

Zentmyer, *et al.*, 1994; Erwin y Ribeiro, 1996; Latorre *et al.*, 1998).

En Chile, la tristeza es una enfermedad muy frecuente a lo largo en las zonas de producción de palto. A menudo ocurre con una alta incidencia y severidad en suelos arcillosos, saturados por periodos prolongados (Latorre, *et al.*, 1998). Tanto en palto como en otros cultivos, la saturación del suelo favorece el desarrollo de la pudrición radical y del cuello causado por especies del género *Phytophthora*. Estas condiciones promueven la producción de esporangios y zoosporas; además, predispone los árboles a la infección, en tanto se pueden dañar las raíces por anoxia, facilitando de este modo la penetración e invasión de las raíces por *P. cinnamomi* (Zentmyer y Richards, 1952; Stolzy, 1965; Sterne *et al.* 1977a y 1977b; Kuan y Erwin, 1980; Wilcox y Mircetich, 1985a y 1985b; Browne y Mircetich, 1988; Bowers y Mitchell, 1990; Wilcox y Latorre, 1994).

En este trabajo se identificó y se caracterizó la especie de *Phytophthora* asociada a la tristeza del palto y se estudió el efecto de la inundación del suelo sobre el desarrollo de esta enfermedad.

MATERIALES Y METODOS

Aislamientos. Los aislamientos se obtuvieron desde raíces necróticas de paltos cv. Hass, injertados en paltos cv. Mexicola, con síntomas de tristeza, ubicados en huertos comerciales en la zona de Quillota, V Región y Peumo, VI Región de Chile. Cada muestra se lavó y se desinfectó en etanol al 70% por 30 seg, se secó en toalla de papel e inmediatamente se sembró en agar maíz (17 g·L⁻¹), conteniendo los siguientes antibióticos y fungicidas: pimaricina (10 g·L⁻¹), vancomicina (200 g·L⁻¹) y pentacloronitrobenceno, PCNB, (100 g·L⁻¹) (P₁₀PV). Los cultivos se incubaron por 6 días a 20 °C, antes de transferir puntas de hifas obtenidas en los márgenes de colonias presuntamente identificadas como *Phytophthora*.

Caracterización e identificación. Con el propósito de caracterizar e identificar las especies del género

Phytophthora asociadas a la pudrición radical se seleccionaron cuatro aislamientos, inicialmente identificados como especies de *Phytophthora* según el color y aspecto de las colonias en medio P₁₀PV y por la presencia de un micelio cenocítico, ramificado en ángulos rectos y con presencia de protuberancias.

Trozos de micelio en medio P₁₀PV se transfirieron a jugo de zanahoria estéril y se incubaron por 36 h a 20 °C con luz continua. Posteriormente, el crecimiento micelial obtenido se lavó en agua corriente y se trató con solución salina (CaNO₃, 2,36 g·L⁻¹; KNO₃, 0,5 g·L⁻¹; MgSO₄, 1,0 g·L⁻¹ más 1 mL·L⁻¹ de la solución de EDTA, 13,0 g·L⁻¹; KOH, 7,5 g·L⁻¹; y FeSO₄, 24,5 g·L⁻¹), mantenida a 5 °C, antes de incubar el micelio por 48 h en extracto de suelo al 1% p/v. La presencia de esporangios de determinó por observación directa bajo microscopio y al menos 50 esporangios por cada aislamiento se caracterizaron en relación con la presencia o ausencia de papilas, caducidad, proliferaciones internas y externas, y ancho y largo.

La formación de oogonios, anteridios y oosporas se determinó en medio agar V-8, preparado con jugo V-8 clarificado. Cada aislamiento se cultivó conjuntamente con un aislamiento tipo de *P. cinnamomi* A₁ y A₂.

La identificación de la especie de *Phytophthora* se realizó según las claves de Newhook, *et al.* (1978), Waterhouse (1963) y de acuerdo con la descripción de Erwin y Ribeiro (1996).

