mismo modo, en estudios anteriores han demostrado que 20 mg•kg⁻¹ de fosfito reducen la tasa de colonización de *P. cinnamomi* en raíces, pero el patógeno rara vez es suprimido (Pilbeam *et al.*, 2000; Tynan *et al.*, 2001; Wilkinson *et al.*, 2001; Whiley *et al.*, 2002).

Con esto hubo reducción en la colonización en raíz para el segundo muestreo (enero, 2014) debido a que se logró alcanzar más allá de la concentración mínima inhibitoria en raíces. En el lapso para el tercer muestreo se hizo una aplicación (abril, 2014) a la misma dosis pero esta vez fue a árboles con un desfavorable vigor, es decir, la aplicación fue tanto para árboles que se utilizaron como testigos y algunos otros que ya se les había aplicado ácido fosforoso en noviembre, 2013.

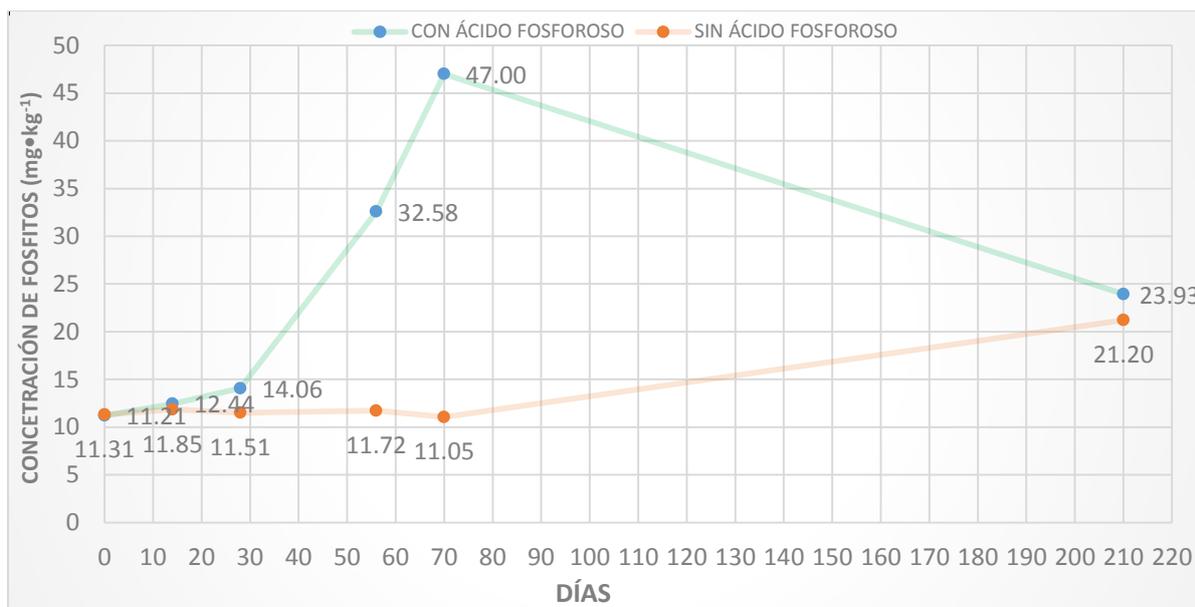


Figura 13.- Comportamiento de la concentración de fosfitos en raíces de árboles de aguacate con nivel inicial (severidad 3) de síntomas de “tristeza” causada por *Phytophthora cinnamomi*. A los árboles que se les aplicó ácido fosforoso aproximadamente a los 37 días alcanzaron 20 mg•kg⁻¹.

Las concentraciones de fosfitos en árboles antes de aplicar ácido fosforoso fluctuaba en los 10 mg•kg⁻¹ como lo describen en su trabajo Tynan *et al.* (2001) y luego de la aplicación de ácido fosforoso el tiempo requerido para alcanzar la concentración inhibitoria es alrededor de 5 a 7 semanas dependiendo del vigor del árbol (Schutte *et al.*, 1991; Guest *et al.*, 1995; El-Hamalawi and Menge, 1995).

