

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

FACULTAD DE AGRONOMÍA

ÁREA DE FRUTICULTURA



TALLER DE LICENCIATURA

**ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN ENTRE TRISTEZA DEL PALTO
(*Phytophthora cinnamomi*) Y CANCROSIS DE RAMILLAS
(*Fusicoccum aesculi*) EN PLANTAS DE PALTO var. HASS.**

IVANNA MURIEL ROJAS JAMETT

QUILLOTA CHILE

2004

ÍNDICE DE MATERIAS

	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. <i>Phytophthora cinnamomi</i>	4
2.1.1. Taxonomía	4
2.1.2. Morfología	4
2.1.3. Rango de hospederos	7
2.1.4. Sintomatología	8
2.1.5. Ciclo de la enfermedad y epidemiología	10
2.1.6. Factores predisponentes	12
2.1.6.1. Humedad del suelo	12
2.1.6.2. Temperatura	14
2.1.6.3. Aireación	15
2.1.6.4. Interacciones en el suelo	16
2.2. <i>Fusicoccum aesculi</i>	16
2.2.1. Taxonomía	16
2.2.2. Morfología	17
2.2.3. Rango de hospederos	18
2.2.4. Sintomatología	19
2.2.5. Ciclo de la enfermedad y epidemiología	20
2.2.6. Factores predisponentes	22
2.2.6.1. Humedad relativa	22
2.2.6.2. Temperatura	23
3. MATERIAL Y MÉTODO	24
3.1. Aislamiento para hongos	24
3.1.1. <i>Phytophthora cinnamomi</i>	24
3.1.2. <i>Fusicoccum aesculi</i>	25
3.2. Identificación	25
3.2.1. <i>Phytophthora cinnamomi</i>	25
3.2.2. <i>Fusicoccum aesculi</i>	26
3.3. Conservación de cepas obtenidas de los aislamientos	26
3.4. Inoculación	27
3.4.1. <i>Phytophthora cinnamomi</i>	27
3.4.2. <i>Fusicoccum aesculi</i>	28
3.5. Diseño experimental	28
3.6. Evaluación de los resultados	30

4. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	31
4.1. Identificación de patógenos	31
4.1.1. <i>Phytophthora cinnamomi</i>	31
4.1.2. <i>Fusicoccum aesculi</i>	32
4.2. Evaluación de los tratamientos	33
4.2.1. Incremento del crecimiento en la altura de plantas	33
4.2.2. Número de hojas	37
4.2.3. Área foliar total	39
4.2.4. Largo de cancro	42
5. CONCLUSIONES	47
6. RESUMEN	48
7. ABSTRACT	49
8. LITERATURA CITADA	50
ANEXOS	

1. INTRODUCCIÓN

En la especie *Persea americana* Mill, la pudrición de raicillas ocasionada por *Phytophthora cinnamomi* Rands, corresponde a la enfermedad más importante y más ampliamente distribuida en esta especie frutal, tanto en Chile como en el mundo.

En Chile es particularmente grave, debido a que gran parte de la zona cultivada con esta especie se encuentra en suelos pesados o arcillosos, los que al acumular una excesiva humedad se ven afectados por este patógeno (ARENAS, 1998).

La tristeza se caracteriza por un progresivo decaimiento de los árboles enfermos, los que inicialmente presentan hojas flácidas, pequeñas, con clorosis leve o moderada. Existe defoliación y eventualmente muerte parcial o total de los árboles enfermos. El crecimiento vegetativo se detiene y la producción se reduce progresivamente, tanto en cantidad como en calidad (LATORRE, DE ANDRACA y BESOAIN, 1998).

En Chile, sólo se han descrito como enfermedades económicamente importantes la tristeza del palto y verticilosis causada por *Verticillium dahliae*, sin embargo en 1986 un grupo de investigación del INIA reportó a *Dothiorella* sp. como el agente causante de canchosis en ramas de palto. BESOAIN *et al.* (2003) describieron la fase sexual de *Dothiorella* sp. (*Botryosphaeria berengeriana*) afectando a ramillas y frutos de palto.

Su sintomatología característica incluye canchales en ramas, acompañados de exudación de savia, que se solidifica y adquiere apariencia salina, debido a su color blanco y consistencia sólida. En frutos produce una pudrición de color gris (PINTO, ALVAREZ y TOBAR, 1986).

Fusicoccum aesculi, es un hongo polífago de aparición frecuente en las regiones templadas y tropicales, donde ha sido relacionado con cáncer y muerte regresiva de ramas, troncos, con podredumbres de raíces y frutos. Ha sido reportada como causa de podredumbre en frutos de palto, cítricos, duraznero, guayabo, manzano y pistacho (MICHAILIDES, 1991; KUNIMOTO y KO, 1984; RITTENBURG y HENDRIX, 1983).

El daño en las raíces alimenticias debido a la pudrición causada por *Phytophthora cinnamomi*, provoca un estrés hídrico en las plantas de palto, por otra parte, el estrés hídrico es uno de los factores predisponentes para la canchosis de ramillas provocada por *Fusicoccum aesculi*, por lo tanto se puede inferir que ambas enfermedades podrían interactuar en el árbol.

El objetivo principal de este estudio fue evaluar el posible sinergismo existente entre la tristeza del palto y la canchosis de ramillas, ambas enfermedades que afectan al cultivo del palto.

Objetivos específicos, incluyen la obtención de aislados de *Phytophthora cinnamomi* a partir de raíces de palto y de *Fusicoccum aesculi* desde canchales

en ramillas de palto. Además de determinar la virulencia de las cepas de *Fusicoccum aesculi*.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Phytophthora y *Pythium* son géneros de la familia Pythiaceae. La forma correcta de distinción entre ambos géneros está en la germinación esporangial, pues las zoosporas de *Pythium* se diferencian en una vesícula formada en el extremo del esporangio, en cambio en *Phytophthora* se producen y diferencian en el esporangio, sin formar vesícula (ALEXOUPOLUS y MIMS, 1979).

2.1. *Phytophthora cinnamomi*:

2.1.1. Taxonomía

Phytophthora cinnamomi Rands pertenece a la División Mastigomycota, subdivisión Diplomastigomycotina, clase Oomycetes, orden Peronosporales y familia Pythiaceae (AGRIOS, 1985; ALEXOUPOLUS y MIMS, 1979; RIBEIRO, 1978).

2.1.2. Morfología

El micelio no presenta septos y su principal característica que sirve para diferenciarla de otras especies de *Phytophthora*, la constituyen sus hifas con hinchazones, las que adquieren un aspecto botrioso a coraliforme (ERWIN y RIBEIRO, 1996).

Se caracteriza, además, por ser hialino, ligero o profusamente ramificado, cenocítico, pero en la medida que el tiempo transcurre, se pueden apreciar carentes de protoplasma y a veces aparecen septos (RIBEIRO, 1978; WATERHOUSE, 1963).

El esporangióforo es indiferenciable de las hifas (RIBEIRO, 1978; WATERHOUSE, 1963). Los esporangios son no papilados de forma ovoide, piriforme o elipsoidal a elongado-elipsoidal con un ápice compacto, no sobresaliente. Se estrechan o redondean hacia la base (ERWIN y RIBEIRO, 1996). Miden en promedio 75 μm de largo y 40 μm de ancho, aunque esto último es variable (HO y ZENTMYER, 1977).

Los esporangios se producen a potenciales mátricos del suelo de entre -10 mb y -2500 mb a 15-35°C (con un óptimo a 24°C, pH 5,5). La temperatura, potencial mátrico y pH del suelo, también influyen en que los esporangios germinen directamente o liberen zoosporas móviles (SMITH *et al.*, 1992). Son incoloros o de color amarillo leve en algunas especies se produce proliferación, en donde el nuevo esporangio crece desde la base de un esporangio vacío. Las proliferaciones pueden ser internas o externas y el esporangio puede ser caduco o deciduo. El contenido interior se divide en un número indefinido de zoosporas reniformes y biflageladas (RIBEIRO, 1978; WATERHOUSE, 1963), con una marcada habilidad para sintetizar una pared celular enquistada en pocos minutos (BARTNICKI-GARCÍA y WANG, 1983).

Posee clamidiosporas apiladas en posición terminal o intercalada, y su forma varía de esférica a ovoide (RIBEIRO, 1978; WATERHOUSE, 1963).

Son estructuras de sobrevivencia que se forman abundantemente en cultivos y tejidos infectados, poseen un diámetro promedio de 41 μm (ERWIN y RIBEIRO, 1996). Son globosas y de paredes delgadas (ZENTMYER, 1980). Estas estructuras son eventualmente liberadas en el suelo, donde persisten por períodos prolongados y germinan a través de varios tubos germinativos (COFFEY, 1991).

Esta especie es heterotálica, las oosporas se forman cuando los tipos A1 y A2 se aparean (ZENTMYER, KLURE y POND, 1979; GALINDO y ZENTMYER, 1964; HAASIS y NELSON, 1963). Las oosporas se pueden formar sin fertilización en cultivos del tipo A2, cuando es incubado en extractos de raíces (ZAKI *et al.*, 1983; ZENTMYER, 1952) o en granos de avena. Los oogonios son redondos y a menudo con una base estrechada, de pared lisa, hialina, cuyo diámetro promedia 40 μm (ROYLE y HICKMAN, 1964). Las oosporas son redondas, hialinas a amarillas-cafesosas y su diámetro promedio depende del medio de cultivo, aunque va en un rango de 20-40 μm (RIBEIRO, ERWIN y ZENTMYER, 1975).

