



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

Escuela Nacional de Estudios Profesionales
Iztacala

B015/20 Ej. 2.
Biología

“ COMBATE DE Phytophthora cinnamomi Rands,
AGENTE CAUSAL DE LA “ TRISTEZA DEL
AGUACATERO ”, Y BIOENSAYOS CON
ALGUNAS OTRAS ESPECIES ”.

T E S I S

Presentada para Optar al Título Profesional de:

B I O L O G O

Por

RODOLFO DE LA TORRE ALMARAZ

1980



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



BIBLIOTECA NACIONAL DE ESTUDIOS
PROFESIONALES UNIV. NAC. DE MEXICO

DEDICATORIA.

A mi madre, que con su sacrificio
y ejemplo señaló los caminos a
seguir, mi más profundo
agradecimiento

A mi hermano que siempre me apoyó

Con todo mi amor para Lucy

En memoria del Sr. Manuel Marín,
al que siempre quise pagarle con
algo las palabras de aliento, al
considerarme como a uno de sus
hijos y a quien nunca podre agra
decerle lo suficiente su apoyo
y cariño.

A mis amigos Alfredo, Alvaro y
Vicente.

AGRADECIMIENTOS.

A la Biol. Guadalupe Oliva Martínez
por sus consejos, compañerismo y -
por la motivación al conocimiento -
de los hongos.

A la M. en C. Catalina Tapia Rangel
por su compañerismo y gufa siempre
acertada.

A la M. en C. Nidia Aragón Salgado
por la oportunidad brindada en el
desempeño del presente trabajo

Agradezco a la Comisión Nacional de Fruticultura las facilidades para la elaboración de esta tesis llevada a cabo en el laboratorio de Microbiología y Fitopatología, bajo el asesoramiento del Biol. M. en C. Vicente Díaz Balderas, a quien agradezco además de sus acertados consejos profesionales, su amistad.

INDICE GENERAL.

	Pág.
INTRODUCCION	1
ANTECEDENTES HISTORICOS Y REVISION BIBLIOGRAFICA.	5
a) Aspectos Generales del Género <u>Phytophthora</u> .	5
i) Patogenicidad y hospedantes. Compatibilidad sexual y Variabilidad Genética.	
ii) Resistencia.	7
iii) Factores ambientales y Técnicas de Aislamiento.	9
b) <u>Phytophthora cinnamomi</u> .	
i) Antecedentes históricos, distribución y tipos de compatibilidad sexual.	10
ii) Plantas resistentes y susceptibles a <u>P.cinnamomi</u> , Control Químico y Biológico. Prácticas Culturales.	12
iii) Factores Ambientales y Técnicas de Aislamiento.	14
iv) Importancia del Cultivo de Aguacate y de la Pudrición o "Tristeza" por <u>Phytophthora cinnamomi</u> en la República Mexicana.	15
OBJETIVOS.	21
MATERIALES Y METODOS	24
RESULTADOS	39
DISCUSION	55
CONCLUSION	59
RESUMEN	61
BIBLIOGRAFIA.	62

INDICE DE TABLAS, FIGURAS, FOTOGRAFÍAS Y MAPAS.

	Pag.	
Tabla 1	Algunas especies del género <u>Phytophthora</u> en - las que destacan <u>P. cinnamomi</u> , <u>P. parasítica</u> , <u>P. megasperma</u> y <u>P. cactorum</u> .	3
Tabla 2	Producción Nacional de Aguacate de 1970 a 1978 en superficie cosechada en hectáreas, volumen producción en toneladas, valor de la producción en pesos. Es notable el incremento de éste - cultivo a partir de 1973.	16
Tabla 3	Principales estados productores de Aguacate en 1976. El estado de Michoacán ha ocupado el pri- mer lugar dentro de los productores de este - frutal. El estado de Puebla ocupaba el quinto lugar.	17
Figura 1	Relación de producción del estado de Puebla - con respecto a el resto de productores de 1970 a 1976, siendo evidente el cambio que ha sufri- do este estado en cuanto a su producción, ob- servándose el decremento de igual forma en - otros, particularmente en Veracruz.	18
Tabla 4	Principales enfermedades del Aguacate. El aguacatero practicamente sufre el ataque de patógenos en frutos, hojas, tallo y raíz sin - embargo las pudriciones de raíz ocupan quiza - en campo y en México, el primer lugar.	19
Tablas 5 y 6	Descripción del fungicida en sus aspectos ffsi- cos y químicos. En los aspectos toxicológicos - de Aliette, observe que practicamente las dosis medias letales hacen al producto aparentemente atóxico al hombre.	22 23
Fotografía 1	Esta huerta se encuentra muy cerca del sitio de trabajo, pero no se encontraron durante el experi- mento árboles con síntomas, tomándose, sin em- bargo como una situación adecuada para una buen- producción, ya que en esta huerta de media hec- tárea se obtenía un promedio de 13 ton. que en mucho supera al promedio de producción por par- cela.	27

	Pág.	
Fotografía 2	Patógeno presente.- El hongo se encontró en toda la huerta, aislándose de raíz principalmente, además del aspecto que presenta, una gran parte del rancho que anteriormente se encontraba ocupado en su totalidad por aguacate. Hay que señalar que aunque se encontró en toda la huerta, no todos los árboles se encontraban en el mismo estado de ataque.	27
Fotografía 3	Tristeza muy leve.- Estos son los síntomas primarios de la enfermedad, dando el aspecto de "marchitez".	28
Fotografía 4	Tristeza generalizada.- En este caso el árbol ya presenta una evidente tristeza en donde todas las hojas se encuentran dirigidas hacia abajo.	29
Fotografía 5	La defoliación es parcial y acompaña a la tristeza. En esta etapa los frutos son escasos y sumamente pequeños.	30
Fotografía 6	La defoliación generalizada y prácticamente el árbol está muerto, pero aún produce escaso follaje.	31
Fotografía 6'	Arbol muerto.- En esta etapa se encuentra seco el tallo y de un color rojizo intenso y en estado avanzado de pudrición.	32
Fotografía 7	Parcela 1.- De Ataque severo. En esta parcela se localiza el mayor número de árboles en estado avanzado de enfermedad, el suelo es sumamente arcilloso y es la parte que mayor cantidad de agua retiene y aunque las prácticas de limpieza se realizaron durante todo el año, existe el antecedente de cultivo intenso de alfalfa.	34
Fotografía 8	Parcela con ataque moderado.- Esta parcela tiene un suelo sumamente delgado lo que favorece la acumulación de agua, hecho que se observa en la fotografía.	35
Fotografía 9	Parcela con ataque leve. Parcela que tiene un suelo medianamente adecuado pero al que nunca se le eliminó la alfalfa. Por otro lado es la que mejores árboles de aguacate presenta.	36
Mapa 1	El rancho la Joya se encuentra ubicado en el municipio de Atlixco, Puebla a 2 km de la carretera a Isucar de Matamoros, Cuautla.	37

		Pág.
Gráficas 1, 2 y 3	Las gráficas muestran los efectos del Aliette, usándose en medios y a concentraciones distintas en <u>P. cinnamomi</u> "in vitro"	40 41
Tabla 7	Análisis de varianza en donde se observa que a mayor concentración de fungicida mayor fueron los efectos inhibitorios del fungicida hacia el crecimiento colonial del hongo.	43
Gráficas 4 y 5	Ensayos con Aliette para <u>P. cactorum</u> y <u>P. parasítica</u> , observándose los efectos del producto a estas especies "in vitro".	44
Gráficas 6 y 7	Ensayos con <u>P. megasperma</u> y <u>fragariae</u> "in vitro"	45
Tabla 8 y Mapa 2	Resultados de la aplicación del Aliette en campo y la ubicación esquemática de los árboles experimentales en la parcela 1.	47 48
Tabla 9 y Mapa 3	Resultados de la aplicación del Aliette en campo y la ubicación de la parcela.2.	50 51
Tabla 10 y Mapa 4	Resultados de la aplicación del Aliette en campo y la ubicación de los árboles experimentales en la parcela.2.	53 54

INTRODUCCION.

Los cultivos están sujetos a innumerables ataques por microorganismos patógenos que, en un momento dado, originan pérdidas considerables a los agricultores.

Entre las múltiples enfermedades, destacan por su importancia, tanto en los aspectos económicos como biológicos, las causadas por varias especies del género Phytophthora De Bary.

Estos hongos por ser habitantes del suelo concentran en general su ataque a raíces, tallos (corona), órganos de almacenamiento y en varios casos hojas y frutos.

Las especies de este género están ampliamente distribuidas y ocupan extensas áreas o bien limitadas a diversas zonas, dependiendo de los hospedantes específicos y de las condiciones climáticas y edáficas que cuando coinciden hacen manifiestos sus efectos en los cultivos.

La importancia de este tipo de organismos radica en la amplitud de cultivos que atacan y en la dificultad de controlarlos, principalmente por su hábitat acuático y edáfico.

No se conocen datos precisos de la cantidad de producción afectada por estos hongos, pero se conocen indirectamente los efectos que causan a las cosechas; así es conocido históricamente el caso de la enfermedad de la papa, el "tizón tardío", que durante los años de 1845 y 1846 ocasionó una epifitia de consecuencias dramáticas y migración de miles de familias que dependían del cultivo de la papa.

Esta enfermedad es causada por Phytophthora infestan como lo demostró Speerschneider (1857) y De Bary (1861 y 1863) (47).

La especie P. infestans se ha detectado en las principales zonas productoras de papa, como en los países que rodean el mar del norte en Europa, -

Estados Unidos (Nueva Inglaterra, Nueva York, Florida, California, Texas - Colorado) y en México

Según la clasificación de Alexopoulos (1) el género Phytophthora se ubica en: División Mycota; Subdivisión Eumycotina; Clase Oömycetes; Orden Peronosporales; Familia Pythiaceae; Género Phytophthora, con un número considerable de especies de gran importancia en la agricultura (Tabla No. 1).

Las características morfológicas del género son: Micelio cenocítico, -- cuando joven y septado cuando maduro; variable en diámetro, hifas hinchadas, nodulosas o tuberculadas; reproducción tanto sexual como asexual; la segunda por la producción de esporangios y clamidosporas en muchas especies. Los Esporangios son producidos sobre esporangioforos, los cuales difieren significativamente de la hifa vegetativa. Los esporangios son subsféricos, ovals li moniformes o periformes; variables en forma y tamaño; hialinos o amarillentos; con una papila definida, apical e hialina, aunque no en todas las especies pre sentes, en algunos casos se encuentra hasta dos; el esporangio germina usualmente por la división del contenido y transformación a un número variable de zoosporas, las cuales se desarrollan principalmente en el esporangio, siendo liberadas por la disolución de la pared de la papila emergiendo células flage ladas, con los flagelos colocados en la pared cóncava o en la plana. Después de nadar por un tiempo, las zoosporas se enquistan perdiendo sus flagelos, rodeándose de una pared celular gruesa; la germinación de las zoosporas enquista das es por medio de un tubo como un segundo estado flagelar o bien por la producción de un pedicelo con una papila, siendo la espora el mismo esporangio.

Las clamidosporas son esféricas, ovoides o irregulares, papiladas, las que pueden ser hialinas hasta café obscuro, pero usualmente de color amarillo limón, de pared delgada o gruesa, producidas en hifas laterales cortas acróge namente o intercaladamente.

La reproducción sexual es por contacto gametangial, del anteridio y el oogonio, produciendo una oospora, que en algunas especies no se conoce. Los oogonios son esféricos o piriformes, lisos, hialinos o amarillos, que después de la fertilización por el anteridio, desarrollan una oospora que ocupa la mayor parte del interior del oogonio, la germinación ocurre directamente

ENFERMEDADES CAUSADAS POR EL GENERO Phytophthora De Bary

- Pudrición de la raíz del aguacate P. cinnamomi Rands
- Pudrición de la raíz del ruibarbo P. parasitica Dast.
- Pudrición de la raíz de la malva P. megasperma Drechs
- Pudrición de la raíz de la pera y del manzano P. cactorum (Leb.Cohr) Schrvet.
- Pudrición morena del limón P. citrophthora(R.E. Sm. & E.H. SN) Leonian.
- Pudrición rosada de la papa P. erythroseptica Pethyb
- Pudrición de la raíz y del fruto del chile P. capsici
- Pudrición de la raíz del tomate P. cryptogea Pethyb T. Laff
P. parasitica
- Pudrición del cogollo de la palma de coco P. palmivora Butler.
- Tizón de la papa y el tomate P. infestans (Mont.) De Bary
- Pedículo negro del tabaco P. parasitica var. nicotianae. Tucker
- Pudrición de la raíz de la coliflor P. megasperma
-

TABLA No. 1. Principales especies de Phytophthora que causan problemas en los cultivos.

Los anteridios son usualmente producidos en las células terminales de las hifas presentándose varios tipos de anteridios, siendo el más común el anfígeno (54 58).

II REVISION BIBLIOGRAFICA.

a).- ASPECTOS GENERALES DEL GENERO Phytophthora.

i).- Patogenicidad y Hospedantes.

Se han realizado innumerables estudios de este grupo de organismos con el fin de conocer más ampliamente su presencia, desarrollo y patogenicidad en los cultivos y de intentar controlar su acción dañina. Por ejemplo, en pruebas de invernadero y con inoculaciones artificiales, además del trabajo en campo, se han determinado nuevos hospedantes para varias especies de Phytophthora.

Así Videla (57) describe una pudrición blanda en piña (Ananas comosus (L.) Merr.) en Venezuela, que es causada por Phytophthora parasitica Dastur; él utiliza varias técnicas para aislar el hongo y propagarlos en los ensayos, además de realizar pruebas de patogenicidad en fruto de piña, hojas y raíz, las lleva a cabo en tomate para demostrar que P. parasitica es el agente causal de la pudrición blanda en piña y que el tomate es también susceptible al ataque. Posteriormente identificó esta especie midiendo para esto los esporangios (34.2 x 24.2 micras), las clamidosporas (20.4 x 47.6 micras de diámetro); no observándose ni anteridios ni oogonios y concluyó que se trataba de P. parasitica.

Gill (15) quien aisló Phytophthora cryptogea de raíz y de llagas en la corona de un grupo de plantas ornamentales de la familia Compositae, (Osteospermum fruticosum y O. ecklonis) procedentes de el sureste de California.