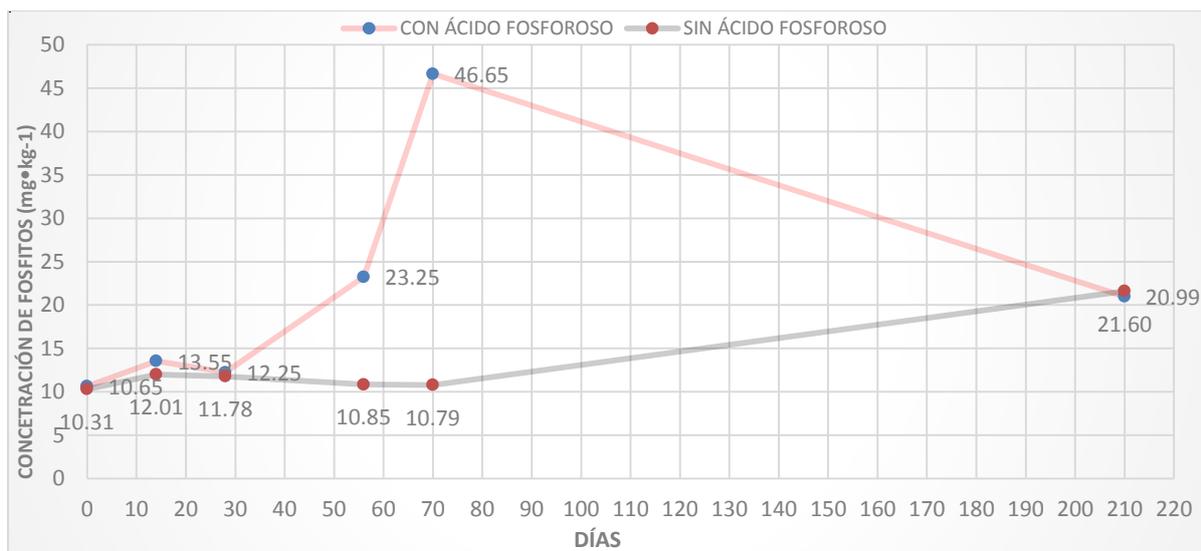


Figura 14.- Comportamiento de la concentración de fosfitos en raíces de árboles de aguacate con nivel intermedio (severidad 5) de síntomas de “tristeza” causada por *Phytophthora cinnamomi*. A los árboles que se les aplicó ácido fosforoso aproximadamente a los 48 días alcanzaron 20 mg•kg⁻¹.

El comportamiento de cada severidad fue similar, ya que los árboles que se les aplicó ácido fosforoso y a los que no, poseían al inicio concentraciones alrededor de las 10 mg•kg⁻¹ y luego el tiempo para lograr alcanzar la concentración inhibitoria fue alrededor de las cinco semanas para árboles severidad 3, y para severidad 5 y 7 el tiempo fue de siete semanas. Los árboles testigos se mantuvieron con una concentración de las 10 mg•kg⁻¹ hasta el quinto muestreo. Para el muestreo realizado en junio, 2014 tanto para árboles testigos como a los que se les aplicó ácido fosforoso las concentraciones fluctuaron en las 20 mg•kg⁻¹.



Figura 15.- Dinámica de la concentración de fosfitos en raíces de árboles de aguacate con nivel avanzado (severidad 7) de síntomas de “tristeza” causada por *Phytophthora cinnamomi*. A los árboles que se les aplicó ácido fosforoso aproximadamente a los 47 días alcanzaron 20 mg·kg⁻¹.

Por lo tanto, no se puede considerar el efecto directo de la acción de fosfito en este estudio por el corto tiempo para el control de *P. cinnamomi*. El reto de las aplicaciones de ácido fosforoso es el del mantener un nivel de protección durante el periodo en que las raíces son vulnerables a los ataques del patógeno. Los resultados indican claramente que cada severidad posee características favorables (vigor) y desfavorable (población del patógeno), el comportamiento para las características favorables se comportan de la siguiente manera; siendo los árboles severidad 3, luego severidad 5 y por último severidad 7; y para las características desfavorables se encuentra de la siguiente manera severidad 7, luego severidad 5 y por último severidad 3. Para los árboles tratados con ácido fosforoso indican que existió un aumento en las concentraciones de fosfitos en las raíces para disminuir las poblaciones de *P. cinnamomi* y debido a esto se dio un aumento en la cantidad de las raíces sanas.