El patógeno puede sobrevivir en suelos húmedos por muchos años, ya sea en raíces alimenticias muertas, como micelio inactivo, clamidiosporas u oosporas. Las oosporas se forman en presencia de raíces de palto, pero no se encuentran en tejidos naturalmente infectados (ZENTMYER y MIRCETICH, 1966). El agua libre no es esencial para la producción de clamidiosporas y oosporas de *Phytophthora cinnamomi*, aunque estas esporas pueden ser producidas en medio líquido (MIRCETICH y ZENTMYER, 1967).

2.1.3. Rango de hospederos

Phytophthora cinnamomi fue descrita por primera vez por Rands en 1922, y desde ese tiempo se ha constatado que causa pudrición de raíces y/o canchros en aproximadamente 1000 especies diferentes, en unos 70 países (COFFEY, 1991).

Phytophthora cinnamomi ataca a más de 950 especies y cultivares, principalmente de plantas leñosas, muchas de éstas se cultivan en Europa como árboles y arbustos ornamentales o como árboles para madera o fruta. Entre ellos se destacan los siguientes géneros: *Acacia*, *Acer*, *Arbutus*, *Azalea*, *Betula*, *Calluna*, *Camellia*, *Castanea*, *Chamaecyparis*, *Cupressocyparis*, *Cupressus*, *Erica*, *Eucalyptus*, *Fagus*, *Hebe*, *Hibiscus*, *Juglans*, *Juniperus*, *Larix*, *Lavandula*, *Laurus*, *Magnolia*, *Malus*, *Morus*, *Myrtus*, *Nothofagus*, *Olea*, *Persea*, *Picea*, *Pinus*, *Platanus*, *Prunus*, *Pyrus*, *Quercus*, *Rhododendron*, *Robinia*, *Syringa*, *Taxus*, *Ulex*, *Vaccinium*, *Vitis* (ZENTMYER, 1980).

Gran número de especies nativas de Australia son hospederos, al igual que las especies provenientes de climas tropicales y subtropicales (ZENTMYER, 1983; ZENTMYER, 1980; DOMSCH, GAMS y TRAUTE-HEIDI, 1980; PINTO y ENGLISH, 1972; ROTH, 1963; THORN y ZENTMYER, 1952).

2.1.4. Sintomatología

Los primeros síntomas que presenta un árbol enfermo son: la pérdida del brillo de las hojas y el marchitamiento parcial al medio día, aún cuando los niveles de agua en el suelo sean adecuados (WHILEY *et al.*, 1986).

La pudrición de raíces puede atacar árboles de todas las edades, incluyendo árboles jóvenes de vivero sobre portainjertos tolerantes. El daño más severo se produce en suelos pesados o suelos arenosos y ligeros con impedimentos de drenaje causados por arcilla o rocas en el subsuelo (COFFEY, 1991; BEKEY, 1987).

En los primeros estadios de la enfermedad, es común que los árboles presenten mayor carga frutal, producto probablemente de la acumulación de carbohidratos en la parte superior del árbol, siendo un efecto atribuido a la muerte de raíces (ZENTMYER, 1980). Al respecto, BESOAIN (1990) señala que las raíces no actúan como "sink" de absorción de nutrientes, por lo que éstos quedarían en la parte alta del árbol, provocando un aumento de la producción al primer año de la infección con el hongo. Posteriormente, desde el segundo año, los síntomas propios de la enfermedad en la parte aérea se muestran progresivamente, aumentando la severidad en forma sostenida.

Árboles con síntomas más avanzados presentan necrosis de raíces, fuerte caída de hojas, muerte de ramas pequeñas, las hojas se tornan color verde pálido o amarillo, de menor tamaño y apariencia marchita (WHILEY *et al.*,

1986). Posteriormente, se produce una defoliación y muerte de ramas hasta causar la muerte del árbol (COFFEY, 1991; WHITE, 1989; BEKEY, 1987; WHILEY *et al.*, 1986; ZENTMYER, 1980; VERGARA, 1957).

Es característico en árboles con un estado avanzado de la enfermedad, que carezcan de nuevos crecimientos y además que presenten una carga abundante y de bajo calibre (COFFEY, 1991; ZENTMYER, 1980).

En algunos casos, cuando la infección es muy severa, se puede observar en la base del tronco la formación de canchales con presencia de exudaciones azucaradas y apariencia blanquecina (COFFEY, 1991; ZENTMYER, 1980).

Los síntomas aéreos son producto de la infección a nivel de las raicillas absorbentes (1-3 mm de diámetro), las que presentan una pudrición negra y firme, que puede progresar en longitud (COFFEY, 1991; ZENTMYER, 1980).

La absorción de agua y su transporte ascendente se reduce y éste es el origen de los síntomas en el follaje, incluso, los árboles con tristeza tienen más agua a su alrededor que los árboles sanos, debido a que esa agua no es absorbida por las raíces. Cuando el árbol pierde más agua por transpiración que la absorbida por un sistema radical podrido, empieza a mostrar los síntomas de marchitamiento de hojas. La falta de agua también reduce la capacidad de las hojas para formar clorofila y esto es causa de clorosis. Las hormonas que controlan la caída de las hojas también se

afectan por el déficit de agua y causa la caída prematura de las hojas (ZENTMYER, 1980).

LABANAUSKAS, STOLZY y ZENTMYER (1975), señalan que la nutrición también se afecta, el nitrógeno se incrementa, se detiene el movimiento del fósforo hacia los tejidos y se afecta la absorción de manganeso, cobre y hierro. Estos problemas nutricionales causan amarillamiento, follaje escaso y aborto de flores y frutitos.

La infección que ataca a las raíces, está determinada por una atracción positiva del tubo germinativo de las zoosporas móviles, producto de la liberación de ciertos exudados radicales a nivel de la zona de elongación, correspondientes a aminoácidos (ZENTMYER, 1966).

El fruto de palto también puede ser colonizado por *Phytophthora cinnamomi* produciendo una pudrición firme, de color café. Sin embargo, este síntoma no es muy común bajo condiciones de campo (ZENTMYER, 1980).

2.1.5. Ciclo de la enfermedad y epidemiología

Phytophthora cinnamomi puede ser diseminado de varias maneras, incluyendo movimiento del suelo en el vivero, por el agua, la que puede llevar zoosporas, otros propágulos e infectar trozos de raíces y muy ocasionalmente, por semillas provenientes de frutos infectados (ZENTMYER, MENGE y OHR, 1994). Otras vías de diseminación consisten en el

transporte de cualquier tipo de material vegetal, equipos de cultivo, zapatos, botas o animales que lleven suelo y la comercialización de plantas enfermas (ZENTMYER, 1980).

La pudrición radical es más severa y se desarrolla rápidamente en suelos con pobre drenaje, sobrerriego o lluvias excesivas. El inóculo se puede incrementar, desde niveles prácticamente indetectables a altos niveles en pocos días, debido a que produce generaciones en corto tiempo y a la alta capacidad reproductiva. Este aumento en cantidad de inóculo, se produce principalmente cuando aumenta la temperatura y la humedad del suelo, además debe estar bien aireado y en presencia de gran cantidad de raicillas alimenticias (ZENTMYER, MENGE y OHR, 1994).

El patógeno sobrevive en el suelo, primeramente como clamidiosporas en las raíces alimenticias débiles, estas esporas eventualmente son liberadas en el suelo donde persisten por largos períodos. Las clamidiosporas germinan produciendo tubos germinativos. La producción de clamidiosporas y esporangios ocurre en el suelo cuando la temperatura varía entre 24°C y 28°C (COFFEY, 1991). La humedad del suelo incrementa la producción de esporangios y favorece las condiciones de liberación de las zoosporas (KHEW y ZENTMYER, 1973). Cuando el esporangio germina libera entre 10-30 zoosporas móviles, que en contacto con la superficie sólida de las raicillas del hospedero, se enquistan (COFFEY, 1991).

La producción de zoosporas puede ocurrir en menos de 48 horas, y a partir de éstas, el hongo tiene la capacidad de producir millones de esporas en un

corto período de tiempo. Las zoosporas son las responsables de la rápida colonización del patógeno, estas zoosporas son frágiles y sólo se mueven en el suelo por períodos de tiempo que varían entre pocos minutos a horas, dependiendo de su energía de reserva y de los factores que inducen el enquistamiento (KHEW y ZENTMYER, 1973).

La liberación de exudados radiculares (aspargina y glutamina), crea un gradiente quimiotáxico que atrae un gran número de zoosporas hacia la zona de elongación de las raíces (COFFEY, 1991; KHEW y ZENTMYER, 1973). Los quistes esféricos germinan e infectan las raíces alimenticias del hospedero, invadiendo intercelularmente el cortex de la raíz, causando pudrición en el tejido de la raíz. La infección ocurre rápidamente y en pocos días se forman clamidiosporas y esporangios en las raíces débiles. Las clamidiosporas con su doble pared y lípidos de reserva sobreviven por largos períodos de tiempo en restos de raíces y suelo. Las oosporas también pueden sobrevivir por largos períodos de tiempo dentro o fuera del hospedero, es poco frecuente y probablemente no juega ningún rol importante en el ciclo de la enfermedad (ZENTMYER, MENGE y OHR, 1994; COFFEY, 1991).