Rowe (32) reporta una pudrición rosada en papa que es causada por P. erythroseptica y P. cryptogea, las que se aislaron de los tubérculos de las partes dañadas, así como de los suelos de cultivo de papa, demostrando que son hongos endémicos en los campos de Ohio. Ambas especies por otro lado ocasionaron la pudrición rosada independientemente cuando se inocularon por separado en los tubérculos de papa.

Una enfermedad que causa un severo enrollamiento de hojas, yemas y tallos de Pilea imperialis es reportada por Mc Coy (45) en áreas del sur de Flo-

rida identificándose el agente causal como P. parasitica. Del mismo modo Gill (14) encontró la causa del enrollamiento de Catharanthus roseus (Vinca rosea), la cual es debida a la misma especie, asimismo describe varios ensayos para identificar al agente patógeno como son: la formación de esporangios en distintos medios, tipos de micelio, características de compatibilidad de los tipos - A¹ y A², típicos de la especie, anteridios, y finalmente identifica como una cepa A² de P. parasitica Dastur (P. parasitica var. nicotiana) Das. Waterhouse) y que presenta una alta virulencia hacia Catharanthus roseus.

En el laboratorio, Upstone (55) demuestra que la pudrición de el fruto del manzano es debido a la especie de P. syringae, el cual también es el agente patógeno de la pudrición en el collar del tronco del manzano, no habiéndose reportado anteriormente como patógeno de frutos.

Posteriormente Dubin (12), a partir de aislamientos de la pudrición de la corona del manzano, demostró la presencia de P. cactorum, como causante de esta enfermedad; y señala que esta pudrición es probablemente el más serio problema en el manzano.

Del aguacatero (Persea americana) Zentmyer (63) aisló Phytophthora citricola, asegurando que aunque P. citricola se encontró en raíz del aguacatero, no causa pudriciones a este nivel, pero si en frutos, además de cancer en el tallo.

El grado de variabilidad que existe en los fitopatógenos es mayor, en proporción, a la observada en las plantas que parasitan y de esta forma modifican las relaciones hospedante-parásito. Esto se debe a los estados sexuales que el hongo manifiesta y al rápido desarrollo vegetativo, que favorecen la variabilidad genética, primero y la dispersión después.

Los tipos o grupos de compatibilidad sexual se han descrito en algunas especies, donde investigadores como Hasiss y Nelson, Galindo y Zentmyer (47) describen tipos de compatibilidad que los primeros llaman (+) y (-) o macho y hembra, y los segundos denominaron A¹ y A². Así Savage (48) aisla 30 especies, de 350 aislamientos de Phytophthora y procede a clasificar a las es-

pecies de acuerdo a su compatibilidad sexual en los siguientes grupos:

- 1) Homotálicos con anteridios anfíginos, como P. erythroseptica y P. fragariae
- 2) Homotálicos con anteridios paráginos, como P. cactorum y P. megasperma
- 3) Heterotálicos con los tipos de compatibilidad sexual A^1 y A^2 y anteridios anfíginos, como P. infestans, P. capsici, P. cinnamomi, P. citrophthora, P. crytozea, P. mexicana, P. palmivora y P. parasitica.

ii). Resistencia.

En la búsqueda de plantas resistentes a los patógenos y sus distintas razas, Zacharius (59) encontró en tuberculo de papa susceptibilidad a una nueva raza de P. infestans, raza 4, la que al ser inoculada artificialmente desarrollo una necrosis en el área de penetración y obtuvo además una alta cantidad de terpenoides (fitoberina y catadinone), por lo que concluyó que la papa es susceptible a la raza 4 de P. infestans. La resistencia observada en la papa a la raza 1 de P. infestans se debe a los genes R_1 y R_2 , por lo visto - la carencia de estos genes de resistencia y algunos otros permite pensar que - la susceptibilidad observada en la papa a la raza 4 se deba a esta característica.

Así Partridge (40) asocia la fitoalexina del tipo isoflavonoide (kievitone) en plantas de chicharo con un gen de resistencia para P. vignae. En plantas susceptibles se producen niveles bajos de fitoalexina; ésta aumenta en un 50% cuando se colocan plantas resistentes inoculadas con micelio de P. vignae y disminuye la cantidad de fitoalexina cuando se inhibe el crecimiento micelial del hongo en las mismas plantas resistentes. Las plantas además acumularon otros isoflavoides (daidzeina y coumestrol) los cuales no difieren en forma significativa en sus niveles de acumulación, entre las plantas resistentes y plantas no resistentes. Se concluye que de acuerdo a los datos pudiera existir una relación entre la producción de la fitoalexina y un gen que dan la resistencia a la planta al ataque de P. vignae.

Peng (41) observó que se presentaba un incremento en la actividad de inhibidores de proteasas en respuesta a la infección en plantas de tomate por P. infestans, tanto en las razas compatibles como en las incompatibles y proce

dió a medir la actividad de los inhibidores inmediatamente después de realizada la infección con las razas compatibles de P. infestans teniendo que la actividad disminuyó después del tiempo de inoculación, así en las plantas inoculadas por las razas incompatibles de P. infestans, en donde posiblemente el inhibidor permaneció a niveles altos durante todo el proceso de infección.

Los inhibidores de proteasas son proteínas que se producen en algunas plantas en respuesta a las enzimas proteolíticas, que son sintetizadas por los microorganismos fitopatógenos y que destruyen la fracción protéica de la pared celular al momento de iniciar la infección.

Al igual que otras especies de Phytophthora, Thomas (52) aisló P. phaseoli Thaxt. de áreas de cultivo de la línea comercial P1195342, que causó un severo enrollamiento. Se observó que esta especie de Phytophthora presenta varias razas a las cuales el chícharo de la línea comercial ya mencionada es - resistente, sin embargo se encontró que el enrollamiento se debía a una nueva raza que se designó como raza D.

Estudios con sistemas de cultivo de tejidos de tabaco en donde se prueba la resistencia a la pudrición negra causada por P. parasitica var. nicotiana realizados por Helgenson (16) encontró que en inoculaciones en el sistema de cultivo de tabaco con P. parasitica, se presentaba menor colonización en aquellos cultivos que procedían de plantas resistentes a la raza o de Phytophthora parasitica, caso contrario de los que procedían de plantas susceptibles a la - raza 1 del patógeno en donde la colonización por el patógeno fue completa; se observó de igual forma, diferencias de colonización a distintas temperaturas y bajo diferentes regímenes de hormonas, sugiriendo además que este sistema es aceptable si se realiza bajo condiciones muy estrictas de control.

Al estudiar, Chamberlain (9) la influencia que tiene la temperatura sobre la resistencia de plantas de soya a P. magasperma var. sojae; observó que las plantas tratadas con calor (Harosoy) recuperaron su resistencia al ser - tratadas con frío después de 12 y 16 horas y recuperándose totalmente a las 20 y 24 horas. La pérdida de la resistencia fue afectada irreversiblemente con el calor, 50 y 55°C durante 2 minutos; las plantas no recuperaron su resistencia después de 48 horas al mantenerse incluso a 10°C. Esto implica que los genes

de resistencia son termolábiles a las temperaturas por arriba de 50°C.

iii) Factores Ambientales y Técnicas de Aislamiento.

Varios factores afectan el desarrollo de las especies de Phytophthora como son la temperatura, la luz, el pH y la textura del suelo y se traducen en una mayor o menor formación de esporas, oosporas, alteraciones en el crecimiento. Banihashemi (2) indica los factores que afectan la germinación de oosporas de P. cactorum, agente patógeno de la pudrición del cuello del manzano, y sugiere que para que exista una buena cantidad de oosporas germinadas, son necesarios periodos largos de luz; encontrando una relación entre el aumento de germinación y el incremento de los periodos de luz (4.33 Lux).

La germinación aumentó cuando se utilizó un filtro de índigo (440 nm) y disminuyó cuando se empleó un filtro naranja (575 nm). De igual forma se encontró que la temperatura óptima de germinación estaba entre 20°C y 28°C - para el crecimiento del micelio. Se utilizaron varias sustancias que afectan la germinación, como la mezcla de glucuronidasa y sulfatasa que la favorecen y el CaCl₂ y Pimaricin que la retrasan a una concentración mayor de 100 microgramos/ml.

El efecto de varios productos químicos fue observado por Cohen (10) en ensayar "in vitro", haciendo pruebas en plantas y frutos de cítricos, para lo cual utiliza Benomyl, Ortofenil Fenato de sodio (SOPP), Guazatine y el bactericida, 1-amini-3 (ME-135), que inhiben el crecimiento del hongo sobre la superficie de agar, pero no sobre la superficie de frutos cuando se aplicaron incluidos en agua o cera.

Cierta actividad sobre P. parasitica encontró Noveroske (36) con el fungicida sistémico Dowco 269 (2 cloro-6-metoxi-4. Triclorometil piridina), éste al ser probado resultó ser más efectivo en plantas, que en los análisis y pruebas "in vitro", pudiendose aplicar en hoja, controlando la pudrición de raíz de tabaco, pero con el inconveniente de que el producto resultó cancerígeno y fue retirado, por tal motivo de la venta.

Las técnicas de estudio para Phytophthora son variadas e incluyen: técnicas de aislamiento de frutos, troncos y suelo, así como diversas pruebas de

sensibilidad o ensayos para favorecer una rápida esporulación. Tsao (53) - propone un método de aislamiento selectivo para varias especies del género -- Phytophthora de suelo, aportando medios selectivos a base de antibióticos específicos y sistemas de trampas. El mismo Tsao, determinó el potencial de inóculo de P. citrophthora en suelo de cítricos, usando una dilución seriada de suelo infestado y suelo estéril, colocando un fruto de limón para coleccionar el hongo determinándose el grado de infestación de acuerdo al grado de daño que presenta en el fruto, en una escala de 0 a 32, siendo este método seguro y reproducible.

El potencial de inóculo en suelo, fue estimado también por Nusbaum (38) para Phytophthora parasitica, utilizando la técnica de dilución de suelos infestados y probando sobre plantas susceptibles a periodos de tiempo determinados, basándose en el crecimiento normal de las plantas, para determinar escaso inóculo y tomando el máximo valor cuando la planta no creció.

Taylor (51) observó y propuso que las zoosporas de Phytophthora parasitica son producidas abundantemente en 8 días usando un lienzo con medio de cultivo e inóculo y esperando la esporulación 5 días después de los cuales se coloca el lienzo infestado en medio agar-agar (3%) por 3 días.

b) Phytophthora cinnamomi

i) Antecedentes históricos, Distribución y Tipos de Compatibilidad Sexual.

Siendo la especie Phytophthora cinnamomi la directamente involucrada en este estudio, se revisaron: antecedentes históricos, distribución y tipos de compatibilidad sexual.

Phytophthora cinnamomi, fue descrita por primera vez por R.D. Rands en 1922, aislándola de cáncros del árbol de canela en Sumatra (47). Se ha encontrado susceptibilidad a este patógeno en pruebas de campo e invernadero sobre plantas arbustivas y herbáceas, ésto es importante, porque en un momento dado nos indican la posible distribución y los problemas que pudieran ocasionar en los cultivos (34, 36, 55).

Crandall y Gravatt citados por Zentmyer (68) establece los antecedentes históricos del hongo en América y plantean la hipótesis de que el hongo se introdujo a Norteamérica a través de los puertos sureños o de las áreas tropicales, como México, Guatemala, Hawaii ya que se han encontrado en estas áreas a los hospedantes susceptibles para diseminarse. Tal vez el hongo penetró encontrándose incluido en el material vegetal y suelo traído de las regiones Malayo-Australianas, en los continuos viajes de exploración.

Esto se comprueba con los trabajos realizados en Norteamérica y Latinoamérica, al aislar únicamente el hongo de zonas altamente perturbadas y no en zonas con aguacatero nativo de este hemisferio.

En raíces de aguacatero Zentmyer (60) aisló a P. cinnamomi, en muestras obtenidas en la serie de viajes a las zonas aguacateras de Puebla, Morelos, Veracruz, etc. y es el primer reporte que se tiene de la presencia del hongo en México.

Klieganas (24) estudió la distribución de P. cinnamomi en las islas Hawaii, aislando clamidosporas y zoosporas de suelos colectados en las botas de los campesinos y en vehículos, utilizando plantas trampa como Lupinus sp y en hojas de pino. Se aisló de raíces de 20 plantas endémicas, y de 5 especies de plantas introducidas correspondiendo éstas a un total de 22 familias y en todos los casos se encontró que el tipo de compatibilidad sexual aislado fue A².

Es Zentmyer (64) quien a través de aislamiento reporta el tipo de compatibilidad de P. cinnamomi, siendo A² el que tiene mayor distribución que el tipo A¹, encuentra que se localiza en Australia, Malasia, Nueva Guinea y Estados Unidos, parasitando a 11 plantas de 10 géneros, siendo insignificante la relación de hospedantes en comparación con el tipo A². Salazar (47) reporta que existe poco grado de variabilidad, debido quizá a la amplia distribución del tipo A² y a la escasa distribución del tipo A¹, no encontrando una variación de patogenicidad concluyente; sin embargo cita a varios autores que lograron la obtención de razas tanto fisiológicas como de razas o biotipos de P. cinnamomi.

Por otro lado Ho y Zentmyer (17) describe morfológicamente a P. cinnamomi, para lo cual utiliza microscopio de luz y barrido en la que describe las características de: zoosporas, enquistamiento, micelio, apresorios, tubos germinativos, microsporangios y diferencias entre las mismas cepas de Pc 40 y Pc 97.

Boccas (5) realiza estudios de intercrucamiento entre P.cinnamomi y P. parasitica, obteniendo una serie de organismos viables, lo que conlleva a preguntar sobre la validez del concepto de especie del género Phytophthora y de la evolución del grupo.

- ii) Plantas resistentes y susceptibles a P. cinnamomi, control químico y biológico, prácticas culturales.

Las investigaciones realizadas sobre resistencia y tolerancia en algunas especies hospedantes de P. cinnamomi son con el objeto de plantear posibles programas sobre variedades resistentes a este patógeno y asimismo, aumentar las áreas de cultivo con mayor posibilidad de éxito. Así Zentmyer (69) resume las investigaciones que se han realizado para la obtención de plantas resistentes a la pudrición por Phytophthora cinnamomi, a partir de plantas de aguacate criollo y en variedades seleccionadas, que se han colectado de los principales centros de producción de aguacate, como son Guatemala, México y Estados Unidos. Se han observado que varias especies de Persea poseen cierta resistencia y tolerancia al ataque de Phytophthora, como es el caso de la especie Persea americana, de la que los tipos guatemaltecos, principalmente criollos, mostraron resistencia moderada y aunque no son susceptibles de comercialización pueden servir como portainjertos, como Persea schiedeana y P. steyermarkii. De las pruebas comparativas entre variedades con supuesta resistencia, se encuentran Duke 6, Duke 7 y G-6, las que resultaron con mayor porcentaje de raíces sanas en comparación con la Topa-topa, Hass-topa-topa, etc.