La huerta en la cual se llevó a cabo el estudio, la mayoría de los árboles divergen en edades ya que la incidencia de *P. cinnamomi* Rands, supera los 70 %, y es entonces que cada vez que el árbol muere, este es remplazado por otro en su lugar y es por eso que el porcentaje de árboles dañados no se reducirá, y aumentaran con el tiempo, esto es un mal manejo del huerto. En relación al patógeno que habita en el suelo, lo cual dificulta su control, una de las forma de lograr convivir con el patógeno es la aplicación de productos que activen las defensas de las plantas para lograr neutralizar su daño en las raíces.

6.3.- Análisis nutrimental foliar y del suelo

La condición nutrimental de los árboles de aguacate “Hass” estudiados se basó en los valores estándares reportados por Palacio, 1986; y los intervalos de Embleton and Jones (1972). La concentración de macroelementos fue semejantes en el follaje de árboles con cada una de las severidades, excepto para nitrógeno y Ca^{2+} y con los microelementos Zn^{2+} y Cu^{2+} cuyo contenido disminuyó conforme la severidad de síntomas fue mayor.

Cuadro 6.- Comparación del contenido de nueve elementos en hojas de aguacate cv Hass antes de aplicar ácido fosforoso en árboles de aguacate con severidad inicial (3), intermedia (5) y avanzado (7) de síntomas de “tristeza” causada por *Phytophthora cinnamomi*. Octubre, 2103.

| Severidad | Macroelementos (%) | | | | | Microelementos (ppm) | | | |
|-----------|--------------------|-------|-------|--------|-------|----------------------|---------|---------|--------|
| | N | P | K | Ca | Mg | Fe | Zn | Mn | Cu |
| 3 | 2.43a ^z | 0.11a | 0.25a | 1.46a | 0.50a | 92.50a | 28.17ab | 172.01a | 83.98a |
| 5 | 2.44a | 0.12a | 0.26a | 1.13ab | 0.55a | 73.82a | 32.48a | 123.64a | 51.98b |
| 7 | 1.97b | 0.09a | 0.17a | 0.86b | 0.55a | 65.07a | 18.69b | 174.96a | 51.24b |

N: Nitrógeno; P: Fósforo; K: Potasio; Ca: Calcio; Mg: Magnesio; Fe: Hierro; Zn: Zinc; Cu: Cobre; Mn: Manganeseo.

^zMedias con distinta letra en una misma columna son estadísticamente diferentes (DMS, $p \leq 0.05$).

Segunda evaluación (enero 2014) la concentración de los nutrimentos aumentó en el follaje de todos los árboles analizados; aunque este aumento fue significativamente menor en los

árboles 7 para N, Ca²⁺ y Zn²⁺ (Cuadro 3). Este aumento se debió a las aplicaciones de fertilizantes y de las prácticas de manejo dentro de la huerta.

Cuadro 7.- Comparación del contenido de nueve elementos en hojas de aguacate cv Hass tres meses después de aplicar ácido fosforoso en árboles de aguacate con severidad inicial (3), intermedia (5) y avanzado (7) de síntomas de “tristeza” causada por *Phytophthora cinnamomi*. Arroyo Colorado, Uruapan, Mich. Enero, 2104.

| Severidad | Macroelementos (%) | | | | | Microelementos (ppm) | | | |
|-----------|--------------------|-------|-------|-------|-------|----------------------|--------|---------|--------|
| | N | P | K | Ca | Mg | Fe | Zn | Mn | Cu |
| 3 | 2.43a ^z | 0.18a | 0.39a | 1.55a | 0.76a | 97.17a | 34.06a | 177.33a | 89.32a |
| 5 | 2.46a | 0.17a | 0.39a | 1.18a | 0.72a | 73.50ab | 34.11a | 132.82a | 78.18a |
| 7 | 2.11b | 0.15a | 0.21b | 0.72b | 0.65a | 68.84b | 23.84b | 150.04a | 77.78a |

N: Nitrógeno; P: Fósforo; K: Potasio; Ca: Calcio; Mg: Magnesio; Fe: Hierro; Zn: Zinc; Cu: Cobre; Mn: Manganeseo.