2.1.6. Factores predisponentes

2.1.6.1. Humedad del suelo

La humedad del suelo, es un factor ambiental primario que influye en el desarrollo de la pudrición de raíces causada por *Phytophthora cinnamomi*, en cuanto a: crecimiento, esporulación y proceso de infección resultante. La alta

humedad del suelo aumenta la infección, principalmente, debido al incremento de la formación de esporangios y las condiciones apropiadas para la liberación de zoosporas, movilidad y movimiento al sitio de infección (ZENTMYER, MENGE y OHR, 1994).

La condición de exceso de humedad se puede presentar por una mala práctica de riego, por presencia de niveles freáticos altos, o bien por el uso de suelos de textura pesada, con drenaje deficiente (COFFEY, 1991; BEKEY, 1987; MORALES y MORENO, 1986; MORALES, 1985; ZENTMYER, 1980; PINTO y ENGLISH, 1972). Al respecto, DU PLESSIS (1991) señala que en suelos pesados siempre existe peligro de sobresaturar las primeras estratas, cuyas condiciones físicas y químicas empeoran con el tiempo, afectando la zona donde se encuentra el mayor número de raíces. Ésto reduce el suministro de oxígeno e incrementa la susceptibilidad a ataques de *Phytophthora cinnamomi*.

STERNE, ZENTMYER y KAUFMANN (1977) indican que las condiciones de alta humedad, -10 cb o mayores, incrementan la incidencia de pudrición de raíces en paltos. Por otra parte, COFFEY (1991) señala que el déficit hídrico reduce el vigor radical, y con ello decrece su resistencia fisiológica al ataque de *Phytophthora cinnamomi*, el exceso de humedad como el déficit hídrico, pueden acelerar los síntomas de tristeza. *Phytophthora cinnamomi* sólo forma esporangios en cultivos líquidos, tal como extractos de suelo (MEHRLICH, 1935), en solución salina (CHEN y ZENTMYER, 1970) y en raíces enfermas en agua.

2.1.6.2. Temperatura

La especie *Phytophthora cinnamomi* tiene un rango angosto de temperatura en la cual puede formar esporangios, lo que limita su actividad patogénica a ciertas estaciones del año (ZENTMYER, 1980).

En invierno, las bajas temperaturas del suelo reducen la actividad del hongo (GARDIAZÁBAL y ROSENBERG, 1991; WHILEY, CHAPMAN y SARANAH, 1988). El mayor daño es causado en los meses de verano, donde se dan las mejores condiciones para el desarrollo del patógeno, con una gran abundancia de raíces finas absorbentes, susceptibles a la infección por el hongo (ZENTMYER, 1980).

Las temperaturas óptimas para la infección de *Phytophthora cinnamomi* fluctúan entre 21-30°C, mientras que hay poca o nula infección a 33°C o entre 9-12°C. Estas temperaturas coinciden con la curva de crecimiento del hongo. La respuesta de crecimiento de plántulas de palto a temperaturas de suelo, es casi similar a aquellas del desarrollo de la enfermedad y crecimiento del hongo, con la excepción de los paltos que crecen bien a 33°C (ZENTMYER, MENGE y OHR, 1994).

El micelio de *Phytophthora cinnamomi* en agar cornmeal y clamidiosporas en suelo naturalmente infestado, son inactivadas a temperaturas bajo 0°C. La velocidad de inactivación está directamente relacionada al número de grados bajo cero. La inactivación del micelio ocurre en 2, 6 ó 16 días a -6,7, -3,8 y -1,4°C respectivamente (BENSON, 1982).

2.1.6.3. Aireación

La aireación, en conjunto con la humedad, es un factor importante en la formación de esporangios (ZENTMYER, 1980). MITCHELL y ZENTMYER (1971) reportaron que la producción de esporangios de varias especies de *Phytophthora* es inhibida por bajas concentraciones de oxígeno (O₂) y también por altas concentraciones de anhídrido carbónico (CO₂). Sin embargo, *Phytophthora cinnamomi* no es favorecida por ninguno de los tratamientos, debido a que necesita un medio líquido para la formación de esporangios.

El rango de tolerancia de *Phytophthora cinnamomi* a niveles de O₂ y CO₂, es amplio y algunos datos indican que es un hongo menos aeróbico que los demás patógenos comunes del suelo como *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Phytophthora cactorum* (DURBIN, 1959).

Phytophthora cinnamomi invade raíces de palto más activa y efectivamente en solución de nutrientes cuando éstas son burbujeadas con aire, que cuando se usa una mezcla nitrógeno/aire para proveer bajas concentraciones de oxígeno. Reduciendo el contenido de O₂ de la solución aireada se reduce la velocidad de desarrollo de la enfermedad. El ataque más rápido del hongo ocurre a altos niveles de O₂ (6,8-7,2 ppm o 15-16% O₂). A este nivel la pudrición de raíces ocurre en dos días. Una larga exposición a concentraciones muy bajas de O₂ (0,05-0,5 ppm) resulta en muerte de las plántulas, lo que indica la inutilización de estas concentraciones como control de *Phytophthora cinnamomi* en paltos afectados. Al existir una baja proporción de oxígeno en el suelo, se produce asfixia radicular. Éste

determina una respiración anaerobia intramolecular en tejidos radicales, que promueve la formación de productos como anhídrido carbónico, aldehído acético, alcohol etílico, ácido láctico y otros, que resultan tóxicos para las propias raíces (DURAN, 1976).

2.1.6.4. Interacciones en el suelo

La interacción entre la humedad del suelo, temperatura de éste y la aireación ejercen una gran influencia sobre la patogenicidad de *Phytophthora cinnamomi*. La humedad del suelo, es el primer factor que influencia el desarrollo de este patógeno y también temperaturas del suelo del orden de 15°C hasta 30°C (rango donde crece activamente), las que favorecen la infección y su desarrollo, siendo el rango de temperatura óptima entre 21°C y 24°C, todo esto acompañado de una buena aireación (15-16%), pues se trata de un hongo aeróbico (COFFEY, 1991; ZENTMYER, 1980; CURTIS y ZENTMYER, 1949). En relación al pH, se favorece con suelos neutros a ácidos. Cuando éste fluctúa entre 5,5 y 6,0 es ideal para la infección y desarrollo del hongo (ZENTMYER, 1980).

2.2. Fusicoccum aesculi:

2.2.1. Taxonomía

Botryosphaeria berengeriana De Not (sin *Botryosphaeria dothidea* (Moug. ex Fr) Ces. & De Not; *Botryosphaeria ribis* Grossenb. & Dugg) pertenece a la familia Botryosphaereaceae, orden Dothideales y a la clase Ascomycete. La fase asexual del hongo se denomina *Fusicoccum aesculi* (sin *Dothiorella*

gregaria Sacc.). Su fase sexual forma ascocarpos que contienen ascas bitunicadas y filiformes con ocho ascosporas hialinas y ovoides en su interior. Su anamorfo forma picnidios que producen conidias hialinas y fusiformes, es la forma en que se encuentra con mayor frecuencia en la naturaleza (MICHAILIDES, 1991; SUTTON y ARAUZ, 1991; SUTTON, 1980).

Generalmente la cancrrosis causada por *Dothiorella* se ha atribuido al anamorfo de *Botryosphaeria berengeriana* De Not (sin *Botryosphaeria dothidea* (Moug. ex Fr) Ces. & De Not; *Botryosphaeria ribis* Grossenb. & Dugg), que alguna vez fue considerado como *Dothiorella gregaria* Sacc. y que ha sido nombrado por JONHSON (1994) como *Fusicoccum aesculi* Corda.

2.2.2. Morfología

Cuando el hongo es aislado en agar papa dextrosa a 22°C, produce un micelio blanco algodonoso que se torna gris, verde oliváceo y finalmente negro, junto con la aparición de numerosos picnidios aislados o estromáticos (RAMOS, 1991).

Fusicoccum se caracteriza por presentar picnidios globosos o en forma de botella, erumpentes, con dimensiones de 238-442 μm x 525-574 μm que contienen una pared simple de conidióforos hialinos que miden 7-8 x 1-2 μm y que forman conidias hialinas, elipsoides a fusiformes y aseptadas, pero que ocasionalmente forman uno o dos septos cuando envejecen (ENGLISH, DAVIS y DE VAY, 1975). Estas conidias miden aproximadamente 21,5 μm

de largo x 5,9 μm de ancho (OGAWA y ENGLISH, 1991). SUTTON (1980) señala que las medidas de las conidias fluctúan entre 18-25 μm de largo x 4-4,5 μm de ancho.

Presenta micelio inmerso, ramificado y septado; conidiomata estromático, que mide sobre 1000 μm de diámetro, inmerso, subepidermal, café oscuro a negro, multiloculado (SUTTON, 1980).

2.2.3. Rango de hospederos

Según SMITH (1934), este hongo es patogénico para 50 especies de plantas representativas de 34 géneros y 20 familias, incluyendo árboles ornamentales, forestales, frutales y frutales menores existentes en regiones de clima templado y tropical, demostrando el alto grado de polifagia que posee este patógeno.

Dentro de las especies frutales, se ha descrito que afecta a: nogal (*Juglans regia*) (RUMBOS, 1987), duraznero (*Prunus persica*) (WEAVER, 1974), *Rubus spp.* (MAAS y UECKER, 1984), manzano (*Malus pumila*) (LATORRE y TOLEDO, 1984; BROWN y HENDRIX, 1981), almendro (*Prunus amygdalus*) (ENGLISH, DAVIS y DE VAY, 1975) arándano (*Vaccinium corymbosum*) (MILHOLLAND, 1972), kiwi (*Actinidia deliciosa*) (PENNYCOOK y SAMUELS, 1985), *Vitis vinifera* (BESOAIN y LATORRE, 1986), palto (*Persea americana*) (PINTO, ALVAREZ y TOBAR, 1986) y níspero (*Eriobotrya japonica*) reportada por BESOAIN y FUENTES (1988), entre otras especies.