Efecto de la inundación en el desarrollo de la enfermedad. El efecto de la inundación del substrato sobre el desarrollo de la tristeza se estudió en paltos cv. Mexicola de 120 días. Cada planta se inoculó con 200 mL de una suspensión de micelio (10⁶ propágulos por mL) obtenido desde cultivos en jugo de zanahoria. Las plantas testigo se trataron con 200 mL de agua estéril.

Todas las plantas recibieron seis ciclos quincenales de inundación para lo cual se

colocaron en recipientes de mayor volumen de modo de cubrir complemente el suelo y mantener 2 cm de altura de agua por sobre el cuello de cada planta durante 0, 12, 24, 48 o 96 h. Una vez finalizado cada ciclo de inundación los maceteros se drenaron y diariamente se repuso el peso de agua necesario para mantenerlos en un nivel equivalente al 20% del nivel saturación del sustrato, equivalente a un potencial mátrico de -350 mbar. El efecto de la inundación del suelo se evaluó, luego de 90 días, determinando la proporción de raicillas podridas, número de hojas, área foliar y diámetro y altura del tallo. Los tratamientos se distribuyeron en forma completamente al azar con arreglo factorial 2×4 (inoculación \times tiempo de inundación), con cuatro repeticiones y una planta como unidad experimental.

RESULTADOS Y DISCUSION

Todos los aislamientos de *Phytophthora* obtenidos en este trabajo se identificaron como *P. cinnamomi* (Newhook, *et al.*, 1978; Waterhouse, 1963 y Erwin y Ribeiro, 1996). Estos aislamientos desarrollaron colonias blancas con aspecto cameloide en medio P₁₀PV, provisto de micelio cenocítico, con protuberancias tipo coraloide, ramificado en ángulos rectos y presencia de clamidosporas terminales. En medios líquidos, se obtuvieron esporangios no papilados, ovoides a elipsoides, de $63,9 \times 39,4 \mu\text{m}$ en promedio, con una relación largo:ancho entre 1,3 y 1,9 (Figura 1A). Se observaron proliferaciones internas en los esporangios y hubo desarrollo de oogonios y anteridios anfígenos al aparearlos con las razas de compatibilidad sexual A₁ y A₂ (Figura 1B).

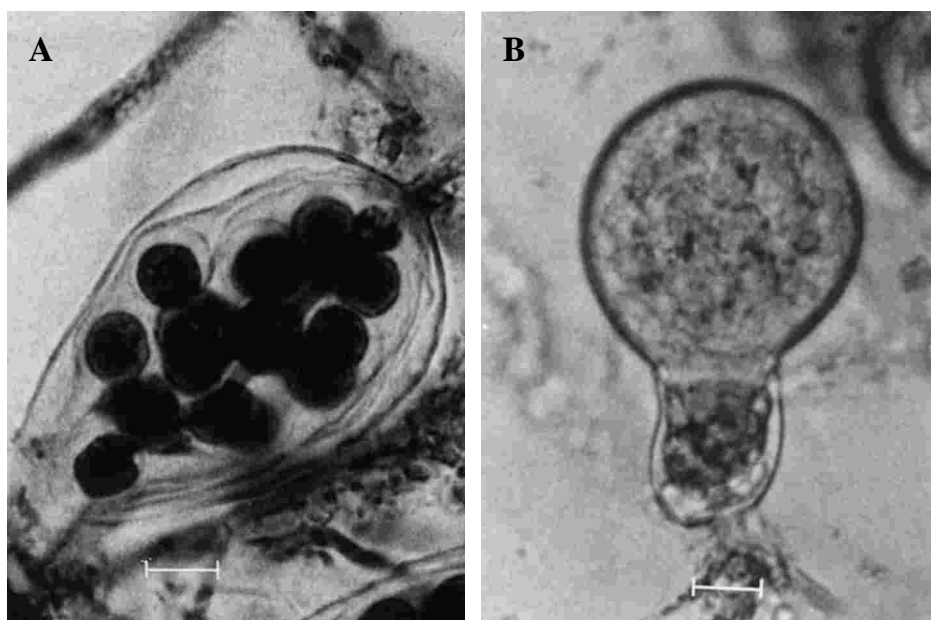


Figura 1. *Phytophthora cinnamomi*. A. Esporangio ovoide a elipsoide con presencia de zoosporas internamente desarrolladas. B. Oospora y anteridio anfígeno. Barras = $10 \mu\text{m}$.