^zMedias con distinta letra en una misma columna son estadísticamente diferentes (DMS, p ≤ 0.05).

Alrededor del 80 % de los elementos analizados se encuentran dentro de los niveles adecuados de acuerdo a los intervalos de Embleton and Jones (1972). Al comparar los árboles de aguacate cv Hass que se les aplicó ácido fosforoso y los testigos, en los macroelementos analizados solamente existen diferencias significativas en nitrógeno y Mg²⁺ esto para árboles severidad 7; y árboles severidad 3 y 5 no existe diferencias significativas. Para los microelementos analizados únicamente en Zn²⁺ y Mn²⁺ se encontró diferencias estadísticas; para el elemento Zn²⁺ los árboles severidad 3 mostraron diferencias significativas mientras para Mn²⁺ las diferencias estadísticas se ven notables en severidad 3, 5 y 7.

Cuadro 8.- Comparación del contenido de macroelementos analizados en hojas de aguacate cv Hass tres meses después de la aplicación de ácido fosforoso. En árboles testigos y árboles que se les aplicó ácido fosforoso. En árboles con severidad inicial (3), intermedia (5) y avanzado (7) de síntomas de “tristeza” causada por *Phytophthora cinnamomi*. Arroyo Colorado, Uruapan, Mich. Enero, 2014.

| SEVERIDAD | N | | P | | K | | Ca | | Mg | |
|-----------|--------------------|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | C* | S [¶] | C | S | C | S | C | S | C | S |
| 3 | 2.47a ^z | 2.41a | 0.22a | 0.13a | 0.46a | 0.33a | 1.56a | 1.67a | 0.78a | 0.75a |
| 5 | 2.33a | 2.58a | 0.21a | 0.12a | 0.44a | 0.34a | 1.32a | 1.03a | 0.89a | 0.54a |
| 7 | 2.35a | 1.87b | 0.15a | 0.14a | 0.22a | 0.19a | 0.78a | 0.65a | 0.68b | 0.61a |

N: Nitrógeno; P: Fósforo; K: Potasio; Ca: Calcio; Mg: Magnesio.

^zMedias con distinta letra en un mismo elemento son estadísticamente diferentes (DMS, $p \leq 0.05$).

*Aplicación de ácido fosforoso.

[¶]Testigo

Cuadro 9.- Comparación del contenido de microelementos analizados en hojas de aguacate cv Hass tres meses después de la aplicación de ácido fosforoso. En árboles testigos y árboles que se les aplicó ácido fosforoso. En árboles con severidad inicial (3), intermedia (5) y avanzado (7) de síntomas de “tristeza” causada por *Phytophthora cinnamomi*. Arroyo Colorado, Uruapan, Mich. Enero, 2014.

| SEVERIDAD | Fe | | Zn | | Cu | | Mn | |
|-----------|---------------------|----------------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|
| | C* | S [¶] | C | S | C | S | C | S |
| 3 | 98.50a ^z | 95.85a | 39.29a | 28.80b | 90.95a | 87.69a | 206.17a | 148.09b |
| 5 | 79.50a | 70.82a | 33.83a | 34.39a | 81.06a | 75.31a | 192.09a | 107.63b |
| 7 | 66.86a | 66.70a | 24.74a | 22.93a | 78.45a | 77.11a | 146.02a | 107.99b |

Fe: Hierro; Zn: Zinc; Cu: Cobre; Mn: Manganeseo.

^zMedias con distinta letra en un mismo elemento son estadísticamente diferentes (DMS, $p \leq 0.05$).

*Aplicación de ácido fosforoso.

[¶]Testigo.

El contenido de nutrientes en el suelo fue similar en todo el huerto experimental. Al someter los once elementos considerados dentro del presente trabajo en el análisis estadístico no hubo diferencia alguna.