2.2.4. Sintomatología

La sintomatología característica de *Fusicoccum aesculi* en paltos incluye canchales en ramas, acompañados de exudación de savia, que se solidifica y adquiere apariencia salina, debido a su color blanco y consistencia sólida. Al extraer la corteza afectada, se observa que los tejidos internos, incluso xilema, también comprometidos, adquieren una coloración café oscura, con una zona de avance muy definida (PINTO, ALVAREZ y TOBAR, 1986).

Inicialmente se presentan sobre las ramas lesiones pequeñas (de uno o varios mm) de color café brillante. Aumentan de tamaño rápidamente hasta coalescer y formar áreas grandes de textura lisa y color negro, que se desarrollan hacia ambos lados de la lesión inicial, en ramas con diámetro mayor a tres centímetros. Cortes transversales de las ramas afectadas muestran una pudrición que avanza de la región necrótica hacia el cilindro central, el cual es posteriormente rodeado por un anillo rojizo. Cuando todo el corte se afecta ya se ha iniciado una pudrición en la periferia tornándose todo el tejido necrótico. El síntoma foliar, además del color café oscuro de las ramas, es marchitamiento y defoliación (MARTÍNEZ, 1977, citado por TÉLIZ, 2000).

Los síntomas como la reducción en el tamaño de las hojas, el acortamiento de los entrenudos y la pérdida de dominancia apical, se asocian a la falta de presión hídrica sobre los tejidos durante la fase de crecimiento, producto del taponamiento y la muerte de los conductos vasculares (JOHNSON, 1994).

BESOAIN *et al.* (2003) observaron ramillas que a simple vista presentaban puntuaciones grisáceas con exudaciones salinas y sobresalientes en la corteza, que corresponden a peritecios que en su interior contienen ascas.

En frutos las lesiones al comienzo son rojizas o castañas y luego se vuelven color negro-grisáceo (DARVAS y KOTZE, 1987; PINTO, ALVAREZ y TOBAR, 1986). Estas lesiones sólo se desarrollan cuando la fruta madura luego de la cosecha. La pudrición de los frutos produce manchas pequeñas que pueden ser visibles cuando tienen un diámetro aproximado de 3 mm. Las manchas pequeñas tienen un color ámbar suave poco definido y a medida que se vuelven más visibles se oscurecen ligeramente. Luego las manchas se extienden rápidamente, y la piel se hunde ya que la pudrición acuosa se extiende lentamente en la pulpa del fruto, finalmente la superficie firme del fruto se marchita completamente y se oscurece (DARVAS y KOTZE, 1987).

2.2.5. Ciclo de la enfermedad y epidemiología

Las conidias se dispersan principalmente por el agua de lluvia (salpicado y arrastre superficial producida por éstas), siendo un factor importante la duración y cantidad de agua caída. La fase sexual de *Botryosphaeria dothidea* no es muy frecuente, pero en este caso, las ascosporas se dispersan básicamente por el aire en las horas del día en que hay una baja humedad relativa, temperatura elevada y la velocidad del viento es mayor en relación a las condiciones nocturnas (PUSEY, 1989).

La comercialización de plantas contaminadas o enfermas puede ser una forma de diseminación importante si no se toman los cuidados necesarios (LATORRE, 1992).

Fusicoccum aesculi es un saprófito común que crece en hojas muertas, en los márgenes quemados de hojas o en ramas muertas (ZENTMYER, 1992). El amplio rango de hospederos de este patógeno, hace pensar que más de alguno puede estar ubicado en la periferia de los huertos como fuente importante de inóculo (OGAWA y ENGLISH, 1991).

Botryosphaeria dothidea se considera un parásito de heridas, lo que significa que su penetración ocurre principalmente por heridas de poda o daños producidos por condiciones climáticas extremas como frío o calor (DARVAS y KOTZE, 1987; ENGLISH, DAVIS y DE VAY, 1975). El hongo penetra en la fruta mientras se encuentra aún en el árbol, pero la pudrición no se desarrolla hasta que la fruta comienza a madurar. El cv. Fuerte y las variedades de piel delgada y verde son particularmente susceptibles (BESOAIN *et al.*, 2003; ZENTMYER, 1992).

CORNEJO (1993) estudió especies de *Botryosphaeria* en níspero (*Eriobotrya japonica*) en la zona de Quillota, y observó que la producción de conidias se produce desde fines de invierno hasta fines de primavera, período en que se presentan las condiciones adecuadas para la esporulación.

Una vez que germinan las esporas, las hifas invaden las células del parénquima cortical, floema, vasos xilemáticos y del parénquima medular, lo que resulta en una rápida destrucción de la corteza. Luego que el hongo invade el tejido vascular, el micelio se mueve verticalmente, por lo tanto la muerte de los brotes se debe a la oclusión parcial o total de los vasos xilemáticos por el desarrollo de tilosas y al propio crecimiento micelial que impide o restringe el flujo hídrico (MILHOLLAND, 1972).

2.2.6. Factores predisponentes

Según estudios, daños por frío, sequías, estrés por defoliación y pobre nutrición, son asociados con un aumento de la infección y severidad de canchales de *Botryosphaeria dothidea* (ZENTMYER, 1992; JONES y ALDWINCKLE, 1991; SCHOENEWEISS, 1981; BROWN y HENDRIX, 1981).

2.2.6.1. Humedad relativa

Las especies de *Botryosphaeria* necesitan agua libre para la liberación de conidias y ascosporas, además el agua libre es necesaria para la dispersión y germinación de las conidias en el árbol (SUTTON, 1981).

SUTTON y ARAUZ (1991), señalan que muy pocas conidias de *Botryosphaeria dothidea* son capaces de germinar bien en ausencia de agua libre (100% HR), y la germinación disminuyó a la mitad con 99% de humedad relativa (HR) y fue menor al 5% con 95% HR.

2.2.6.2. Temperatura

La germinación de *Botryosphaeria dothidea* se ve favorecida por tiempo cálido y húmedo. WEAVER (1974), al estudiar aislamientos desde durazneros, reportó que la temperatura óptima para la germinación y crecimiento de conidias *in vitro* son 25-35°C y 30°C respectivamente; y para el crecimiento de micelio es 28°C, existiendo buen crecimiento a 36°C, pero que declina a 38°C, para ser nulo a los 40°C.

En general, se puede considerar como factores predisponentes abundantes precipitaciones y temperatura relativamente altas en primavera y verano, las que favorecen la liberación y diseminación de esporas (LATORRE y TOLEDO, 1984).

3. MATERIAL Y MÉTODO

Esta investigación se realizó en el Laboratorio y sombreadero de Fitopatología de la Facultad de Agronomía de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, ubicada en la provincia de Quillota, V Región, entre septiembre del 2003 y mayo del 2004.

La observación de los síntomas de campo y la recolección de muestras se efectuó en la Estación Experimental La Palma. Las plantas utilizadas en este ensayo fueron donadas por el Vivero de la Estación Experimental La Palma.

3.1. Aislamientos para hongos:

3.1.1. Aislados de *Phytophthora cinnamomi*

Las muestras de raicillas enfermas se obtuvieron a partir de palto variedad Hass sobre portainjerto Mexícola, que presentaban síntomas de decaimiento y amarillamiento de las hojas. Se utilizó una pala para extraer las muestras que contenían trozos de raicillas que presentaban una pudrición firme de color café negruzco y algunas zonas de color blanquecino que limitan con la zona de avance.

Desde la zona de avance de la lesión se obtuvieron 10 trozos de raicillas de 1 cm de largo aproximadamente, que fueron lavadas tres veces en agua destilada estéril (ADE) y se dejaron secar sobre papel absorbente. Una vez

secos fueron transferidos a placas con un medio selectivo para *Phytophthora* o P₁₀PV que contenía agar harina de maíz (17 g/l), piramicina (10 mg/l), vancomicina (200 mg/l) y pentacloronitrobenceno 20% (500mg/l) y fueron incubadas en oscuridad a una temperatura promedio de 22°C por 7 días. El crecimiento micelial obtenido fue escogido y subcultivado en P₁₀PV para obtener colonias puras del hongo.

3.1.2. Aislados de *Fusicoccum aesculi*

Se recolectaron muestras de ramillas de paltos que presentaron canchales y exudación salina solidificada. Desde la zona de avance del canchale se cortaron trozos de 1 cm², fueron lavados en agua destilada estéril y se dejaron secar en papel absorbente, luego fueron transferidos a placas con agar papa dextrosa acidificado con 1 ml de ácido láctico (APDA) e incubados en oscuridad durante siete días a 22°C. A partir del crecimiento activo del micelio se obtuvieron trozos de micelio-agar que fueron subcultivados en APDA para obtener cultivos puros del hongo.