Figure 1. *Phytophthora cinnamomi*. A. Sporangium, ovoid to ellipsoid, and zoospores developed within the sporangium. B. Oospore and amphigenous antheridia. Bars = $10 \mu\text{m}$.

Este trabajo confirma la presencia de *P. cinnamomi* como agente causal de la tristeza del palto y aporta evidencias respecto de la presencia de las razas A₁ y A₂ de compatibilidad sexual en Chile (Mujica y Vergara, 1980; Latorre *et al.*, 1998). La raza A₁ se encuentra ampliamente distribuida en el mundo, pero la raza A₂ sólo se ha identificado en algunos lugares (Erwin and Ribeiro, 1996). La presencia de ambas razas de compatibilidad sexual sugiere que *P. cinnamomi* puede sobrevivir como oosporas en Chile; sin embargo, este resultado necesita ser confirmado.

Las plantas inoculadas, independientemente del manejo del agua del suelo, desarrollaron marchitez, clorosis, necrosis foliar, escaso crecimiento, menor número de hojas y una reducida superficie foliar respecto de los testigos sin inocular. Los síntomas aéreos siempre estuvieron asociados con la presencia de pudrición parcial o total de las raíces absorbentes, lo que eventualmente determinó la muerte de plantas.

Todas las plantas inoculadas, expuestas a ciclos de 96 h de inundación, desarrollaron un 100% de

pudrición de raíces, muriendo antes de finalizar este estudio. Por este motivo, estos resultados se excluyeron del análisis estadístico, excepto en lo relacionado con la pudrición radical. La inoculación e inundación tuvo un efecto significativo ($p < 0,001$ y $0,045$, respectivamente) sobre el grado de pudrición de las raíces y respecto del desarrollo foliar y del tronco. Sin embargo, la interacción entre inoculación y el período de inundación no fue significativa para los parámetros en estudio. Por lo tanto, el efecto de la inoculación y de la inundación se analizó independientemente.

Los paltos inoculados desarrollaron en promedio 43,7% de pudrición radical, en relación con un 5,5% obtenido en los testigos sin inocular. Muy probablemente, la pudrición observada en los testigos se debió a la anoxia parcial de las raíces ocurrida durante los periodos de saturación del suelo. Las plantas inoculadas presentaron una significativa ($p < 0,05$) reducción en el número de hojas por planta, área foliar, altura y diámetro del tronco (Cuadro 1).

Cuadro 1. Efecto de *Phytophthora cinnamomi* en el desarrollo de paltos (*Persea americana*) cv. Mexicola comúnmente empleado como portainjerto en Chile.

Table 1. The effect of *Phytophthora cinnamomi* on avocado trees (*Persea americana*) cv. Mexicola commonly used as rootstock in Chile.

Tratamientos	Efectos promedios sobre:				
	Pudrición radical %	Hojas		Tallos	
		planta n°	área cm ²	altura cm	diámetro cm
Inoculado	43,7 a ¹	2,9 a ¹	1002,2 a ¹	31,8 a ¹	0,63 a ¹
Sin inocular	5,5 b	29,7 b	1950,0 b	42,3 b	0,77 b

¹Promedios seguidos por letras diferentes, en cada columna, son estadísticamente diferentes entre sí de acuerdo con Duncan-Waller k ratio t test ($p < 0,05$).

Means in columns followed by the same letter are not significantly different according to Duncan-Waller k ratio t test ($p < 0,05$).