Cuadro 10.- Comparación de medias de elementos analizados en muestras de suelo de árboles de aguacate con severidad inicial (3), intermedia (5) y avanzado (7) de síntomas de

tristeza causada por *Phytophthora cinnamomi*. Arroyo Colorado, Uruapan, Mich. Enero, 2014.

| Sev | Macroelementos | | | | | | Microelementos | | | | |
|-----|--------------------|--------|--------|--------|--------|--------|----------------|--------|--------|--------|-------|
| | N | P | K | Ca | Mg | S | Fe | Zn | Mn | Cu | B |
| 3 | 0.32a ^z | 54.50a | 11.30a | 24.10a | 10.86a | 81.59a | 28.29a | 48.08a | 24.93a | 48.20a | 0.53a |
| 5 | 0.28a | 45.58a | 2.44a | 17.55a | 4.03a | 89.24a | 32.84 | 39.25a | 37.45a | 29.65a | 1.32a |
| 7 | 0.20a | 44.85a | 2.39a | 18.70a | 9.79a | 80.84a | 23.48 | 36.32a | 19.39a | 25.56a | 0.80a |

^zMedias con distinta letra en una misma columna son estadísticamente diferentes (DMS, $p \leq 0.05$).

N: Nitrógeno; P: Fósforo; K: Potasio; Ca: Calcio; Mg: Magnesio; S: Azufre; Fe: Hierro; Zn: Zinc; Mn: Manganeseo; Cu: Cobre; B: Boro.

7.- CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio permiten concluir lo siguiente:

La selección de árboles de aguacate por sintomatología se relaciona con el contenido nutrimental, siendo similares los árboles severidad 3 y 5 en contenido nutrimental y significativamente mayor que los árboles severidad 7.

La concentración de fosfitos fue de $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ antes de su inyección (noviembre, 2013) y subió a $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ en 8 meses (junio, 2014).

La concentración máxima de fosfitos se detectó a los 70 días de su inyección y fue significativamente mayor en árboles severidad 3 y 5 (47 y $46 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ respectivamente) que en árboles severidad 7 ($24 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$).

En árboles que se les aplicó ácido fosforoso la recuperación fue notoria los que se vieron beneficiados fueron los árboles severidad 3 y 5; y en severidad 7 no se logró observar a detalle la recuperación. Mientras que en árboles donde no se aplicó ácido fosforoso la tendencia fue en aumentar de severidad como la mayoría de los árboles severidad 7.

8.- LITERATURA CITADA

1. A.P.E.A.M.; Asociación de Productores y Empacadores Exportadores de Aguacate de Michoacán. 2013. Sistema Integral de Información de Cosecha. Disponible: <https://cosecha.apeamac.com/> Consulta: Agosto, 2014.
2. A.P.R.O.A.M., Asociación Agrícola Local de Productores de Aguacate de Uruapan, Michoacán. 2005. Importancia histórica y socioeconómica del aguacate. Disponible: <http://www.aproam.com/CULTIVO/produccion.htm> Consulta: Junio, 2013.
3. Ahmed S., M. Ezziyyani, S. Pérez and M. Candela. 2003. Effect of chitin on biological control activity of *Bacillus* spp. and *Trichoderma harzianum* against root rot disease in pepper (*Capsicum annum*) plants. *European Journal of Plant Pathology* 109:418-426.
4. Aveling T., S., y F. H. Rijkenberg J. 1991. A quantitative study of *Phytophthora cinnamomi* zoospore encystment and germination on the roots of four avocado cultivars. *Phytophylactica* 23: 229-231.
5. Berger K. and C. Truog. 1939. Boron determination in soils and plants. *Industrial and Engineering Chemistry, Analytical Edition*. 11: 540-545.
6. Botha A., J. Skinner and A. Hough. 2003. A new phosphorus acid formulation for the effective control of *Phytophthora* root rot of avocado orchards. *In: V World Avocado Congress*. pp: 567-571.
7. Bray R., H., and L. Kurtz T. 1945. Determination of total, organic and available form of phosphorus in soil. *Soil Sci.* 59: 360-361.
8. Bremner J. 1965. Total nitrogen. *In: C.A. Black. Methods of soil Analysis. Part 2* Amer. Soc. of Agronomy. Madison, Wisconsin. USA. pp: 1149-1178.
9. Brezovska K., A. Dimitrovska, Z. Kitanovski, J. Petrusevska, R. Tonic, J. Trajkovic. 2010. Development of an ion-pair reversed-phase HPLC method with indirect UV detection for determination of phosphates and phosphites as impurities in sodium risedronate. *Journal of AOAC International*. 93(4): 1113-1120.
10. Byong-Hun J., B. Dempsey, D. Burgos, A. Royer. 2001. Reactions of ferrous iron with hematite. *Colloids and surfaces. Physicochem. Eng. Aspects*. 191: 41-55.
11. Chet I., J. Ibar, and I. Hadar. 1997. Fungal antagonists and mycoparasites. *In: The mycota IV: Environmental and microbial relationships*. Wicklow D. y B. Soderstrom. New York. Springer Verlag. pp: 165-192.