3.2. Identificación:

3.2.1. *Phytophthora cinnamomi*

Trozos de micelio-agar fueron sumergidos en jugo de zanahoria durante 48 horas y expuestos a luz para obtener esporangios, luego se eliminó el jugo y se lavaron los trozos de micelio-agar con ADE y se colocaron durante tres minutos en una solución salina que contenía: 2,36 g/l de nitrato de calcio (CaNO₃); 0,5 g/l de nitrato de potasio (KNO₃); 1,0 g/l de sulfato de magnesio

(MgSO₄); 13 g/l de EDTA; 7,5 g/l hidróxido de potasio (KOH) y 24,5 g/l de sulfato de hierro (FeSO₄). Posteriormente se lavaron los trozos de micelio-agar con ADE y se dejaron 48 horas más en extracto de suelo. El extracto de suelo, se preparó poniendo en un matraz de Erlenmeyer un poco de suelo con suficiente cantidad de microorganismos y materia orgánica, agregándole agua destilada y dejándolo reposar por 24 horas, para luego filtrar esta solución en papel filtro. De los trozos de micelio-agar, se obtuvo una muestra de micelio algodonoso que se observó en el microscopio óptico, donde se identificaron hifas de aspecto coraloide y esporangios característicos de *Phytophthora cinnamomi*, que además fueron medidos a 400x, con un micrómetro (Krauss).

3.2.2. *Fusicoccum aesculi*

Las placas con cultivos puros del hongo fueron colocadas en luz negra de 320 nm (cerca a ultravioleta) durante aproximadamente tres semanas (20 días) para inducir el desarrollo de picnidios, y a partir de estas estructuras se obtuvieron elementos reproductivos, en este caso conidias características del anamorfo de *Botryosphaeria berengeriana*, que fueron observadas y medidas bajo microscopio óptico.

3.3. Conservación de cepas obtenidas de los aislamientos:

Una vez identificadas las cepas puras de ambos hongos, *Phytophthora cinnamomi* y *Fusicoccum aesculi*, éstas fueron subcultivadas y desde el margen de las colonias en activo crecimiento se obtuvieron 20 trocitos de 5 mm de diámetro, que fueron traspasados a un tubo de ensayo con tapa rosca

que contenía 5 ml de agua destilada estéril. El tubo fue cerrado y sellado con parafilm, y se llevó a una estufa a 22°C durante cinco días. Posteriormente, los tubos que contenían *Phytophthora cinnamomi* se guardaron a temperatura ambiente, y los que contenían *Fusicoccum aesculi* fueron trasladados a un refrigerador a 5°C +/- 1°C, para su posterior conservación.

3.4. Inoculación:

3.4.1. *Phytophthora cinnamomi*

La preparación del inóculo se realizó subcultivando el hongo desde placas que ya contenían cada una de las cepas a utilizar, llegando a obtener 30 placas. Luego de siete días de incubación en una estufa a 22°C, el micelio cubrió completamente el diámetro de la placa, fue raspado desde la superficie de la placa y cada cepa se colocó en 3,0 l de agua destilada estéril, y se fragmentó la solución en un agitador mecánico durante cinco minutos. Se midió la concentración de propágulos con un hematocímetro y se obtuvo $1 \cdot 10^6$ propágulos por ml.

La inoculación se realizó a fines de diciembre del 2003 y la suspensión se adicionó directamente al sustrato, recibiendo cada planta 200 ml de solución. Los testigos recibieron 200 ml de agua destilada estéril. Una semana después de la inoculación las plantas fueron inundadas por 48 horas. Para mantener este período de inundación, las plantas fueron colocadas en macetas plumavit de mayor capacidad (8 l) las cuales se llenaron con agua hasta 2 cm sobre el nivel del cuello de la planta. Transcurridas las 48 horas,

las plantas o unidades experimentales fueron extraídas de las macetas de plumavit y se dispusieron aleatoriamente en un sombreadero.

3.4.2. *Fusicoccum aesculi*

Para la preparación del inóculo de *Fusicoccum aesculi*, se subcultivaron las cepas puras a utilizar en agar papa dextrosa (APDA), y luego de siete días el micelio cubrió completamente la placa y desde el margen de la colonia en activo crecimiento, se obtuvieron 15 discos de micelio-agar de 5 mm de diámetro por cada cepa a utilizar (2).

Las zonas a inocular tenían en promedio 1 cm de diámetro del tronco, se desinfectó la superficie con alcohol al 70% y se realizó un corte de aproximadamente 5 mm de largo con un bisturí previamente esterilizado, luego se colocaron los discos de agar, poniendo en contacto el micelio con la herida y se cubrió con parafilm para evitar contaminaciones ajenas a la prueba de patogenicidad. Luego de siete días se removió el parafilm.

3.5. Diseño experimental:

Se realizó un diseño completamente al azar (DCA) con nueve tratamientos y cinco repeticiones por tratamiento, además se realizó un arreglo factorial 2x3 con el propósito de observar el efecto de la interacción entre ambos factores.

Los factores correspondían a *Fusicoccum aesculi* y *Phytophthora cinnamomi* y los niveles de ambos factores fueron: planta sin inocular, cepa 1 y cepa 2, que en el caso de *Fusicoccum aesculi* correspondían a la cepa F.A.1 (cepa 1) y F.A.2 (cepa 2) y para *Phytophthora cinnamomi* correspondían a la cepa P.C.1 (cepa 1) y P.C.2 (cepa 2). El Cuadro 1 indica el orden de los tratamientos aplicados.

CUADRO 1. Tratamientos aplicados en plantas de paltos var. Hass, correspondientes a las combinaciones entre dos cepas de *Phytophthora cinnamomi* y dos cepas de *Fusicoccum aesculi*, más los respectivos testigos.

		Inoculadas con <i>F. aesculi</i>		
		Sin inocular	Cepa F.A.	Cepa F.A.2
Inoculadas con <i>P. cinnamomi</i>	Sin inocular	T0	T1	T2
	Cepa P.C.1	T3	T4	T5
	Cepa P.C.2	T6	T7	T8

Las diferencias significativas existentes, se analizaron mediante una prueba de comparación múltiple de Duncan a $P=0,05$. En aquellas variables donde no hubo interacción se analizó el factor significativo mediante una prueba de t-student de dos niveles.

3.6. Evaluación de los resultados:

Se midieron las siguientes variables: incremento del crecimiento en la altura de plantas, número de hojas, área foliar y largo del cancro. Variables como materia fresca, materia seca y pudrición de raicillas no pudieron ser obtenidas, ya que las plantas fueron conservadas para una posterior medición en primavera.

El área foliar se determinó usando la fórmula de la elipse, debido a la similitud de esta figura con una lámina foliar, la cual es:

$$AF = \frac{1}{2} * (E * e * \pi)$$

Donde: AF = Área foliar (cm²)

E = Largo de la hoja (cm)

e = ancho de la hoja (cm)

$\pi = 3,1416$

Para conocer el área foliar por planta, se multiplicó este valor por el número de hojas por planta.

4. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1. Identificación de patógenos:

4.1.1. *Phytophthora cinnamomi*

Las cepas de *Phytophthora cinnamomi* Rands, fueron identificadas a través de la caracterización de sus estructuras reproductivas y somáticas mediante mediciones macro y microscópicas.

Las colonias de *Phytophthora cinnamomi* cultivadas en medio P₁₀PV presentaron un micelio blanquecino. Los esporangios de las dos cepas utilizadas en este ensayo fueron medidos al microscopio óptico, encontrando un promedio de 67,1 μm de largo y 38,4 μm de ancho. Estas medidas promedio se encuentran dentro del rango definido por ARENAS (1998) quien trabajó en la caracterización de cuatro aislados de *Phytophthora cinnamomi* de Chile y varían entre 40-86 μm de longitud y 24-50 μm de diámetro. ZENTMYER, MENGE y OHR (1994) definieron un rango que fluctúa entre 43-75 μm de largo y 24-47 μm de ancho. Las medidas efectuadas a 40 esporangios de las dos cepas se encuentran en el Anexo 1.

Los esporangios presentaron una forma alargada-elipsoidal, no papilados y con zoosporas móviles que se diferenciaban en el esporangio antes de ser liberadas. Al observar el micelio de las cepas se encontraron las siguientes características morfológicas: cenocítico, hialino, muy ramificado, con ramificaciones en ángulo recto, de aspecto coraloide debido a la presencia

de *hyphal swellings* o hinchazones de las hifas, típicos de *Phytophthora cinnamomi*.

4.1.2. *Fusicoccum aesculi*

Fusicoccum aesculi Corda, fue aislado consistentemente desde tejido proveniente de árboles de palto naturalmente infectados.

Al cultivarlo en placas con APDA, el hongo cubrió el diámetro total de la placa en siete días a 22°C. Comenzó con un crecimiento micelial semiaéreo, blanco algodonoso, que se fue tornando gris, verde oliváceo, y después de 20 días expuesto a luz negra, el micelio se tornó oscuro o negro y con presencia de numerosos picnidios grises o negros.

Los picnidios observados eran globosos, estromáticos o aislados y multiloculados. Los conidióforos eran hialinos, simples, raramente septados y daban origen a conidias hialinas, unicelulares, fusiformes, de ápice obtuso y base distinguiblemente truncada, que medían en promedio 19,5 µm de largo por 5,5 µm de ancho. Estas medidas difieren levemente de las observadas por PINTO, ALVAREZ y TOBAR (1986), donde el largo promedio de las conidias fue 26,5 µm y 8,2 µm de ancho, sin embargo, coinciden con lo señalado por SUTTON (1980) para *Fusicoccum aesculi* y por WEAVER (1974) para el anamorfo de *Botryosphaeria dothidea*. Las medidas de las 40 conidias correspondientes a dos cepas de *Fusicoccum aesculi* utilizadas en el ensayo se encuentran en el Anexo 1.