En los mismos análisis se determinó una substancia denominada Bordonol que posiblemente se encuentre involucrada en la resistencia de Persea a Phytophthora, ya que las variedades Duke 6, Duke 7 y G/6, con resistencia al ataque, muestran mayor cantidad de Bordonol comparadas con Topa-topa, la que contiene bajas concentraciones de la substancia.

El control biológico, éste es la limitación del desarrollo de un organismo por efecto de otro, ha sido constantemente propuesto como medida alternativa no sólo en el control de hongos fitopatógenos, sino en general en plagas y malas hierbas. (3,26,49).

De algunos ensayos preliminares Kelly (23) utiliza una inoculación con Trichoderma harzianum incluida en granos de arena para tratar de controlar a P. cinnamomi en semillas de pino concluyendo que Trichoderma no es un control efectivo para P. cinnamomi.

En el mismo campo de investigaciones Zentmyer (61) propone una mezcla de harina de alfalfa y suelo en relación 1:5 para controlar P. cinnamomi, se genera aparentemente un incremento en la población microbiana y supone la acción de ésta sobre el patógeno por acción competitiva entre los organismos del suelo.

Marx (31) encuentra resistencia en plántulas de Pinus echinata a P. cinnamomi, al formar micorrizas con los hongos de la especie Pisolithus tinctorius o Cenococcum graniforme; observando que aquellas plántulas en las cuales no se establecían las micorrizas, presentaban mayor susceptibilidad y expresaban los daños típicos de la enfermedad. Ross (46) reportó la susceptibilidad de las semillas de pino (sand pine) a P. cinnamomi, en relación a la presencia de las micorrizas y llega a los mismos resultados que Marx (31). La raza de pino Choetawhatchee fue más susceptible que la raza Ocala, e incluso, se plantea la posibilidad de una asociación, al formar las micorrizas, y asociarse con P. cinnamomi neutraliza la acción de éste.

Otra medida es el Control químico, es este método el que tiene un mayor uso por lo rápido y hasta cierto punto el más barato por su utilidad, aunque estas peculiaridades dependen del compuesto y del tipo de cultivo donde se ha de aplicar y de las medidas de seguridad que deben de ser necesarias en la aplicación de productos químicos.

Se han desarrollado numerosos productos químicos y la decada de los 40s marca el inicio del uso científico de los compuestos químicos como productos selectivos en el control de plagas, hongos y malas hierbas, siendo por ejemplo

el 2,4 D, el DDT y Cloranil los más famosos. Otros aun se encuentran en experimentación. Zentmyer y Ohr (67) probaron tres fungicidas orgánicos, que aún están en fase de prueba, Ethazol, CIBA Geygy 48 188 y Aliette. Estos tienen la particularidad de no ser tóxicos a las plantas a los niveles en que eliminan los hongos patógenos, aplicándose en el agua de riego o asperjando a suelo y follaje; parece ser que estos fungicidas no inducen resistencia por los niveles tan bajos en los cuales resultan efectivos.

Rhone-poulenc-Phytosanitaire (44) determinan la especificidad del control químico con Aliette en varios Zigomicetos y las ventajas de su uso por la serie de características de seguridad y control que ofrece; Frossar en Francia (13) resumen la acción del Aliette en P. cinnamomi, probando el producto "in vitro" y en campo, encontrando una acción selectiva en contra de este organismo a bajas concentraciones y demostrando su efectividad comparativamente con otros fungicidas.

Zentmyer (c.p.) dice que el Aliette se encuentra en fase experimental en los Estados Unidos y supone que si los resultados son positivos, será utilizado dentro de 2 años a nivel comercial.

iii) Factores ambientales y técnicas de aislamiento.

Varias condiciones ambientales afectan el desarrollo de Phytophthora cinnamomi, lo que en cierta forma, da perspectivas de un posible control manejando elementos como el pH, la textura, la humedad, etc.

Bingham (4) observó el desarrollo de la pudrición particular de aguacate bajo distintos pH, observando que el rango de 3.5 a 8.0 no afecta el desarrollo normal del hongo; sin embargo a pH de 3.0 no hay ningún desarrollo y a 8.0 éste es más lento.

Considerando los aspectos anteriores, Sterne (50) establece la respuesta de P. cinnamomi al potencial osmótico, obteniendo una reducción en el crecimiento de un 50% utilizando substancias como NaCl y KCl.

Otro de los factores importantes son los efectos de la temperatura so-

bre P. cinnamomi, tanto para el tipo A¹ como para el tipo A², los cuales son comparados por Zentmyer (65). El tipo A¹ presenta un crecimiento de 41 mm a 85 mm de diámetro colonial en 4 días; los intervalos de temperatura mínimos para el crecimiento fueron de 5°C a 16°C; la óptima sobre 20 y 32°C y la máxima, en donde el crecimiento se aceleró, de 30 a 36°C, probando los efectos de la temperatura incluso en diferentes medios de cultivo.

Los métodos de aislamiento y cultivo son variados y con diversos fines. Brodrick (6) utiliza una serie amplia de métodos para aislar clamidosporas y zoosporas de P. cinnamomi de suelo infestado, indicando que no hay uno 100% seguro. Existen muchas veces efectos inhibitorios de otros organismos sobre este hongo. El método del fruto de aguacate en suelo infestado con P. cinnamomi y el de raíces secundarias en medio con antibiótico son los que se recomiendan por su facilidad para el aislamiento de P. cinnamomi de suelos infestados y de árboles infestados.

- iv) Importancia del cultivo de aguacate y de la pudrición radicular o "Tristeza" por Phytophthora cinnamomi en la República Mexicana

De los cultivos económicamente importantes en México, encontramos a los frutales y dentro de éstos al aguacatero (Persea americana Mill), cuya producción durante 1978 fue de 6.0 ton/ha, cultivándose aproximadamente 30,000 ha con precio medio rural de \$ 9,000.00 ton, lo que representa un valor total de \$ 1'620,000,000.00 (TABLA No. 2).

Este cultivo aparentemente había presentado un incremento, si observamos que en 1952, tuvo un rendimiento promedio de 7.44 ton/ha, y en 1963 aumentó a 13.05 ton/ha; sin embargo en 1978, se redujo a 6.0 ton/ha, y por ejemplo en el estado de Puebla en el que se han presentado aumentos en el área cultivada de 2 713 ha a 3 000 ha, el volumen de producción ha disminuído notablemente en tan sólo 6 años de 34 184 ton en 1970 a 26,000 ton en 1976, ocupando el segundo lugar respectivamente. Lo mismo sucede en el estado de Veracruz, donde la situación es más grave aún (TABLA No. 3, FIGURA No. 1).

Este cultivo se enfrenta a múltiples problemas como plagas y enfermedades (TABLA No. 4). De estas últimas la más devastadora es la causada por Phytophthora cinnamomi Rands. Conocida como "Tristeza del Aguacatero" o "Pu-

TABLA No. 2

PRODUCCION NACIONAL DE AGUCATE EN LA REPUBLICA MEXICANA.

AÑO	Superficie Cosechada (ha)	Volumen Producción (Ton.)	Valor Producción (Pesos)
1970	19 111	226 034	439 697 720.00
1971	23 791	236 781	947 130 000.00
1972	26 828	231 484	925 936 000.00
1973	31 324	286 017	1 170 824 990.00
1974	33 555	260 890	1 174 005 000.00
1975	37 453	275 873	1 410 643 383.00
1976	36 942	280 421	1 690 104 708.00
1977	39 500	365 375	2 283 593 750.00
1978	30 000	180 000	1 620 000 000.00
1979	-- ---		

Fuente: Direcciones Generales de Economía Agrícola y de Agricultura
y Comisión Nacional de Fruticultura, S.A.R.H.

TABLA No. 3

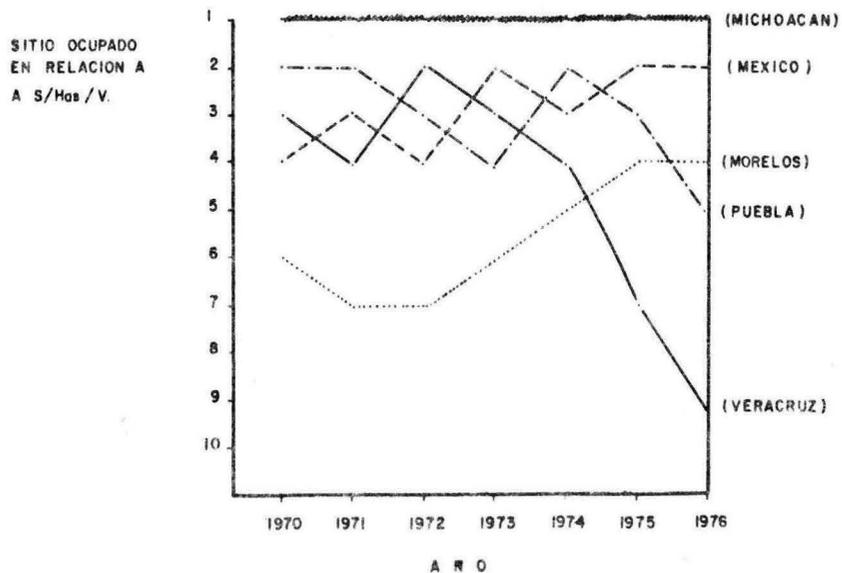
PRINCIPALES ESTADOS PRODUCTORES DE AGUACATE 1976.

Estado	Volumen Producción (Ton)	Hectáreas	Valor de la Producción (pesos)
Michoacán	68 500	10 421	199 340 000
México	24 905	2 670	106 575 000
Oaxaca	15 225	1 425	103 418 000
Morelos	14 774	1 000	101 928 000
Puebla	26 000	3 000	81 900 000
Sinaloa	23 400	3 600	81 310 000
Tamaulipas	13 635	1 113	60 100 000
Chiapas	10 517	4 510	61 525 400
Veracruz	25 560	730	44 384 000
Querétaro	5 548	- - - -	- - - - - - - -

Fuente: Direcciones Generales de Economía Agrícola y de Agricultura y Comisión Nacional de Fruticultura, S.A.R.H.

Figura 1 Aguacate

RELACION DE PRODUCCION DEL ESTADO DE PUEBLA 1970 - 1976



Fuente: Direcciones Generales de Economía Agrícola y de Agricultura y Comisión Nacional de Fruticultura, S. A. R. H.

TABLA No. 4
PRINCIPALES ENFERMEDADES DEL AGUACATE.

Persea americana Mill AGUACATERO.

Agalla de la corona. Agrobacterium tumefaciens (E.F. Sm. y Town) Conn

Pudrición del fruto y mancha de la hoja - Alternaria sp

Pudrición de la raíz - Armillaria mellea Vahl. y Fr.

Mancha de la hoja - Cephaleuros virescens Ktz. (Alga)

Cephalothecium sp.

Cercospora purpurea Cke. (en fruto)

Antracnosis - Colletotrichum gloeosporioides Penz.

Pudrición de las ramas tiernas - Dothiorella spp.

Pudrición de raíz y tronco - Fusarium sp.

Tizón roñoso de la hoja - Gloeosporium sp

Tizón de la hoja - Pestalozzia sp.

Pudrición de raíz - Phymatotrichum omnivorum(Shear.) Dugg.

Phytophthora cinnamomi Rands

Rhizoctonia sp.

Rosellinia sp.

Nemátodos asociados con pudriciones de raíz.

Rotylenchus spp.

Tylenchus spp

Aphelenchoides sp.

Meloidogyne spp (nodulador)

drición Radicular".

La enfermedad se manifiesta bajo condiciones muy especiales de cultivo, fundamentalmente de humedad excesiva, que es el resultado de suelos deficientemente drenados, o por sobrieriego, lluvias excesivas o niveles freáticos elevados.

El hongo bajo estas condiciones esporula abundantemente, produciendo zoosporas, que son la forma infectiva, las que atacan raíces secundarias del aguacatero y ocasionando un cuadro de sintomatología característico como son: raicillas negruscas y quebradizas por ataque al sistema radicular y de crecimiento de la raíz. Por la baja captación de nutrientes, el árbol presenta hojas pequeñas de color amarillo pálido o amarillo verdoso brillante hasta un verde oscuro, doblándose hacia abajo, dando el aspecto de "tristeza" al árbol, provocando por último la defoliación total. Los renuevos si los hay, son de color verde amarillento y en un estado avanzado de la enfermedad, la planta muere. El ataque se efectúa en árboles de cualquier edad, pero principalmente en plantas jóvenes, dependiendo básicamente de las condiciones del cultivo.

El incremento en la producción de aguacate está en función del estado de salud de los árboles y por tanto en función directa con el control que se ejerza sobre Phytophthora cinnamomi.

El combate de la tristeza del aguacatero representa una infinidad de obstáculos que dependen de la biología del hongo, principalmente por sus estados de reproducción asexual (clamidosporas y zoosporas) y un tanto del medio tan dinámico y complejo como es el suelo, de las condiciones ambientales y finalmente de los individuos susceptibles al ataque de este hongo. Varias medidas se han propuesto para la prevención y combate de este patógeno, como son prácticas culturales, control biológico y químico y plantas resistentes, todos en cualquier forma tendientes a proteger al hospedante de la infección del patógeno.

OBJETIVOS.

Debido a la necesidad de incrementar la producción de aguacate, frenando fundamentalmente la incidencia y diseminación de la enfermedad "Tristeza - del Aguacate", se plantea por lo tanto la utilización de un nuevo fungicida e el combate de Phytophthora cinnamomi; Aliette, fungicida sistémico, que además de sus propiedades fungicidas es terapéutico; no tóxico, ni teratógeno para plantas ni para el hombre, por su alta capacidad tóxica, diferencial hacia el grupo de Phycomycetos (TABLA No. 5 y 6).

Se plantean, por lo tanto, los siguientes objetivos, ante esta nueva alternativa de control químico:

- 1.- La determinación de las concentraciones óptimas de I.A. de Aliette, en ensayos "in vitro" para el combate de Phytophthora, con el propósito de derivar las concentraciones - por utilizar en campo.
- 2.- La evaluación del combate con Aliette bajo condiciones de campo, en cultivo de aguacate, en la región de Atlixco, Puebla.