12. Eden M., A., R. Hill A., and M. Galpotherge. 2000. An efficient baiting assay for quantification of *Phytophthora cinnamomi* in soil. *Plant Pathology* 49: 515-522.
13. El-Hamalawi Z., J. Menge, 1995. Methods of fosetyl-Al application and phosphonate levels in avocado tissue needed to control stem canker caused by *Phytophthora citricola*. *Plant Disease* 79:770–778.
14. Embleton T., W. Jones. 1972. Development of nitrogen fertilizer programs for California avocados. *California Avocados Society Yearbook* 56:90-96.
15. Erwin D., and O. Ribeiro. 1996. *Phytophthora* diseases worldwide. APS Press. Minnesota, USA. 562 p.
16. F.A.O.S.T.A.T., Food And Agriculture Organization Of The United Nations Statistical Database. 2013. Production Crops. <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor> Consulta: Junio, 2013.
17. Fenn M. and M. Coffey. 1984. Studies on the *in vitro* and *in vivo* antifungal activity of fosetyl-Al and phosphorous acid. *Phytopathology* 74:606-611.
18. Fernández N., V. J., y B. Martínez R. 1987. Control químico de *P. cinnamomi* Rands (tristeza del aguacatero) en la región de Tingambato, Michoacán. Memorias del XIV Congreso Nacional de Fitopatología realizado en Morelia, Michoacán, México del 15-17 Julio.
19. Franco F., R. García, N. Marbán y D. Téliz. 1993. Comportamiento del patosistema edáfico del aguacatero (*Persea americana*) con énfasis en *Meloidogyne* sp. bajo distintos manejos del agroecosistema. *Agrociencia. Protección Vegetal* 2:109-128.
20. Gallo L., L., H. Hernández J. y J. S. Vega. 2001. Enfermedades del aguacate presentes en Canarias con especial referencia a *Phytophthora cinnamomi* Rands (podredumbre de la raíz). *In: II Congreso de Fitopatología. Departamento de Agricultura y Pesca. Gobierno Vasco.* 7–19 p.
21. García R., y D. Téliz. 1984. Problemas fitopatológicos del aguacatero (*Persea americana* Mill) en Tétela del Volcán, Morelos. *Agrociencia* 56:129-149.
22. García-Serrano J., P. Ruano, J. Marotta, M. Nogales. 2010. Guía práctica de la fertilización racional de los cultivos en España. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Madrid. 119 p.
23. Giblin F., K. Pegg, S. Willinham, J. Anderson, L. Coates, T. Cooke, J. Dean, and L. Smith. 2005. *Phytophthora* revisited. In *Avocado Growers´ Conference 05. New Zealand and Australian. Tauranga.* 9 p.