4.2. Evaluación de los tratamientos:

El ensayo fue realizado durante seis meses, con el propósito de evaluar un posible sinergismo entre dos enfermedades que afectan al cultivo del palto como son la tristeza del palto, descrita como una enfermedad de primera importancia en los países productores de este cultivo, y cancrrosis de ramillas, que sólo ha sido descrita como eventual para el cultivo del palto.

Las variables medidas fueron analizadas mediante un arreglo factorial, y se obtuvo una interacción significativa entre los factores *Fusicoccum aesculi* y *Phytophthora cinnamomi* únicamente para el largo del cancro. Las otras variables medidas no presentaron diferencias significativas entre los factores. Las separaciones de medias presentaron pocas diferencias significativas entre ellas.

4.2.1. Incremento del crecimiento en la altura de plantas

El arreglo factorial resultó no significativo para la interacción entre los factores, además sólo el factor *Fusicoccum aesculi* fue significativo.

El test de separación de medias según Duncan al 5%, indicó que existen diferencias significativas entre tratamientos. Al realizar un test de student al 5% entre ambos factores (*Phytophthora cinnamomi* y *Fusicoccum aesculi*), las diferencias resultaron no significativas.

Las diferencias entre los tratamientos T6 (*F. aesculi* Cepa F.A.1/*P. cinnamomi* Cepa P.C.2), T4 (*P. cinnamomi* Cepa P.C.2) y T1 (*F. aesculi* Cepa F.A.1) indicarían que existió un efecto de la inoculación con una combinación de *Fusicoccum aesculi* cepa F.A.1/*Phytophthora cinnamomi* cepa P.C.2 que, contrario a la lógica, produce un mayor incremento del crecimiento en altura de las plantas, en relación con tratamientos inoculados en forma separada. Es decir, el efecto individual de ambas cepas resultó ser más detrimental para el crecimiento de las plantas, sin embargo estas diferencias entre los tratamientos no tuvo significación fitopatológica, porque el testigo sin inoculación (T0) no presentó diferencias significativas con ningún tratamiento, por lo tanto no fue posible inferir el daño que provocó *Phytophthora cinnamomi* o *Fusicoccum aesculi* en el crecimiento en altura de las plantas. Este aspecto debe ser analizado nuevamente en posteriores mediciones de este ensayo, ya que en la brotación de primavera, es posible que las diferencias se acentúen o se pierdan.

Los resultados del test de student al 5%, indicaron que no existió diferencia entre inocular con *Phytophthora cinnamomi* o *Fusicoccum aesculi*, ésto se debe al alto coeficiente de variación (59,77%), que indicó la presencia de material poco homogéneo y por lo mismo resultados poco concluyentes. Estos datos se encuentran en el Cuadro 2 y 3. El análisis de datos para este parámetro se encuentra en el Anexo 2. La Figura 1 muestra las diferencias entre el tratamiento T6 (*F. aesculi* Cepa F.A.1/*P. cinnamomi* Cepa P.C.2), T1 (*F. aesculi* Cepa F.A.1) y T0 (Sin inocular).

CUADRO 2. Incremento promedio del crecimiento en la altura de plantas de palto var. Hass, en tratamientos de inoculación de dos cepas de *Phytophthora cinnamomi* y dos cepas de *Fusicoccum aesculi*.

Tratamiento	Incremento promedio altura de plantas (%)
T0 Sin inocular	19,73 ab
T1 <i>F. aesculi</i> Cepa F.A.1	7,58 b
T2 <i>F. aesculi</i> Cepa F.A.2	11,98 ab
T3 <i>P. cinnamomi</i> Cepa P.C.1	18,65 ab
T4 <i>P. cinnamomi</i> Cepa P.C.2	8,80 b
T5 <i>F. aesculi</i> Cepa F.A.1/ <i>P. cinnamomi</i> Cepa P.C. 1	9,83 ab
T6 <i>F. aesculi</i> Cepa F.A.1/ <i>P. cinnamomi</i> Cepa P.C.2	22,13 a
T7 <i>F. aesculi</i> Cepa F.A.2/ <i>P. cinnamomi</i> Cepa P.C.1	17,82 ab
T8 <i>F. aesculi</i> Cepa F.A.2/ <i>P. cinnamomi</i> Cepa P.C.2	12,55 ab

Promedios con letras iguales no presentan diferencias significativas al nivel de probabilidad $P=0,05$ según test de Duncan.

CUADRO 3. Incremento promedio del crecimiento en la altura de plantas de palto var. Hass inoculadas con *Phytophthora cinnamomi* y con *Fusicoccum aesculi*.

Tratamiento	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	<i>Fusicoccum aesculi</i>
Incremento promedio altura de plantas (%)	15,73 a	13,10 a

Promedios con letras iguales no presentan diferencias significativas al 5% según t de student.



FIGURA 1. De izquierda a derecha, planta testigo sin inocular (T0), tratamiento inoculado con *Fusicoccum aesculi* cepa F.A.1 y *Phytophthora cinnamomi* cepa P.C.2 (T6), en comparación con tratamiento en base sólo a *Fusicoccum aesculi* cepa F.A.1 (T1).

4.2.2. Número de hojas

Para la variable número de hojas por planta, el arreglo factorial resultó no significativo para la interacción entre los factores (*Phytophthora cinnamomi* y *Fusicoccum aesculi*), sólo el factor *Phytophthora cinnamomi* fue significativo.

La separación de medias según test de Duncan al 5%, indicó que existían diferencias significativas entre tratamientos. El test de student resultó no significativo para los factores *Phytophthora cinnamomi* y *Fusicoccum aesculi*, por lo tanto las medias son estadísticamente iguales.

La variable número de hojas, al igual que la variable incremento del crecimiento de la altura de plantas, indicó que existieron diferencias entre tratamientos, pero al establecer comparaciones con el testigo sin inocular, no se pudo inferir el efecto de los patógenos en el número de hojas.

Los resultados obtenidos para esta variable no coinciden con los obtenidos por ARENAS (1998), donde todos los tratamientos inoculados con *Phytophthora cinnamomi* presentaron una disminución del número de hojas.

En el Cuadro 4 y 5 se encuentra lo expuesto anteriormente. El Anexo 3 muestra el análisis de datos para esta variable.

CUADRO 4. Número de hojas promedio por planta de palto var. Hass, en tratamiento de inoculación con dos cepas de *Phytophthora cinnamomi* y dos cepas de *Fusicoccum aesculi*.

Tratamiento	Número de hojas
T0 Sin inocular	43,2 ab
T1 <i>F. aesculi</i> Cepa F.P.1	38,2 b
T2 <i>F. aesculi</i> Cepa F.A.2	44 ab
T3 <i>P. cinnamomi</i> Cepa P.C.1	58,4 ab
T4 <i>P. cinnamomi</i> Cepa P.C.2	51,6 ab
T5 <i>F. aesculi</i> Cepa F.A.1/ <i>P. cinnamomi</i> Cepa P.C. 1	63 a
T6 <i>F. aesculi</i> Cepa F.P.1/ <i>P. cinnamomi</i> Cepa P.C.2	31,8 b
T7 <i>F. aesculi</i> Cepa F.P.2/ <i>P. cinnamomi</i> Cepa P.C.1	42 ab
T8 <i>F. aesculi</i> Cepa F.P.2/ <i>P. cinnamomi</i> Cepa P.C.2	38 b

Promedios con letras iguales no presentan diferencias significativas al nivel de probabilidad $P=0,05$ según test de Duncan.

CUADRO 5. Número promedio de hojas de palto var. Hass inoculados con *Phytophthora cinnamomi* y con *Fusicoccum aesculi*.

Tratamiento	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	<i>Fusicoccum aesculi</i>
Número promedio de hojas	49,9 a	41,8 a

Promedios con letras iguales no presentan diferencias significativas al 5% según t de student.

4.2.3. Área foliar total

El análisis factorial para esta variable, resultó no significativo para la interacción entre los factores evaluados y de ambos factores sólo el factor *Phytophthora cinnamomi* fue significativo.

La separación de medias según Duncan al 5%, indicó que existían diferencias significativas entre los promedios de los tratamientos.

Para esta variable existe una diferencia significativa entre el tratamiento T0 (sin inoculación) y el tratamiento T6 (*F. aesculi* Cepa F.P.1/*P. cinnamomi* Cepa P.C.2), por lo tanto, además de las diferencias estadísticas que presentaron, hubo un efecto patológico evidente del tratamiento T6 (*F. aesculi* Cepa F.P.1/*P. cinnamomi* Cepa P.C.2) en la reducción del área foliar de las plantas. ARENAS (1998) obtuvo una disminución del área foliar en todos los tratamientos inoculados con *Phytophthora cinnamomi*, sin embargo en este estudio una de las cepas de *Phytophthora cinnamomi* (P.C.1), produjo mayor área foliar, estadísticamente igual al testigo sin inocular, según ZENTMYER (1980) esto se debería a que cepas aisladas de una misma especie pueden poseer distinto grado de virulencia.