Los ciclos de inundación tuvieron un efecto estadísticamente muy significativo ($p < 0,001$) sobre la pudrición de raíces desarrollada en plantas inoculadas, variando entre 12,1 y 62,5% de pudrición. Las plantas sin inocular presentaron una necrosis radical parcial (3,3 a 11,3%), atribuible a efectos diferentes de los causados por *P. cinnamomi* (Cuadro 2). En forma similar los ciclos de inundación redujeron significativamente ($p < 0,05$) el área foliar,

desde 1305 cm² en plantas sin inundar a 854,3 cm² en plantas expuestas a seis ciclos de inundación, cada uno por 48 h. Estos ciclos de inundación no tuvieron un efecto estadísticamente significativo sobre el número de hojas, en la altura y en el diámetro promedio de los tallos. En plantas sin inocular, el tiempo de inundación tuvo un efecto significativo sólo sobre la altura, variando desde 38,3 a 47,5 cm (Cuadro 2).

Cuadro 2. Efecto de la duración de los ciclos de inundación del suelo en el desarrollo de la pudrición radical y síntomas aéreos, causados por *Phytophthora cinnamomi* en paltos (*Persea americana*) cv. Mexicola.

Table 2. The effects of the length of soil saturation period on the development of root rot and aerial symptoms caused by *Phytophthora cinnamomi* on avocado trees (*Persea americana*) cv. Mexicola.

Inundación h ¹	Pudrición radical %	Efectos promedios sobre:			
		Hojas		Tallos	
		planta n°	area cm ²	altura cm	diámetro cm
<i>Inoculado</i>					
0	12,1 a ²	27,8 ns	1305,0 a ²	35,4 ns	0,70 ns
12	55,0 b	24,8	905,4 b	28,3	0,60
24	45,0 ab	24,3	944,1 b	30,5	0,65
48	62,5 b	22,5	854,3 b	33,4	0,58
96	100,0 c	nd ³	nd ³	nd ³	nd ³
<i>Sin inocular</i>					
0	3,3 ns	31,3 ns	2457,4 ns	47,5 a ²	0,80 ns
12	5,0	29,8	2003,3	44,1 b	0,78
24	2,5	29,3	1621,0	38,3 d	0,70
48	11,3	28,5	1718,1	39,3 c	0,80

¹Las plantas recibieron seis ciclos de inundación, cada dos semanas, por los tiempos indicados.

Plants were subjected to six flooding cycles every two weeks.

²Promedios de cuatro repeticiones seguidos por diferentes letras son estadísticamente diferentes entre sí según la comparación de rango múltiple de Duncan-Waller k ratio t test ($p < 0,05$).

Means in columns followed by the same letter are not significantly different according to Duncan-Waller k ratio t test ($p < 0,05$).

³nd = no determinado. ns = no significativo.

nd = not determined. ns = not significant.

La relación entre el tiempo de inundación y la incidencia de pudrición radical se explicó por un modelo lineal $Y = 24,5 + 0,89X$ ($R^2 = 0,86$; $p = 0,05$) para las plantas inoculadas e $Y = 2,20 + 0,16X$ ($R^2 = 0,66$; $p = 0,19$) para las plantas sin inocular (Figura 2).

De acuerdo con estos resultados, la inundación del suelo favoreció la pudrición de raicillas producida por *P. cinnamomi* en paltos cv. Mexicola, comúnmente empleado como portainjerto en Chile. El mayor efecto se obtuvo al inundar el suelo por periodos de 96 h, situación que ocasionó un rápido colapso y muerte total de las plantas. Resultados similares se han comunicado previamente en paltos y otros hospederos de *P. cinnamomi*. Por ejemplo, Sterne, *et al.* (1977a y b) obtuvieron sobre un 50% de pudrición radical causado por *P. cinnamomi* en *Persea indica* solo cuando las plantas estuvieron saturadas o parcialmente saturadas, con potenciales mátricos (ψ_m) de 0 y -50 a -100 mbar, respectivamente, mientras que con $\psi_m = -250$ mbar solo se desarrolló un 4-8% de pudrición.