24. Goodwin S., B. 1997. The populations genetics of *Phytophthora*. *Phytopathology* 87: 462-473.
25. Guest D., K. Pegg, and A. Whiley. 1995. Control of *Phytophthora* Diseases of Tree Crops Using Trunks-Injected Phosphonates. *Horticultural Reviews*. 17:299-330.
26. Hardham A., R. 2005. *Phytophthora cinnamomi* Rands. *Molecular Plant Pathology* 6: 589-604.
27. Ho H., H. 1990. *Phytophthora*: Control measures. Characteristics, diagnosis and causes damage in some tropical crops. *Bot Bull Academia Sinica* 31: 89-106.
28. I.N.E.G.I., Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. 1985. Síntesis Geográfica del Estado de Michoacán y Anexo Cartográfico. México, D.F.
29. Krol J., M. Benvenuti, J. Roman. 2000. Ion analysis methods for IC and CIA and practical aspects of capillary ion analysis. Waters Corporation.
30. Larios G., A. Vidales, V. Tapia y R. Villaseñor. 2007. Producción orgánica y aguacate orgánico. *In*: Téliz D. y A. Mora. El aguacate y su manejo integral parcial. Segunda Edición. Editorial Mundi-Prensa. México, D.F. pp: 235-264.
31. López R., M. López. 1990. El diagnóstico de suelos y plantas (Métodos de campo y laboratorio). Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 363 p.
32. Marais, L. J., J. A. Menge, G. S. Bender, B. Feber. 2002. *Phytophthora* root rot. Avoresearch a California avocado commission publication volumen 2.
33. Martin R., R., D. James, and C. Lévesque A. 2000. Impact of molecular diagnostic technologies on plant diseases management. *Ann. Rev. Phytopathology* 38: 207-239.
34. Mora A. y Téliz D. 1990. Influencia del ácido fosforoso y estiércol-alfalfa en el control de la tristeza (*Phytophthora cinnamomi*) del aguacate (*Persea americana*) en Atlixco, Pue. Memorias XVII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Culiacán, Sin. p. 115.
35. Mora A., D. Téliz, G. Mora y C. Velázquez. 1991. Efecto del ácido fosforoso y estiércol + alfalfa en el control de la tristeza (*Phytophthora cinnamomi*) del aguacate (*Persea americana*) en Atlixco, Pue. XVIII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Puebla, Pue. p. 172.
36. Mora A., D. Téliz, J. Etchevers y A. Huerta. 1994. Manejo integrado del aguacate (*Persea americana*). Validación tecnológica en Puebla, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 12:51-62.

37. Mora A., A., D. Téliz O., D. Etchevers J., y A. Huerta De La P. 1999. Manejo integrado de la tristeza del aguacate (*Persea americana* Mill): Validación de tecnología en Puebla, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 12: 51-62.
38. Mora A., D. Téliz, G. Mora, y J. Etchevers. 2007. Tristeza del aguacatero (*Phytophthora cinnamomi* Rands) p: 192-202. *In*: Téliz D. y A. Mora. El aguacate y su manejo integral parcial. 2a ed. Editorial Mundi-Prensa. México. 321 p.
39. Palacios A. 1986. Dinámica y balance nutrimental en arboles de aguacate (*Persea americana* Mill) cv Has, con alto y bajo rendimiento en la región de Uruapan, Michoacán. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 93 p.
40. Pilbeam R., I. Colquhoun, B. Shearer, G. Hardy. 2000. Phosphite concentration: its effect on phytotoxicity symptoms and colonisation by *Phytophthora cinnamomi* in three understorey species of Eucalyptus marginata forest. *Australasian Plant Pathology* 29:86–95.
41. Ristaino J., B., and M. Gumpertz L. 2000. New frontiers in the study of dispersal and spatial analysis of epidemics caused by species in the genus *Phytophthora*. *Ann. Rev. Phytopathology* 38: 541-576.
42. Rocha A., G. Salazar, O. Bárcenas, D. González y V. Cossio. 2011. Fenología del aguacate ‘Hass’ en Michoacán. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 2(31):303-316.
43. Rosas, M., Téliz, D., García, R., y Salazar, S. 1986. Influencia de estiércol, alfalfa y metlaxyl en la dinámica poblacional de *Phytophthora cinnamomi* Rands, causante de la tristeza del aguacate (*Persea americana* Mills). *Revista Mexicana de Fitopatología* 4:114-123.
44. Schroetter S., D. Angeles-Wedler, R. Kreuzig, and E. Schnug. 2006. Effects of phosphite on phosphorus supply and growth of corn (*Zea mays*). *Landbaforschung Völkenrode*. 56(3-4): 87-99.
45. Schutte G., J. Bezuidenhout, J. Kotze. 1991. Timing of application of phosphonate fungicides using different application methods as determined by means of gas-liquid-chromatography for *Phytophthora* root rot control of citrus. *Phytophylactica* 23:69–71.
46. Shearer BL, Crane CE, Cochrane A. 2004a. Quantification of the susceptibility of the native flora of the South-West Botanical Province, Western Australia, to *Phytophthora cinnamomi*. *Aust. J Bot* 52:435–443.
47. Téliz D., A. Mora, C. Velázquez, R. García, G. Mora, P. Rodríguez, J. Etchevers and S. Salazar. 1992. Integrated management of *Phytophthora* root rot of avocado in Atlixco, Puebla, México. *Proc. of Second World Avocado Congress*. Riverside, California. pp: 79-87.