La evaluación final para un fungicida es el campo, donde en definitiva se reportará su eficiencia; con este propósito se pensó aplicarlo en una zona con una alta incidencia que conservadoramente se ha calculado entre 70 y 80% afectada por Phytophthora cinnamomi, siendo Atlixco, Pue. otrora gran productora en aguacate y fuente de excelente germoplasma, la zona escogida, con la que se pretendía detener no sólo el avance del patógeno sino el de observar las propiedades terapéuticas que son reportadas para el producto (44,56), en condiciones de máxima infestación en que se trabajó las huertas experimentales.

TABLA No. 5

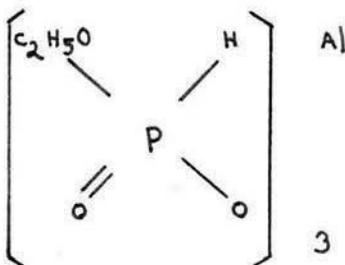
ALIETTE FUNGICIDA SISTEMICO (LS 74 783) (

Materia Activa.

Nombre químico Etil fosfito de Aluminio

Fórmula: $C_6H_{18} Al O_9P_3$

Fórmula desarrollada:



Otras denominaciones : LS 74 783, EPAL, 32 545 RP

P.M.: 354

Aspecto físico: Sólido blanco cristalino

Solubilidad: Agua; 120 g/l

Acetonitrilo: 80 mg/l

Metil glicol: 80 mg/l

Tensión de vapor: Despreciable a 20°C.

Estabilidad: El producto técnico o formulados es estable en las condiciones normales de almacén. En solución a 1 g/l en agua a 20°C, la vida mediante del producto es de 100 días.

TABLA No. 6

TOXICOLOGIA DE LS 74 783(Aliette)

DL 50 expresada en mg/kg de peso, después de periodos de observación de 15 días.

Producto	Especie	Vía	DL 50 (mg/kg)
	Rata	oral	5 800
LS 74 783	Ratón	oral	3 700
	Ratón	cutaneo	atóxico a 3 200 mg/kg
	Caballo	oral	2 780
	Perro	oral	Ningún efecto letal a 2 140 mg/kg
	Conejo	oral	2 680

MATERIALES Y METODOS.

Pruebas de Laboratorio.

Se buscó la concentración óptima de Aliette en ppm de I.A., para evaluar los efectos del producto "in vitro" en contra de varias especies de Phytophthora (P. cactorum, P. cinnamomi, P. fragariae, P. megasperma, P. parasitica).

Obtención de Cepas.

La especie de P. cinnamomi, se obtuvo a partir de aislamientos de raíces de aguacatero variedad Hass y de plantas de 7 a 8 años de edad, de la zona de trabajo, rancho "La Joya" Atlixco, Puebla. Utilizando la técnica propuesta por Zentmyer.

El resto de cepas utilizadas fueron aportadas gentilmente por el Dr. Sebastian Romero Cova del Colegio de Postgraduados de Chapingo.

Los medios de cultivo utilizados para el aislamiento y ensayos "in vitro" son: V-8 agar, PDA, Harina de Maíz agar-Peptona, y el Aliette en presentación comercial, siendo un polvo blanco altamente soluble, de consistencia y aspecto como el talco (44).

Se realizaron un total de ocho pruebas experimentales "in vitro" para P. cinnamomi, las que variaron por los medios de cultivo utilizados y las diversas concentraciones de Aliette ensayadas. Tres pruebas experimentales usando V-8 agar y concentraciones de Aliette en ppm de 50, 100, 200, 500 y 1000; tres pruebas más con medio harina de maíz agar Peptona con concentraciones de fungicida de 50, 100, 200, 500, 700 y 1000 ppm; por último sólo dos pruebas con medio harina de maíz agar peptona y a concentraciones máximas de Aliette.

Cuatro pruebas experimentales de igual forma fueron llevadas a cabo para P. cactorum y P. parasitica; sólo dos para P. fragariae y P. megasperma.

La metodología utilizada en las pruebas "in vitro" consistió en agregar el fungicida al medio de cultivo a diferentes concentraciones, con tres repeticiones para cada una, ensayándose 50, 100, 200, 500, 700, 1000, 2000 y 3000 ppm de ingrediente activo y un grupo testigo de igual forma por triplicado para cada prueba experimental. Se colocó un inóculo de 4 mm de diámetro de 8 días de edad al centro de las distintas cajas de petri conteniendo éstas, las concentraciones por ensayar; las cajas se mantuvieron bajo condiciones de temperatura de laboratorio, 20-25°C, y envueltas en papel cartoncillo, para eliminar la contaminación. Posteriormente se midió el diámetro del crecimiento micelial en mm, durante 15 días; obteniendo el promedio por lectura y por concentración. Se consideró que si una caja de petri mide 85 mm de diámetro, 50 mm de crecimiento micelial durante el tiempo de incubación de 15 días con el Aliette en ppm de ingrediente activo incluido, era un índice de inhibición como la concentración hacia la que existe mayor sensibilidad y por lo tanto la óptima por utilizar en campo.

Según las indicaciones de algunas de las pruebas experimentales realizadas en Francia (13) el producto inhibe la formación de esporangios de los Zigomicetos, principalmente de Phytophthora, a concentraciones relativamente bajas desde 10 a 50 ppm, se probó por lo tanto la acción de Aliette en la formación de estas estructuras, que por otro lado, originan las zoosporas, que atacan al aguacatero, en ensayos "in vitro" con una concentración de 100 ppm. Se aplicó la técnica para esporulación en Phytophthora, en cajas preparadas con el fungicida, observando la formación de esporangios bajo la influencia del producto.

PRUEBAS DE CAMPO.

En la determinación del control de Phytophthora cinnamomi, en campo se consideró el aspecto general del follaje del árbol y con ésto se evaluó los síntomas de "Tristeza", durante la etapa de aplicación de Aliette. Se consideró el método de Townsend y Heuberger (28) que expresa valores exactos y que son por lo tanto más usados en los ensayos fitosanitarios. El método consiste en asignar valores numéricos sucesivos dentro de una escala de síntomas, que manifiestan individuos o partes enfermas durante tratamiento sanitario o bien en el desarrollo de una enfermedad, estableciendo por lo tanto los siguientes criterios valorativos para el ensayo de Aliette en campo y en plantas de aguacatero afectadas por el hongo.

Valor Numérico	Categoría de Evaluación.
0	Patógeno ausente(Fotografía No. 1).
1	Patógeno presente(Fotografía No. 2).
2	Tristeza muy leve (síntoma primario (Fotografía No. 3).
3	Tristeza generalizada (Fotografía No.4)
4	Defoliación parcial y tristeza. (Fotografía No. 5).
5	Defoliación general (árbol muerto, Fotografía No. 6) .

Patógeno
Ausente
Valor numerico 0
(Fotografia 1)

Patógeno
Presente
Valor numerico 1
(Fotografia 2)

Tisteza muy leve, síntomas primarios. Valor numérico 2
(Fotografía 3).

Tristeza generalizada. Valor numérico 3.
Note la cantidad de agua, producto del sistema de
riego. (Fotografía 4).

Defoliación parcial y tristeza. Valor numérico 4

Es notorio la presencia de malas hierbas en la base del tronco del
aguacatero (Fotografía 5).

Defoliación generalizada. Valor numérico 5
(Fotografía 6).

Arbol muerto. Valor numérico 6
(Fotografía 6´)

EVALUACION DEL COMBATE CON ALIETTE.

La evaluación del combate con Aliette en campo se llevó a cabo de dos formas: una observando el control ejercido por árbol y la otra midiendo el porcentaje de árboles que se consideraron como mejorados.

El primero se realizó con el fin de observar los procesos de control que se manifestaban en cada árbol y el porcentajes para determinar el estado fitosanitario durante el tratamiento por parcela. Para ambas evaluaciones se escogieron tres parcelas que estuvieran constituidas de 15 árboles cada una y además, entre sí, con un grado distinto de ataque, para poder de este modo tener elementos valorativos del combate con Aliette (Mapa 1, 2, 3 y 4). Por lo tanto, primero se consideró que existía control de la enfermedad por individuo, si el nivel de enfermedad decrecía hacia el valor de 0, control positivo (C^+) o bien cuando el valor se mantenía invariable (C) siendo entonces la suma de C^+ y C los que daban los índices de control de la enfermedad. Por el contrario, no existió control, C^- ; mientras el valor variara hacia el 5 de la misma escala; así el control en este experimento se determinó, por la restricción que sobre el avance de la enfermedad ejerció el producto.

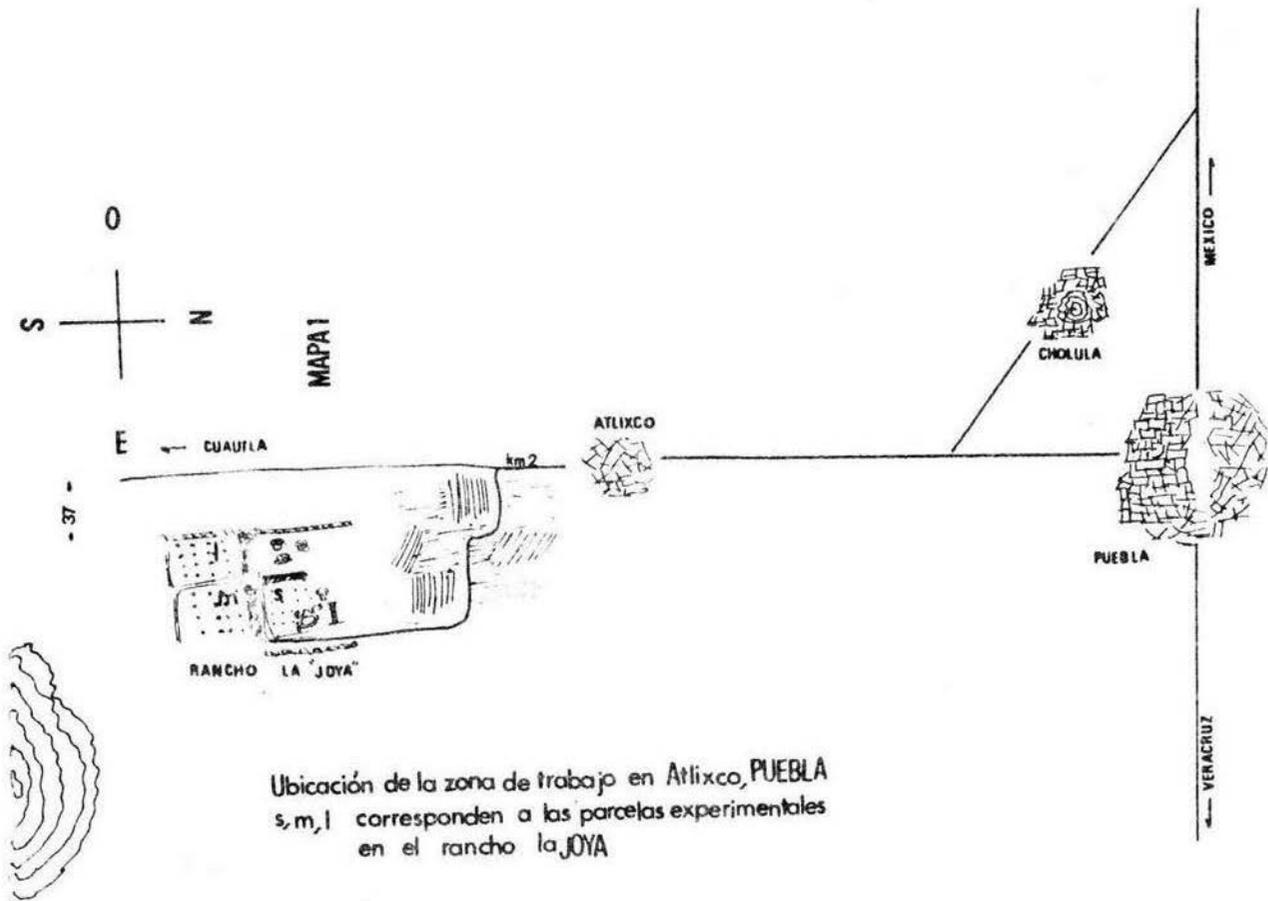
Se estableció de igual forma el estado fitosanitario de cada parcela por porcentajes, a partir de los 15 árboles con los distintos grados de ataque en que se evaluaron. De este modo se determinó el grado de ataque por parcela y en base al intervalo de árboles mejorados (de 0 a 2) y de no mejorados (de 3 a 5), tomando en cuenta que árboles en estado de mejorados aún son unidades productivas y sujetas a protección en contra del ataque de P. cinnamomi. Se encontraron tres niveles de ataque, los que correspondieron respectivamente a las parcelas utilizadas (severo, 100% de ataque o de no mejorados. Fotografía No. 7; leve 40% de no mejorados. Fotografía 8; y moderado 40% de no mejorados. Fotografía No. 9) por lo que cada parcela presentó características muy particulares que indudablemente corresponden a una condición sanitaria.

Se elaboró un calendario de aspersiones las cuales fueron aplicadas cada 15 días, durante 6 meses, comprendiendo los meses de junio a diciembre de 1979, utilizando una concentración de Aliette de 2000 ppm, derivada de las pruebas "in vitro"; aplicándose con un tanque de 480 litros, con dos salidas y montado en un tractor, asperjándose tanto a follaje como a suelo, considerando el carac

Parcela 1 con ataque por Phytophthora cinnamomi
Grado Severo.

Parcela 2 con ataque por Phytophthora cinnamomi
Grado Moderado.

Parcela 3 con ataque por Phytophthora cinnamomi
Grado Leve.



(sin escala)

ter sistémico del fungicida.

Evaluamos tomando cuatro lecturas en el lapso del experimento, la primera al inicio del mismo y las tres restantes cada tres aplicaciones de Aliette, para finalmente evaluar los efectos del fungicida en cada uno de los árboles y por parcela. La evaluación final se realizó de acuerdo al criterio del % de mejorados y no mejorados ya explicado.

RESULTADOS.

Resultados de Laboratorio.