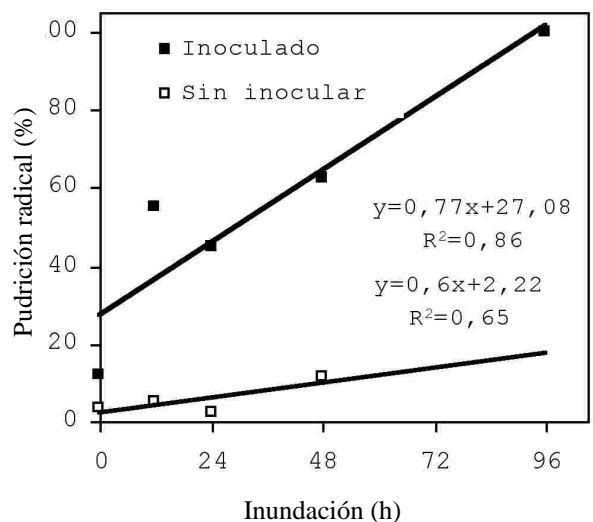


Figura 2. Relación entre el tiempo de saturación (inundación) del suelo y la severidad de la pudrición de raíces causada por *Phytophthora cinnamomi* en paltos cv. Hass sobre portainjerto Mexicola, determinada luego de 90 días de incubación.

Figure 2. Relationship between the flooding period and severity of the root rot caused by *Phytophthora cinnamomi* on avocado cv. Hass budded on Mexicola rootstock.

De acuerdo con las condiciones experimentales de este estudio seis ciclos de inundación del suelo por 24 a 48 h cada dos semanas fueron suficientes para producir un 50% de pudrición radical luego de 90 días. Este tiempo de saturación del suelo coincide con Wilcox y Mircetich (1985a y b) quienes demostraron que la inundación quincenal por 48 h fue suficiente para producir una severa pudrición radical (41-98%), causada por *P. cambivora*, *P. cryptogea*, *P. drechsleri* o *P. megasperma*, en cerezos Mahaleb. En consecuencia, las nuevas plantaciones comerciales de palto deberían considerar el drenaje del terreno, y la correcta planificación del riego, para evitar anegamientos innecesarios por más de 24 h consecutivas los que de acuerdo con los resultados de este estudio, favorecen el desarrollo de pudrición radical causado por *P. cinnamomi*.

RESUMEN

La tristeza del palto (=aguacate) (*Persea americana* Mill), causada por *Phytophthora cinnamomi* Rands ocurre muy a menudo en huertos ubicados en suelos arcillosos y saturados por periodos prolongados. Este trabajo tuvo el propósito de caracterizar e identificar la especie de *Phytophthora* asociada a la tristeza del palto en Chile y de estudiar el efecto de la saturación (potencial mátrico = 0) del suelo sobre el desarrollo de esta enfermedad. Los aislamientos obtenidos correspondieron a *P. cinnamomi*, identificándose las razas A₁ y A₂. Paltos inoculados del cultivar Mexicola, independientemente del manejo del agua del suelo, desarrollaron marchitez, clorosis, necrosis foliar y tuvieron un significativo ($p < 0,05$) menor crecimiento, inferior número hojas y una reducida superficie foliar respecto de los testigos sin inocular. Los síntomas aéreos estuvieron siempre asociados con la presencia de pudrición parcial o total de las raíces, lo que eventualmente provocó muerte de plantas. Los ciclos de inundación realizados quincenalmente por 12, 24, 48 o 96 h tuvieron un efecto estadísticamente significativo ($p < 0,001$) en el desarrollo de esta enfermedad en paltos del cultivar Mexicola inoculados con *P. cinnamomi*, los que desarrollaron entre 12,1 y 62,5% de

pudrición radical, con relación a plantas igualmente inundadas sin inocular. La relación entre el tiempo de inundación y la incidencia de pudrición radical obtenida por regresión lineal fue igual a $Y = 24,5 + 0,89X$ ($R^2 = 0,86$; $p = 0,05$) e $Y = 2,20 + 0,16X$ ($R^2 = 0,66$; $p = 0,19$) en paltos inoculados y sin inocular, respectivamente. De acuerdo con estos resultados repetidos periodos de inundación por 24 h serían suficientes para producir un 50% de pudrición radical. En consecuencia, y a pesar de las limitaciones que pudieran existir para libremente extrapolar estos resultados a las condiciones de campo, es posible concluir que las inundaciones reiteradas y frecuentes del suelo, por periodos iguales o superiores a 24 h, son conductivas a un severo desarrollo de tristeza del palto, causada por *P. cinnamomi*.