El tratamiento inoculado con *Phytophthora cinnamomi* cepa P.C.2 y con *Fusicoccum aesculi* cepa F.A.1 (T6) resultó el más detrimental, es decir, tienen en promedio una menor cantidad de hojas y menor área foliar, esta correlación directa no se presenta en los otros tratamientos conjuntos, posiblemente las cepas escogidas no tenían el mismo grado de virulencia,

produciendo una pudrición mayor de raicillas que afecta la superficie de captación de agua y nutrientes necesarios para su metabolismo normal. Esta disminución del área radicular se vió reflejada en una menor cantidad y tamaño de las hojas, síntoma característico de la enfermedad tristeza del palto. Además el micelio de *Fusicoccum aesculi* se mueve verticalmente, provocando la oclusión parcial o total de los vasos xilemáticos por el desarrollo de tilosas y del crecimiento micelial que impide o restringe el flujo hídrico (JOHNSON, 1994; MILHOLLAND, 1972).

Se analizó el factor significativo con un test de student al 5%, y al igual que en las variables analizadas anteriormente, no se encontró diferencia significativa. El cálculo del área foliar se encuentra en el Anexo 4.

El Cuadro 6 presenta los resultados del test de Duncan y el Cuadro 7 los resultados del test de student para dos medias. El análisis estadístico se encuentra en el Anexo 5.

CUADRO 6. Promedio del área foliar total de plantas de palto de var. Hass para los tratamientos inoculados con dos cepas de *Phytophthora cinnamomi* y dos cepas de *Fusicoccum aesculi*.

Tratamiento	Promedio área foliar total (cm ²)
T0 Sin inocular	7637,2 ab
T1 <i>F. aesculi</i> Cepa F.A.1	5902,7 bc
T2 <i>F. aesculi</i> Cepa F.A.2	6286,2 abc
T3 <i>P. cinnamomi</i> Cepa P.C.1	9088,7 a
T4 <i>P. cinnamomi</i> Cepa P.C.2	6019,8 bc
T5 <i>F. aesculi</i> Cepa F.A.1/ <i>P. cinnamomi</i> Cepa P.C. 1	6227,6 abc
T6 <i>F. aesculi</i> Cepa F.P.1/ <i>P. cinnamomi</i> Cepa P.C.2	4339,6 c
T7 <i>F. aesculi</i> Cepa F.A.2/ <i>P. cinnamomi</i> Cepa P.C.1	5294,6 bc
T8 <i>F. aesculi</i> Cepa F.A.2/ <i>P. cinnamomi</i> Cepa P.C.2	4977,3 bc

Promedios con letras iguales no presentan diferencias significativas al nivel de probabilidad P=0,05 según test de Duncan.

CUADRO 7. Área foliar promedio de plantas de palto var. Hass inoculadas con *Phytophthora cinnamomi* y *Fusicoccum aesculi*.

Tratamiento	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	<i>Fusicoccum aesculi</i>
Área foliar promedio	7581,9 a	6608,7 a

Promedios con letras iguales no presentan diferencias significativas al 5% según t de student.

4.2.4. Largo de cancro

Esta variable fue la única que resultó significativa para la interacción de los factores *Phytophthora cinnamomi* y *Fusicoccum aesculi* en el arreglo factorial, por lo tanto el largo del cancro se ve afectado en forma conjunta por ambos patógenos, sin embargo la interacción de ambos patógenos en la planta, no provocó el mayor largo de cancro, sino por el contrario, una de las combinaciones de *Phytophthora cinnamomi* (cepa P.C.2) y *Fusicoccum aesculi* (cepa F.A.1) presentó el tamaño de lesión más pequeño (Cuadro 8).

El largo promedio del cancro fue el único parámetro que resultó significativo para la interacción entre ambos patógenos, no obstante en la separación de medias, el tratamiento inoculado sólo con *Fusicoccum aesculi* cepa F.A.1 (T1) presentó el promedio de cancro más largo, por lo tanto sería la cepa más virulenta. Ésto coincide con los resultados obtenidos anteriormente para el área foliar y número de hojas, ya que ambos tratamientos tenían en común la cepa F.A.1 de *Fusicoccum aesculi* y presentó la mayor disminución de las variables evaluadas.

Para este parámetro no fue necesario realizar un test de student, ya que los factores no actuaron de manera independiente.

En el Anexo 6 se encuentra el análisis estadístico para este parámetro. Los datos de todas las variables evaluadas se encuentran en el Anexo 7. En la Figura 2 se puede apreciar el tipo de lesión provocada por *Fusicoccum aesculi* en plantas de palto var. Hass de dos años de edad.



FIGURA 2. Detalle de cancro causado por *Fusicoccum aesculi* cepa F.A.1 en palto var. Hass, obsérvese la presencia de exudación blanca de aspecto salino.

CUADRO 8. Largo promedio del cancro en plantas de palto var. Hass inoculadas con dos cepas de *Phytophthora cinnamomi* y dos cepas de *Fusicoccum aesculi*.

Tratamiento	Largo promedio del cancro (cm)
T0 Sin inocular	0 c
T1 <i>F. aesculi</i> Cepa F.A.1	3,82 a
T2 <i>F. aesculi</i> Cepa F.A.2	3,28 ab
T3 <i>P. cinnamomi</i> Cepa P.C.1	0 c
T4 <i>P. cinnamomi</i> Cepa P.C.2	0 c
T5 <i>F. aesculi</i> Cepa F.A.1/ <i>P. cinnamomi</i> Cepa P.C. 1	3,4 ab
T6 <i>F. aesculi</i> Cepa F.A.1/ <i>P. cinnamomi</i> Cepa P.C.2	1,94 b
T7 <i>F. aesculi</i> Cepa F.A.2/ <i>P. cinnamomi</i> Cepa P.C.1	2,76 ab
T8 <i>F. aesculi</i> Cepa F.A.2/ <i>P. cinnamomi</i> Cepa P.C.2	2,64 ab

Promedios con letras iguales no presentan diferencias significativas al nivel de probabilidad $P=0,05$ según test de Duncan.

La mayoría de las variables evaluadas en este ensayo resultaron no significativas para la interacción entre *Phytophthora cinnamomi* y *Fusicoccum aesculi*, por lo tanto su acción como patógenos podría ser independiente en la planta.

El comportamiento poco concluyente que mostraron las unidades experimentales ante los tratamientos, es atribuible al uso del portainjerto Mexícola, que al provenir de semilla presenta una alta variabilidad genética, por lo tanto el material es poco homogéneo e induce a errores al momento de evaluar.

Es importante resaltar que el tratamiento compuesto por la cepa F.A.1 de *Fusicoccum aesculi* y la cepa P.C.2 de *Phytophthora cinnamomi* (T6) indujo un mayor incremento en la altura de las plantas y menor largo del cancro, en comparación a las mismas cepas actuando en forma separada, por lo tanto es posible inferir un efecto de resistencia inducida, aspecto que debe ser analizado en mediciones posteriores.

En el análisis realizado para medir las diferencias entre *Phytophthora cinnamomi* y *Fusicoccum aesculi* a través de un test de student, demostró que ambos patógenos eran capaces de provocar el mismo efecto sobre las variables incremento del crecimiento en altura de planta, área foliar y número de hojas, probablemente porque ambos hongos, independientes del daño específico que provocan, tienen un efecto en el transporte de agua y nutrientes desde las raíces, lo que se manifiesta en una reducción principalmente del área foliar.

La interacción entre ambos hongos en la planta, que fue el objetivo principal de este estudio, no resultó significativa para las variables evaluadas más importantes como: el incremento en la altura de planta, área foliar y número de hojas. Ésto puede explicarse porque durante el tiempo de evaluación de este ensayo la planta no se encontraba en un período de crecimiento activo, por lo tanto los requerimientos metabólicos eran mínimos y las plantas fueron capaces de mantenerse durante este tiempo. Al respecto PLOETZ y PARRADO (1988) plantean que las plantas de palto pueden tolerar un cierto grado de pudrición radicular sin que existan efectos evidentes en la parte aérea de la planta. Sin embargo se puede detectar una reducción de la fotosíntesis, transpiración y de la conductancia estomatal en plantas que

tienen pudrición de raíces, antes de que los síntomas de la enfermedad sean evidentes (PLOETZ y SCHAFFER, 1989; WHILEY *et al.*, 1986; STERNE, KAUFMANN y ZENTMYER, 1978).

Por este motivo, se decidió conservar las plantas del ensayo hasta primavera y volver a evaluar las variables: incremento en la altura de planta, número de hojas y área foliar, además de evaluar nuevas variables como la pudrición de raicillas, materia fresca y materia seca. Se espera que la interacción entre *Phytophthora cinnamomi* y *Fusicoccum aesculi*, sea evidente y significativa cuando la planta esté sometida a altos requerimientos metabólicos debido a los flujos de crecimiento que presentan los paltos durante la primavera.

Los resultados obtenidos en este ensayo, principalmente respecto a *Fusicoccum aesculi* no son aplicables a condiciones de campo con plantas que puedan ser contaminadas naturalmente, ya que las plantas utilizadas corresponden a plantas de un año de crecimiento del injerto y poseen aún una rama principal donde fue inoculado el hongo, por lo tanto el stress hídrico provocado por la obstrucción del xilema es mayor.

5. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio, se puede concluir:

- Existe interacción entre *Phytophthora cinnamomi* y *Fusicoccum aesculi* sólo en el largo del cancro, pero se manifiesta en una lesión de menor tamaño, por lo tanto, menos detrimental para la planta. Sin embargo las otras variables evaluadas: área foliar, número de hojas e incremento en la altura de plantas no presentaron interacción.
- La cepa F.A.1 de *Fusicoccum aesculi* es la más virulenta, provocando una lesión sobre la corteza de la planta, mayor incluso, que los tratamientos de inoculación conjunta entre ambos patógenos.