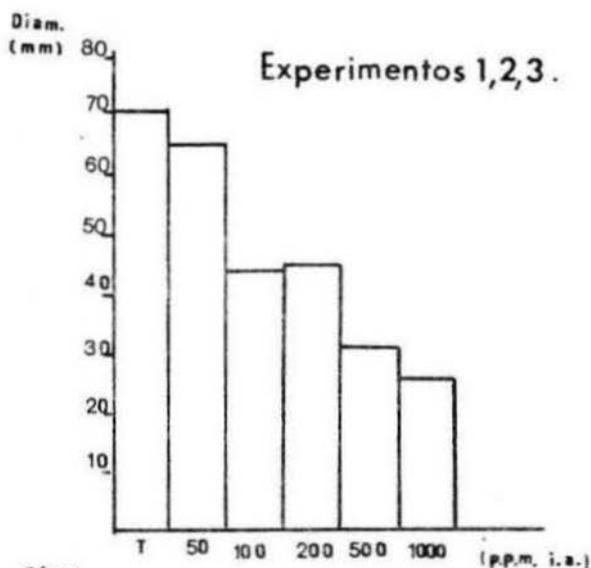
Resultados en laboratorio.- La evaluación del fungicida a partir de las pruebas "in vitro" sobre las diversas especies de *Phytophthora* ensayadas, mostraron en general la misma tendencia de influencia del producto hacia el crecimiento micelial. Así por ejemplo: se observó en *Phytophthora cinnamomi*, durante los ocho experimentos, en los tres bloques experimentales, una sensibilidad del hongo hacia el fungicida a partir, en general, de las concentraciones de 200 a 700 ppm; siendo sin embargo más sensible a las concentraciones de 1000 a 3000 ppm.

Los datos del bloque experimental 1, con las concentraciones de 50 hasta 1000 ppm y en medio V-8 agar y midiendo el diámetro del crecimiento micelial, nos indican que el micelio de *P. cinnamomi* comienza a ser susceptible a partir de las 100 ppm (44.1 mm de diámetro) en 200 (49.5 mm de diámetro) y en 500 (31.86 mm de diámetro) continuando hasta la concentración de 1000 ppm , la que tiene una mayor influencia de inhibición sobre *Phytophthora* (25.6 mm de diámetro), tomando en cuenta el criterio de considerar los 50 mm de diámetro como un índice de susceptibilidad aceptable (Gráfica No. 1).

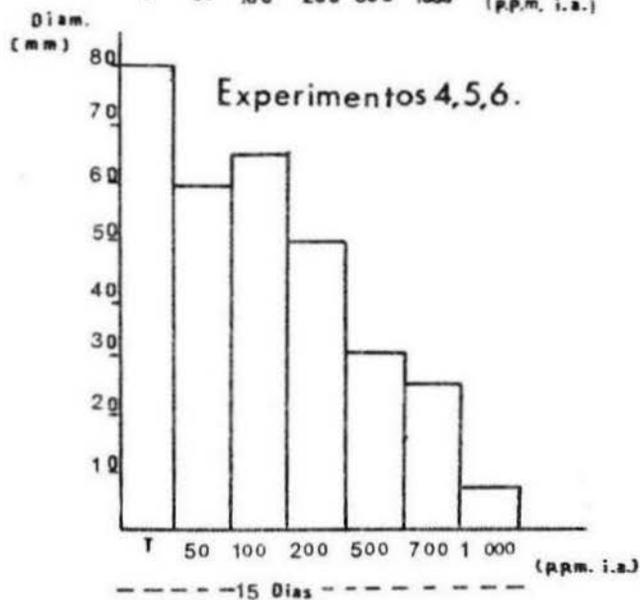
En el bloque experimental 2, en donde se ensaya una nueva concentración, 700 ppm y en medio harina de maíz agar, medio que se consideró más adecuado, debido a la rapidez con que el hongo se desarrollaba y a su uniformidad en el crecimiento. En este bloque se obtuvo la misma tendencia, aunque a 50 ppm se tiene una inhibición de 59.98 mm, en 100 ppm es de 60.5 mm; no es sino hasta las 200 ppm de 49.5 mm de diámetro en donde es mayor la susceptibilidad y en 1000 ppm, la inhibición es casi total, de 7.9 mm de diámetro, si consideramos que el inóculo mide 4 mm de diámetro (Gráfica No. 2).

El tercer bloque de experimentos muestra divergencias con las anteriores, pero sólo a concentraciones inferiores de 1000 ppm, no variando en el patrón de influencia de susceptibilidad, siendo la de 1000 (33.9 mm de diámetro), 2000 (4 mm de diámetro) y 3000 (4 mm de diámetro) las que conservan una acción fungicida en contra de *P. cinnamomi* (Grafica No. 3).

Phytophthora cinnamomi



pp.m.	Diam. en mm.
50	65.7
100	44.1
200	49.5
500	31.86
1000	25.6
T	70.6

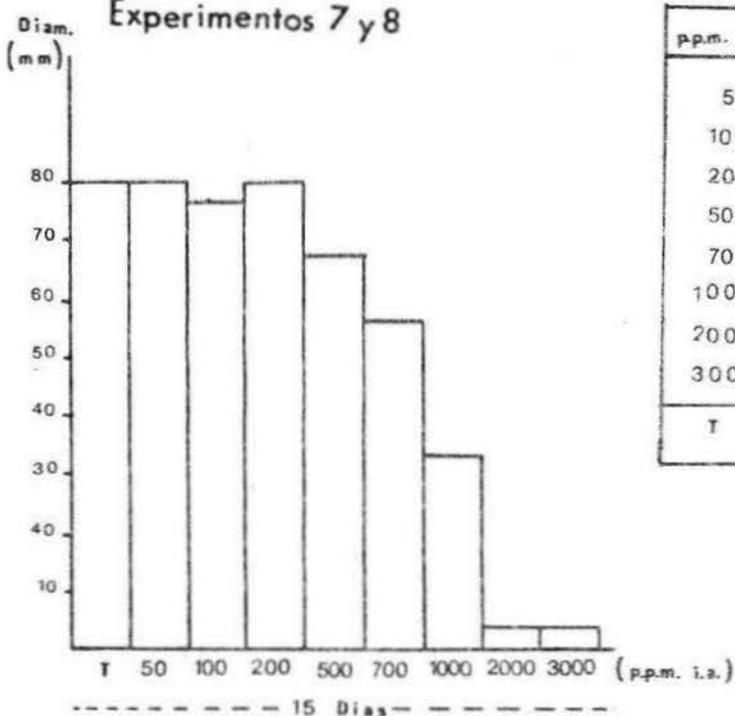


pp.m.	Diam. en mm
50	59.98
100	60.5
200	49.5
500	30.6
700	25.3
1000	7.9
T	80

Gráficas 1 y 2

Phytophthora cinnamomi

Experimentos 7 y 8



pp.m. i.a.	Diam. mm.
50	80
100	76.72
200	80
500	67.5
700	56.3
1000	33.9
2000	4
3000	4
T	80

Gráfica 3

El análisis de varianza practicado en los tres bloques experimentales independientemente uno del otro, señalan una variación para las concentraciones experimentales ensayadas (bloque uno $F_c = 5.38$, segundo = 4.09 y tercer bloque = 8.73) en el que se observa que a medida que se aumentó la concentración del fungicida aumentó la inhibición del crecimiento micelial, siendo por lo tanto mayor la significancia en el tercer bloque experimental y en menor medida en los dos primeros (TABLA No. 7).

Los efectos de Aliette a las mismas concentraciones utilizadas para P. cinnamomi fueron probadas en P. parasitica, P. cactorum, P. fragariae y P. magasperma en 4 esperimentos para las dos primeras y dos para las segundas. Las especies ensayadas muestran la misma relación de inhibición (Graficas 4, 5 y 6) variando sólo en algunas concentraciones, aunque se observa una tendencia en que todas responden a la misma forma a las máximas concentraciones utilizandas.

En P. cactorum el efecto de Aliette se mantiene desde las 50 ppm -- (35.35 mm de diámetro) siendo progresiva la susceptibilidad al aumentar la concentración, como se manifiesta en las concentraciones de 200, 500, 700, - 2000 y 3000 ppm aunque en las concentraciones de 100 y 700 (57.17 y 44.7 mm de diámetro) se tienen ligeros incrementos en el crecimiento respecto a la tendencia observada en las gráficas, con el respecto de las concentraciones utilizadas en P. cactorum (Gráfica No. 4).

Los resultados en P. parasitica, señalan que al menos esta especie es bastante susceptible al Aliette, incluso a las concentraciones más bajas, 50 ppm (46 mm de diámetro) y sólo observando una ligera divergencia a las 3000 ppm que practicamente es insignificante en relación al tamaño del inóculo de 4 mm (11.3 mm de diámetro). Esta especie es quizá la que tiene un comportamiento de susceptibilidad más progresiva a medida que se aumentan las concentraciones, así desde 50 ppm (46 mm de diámetro, hasta las 200 ppm es notable ésta tendencia y sólo observandose un pequeño incremento en 3000 ppm que no re presenta mayor problema (Gráfica No. 5).

El ensayo con Aliette con P. magasperma, no se observa una inhibición - significativa directamente proporcional muy clara, aunque en la concentración

TABLA No. 7

Phytophthora cinnamomi.

Fuente de Variación	Grado de Libertad	Suma de Cuadrados	Fe
Concentración	5	4063.5451	5.38*
Error	10	1509.1049	
Total Ajustado por media	17	10118.49	

EXPERIMENTOS 4, 5 y 6. ANALISIS DE VARIANZA

Fuente de Variación	Grado de Libertad	Suma de Cuadrados	Fe
Concentración	6	10745.566	4.09*
Error	12	4120.405	
Total ajustado por media	20	16938.131	

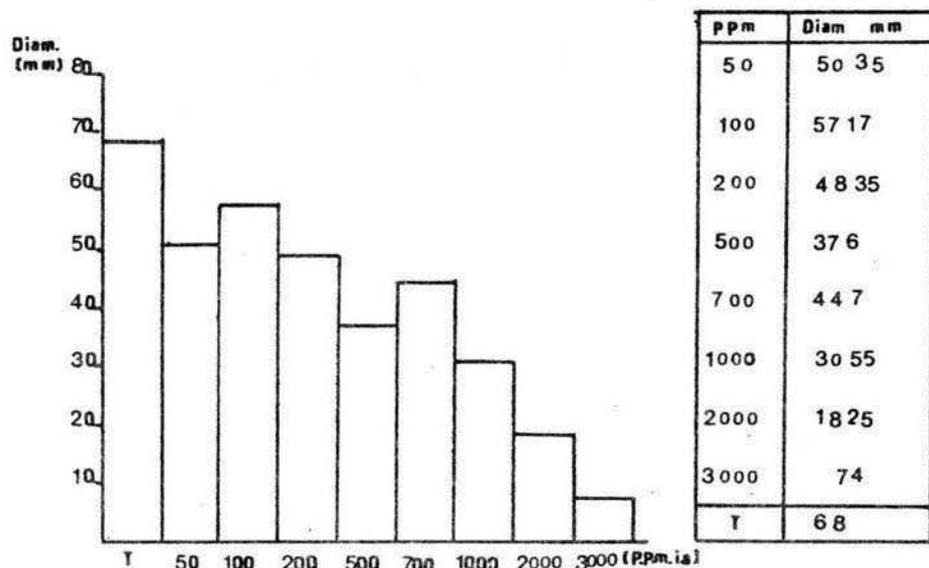
EXPERIMENTOS 7 y 8. ANALISIS DE VARIANZA.

Fuente de Variación	Grado de Libertad	Suma de Cuadrados	Fe
Concentración	8	16153.34	8.73*
Error	8	1849.505	
Total Ajustado por media	17		

Análisis de varianza practicados a los experimentos de Aliette
en Phytophthora cinnamomi " in vitro "

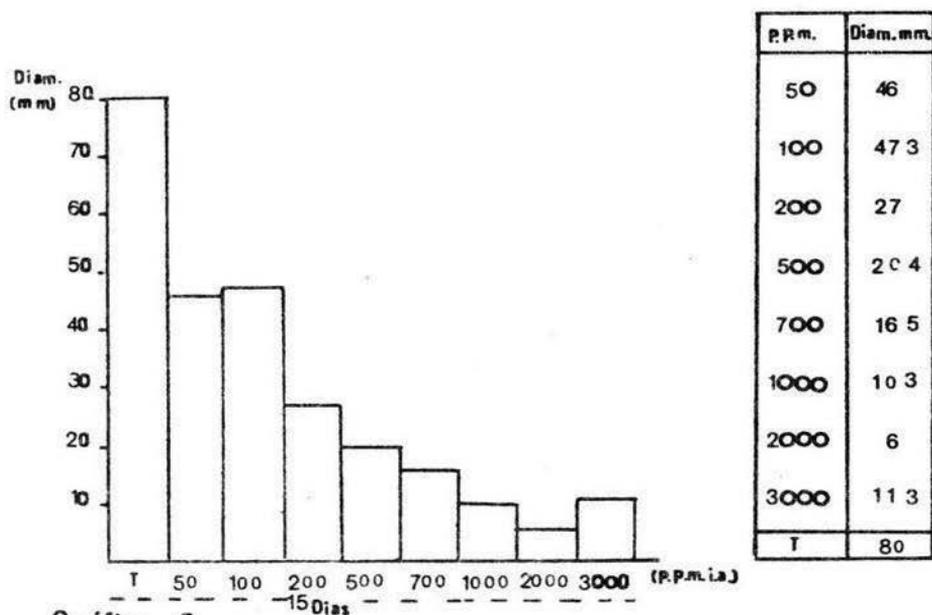
* Significativo al 95%.