Palabras clave: Aguacate, palto, *Persea americana*, *Phytophthora*, tristeza del palto.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue parcialmente financiado por la Comisión de Investigación Científica y Tecnológica (Conicyt) de Chile, a través del proyecto Fondecyt 1951025.

LITERATURA CITADA

- Browne, G.T., and S.M. Mircetich. 1988. Effect of flood duration on development of *Phytophthora* root and crown rots of apple. *Phytopathology* 78:846-851.
- Bowers, J.H., and D.J. Mitchell. 1990. Effect of soil-water matric potential and periodic flooding on mortality of pepper caused by *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* 80:1447-1450.
- Erwin, D.C., and O.K. Ribeiro. 1996. *Phytophthora Diseases Worldwide*. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA. 562 pp.
- Kuan, T.L., and D.C. Erwin. 1980. Predisposition effect of water saturation of soil on *Phytophthora* root rot of alfalfa. *Phytopathology* 70:981-986.

- Latorre, B.A., F. De Andraca y X. Besoain. 1998. Tristeza del palto. ACONEX (Chile) 59:18-23.
- Mujica, F. y C. Vergara. 1980. Flora Fungosa Chilena. Segunda ed. Universidad de Chile, Facultad de Agronomía. Ciencias Agrícolas N°5. Santiago, Chile. 308 pp.
- Newhook, F.J., G.M. Waterhouse, and D.J. Stamps. 1978. Tabular key to the species of *Phytophthora* de Bary. Mycological Paper 143. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, U.K. 20 pp.
- Sterne, R.E., G.A. Zentmyer, and M.R. Kaufman. 1977a. The effect of matric and osmotic potential of soil on *Phytophthora* root disease of *Persea indica*. Phytopathology 67:1491-1494.
- Sterne, R.E., G.A. Zentmyer, and M.R. Kaufman. 1977b. The influence of matric potential, soil texture, and soil amendment on root disease caused by *Phytophthora cinnamomi*. Phytopathology 67:1495-1500.
- Stolzy, L.H., J. Letey, L.J. Klotz, and C.K. Laubanauskas. 1965. Water and aeration as factors in root decay of *Citrus sinensis*. Phytopathology 55:270-275.
- Waterhouse, G.M. 1963. Key to the Species of *Phytophthora* de Bary. Mycological Paper 92. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, U.K. 22 pp.
- Wilcox, W.F. y B.A. Latorre. 1994. Pudrición radical y del cuello en frutales producidos por *Phytophthora*. ACONEX (Chile) 43:5-12.
- Wilcox, W.F., and S.M. Mircetich. 1985a. Influence of soil water matric potential on the development of *Phytophthora* root and crown rots of Mahaleb cherry. Phytopathology 75:648-653.
- Wilcox, W.F., and S.M. Mircetich. 1985b. Effect of flooding duration on the development of *Phytophthora* root rot and crown rots of cherry. Phytopathology 75:1451-1455.
- Zentmyer, G.A. 1980. *Phytophthora cinnamomi* and the Diseases it Causes. Monograph 10. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA. 96 pp.
- Zentmyer, G.A., J. Menge, and H. Ohr. 1994. *Phytophthora* root rot. p. 77-79. In: Compendium of Tropical Fruit Diseases. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA.
- Zentmyer, G.A., and S.J. Richards. 1952. Pathogenicity of *Phytophthora cinnamomi* to avocado trees and the effects of irrigation on disease development. Phytopathology 42:35-37.