48. Téliz O., D., B. Etchevers L., A. Mora A., G. Mora A. 1993. La tristeza del aguacate. VI Curso de actualización frutícola. Coatepec Harinas, México.
49. Téliz D., O. 2000. El aguacate y su manejo integrado. Ediciones Mundi-Prensa, México, S. A de C.V.
50. Téliz D. y F. Marroquín. 2007. Importancia histórica y socioeconómica del aguacate. *In: El aguacate y su manejo integral parcial. Segunda Edición. Téliz D. y A. Mora. Editorial Mundi-Prensa. México, D.F. pp: 3-28.*
51. Timmer L., W., J. Menge A., S Sitko E., E. Pond, S. Miller A., and E. L. Jhonson V. 1993. Comparison of ELISA techniques and standard isolation methods for *Phytophthora* detection in citrus orchards in Florida and California. *Plant Dis.* 77: 791-796.
52. Tsao P., .H., and S. Guy O. 1977. Inhibition of *Mortierella* and *Pythium* in a *Phytophthora* isolation medium containing Hymexazol. *Phytopathology* 67: 796-801.
53. Tynan K., C. Wilkinson, J. Holmes, B. Dell, I. Colquhoun, J. McComb, G. Hardy. 2001. The long-term ability of phosphite to control *Phytophthora cinnamomi* in two native plant communities of Western Australia. *Australian Journal of Botany* 49:761–770.
54. Valenzuela J. D. Téliz, R. García y S. Salazar. 1985. Manejo integrado de la tristeza (*Phytophthora cinnamomi*) del aguacatero en Atlixco, Pue. *Revista Mexicana de Fitopatología* 3:18-30.
55. Vidales F. 1999. Acción de la solarización y de la materia orgánica en el control de la tristeza (*Phytophthora cinnamomi* Rands) del aguacate (*Persea americana* Mill cv Hass). *Revista Chapingo serie Horticultura.* 5:255-259.
56. Waterhouse G., M. 1963. Key to the species of *Phytophthora* de Bary. *Mycological Papers.* No 92.
57. Weste G. 1994. Impact of *Phytophthora* species on native vegetation of Australia and Papua, New Guinea. *Austr. Plant Pathol.* 23: 190-209.
58. Whiley A., B. Schaffer and B. Wolstenholme. 2002. *The Avocado: Botany Production and Uses*, 1st Edition. CAB International Press, Wallingford, U.K. pp. 416.
59. Wilkinson C., J. Holmes, B. Dell, K. Tynan, J. McComb, B. Shearer, I. Colquhuon, G. Hardy. 2001. Ability of phosphite applied in a glasshouse trial to control *Phytophthora cinnamomi* in five plant species native to Western Australia. *Australasian Plant Pathology* 30:343–351.
60. Zentmyer G., A. 1980. *Phytophthora cinnamomi* and the diseases it causes. Monograph No. 10. The American Phytopathological Society. Minnesota. U.S.A. pp 96.

61. Zentmyer G., A., A. Zaki I., J. Sims J., and N. Keen N. 1983. Stimulation of sexual reproduction in the A2 mating type of *Phytophthora cinnamomi* Rands by oleic acid end lipids from avocado roots. *Phytopathology* 73(2): 199-203.
62. Zentmyer G., .A. 1985. Origen and distribution of *Phytophthora cinnamomi* Rands. Calif. Avocado Society Yearbook. 69: 89-94.
63. Zentmyer G., A., and D. Mitchell J. 1986. *Phytophthora* diseases of fruit trees in the tropics. *Rev. Trop. Path.* 2: 287-309.
64. Zentmyer G., A., H. Ohr D., y J. Menge A. 1994. Compendium of tropical fruit. Diseases. The American Phytopathological Society. 76 p.