Phytophthora coctorum



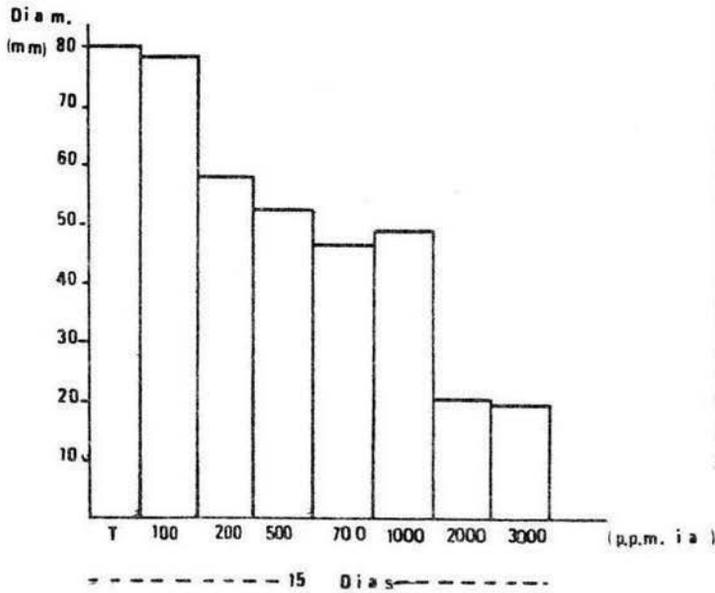
Gráfica 4

Phytophthora parasitica



Gráfica 5

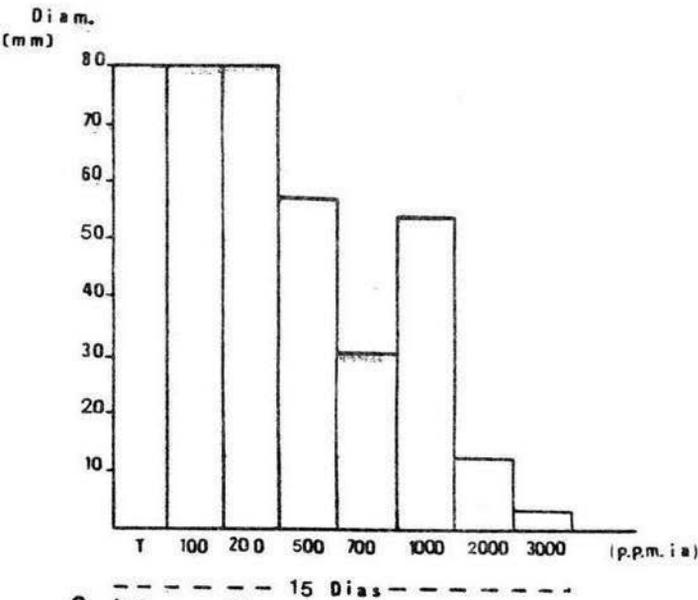
Phytophthora megasperma



p.p.m.	Diam. mm
100	78.5
200	58
500	52.5
700	47.3
1000	49.3
2000	21.5
3000	19.5
T	80

Gráfica 6

Phytophthora fragariae



p.p.m.	Diam. mm
100	80
200	80
500	57.8
700	32.9
1000	54.5
2000	13
3000	4
T	80

Gráfica 7

de 700 ppm es de 47.3 mm de diámetro y en 1000 ppm de 49.3 mm de diámetro, - siendo ambas concentraciones apenas inferiores a la media aceptable o prouesta de 50 mm de diámetro y sólo a las concentraciones de 2000 y 3000 ppm (21.5 y 19.5 mm de diámetro) es donde se manifiesta diferencias con respecto de las concentraciones (Gráfica No. 6).

P. fragariae es la especie que muestra mayores divergencias en su com- portamiento hacia el fungicida, pero al igual que el resto de Phytophthora - es susceptible a las 2000 y 3000 ppm (13.0 y 4 mm de diámetro) (Grafica No. 7).

La aplicación de Aliette para observar el efecto sobre la esporulación utilizando una concentración de 100 ppm, se realizó sólo en dos especies en - particular debido a la rapidez en la producción de esporangios y a la abundan- cia de los mismos, utilizando para este fin a P. cactorum y P. parasitica que incluso sin tratamiento para incrementar la esporulación se presentaba ésta, - lo que facilitó el ensayo con el Aliette.

Los resultados obtenidos indicaron que a una concentración de 100 ppm no existe inhibición en la formación de esporangios en las especies ensayadas.

Debido a la dificultad para acelerar la formación de esporangios en el resto de especies de Phytophthora, incluso en P. cinnamomi, no se llevó a cabo este tipo de ensayo en estas especies, por lo que se optó sólo realizarlo con las especies ya citadas.

Resultados en Campo.

El experimento en campo con el uso de tres parcelas de aguacatero en distintos niveles de ataque y con el fin de evaluar el control de la enfer- medad por árbol y por parcela, en porcentajes, se estableció con el objeto de lograr los elementos de juicio que permitan evaluar el producto químico en cuan- to a sus propiedades fungicidas y terapéuticas.

La parcela No. 1 (TABLA No. 8, Mapa No. 2), se encuentra en la parte más elevada de la zona de cultivo y con desniveles que favorecen la inclinación del terreno, en donde es más pronunciada principalmente hacia la orilla sur de

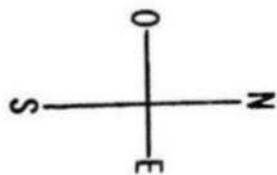
TABLA No. 8

CONTROL DE Phytophthora cinnamomi UTILIZANDO ALIETTE

UNIDAD Arbol	Valor Numérico de la evaluación				Control*		
	I. Estado inicial				C	C°	C ⁺
		1 a	2a	3a			
A	3	3	3	4		x	
B	4	4	4	4	x		
C	4	4	3	3			x
D	3	2	2	2			x
E	4	3	3	3			x
F	3	3	2	3	x		
G	4	4	3	3			x
H	4	4	3	3			x
I	4	4	3	3			x
J	4	4	3	3			x
K	5	5	4	3			x
L	3	2	2	3	x		
M	5	4	5	5	x		
N	4	3	4	4	x		
Ñ	4	4	3	3			

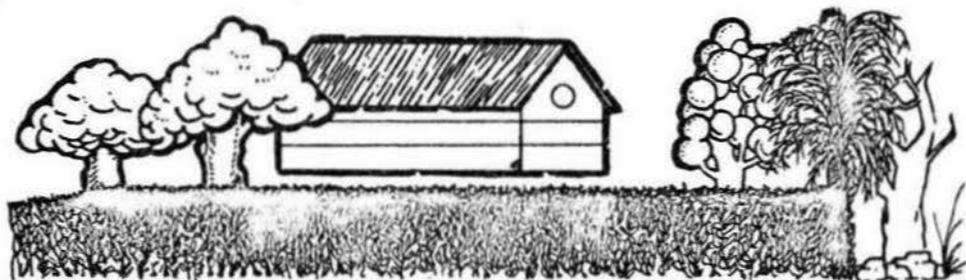
% = 33.5 % = 7.30 % = 60

Estado inicial de la parcela	Evaluación del control con Aliette			
	Severo	Tratamiento		
		1	2	3
%NM	100%	87.33%	80.0%	93.3%
% M	0%	13.3 %	20.0%	7.3%
Inicio del Tratamiento	Junio	Julio Agosto	Sept-Oct.	Nov. Dic.



MAPA 2

Parcela con ataque Severo



A₃



E₄



H₄



L₃



B₄



X



I₄



M₅



C₄



F₃



J₄



N₄



D₃



G₄



K₅



R₄



A Arbol
3 = valor de la categoría de evaluación.

la parcela, encontrándose aquí los 15 árboles del tratamiento. Esta parcela se encontró con un porcentaje del 100 % de árboles no mejorados que se determinó como un ataque severo al inicio del experimento.

Los resultados del tratamiento dieron un buen nivel de control de la enfermedad observándose que nueve árboles presentaron un control positivo C^+ , con respecto a la primera lectura (C, D, E, G, H, I, J y K); cinco no presentaron variación (B, F, L, M y N); y sólo en uno no existió control C^0 (A).

La suma de los porcentajes del control positivo y de los que no variaron durante la aplicación, los cuales se consideraron dentro de los controlados, resultó ser de un 93.3% de control que en este caso coincide con el porcentaje de no mejorados. Esto significa que aunque los árboles presentaron índices de control, la enfermedad aún se mantenía en los niveles altos de la escala valorativa del experimento y dado que la mayoría de las unidades se encontraban en la escala de 3 a 5 en la determinación final, en cuanto al estado general de la parcela. Como se puede observar en la evaluación del estado fitosanitario de las parcelas durante el tratamiento y en base al porcentaje de mejorados que indicaron el nivel de respuesta general a la aplicación del producto y que señala los efectos terapéuticos de este producto. Se observa en la primera lectura 13.3% de árboles mejorados con respecto al 0% del estado inicial, en que se encontró la primera parcela; en la segunda evaluación, los mejorados aumentaron al 20% y en la última decreció hasta un 7.5% del valor inicial. La mejoría observada finalmente fue del 7.3%.

Parcela No. 2 (TABLA No. 9, Mapa No. 3). Esta parcela se encuentra como a 1.50 m abajo del nivel de la primer huerta, y aunque guarda una buena nivelación en todo el terreno, su suelo parece ser lo suficientemente delgado como para dificultar un buen drenaje. Esta parcela se encontró con un estado de ataque moderado, equivalente al 40%, dado que la mayoría de los árboles se encontraron dentro de el intervalo de los valores en la escala de 1 a 3, y sólo dos en la escala de 4 a 5 (D y Ñ). Los resultados obtenidos en el control positivo (C^+), se manifestaron en sólo dos árboles (F e I), sin cambio (C) aparente seis (B, C, D, K, N y Ñ), y sin control (C^0) en siete (A, E, G, H, J. L. y M).

TABLA No. 9

CONTROL DE Phytophthora cinnamomi UTILIZANDO ALIETTE.

UNIDAD Arbol	Valor Numérico de la evaluación				Control		
	1. Estado inicial	Lecturas			C	C°	C+
		1a	2a	3a			
A	2	3	3	3		X	
B	3	4	3	3	x		
C	2	2	2	2	x		
D	4	4	4	4	x		
E	1	1	1	2		x	
F	3	1	1	2			x
G	1	1	1	2		x	
H	3	4	3	4		x	
I	3	3	2	2			x
J	2	1	1	3		x	
K	2	1	1	2	x		
L	2	1	1	3		x	
M	1	1	1	2		x	
N	2	2	1	2	x		
Ñ	5	5	5	5	x		

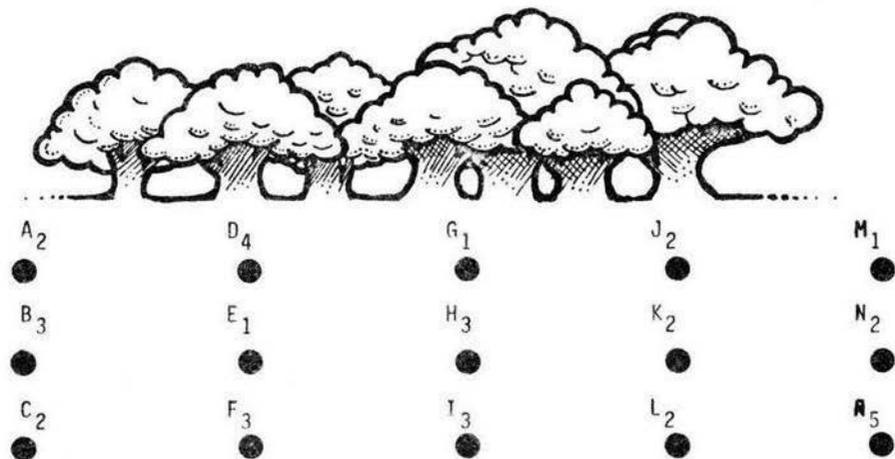
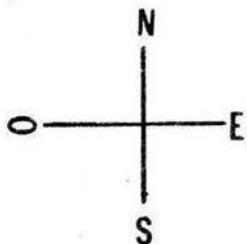
% = 40 % =46.6 % =13

Evaluación del control con Aliette
Estado inicial de la parcela

Moderado	1	2	3
% NM	40%	33.3%	46.6%
% M	60%	66.6%	53.3%
Inicio del Tratamiento	Junio	Julio Agosto	Sept. Oct. Nov. Dic.

MAPA 3

Parcela con ataque moderado



A = Arbol
2 = valor de la categoría de evaluación

La evaluación del control por porcentajes durante el tratamiento en la parcela presentó un 60% de mejorados inicialmente; al efectuarse la siguiente evaluación, ésta fue de 66.6% de mejorados, mientras que en la tercer lectura se obtuvo el 53.3% de mejorados. Como se puede ver la mejoría fue de 6.6% hasta la segunda lectura, pero si observan los datos de la tercer lectura se tiene que existe un avance de la enfermedad (En la discusión se plantean varias hipótesis de este fenómeno).

La parcela No. 3 (TABLA NO. 10, Mapa No. 4), se encuentra localizada a la misma altura que la parcela No. 2; su nivelación ~~no~~ es tan uniforme y es la que presenta el mejor drenaje de las tres zonas estudiadas. El grado de ataque se determinó como de leve, 40%, que aunque es idéntico al porcentaje de la anterior parcela, en este caso los árboles se encuentran en la escala 1 a 3, no encontrando unidades en la escala de 4 a 5.

En esta parcela se obtuvo un control regular en el sentido positivo, ya que sólo tres árboles (D, E y K) de los 15 fueron los que manifestaron mejorías; siete aparentemente no presentaron control (A, B, C, J, M, N y ñ) y en cinco no se detectó ningún cambio (F, G, H, I y L).

La evaluación del control observado dió 93.3% de mejorados en la primera lectura; durante la segunda toma de datos, resultó un 80%; y en la tercera de 66.6%, lo que significó un 6.6% aproximado de mejoría al final del experimento

TABLA No. 10
CONTROL DE *Phytophthora cinnamomi* UTILIZANDO ALIETTE.

Unidad Arbol	Valor Numérico de la evaluación					Control.		
	I. Estado inicial	1a	2a	3a	C	C°	C ⁺	
A	1	2	3	4		x		
B	1	2	3	4		x		
C	3	3	4	4		x		
D	3	1	2	1			x	
E	2	1	1	1			x	
F	1	1	1	1	x			
G	1	1	1	1	x			
H	1	1	1	1	x			
I	1	1	1	1	x			
J	33	1	1	4		x		
K	3	1	1	1			x	
L	1	1	1	1	x			
M	2	1	1	4		x		
N	3	1	1	1		x		
N̄	3	1	1	1		x		
% = 46.6						% = 33.3	% = 20	

Evaluación del control con Aliette
Estado inicial de la parcela

Leve	1	2	3
% NM 40%	6.6%	20%	33.3%
% M 60%	93.3%	80%	66.6%
Inicio del Tratamiento	Junio	Julio	Sept.
		Agosto	Oct.
			Nov.
			Dic.

Se consideró que el control se llevaba a cabo si los valores cambiaban hacia el valor de cero y no existía si el valor cambiaba hacia 5, por lo que el control es directamente proporcional a la disminución del valor numérico de la evaluación

Valor Numérico

Categoría de evaluación.

0	Patógeno ausente
1	Patógeno presente
2	Tristeza muy leve.
3	Tristeza generalizada
4	Defoliación parcial y tristeza
5	Defoliación general (árbol muerto)

C = Sin cambio en el valor numérico de evaluación

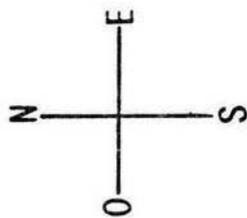
C° = Sin control

C⁺ = Control

M - % de Mejorados (de 0 a 2)

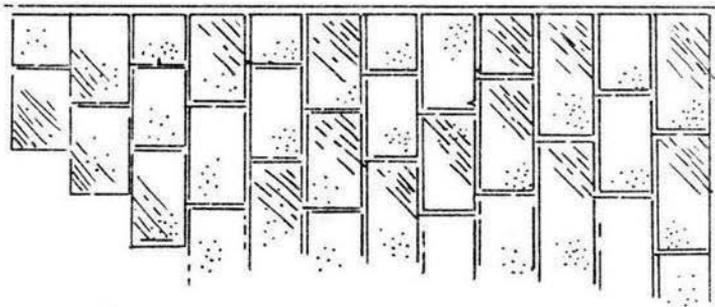
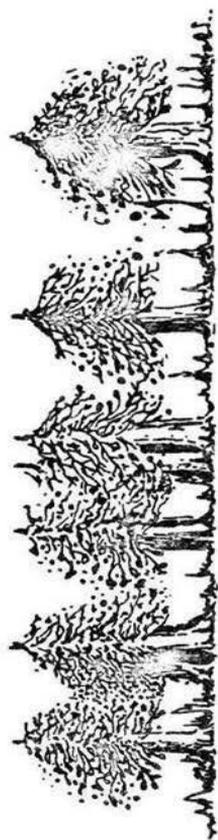
NM - % de no Mejorados (de 3 a 5)

Las lecturas fueron cuatro en total, la primera al inicio del experimento y sin tratamiento y el resto, tres, cada tres aplicaciones, siendo en total 9 las aplicaciones llevadas a cabo en un lapso de 6 meses, de Junio a diciembre y cada 15 días.



MAPA 4

Parcela con ataque leve



X ○

J₃ ●

X ○

H₁ ●

C₃ ●

F₁ ●

N₃ ●

A₁ ●

G₁ ●

N₃ ●

B₂ ●

D₃ ●

I₁ ●

N₃ ●

A = Arbol

1 = valor de la categoría de evaluación

DISCUSION.

De los resultados obtenidos de los ensayos "in vitro" con la utilización de Aliette (Etil fosfito de Aluminio) sobre las especies de Phytophthora, se observó que en general se logra una inhibición progresiva a medida que las concentraciones de Aliette aumentan como lo señala el análisis de varianza practicado en el caso de P. cinnamomi, en donde la máxima variación observada es en los ensayos con 2000 y 3000 ppm de Aliette. El mismo fenómeno se observa en el resto de las especies ensayadas, en el que a mayor concentración de fungicida utilizado, mayor susceptibilidad; siendo a las concentraciones comprendidas entre 50 y 1000 ppm de tendencia variable, lo que puede ser explicable desde el punto de vista de una susceptibilidad diferencial que posiblemente exista en estas especies.

Con lo que respecta a la respuesta de P. cinnamomi, Gráficas No. 1, 2, y 3, son manifiestos los efectos practicamente a todas las concentraciones, observando sin embargo que en la Gráfica No. 1, del primer bloque de experimentos existe una inhibición o influencia muy marcada del fungicida sobre el crecimiento micelial en las concentraciones de 100 hasta 1000, siendo esta última la de mayor influencia. Hay que hacer notar que en este bloque experimental se usó medio V-8 agar que en particular tiene cierto efecto en el crecimiento micelial, en razón de ser un medio muy rico y que el hongo crece en forma más lenta. El segundo bloque experimental, Gráfica No. 2, muestra quizá un patrón de susceptibilidad al producto y es evidente que este patrón es mucho más constante a partir de las concentraciones de 500 ppm, 700 ppm y 1000 ppm, siendo de igual forma, en las 1000 ppm de ingrediente activo, la que mostró el máximo nivel de influencia en este bloque. El tercer bloque experimental, Gráfica No. 3, muestra que en las concentraciones de 1000, 2000 y 3000 ppm de I.A. el efecto es de máxima susceptibilidad y en las de menor concentración el comportamiento resulta un tanto variable pero aún conserva esa tendencia que puede ser considerada como una susceptibilidad hacia el producto.

Como resultado de la observación de que el V-8 agar influyó en el crecimiento micelial, se decidió utilizar para el segundo y tercer bloque experimental harina de maíz agar, ya que obtuvo diferencia en el crecimiento al cambiar el medio, en cierta forma se decidió utilizar el medio ya antes citado.

En vista de que los efectos positivos del fungicida en los ensayos "in vitro" se observaron entre las concentraciones de 1000 y 3000 ppm, se seleccionó como una adecuada concentración por utilizar en campo, en los ensayos "in vivo", la de 2000 ppm ya que a partir de ésta se manifestaban las máximas susceptibilidades observadas hacia el fungicida.

Ya se ha señalado preliminarmente que en las especies de Phytophthora ensayadas y con el fungicida Aliette, existen diversos grados de susceptibilidad, lo que es significativo, dada la importancia que en algún momento tienen estas especies y la utilidad práctica del Aliette en el campo. En el caso de P. parasitica, la inhibición se detectó desde las 50 ppm (46 mm de diámetro) al igual que la mayoría de las especies, exceptuando a P. megasperma y P. fragariae, en donde esta concentración de 50 ppm, ya no se utilizó debido a que el efecto no fue significativo en los ensayos previos y resultaba igual que el crecimiento del testigo. El efecto inhibitorio del Aliette en P. parasitica aumentó sucesiva y gradualmente, hasta que en las concentraciones de 1000, 2000 y 3000 ppm se observa la máxima inhibición, aunque a 3000 pp, se observa un incremento (11.3 mm de diámetro), que es insignificante tomando en cuenta la lectura de 1000 (10.3 mm de diámetro) y de 2000 (6 mm de diámetro). Al igual que las observaciones hechas en P. parasitica y P. cactorum, muestran susceptibilidad, aunque no tan pronunciada como en P. parasitica, pero aún se observa el mismo patrón de comportamiento. De igual forma se observa en P. megasperma y P. fragariae, aunque estos patrones son observados, se nota sin embargo que son necesarias concentraciones mayores para tener los máximos índices de influencia del producto, siendo mayormente significativo en P. fragariae en lo que el nivel de inhibición máximo es a altas concentraciones de Aliette. Sin embargo, estos efectos inhibitorios y quizá cierta resistencia hacia el fungicida de P. fragariae, no son definitivos y es necesario establecer la comparación de este producto con otros, ya que algunos compuestos químicos, que se ensayaron colateralmente pero no reportados, como Captan, Manzate, mostraron tener influencia en P. cinnamomi, incluso a bajas concentraciones en ensayos "in vitro"; en campo posiblemente no resulten eficaces, dadas las condiciones particulares y específicas que en él se encuentran y donde se darán los criterios definitivos para la aceptación de un compuesto químico con fines comerciales y de eficacia fitosanitaria.

Según algunos reportes (28, 44), el Aliette influye la esporulación de Phytophthora inhibiéndola a bajas concentraciones, como de 10 a 50 ppm; resultando en nuestros ensayos que aún a 100 ppm existía la esporulación, en P. cactorum y P. parasitica, lo que resulta contrario a los reportes anteriores - de que influye el Aliette a bajas concentraciones en la esporulación. En este caso en particular es necesaria una mayor base experimental, para establecer - la concentración óptima de inhibición en la formación de esporangios, que por otro lado resulta importantísima debido a que es la fase de esporulación la in - fectiva y necesariamente la que en un momento dado, sería la de mayor importan - cía de controlar, para frenar los ataques.

Resultados en campo .

Con respecto a las observaciones en campo en las tres parcelas de aguacate y con 15 árboles cada una, utilizando Aliette a una concentración de 2000 ppm para combatir a P. cinnamomi, se observó finalmente un control posi - tivo en las tres parcelas: 93.3% de control ($C^+ + C$) en la parcela 1; 53.3% -- de control en la parcela 2; y de 60% de control en la parcela 3. El análisis de evaluación del control a partir de los árboles que se clasificaron como de mejorados (0 a 2) y de no mejorados (de 3 a 5) de la escala del método de Townsend y comparando el estado inicial con el final, ya con el tratamiento du - rante 6 meses con Aliette, tenemos que en la parcela 1, una mejoría del 7.3% de mejorados, en la parcela 2 un decremento del 6.7% de mejorados y en la parcela 3 se obtuvo 6.6% de mejorados. Estos resultados nos indican que el producto - ejerció un control positivo en las tres parcelas, tomando en cuenta nuestro - criterio de que existía control mientras los valores de la escala se mantuvie - ran en la categoría o bien mientras bajaran hacia cero de la misma; y el aná - lisis de la evaluación del control ejercido en todas las parcelas indica que - la enfermedad, tanto en la parcela 1 y 3 no avanzó y en la parcela 2 se incre - mentó el ataque de Phytophthora. Estos resultados indican que al menos en las parcelas 1 y 3 el producto actuó ejerciendo el control, pero no curando a los árboles que se encontraban en estado avanzado de la enfermedad, y en la parce - la 2 avanzó aún más. Estos resultados pueden tener dos explicaciones: una al menos en la parcela 1, las prácticas culturales llevadas a cabo durante el ex - perimento fueron persistentes y mantuvieron en un buen nivel sanitario a la huerta que estuvo sujeta a siembra de alfalfa durante mucho tiempo, previo al experimento y en la parcela 3, en donde existe un buen drenaje, se mantuvo el

cultivo de alfalfa. En la parcela 2, ni el suelo es permeable ni las practicas culturales se llevaron a cabo, por lo que se manifestó un incremento de la enfermedad, aunque el producto se haya aplicado al mismo nivel que en las anteriores parcelas. Dos, el fungicida controló al hongo durante las etapas de aplicación del mismo, pero no al término del experimento en donde coincidió con la liberación de esporas. Las evidencias en el laboratorio demuestran que periodos prolongados de deshidratación de los medios de cultivo con P. cactorum, P. parasitica, P. cinnamomi, favorecen la esporulación, sin el tratamiento propuesto para incrementarla (c.p), y en el momento de rehidratar los cultivos los esporangios liberaron las zoosporas siendo muy bien observado este fenómeno en especial en P. cactorum y en menor medida en P. parasitica y P. cinnamomi en donde sólo se observaron esporangios.

Si este fenómeno es idéntico a lo que acontece en el campo, entonces podríamos explicar el hecho de que sólo en los meses de alta precipitación pluvial, el hongo fue controlado en sus fases vegetativas, micelio y zoosporangios y sólo en las zonas de tratamiento. Por este motivo si tomamos en cuenta que el área total del cultivo (11 hectáreas) y sólo la de tratamiento de 125 m² en promedio por parcela, significa entonces que existe suficiente cantidad de inóculo vegetativo en el resto de la zona, que al entrar en el periodo de sequía, en Atlixco, Puebla, a partir de octubre y se prolonga hasta los meses de abril y mayo, y con el agua de riego y de lluvia son formadas y liberadas zoosporas que aunque no se encuentran en la zona tratada se distribuyen iniciando infecciones secundarias, reduciendo por tal motivo la eficacia del producto.

Lo anterior explica el porque posiblemente se manifestó una desmejoría en el número de mejorados en la parcela 2, que en este caso mantendrá las mismas condiciones de sanidad, alfalfa y suelo facilmente anegable, con lo que se favorece las infecciones secundarias.

Practicamente los estados de ataque de las parcelas se mantuvieron hasta el final del experimento, variando tan sólo aproximadamente entre 7 y 6 de mejorados, hecho que resulta explicable, si tomamos en cuenta que al menos mientras existan las condiciones sanitarias, como sobrieriego, drenaje deficiente, plantas susceptibles e inóculos suficiente, en las huertas que favorezcan las reinfecciones no podrá garantizarse un control efectivo y lo que es más importante en este caso, curar a las plantas de la enfermedad.

CONCLUSIONES.

1º- El producto resultó eficaz en los ensayos "in vitro" a las concentraciones de 1000, 2000 y 3000 ppm para combatir todas las especies de Phytophthora - ensayadas, inhibiendo el desarrollo del micelio, no encontrando aún la concentración que evita la formación de esporangios.

2º- Los resultados en campo, utilizando la concentración de 2000 ppm y durante 6 meses de aplicación y cada 15 días, fueron positivas, aunque no definitivas en la medida en que eran esperados, a pesar de las mejoras registradas, si manifiestan por otro lado niveles de control a la enfermedad y el incremento observado de enfermedad se debe posiblemente a las condiciones de la zona que favorecen la permanencia y persistencia del inóculo de Phytophthora, por lo que se recomienda: estudios preliminares, primero, para establecer una huerta en suelo y sitios adecuados con drenaje óptimo; segundo, plantas con tolerancia a la enfermedad; tercero riegos programados, de acuerdo a la zona y períodos de lluvia. En el caso de manifestarse el patógeno, realizar prácticas culturales intensivas de limpieza y fundamentalmente el evitar en lo posible el exceso de humedad en el suelo y de cultivos alternos con el aguacatero. Para el área de trabajo se recomienda la nivelación de las parcelas 1 y 3, canales de desagüe que drenen rápidamente el agua de riego y lluvia excesiva, y la eliminación total del cultivo de alfalfa, la limpieza constante de la zona inmediata a las raíces primarias, así como la quema de las plantas enfermas y exposición y desinfección del lugar ocupado por el árbol.

Es sumamente difícil, asegurar el éxito de un cultivo si al menos las condiciones que favorecen el desarrollo de cualquier enfermedad no son eliminadas, por lo que ningún control será efectivo en detener la sobrevivencia y disseminación de los patógenos.

Del mismo modo la utilización de productos químicos para cualquiera de las necesidades de los cultivos es justificable, en la medida en que se garanticen la efectividad en la prevención fundamentalmente y no como último recurso, en el que incluso resulta sumamente caro tratar de reincorporar a la producción un cultivo que se encuentre en estados avanzados de infección, y que en el caso de Phytoph-

thora cinnamomi, es sumamente difícil controlar.

La prevención de esta enfermedad se debe de iniciar desde la producción de plántulas de aguacate en los viveros, hasta la plena producción para erradicar la enfermedad más importante del aguacatero: la "tristeza" o "podrición radicular" por Phytophthora cinnamomi.

RESUMEN.

Se evaluó la acción de un nuevo fungicida sistémico Aliette (LS - 74783) a nivel de campo, en la región de Atlixco, Puebla, en parcelas de agua cate infectadas por Phytophthora cinnamomi Rands (Hongo Pythiaceae). Se utilizó una concentración de 2000 ppm de ingrediente activo, aplicándose cada 15 días durante un periodo de 6 meses.

La evaluación se llevó a cabo por los criterios establecidos en el método propuesto por Townsend y Heuberger, para este tipo de ensayos. Los resultados indicaron que el producto, hasta el momento y en la zona ensayada, son positivos, aunque no definitivos como podría esperarse en base a los antecedentes dados para el fungicida. Varias causas son propuestas para la explicación de los resultados obtenidos, destacando el estado fitosanitario de la huerta.

Los ensayos "in vitro" de este fungicida a concentraciones de 50 hasta 3000 ppm de I.A., mostraron que existe una acción fungicida a concentraciones de 700 hasta 3000 ppm de I.A., sobre las diferentes especies de Phytophthora (cactorum, cinnamomi, fragariae, megasperma y parasitica), midiéndose el crecimiento del diámetro micelial, en milímetros, expresándose en gráficas para realizar un análisis comparativo. El fungicida Aliette, por otro lado, resultó poco efectivo a concentraciones de 50 a 500 ppm.

Los efectos del fungicida en la esporulación, de las especies ensayadas, con un tratamiento de 100 ppm, resultaron contradictorias a los reportes en el sentido de que existe inhibición en la esporulación de 10 a 50 ppm, notándose que a una concentración de 100 ppm aún se observa la formación de esporangios, no determinándose hasta ahora la concentración que inhiba la esporulación.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Alexopoulos, C.J. 1962. Introductory Mycology.
2a. Edit. John Wiley and Song. New York.
- 2.- Banihashemi, Z. and J.E. Mitchell. 1976. Factors affecting oospore germination in *Phytophthora cactorum* the incitant of Apple collar rot.
Phytopathology 66: 443-448
- 3.- Brawer, Oscar. 1976. Fitogenetica Aplicada
Edit. Limusa, México.
- 4.- Bingham, F.T. and G.A. Zentmyer, 1954. Relation of Hydrogen ion - concentration of nutrient solution to *Phytophthora* root rot of avocado seedlings.
Phytopathology 44: 611-614
- 5.- Boccas, B. and G.A. Zentmyer, 1976. Genetical studies with interspecific crosses between *Phytophthora cinnamomi* and *Phytophthora parasitica*.
Phytopathology 66: 477-484.
- 6.- Brodrick, H.T. Zentmyer, G.A., R. Wood, 1976. Comparison of various methods for the isolation of *Phytophthora cinnamomi* from avocado soils.
California Avocado Society Yearbook 1975-1976.
- 7.- Brum, J. 1975. Le chancre de Lávocatier provoqué par *Phytophthora cinnamomi* Rands.
Fruits 30(5) f 339-344.
- 8.- Cameron, Ronald H. and G.M. Milbrath, 1965. Variability in the genus *Phytophthora*. I. Effects of nitrogen sources and pH on growth.
Phytopathology 55(6) f 653-657
- 9.- Chamberlain, D.W. 1969. Temperature ranges inducing susceptibility to *pH. megasperma* var. *sojae* in resistant soybeans
Phytopathology 60 : 293-294

- 10.- Cohen, E. and M. Schiffmann Nadel, 1978. Effect of different chemical compounds on Phytophthora citrophthora in vitro and citrus fruit.
Plant Dis. Repr. 62 (5) : 388-389
- 11.- Cohen, E. and M. Schiffmann-Nadel, 1978. Prevention of Brown rot spread by contact infection in packed citrus fruits.
Plant Dis. Repr. 62 (6) : 386-387
- 12.- Dubin, H.J. and R. C. Mc crum, 1975. Phytophthora cactorum associated with crown rot of apples in Maine.
Plant. Dis. Repr. 59:365-366
- 13.- Frossard, P. Haury, A., E. La Ville, 1977. Résultats préliminaires concernant l'activité de l'éthyl phosphite d'aluminium (IS 74 783) sur les maladies à Phytophthora des agrumes, de l'avocatier et de l'ananas.
Phytiatrie-phytopharmacie 26:55-62
- 14.- Gill, H.S. Ribeiro, O.K. and G.A. Zentmyer, 1977. Phytophthora blight of Periwinkles in the coachella valley of California.
Plant Dis. Repr. 61 (7) : 560-561
- 15.- Gill, H.S., Zentmyer, G.A., Riberiro, O.K., L.J. Klure, 1976. A Phytophthora diseases of African Daisies (Osteospermum sp) (in California.
Plant. Dis. Repr. 60 : 647-649,
- 16.- Hegelson, J.P., et al, 1972. A tissue culture system for studying disease resistance: The black shank disease in tobajco callus cultures.
Phytopathology 62 : 1439-1443.
- 17.- Ho. H.H., and G.A. Zentmyer, 1977. Morphology of Phytophthora cinnamomi
Mycologia 69 : 701-713
- 18.- Hyre, R.A. and R.S. Con, 1952. Further studies in the physiology of Phytophthora phaseoli
Phytopathology 42 : 468.
- 19.- Jeffers, W.F. and D.H. Scott, 1952. Significance of physiology of races of races of Phytophthora fragariae Hickman in breeding strawberries for resistance to the red stele disease.
Phytopathology 42 : 468

- 20.- Johnson, L.F. 1952. Control of root rot of corn under green houses conditions by microorganisms antagonistic to Pythium Arrhenomanes.
Phytopathology 42 : 468.
- 21.- Julis, A.J. and C.N. Clayton, 1978. Detection and distribution of Phytophthora cactorum and P. cambivora on apple root stocks
Plant. Dis. Repr. 62 : 516-520.
- 22.- Kaiser, W.J. and P.L. Meléndez 1978. A Phytophthora stem canker disease of Pigeon Pea in Puerto Rico.
Plant. Dis. Repr. 62 : 240-242
- 23.- Kelly, W.D. 1976. Evaluation of trichoderma harzianum impregnated clay granules as a biocontrol for Phytophthora cinnamomi causing damping off of Pine seedlings.
Phytopathology 66 : 1023-1027.
- 24.- Kliegunas, J.T. and W.H. Ko 1976. Dispersal of Phytophthora cinnamomi on the island of Hawaii.
Phytopathology 66 : 457-460.
- 25.- Kliegunas, J.T. et al. 1977. The occurrence of Phytophthora in Hawaii in relation of Ohia forest site and edaphic factors.
Plant. Dis. Repr.
- 26.- Knausses, J.F. 1976. In vitro antagonistic activity of several strep tomyces sp. against species of Pythium and Phytophthora.
Plant. Dis. Repr. 60 : 846-859
- 27.- Ko, W.H. and R.K. Kunimoto, 1976. Rootlet necrosis of Macademia caused by P. cinnamomi.
Plant Dis. Repr. 60(6) : 510-512.
- 28.- Kramer, W. y G. Unterstenhöfer, 1967. Valoración de resultados de ensays fotpsanitarios según el método de Townsend y Heuberger.
Pflanzenschutz-Nachrichten
20/1967, 4 : 657-660
- 29.- Linderman, R.G. and Zeitoun, 1977. Phytophthora cinnamomi causing root rot and wilt of Nursey-grownahved, western Azalea and Salai.
Plant Dis. Repr. 61 : 1045-1048

- 30.- Marx, D.F. 1970. The influence of Ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. V. Resistance of mycorrhizae to infections by vegetative mycelium of Phytophthora cinnamomi.
Phytopathology 60 : 1472-1473.
- 31.- Marx, D.F. 1973. Growth of Ectomycorrhizal and non mycorrhizal short leaf Pine seedling in soil with Phytophthora cinnamomi.
Phytopathology 63 : 18-23.
- 32.- Mc Coy, R.E., et al 1976. A new disease of Pilea caused by P. parasitica
Plant Dis. Repr. 60 : 680-681
- 33.- Mehrlich, F.P. 1934. Nonsterile soil leachate stimulating to zoospore production by Phytophthora sp.
Phytopathology 24 : 1139-1140.
- 34.- Mc Intosh, D.L. 1977. Phytophthora cactorum propagule density levels in orchard soil.
Plant. Dis. Repr. 60 : 680-681
- 35.- Munnecke, D.E. and J.L. Bricher (Phytophthora root rot of Pinus radiata in Christmas tree planting.
Plant. Dis. Repr. 60 : 928-932
- 36.- Novoroske, R.L. 1975. Dowco 269 : A new systemic fungicide for control of Phytophthora parasitica tobacco
Phytopathology 65 : 22-27
- 37.- Husbaum, C.J. 1952. Host parasite relations of Phytophthora parasitica var nicotianae in roots of resistant and susceptible tobacco.
Phytopathology 42 : 286
- 38.- Nusbbaum, C.J., Lucas, G. B. and J.F. Chaplin, 1952. Estimating the inoculum potential of Phytophthora parasitica var. nicotianae in soil.
Phytopathology 42 : 286.
- 39.- Papavizas, G.C. and J.A. Lewis, 1976. Acetone infusion of Pyroxychor into soybean, seed for control of P. megasperma var. sojae
Plant. Dis. Repr. 60 : 484-488

- 40.- Partridge, J.E. and N.T. Keen. 1976. Association of Phytoalexin Kievitone with single gene resistance of cowpeas to Phytophthora vignae.
Phytopathology 66 : 426-429
- 41.- Peng, J.H. and L.L. Black, 1976. Increased proteinase inhibitor activity in response to infection of resistant tomato plants by Phytophthora infestans.
Phytopathology 66 : 958-963
- 42.- Pointis, R.E. 1976. Una podredumbre del cuello de la piña (Ananas comosus (L.) Merr.) en Venezuela, causada por Phytophthora parasitica. Daster
- 43.- Raabe, D. Robert 1978. Susceptibility of some proteaceae to Phytophthora cinnamomi and Pythium vexas.
Plant. Dis. Repr. 62 : 888-889
- 44.- Horriere, Daniel, 1978. Rhone-poulenc-phytosanitaire.
Direction Recherche et developpement developpement biologique
- 45.- Rowe, R.C. 1977. Potato pink rot in Ohio caused by Phytophthora erythro-septica and P. cryptogea.
Plant. Dis. Repr. 61 : 807-810
- 46.- Rosse, E.W. and D.H. Marx. 1972. Susceptibility of Sand to Phytophthora cinnamomi.
Phytopathology 62 : 1197-1200
- 47.- Salazar, Gómez A. 1969. Variabilidad de P. cinnamomi agente causante de la tristeza del aguacate.
INIA, Chap. Méx.
- 48.- Savage, E.J., Clayton, C.W. Hunter, 1968. Homothallism, Heterothallism and interspecific hybridization in the genus Phytophthora.
Phytopathology 58 : 1004-1021
- 49.- Sneh, B. Humble., Susan, J. and J.L. Lockwood, 1977. Parasitism of oospores of Phytophthora megasperma var. sojae, P. cactorum Pythium sp, Aphanomyces euteiches in soil by Oomycetes, Chytridiomycetes, Zygomycetes, Actinomycetes and Bacteria.
Phytopathology 67 : 622-628

- 62.- -- 1965. Bacterial stimulation of sporangios production in Phytophthora cinnamomi.
Reprinted from Science 150-1178-1179
- 63.- -- 1974. Studies of P. citrocola, isolated from Persea americana.
Mycologia 66 : 830-845.
- 64.- -- 1976. Distribution of the A¹ mating type P. cinnamomi.
Phytopathology 66 : 701-703
- 65.- -- et al 1976. Variability in grow of P. cinnamomi relation to temperature.
Phytopathology 66 : 983-986
- 66.- -- et al 1976. Avocado root stocks resistant to P. cinnamomi.
Calif. Avocado Society Yearbook 1976.
- 67.- -- 1977. New Fungicides for Control of Phytophthora cinnamomi
Calif. Avocado Society Yearbook 1977
- 68.- -- et al 1977. Studies of P. cinnamomi
Calif. Avocado Society 1977
- 69.- -- et al. 1977. Resistance to Phytophthora root rot
Calif. Avocado Society 1977

- 50.- Sterne, R.E., Zentmyer, G.A. and F.T. Bingham, 1976. The effect of osmotic potential and specific ions on growth of Phytophthora cinnamomi
Phytopathology 66 : 1398-1402
- 51.- Taylor, G.S. 1978. Rapid production of P. parasitica var. nicotianae zoospores in vitro from infested cloth.
Plant Dis. Repr. 62 : 281-282
- 52.- Thomas, C.A. and V.L. Blount, 1976. Race D of P. phaseoli.
Plant. Dis. Repr. 60 : 308
- 53.- Tsao, P.H., G. Ocana, 1969. Selective isolation of species of Phytophthora from natural soils on improved antibiotic medium.
Nature 223 : 636-638
- 54.- Toker, C.M. 1933. Taxonomy of the genus Phytophthora. De Bary. University of Missouri.
- 55.- Upstone, Michael, 1974. Occurrence of Phytophthora rot of apples.
Commercial Grower 16 : 236-237
- 56.- Vegh, L. Baillot, F.J. Roy, 1977. Etude de l'activite de l'ethyl-phosphite d'aluminium (LS 74 783) vis-a-vis de P. cinnamomi Pands, agent du dépérissement des arbustes d'ornement.
Phytiatric-phytopharmacie 26 : 85-86
- 57.- Videla, C. 1963. Pudrición Blanda de la Piña. Venezuela.
- 58.- Waterhouse, M. Grace. 1956. The genus Phytophthora
The Commonwealth Mycological Institute
Miscellaneous Publication 12
- 59.- Zacharius, R.M., S.F. Osman, 1976. Effect of R/3 in resistance of the Wauseon Potato tuber to Phytophthora infestans.
Phytopathology 66 : 964-966
- 60.- Zentmyer, G.A. 1952. Phytophthora cinnamomi on avocado in México and Costa Rica and the other avocado diseases in México
Plant. Dis. Repr. 36(1) : 31-32.
- 61.- -- 1963. Biological control of P. root rot of avocado with alfalfa meal.
Phytopathology 53 (12) : 1383-1387