6. RESUMEN

La enfermedad más importante que presenta el palto es la tristeza del palto (*Phytophthora cinnamomi* Rands), mientras que la cancrrosis de ramilla (*Fusicoccum aesculi* Corda) ha sido descrita como una enfermedad secundaria. El estrés provocado por *Phytophthora cinnamomi* puede ser un factor importante para el desarrollo de *Fusicoccum aesculi*. Por este motivo se realizó un ensayo que consistió en inocular plantas de palto de dos años de edad con dos cepas de *Phytophthora cinnamomi*, dos cepas de *Fusicoccum aesculi* y con una combinación de ambos patógenos y sus respectivas cepas, con el propósito de evaluar variables como el incremento en la altura de plantas, área foliar, número de hojas y largo del cancro.

Las cepas de *Phytophthora* y de *Fusicoccum* se obtuvieron de árboles que presentaban síntomas evidentes de la enfermedad y se aislaron e identificaron en el laboratorio. Se preparó una solución que contenía 1×10^6 propágulos/ml de micelio de *Phytophthora cinnamomi*, 200 ml de esta solución fueron inoculadas al sustrato. *Fusicoccum aesculi* se inoculó directamente sobre las ramillas con discos de micelio-agar de 5 mm de diámetro. Luego de una semana, todas las plantas fueron sometidas a un período de inundación de 48 horas.

Cada 30 días se fueron evaluando las variables y luego de seis meses se realizó un análisis factorial, donde sólo hubo interacción entre ambos patógenos para la variable largo de cancro. La separación de medias realizada según Duncan con $P=0,05$, resultó significativa para una combinación entre *Phytophthora cinnamomi* y *Fusicoccum aesculi*, que produjo una disminución del número de hojas y área foliar.

Los factores que no presentaron interacción fueron sometidos a un test de student $P=0,05$ y resultaron no significativos en todas las variables evaluadas, por lo tanto *Phytophthora cinnamomi* y *Fusicoccum aesculi* provocaron el mismo efecto en el área foliar y número de hojas.

Debido a ésto, las variables serán nuevamente evaluadas en primavera cuando los paltos requieran una alta demanda metabólica debido al *flush* de crecimiento.

7. ABSTRACT

The most important disease that avocado presents is *Phytophthora cinnamomi* Rands and *Fusicoccum aesculi* Corda has been described as a secondary disease, which caused cankers on branches. The stress caused by *Phytophthora cinnamomi* can be an important factor for the development of *Fusicoccum aesculi*. It was realized a test that consisted to inoculate avocado plants of two years-old with two isolates of *Phytophthora cinnamomi*, two isolates of *Fusicoccum aesculi* and with a combination of both pathogens and their respective isolates, with the purpose of evaluating variables as the increment in the plant height, folial area, number of leaves and cankers length.

The isolates of *Phytophthora cinnamomi* and *Fusicoccum aesculi* were obtained of trees that presented evident symptoms of the diseases, and they were isolated and identified correctly in the laboratory. It was prepared a solution that contained $1 \cdot 10^6$ propagules/ml of mycelium of *Phytophthora cinnamomi*, 200 ml of this solution were inoculated to soil. *Fusicoccum aesculi* was inoculated directly on the branches with mycelium-agar disk of five mm of diameter. After one week, all the plants were subjected to inundation period of 48 hours.

Every 30 days the variables were evaluated, after six months of evaluations, these variables were subjected to a factorial analysis, where only there was interaction between both pathogens for the variable cankers length. The average separation realized according Duncan $P=0,05$, was significant for the combination between *Phytophthora cinnamomi* and *Fusicoccum aesculi*, that produced a decrease of the number of leaves and folial area.

The factors that didn't present interaction were subjected to student test with $P=0,05$ and they were not significant in all the evaluated variables. Therefore *Phytophthora cinnamomi* and *Fusicoccum aesculi* caused the same effect in the folial area and number of leaves.

Owing to this, the variables will be evaluated again in spring when avocados require high metabolic demands due to the growth *flush*.

8. LITERATURA CITADA

AGRIOS, G. N. 1985. Fitopatología. México D.F., editorial Limusa. 756 p.

ALEXOPOULUS, C. J. and MIMS, C. W. 1979. Introductory Mycology. 3ed. ed. New York, John Wiley and sons, inc. 632 p.

ARENAS, C. 1998. Evaluación de la incidencia y severidad de la enfermedad tristeza del palto causada por *Phytophthora cinnamomi* en plantas de palto cv. Mexícola cultivadas en maceta, en relación a distintos períodos de inundación del suelo. Taller Titulación Ing. Agr. Quillota, Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de Agronomía. 79 p.

BARTNICKI-GARCIA, S. and WANG, M. 1983. Biochemical aspects and morphogenesis in *Phytophthora*. In: Erwin, D.; Bartnicki-García, S. y Tsao, P. eds. *Phytophthora: Its biology, taxonimy, ecology and pathology*. Minnesota, APS Press. pp. 121-137

BEKEY, R. 1987. California avocado disease. California Grower 11(5): 18-21

BENSON, D. M. 1982. Cold inactivation of *Phytophthora cinnamomi*. Phytopathology 72(5): 560-563

BESOAIN, X., BRICEÑO, E., RUIZ, M. y PIONTELLI, E. 2003. Detección de *Botryosphaeria berengeriana* en Chile afectando a paltos, y susceptibilidad varietal de frutos. Empresa y Avance Agrícola 108: 6-9

_____. 1990. Enfermedades del palto. Universidad Católica de Valparaíso. Facultad de Agronomía. Curso Internacional de Producción, Postcosecha y Comercialización de Paltas. Viña del Mar. 2-5 octubre. pp. K1-K7

- _____, y FUENTES, H. 1988. Cancrosis en níspero (*E. japonica*) causado por *Botryosphaeria dothidea* y su incidencia en la zona de Quillota. *Simiente* 58 (1-2): 37
- _____, y LATORRE, B. 1986. Cancrosis en vides y durazneros producidas por especies de *Botryosphaeria*. *Simiente* 56: 19-20
- BROWN, E. and HENDRIX, F. 1981. Pathogenicity and histopathology of *Botryosphaeria dothidea* on apple stem. *Phytopathology* 71(3): 35-379
- CHEN, D. W., and ZENTMYER, G. A. 1970. Production of sporangia by *Phytophthora cinnamomi* in axenic culture. *Mycologia* 62: 397-402
- COFFEY, M. 1991. Cause and diagnosis Avocado root rot. *California Grower* 15(3): 17, 22-23
- CORNEJO, J. 1993. Aspectos epidemiológicos y de control de cancrisis en níspero (*Eriobotrya japonica*) causados por especies de *Botryosphaeria*. Taller Titulación Ing. Agr. Quillota, Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de Agronomía. 69 p.
- CURTIS, D. and ZENTMYER, G. A. 1949. Effect of oxigen supply on *Phytophthora* root rot and avocado in nutrient solution. *Am. J. Bot.* 36: 471-474
- DARVAS, J. M. and KOTZE, J. M. 1987. Avocado fruit disease and their control in South Africa. *South African Avocado Growers Assosiation Yearbook* 10: 117-119
- DOMSCH, K., GAMS, W. and TRUATE-HEIDI, A. 1980. Compendium of soil fungi. London, Academic Press. 859 p (V. 1.)

- DU PLESSIS, S. F. 1991. Factors important for optimal irrigation scheduling of avocado orchards. South African Avocado Growers Assosiation. Yearbook 14: 91-93
- DURAN, S. 1976. Replantación de árboles frutales. Barcelona, Aedos. 332 p.
- DURBIN, R. D. 1959. Factors affecting the vertical distribution of *Rhizoctonia solani* with special reference to CO₂ concentration. Am. J. Bot. 46 (1): 22-25
- ENGLISH, H., DAVIS, J. and DE VAY, J. 1975. Relationship of *Botryosphaeria dothidea* and *Hendersonula toruloidea* to a canker disease of almond. Phytopathology 65(2): 114-122
- ERWIN, D. C. and RIBEIRO, O. K. 1996. *Phytophthora* Diseases Worldwide. Minnesota, APS Press. 562 p.
- GALINDO, J. and ZENTMYER, G. A. 1964. Mating types in *Phytophthora cinnamomi*. Phytopathology 54(2): 238-239
- GARDIAZABAL, F. y ROSENBERG, G. 1991. Cultivo del Palto. Quillota, Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de Agronomía. 201 p.
- HAASIS, F. A. and NELSON, R. R. 1963. Studies on the biological relationship of species of *Phytophthora* as measured by oospore formation in intra and interspecific crosses. Plant Disease Reporter 47(8): 705-709
- HO, H. H. and ZENTMYER, G. A. 1977. Morphology of *Phytophthora cinnamomi*. Mycologia 69: 701-713

- JONES, A. and ALDWINCKLE, H. 1991. Compendium of apple and pears diseases and insects. 2ª edición. St. Paul, Minnesota. The American Phytopathological Society. 100 p.
- JOHNSON, G. I. 1994. *Dothiorella* stem canker and fruit rot. In: Ploetz, R. C., Zentmyer, G.A., Nishijima, W. T., Rohrbach, K.G., y Ohr, H. D. Eds. Compendium Of Tropical Fruit Diseases. St. Paul, Minnesota. The American Phytopathological Society. pp. 76
- KHEW, K. L. and ZENTMYER, G. A. 1973. Chemotactic response of zoospores of five species of *Phytophthora*. *Phytopathology* 63 (12): 1511-1517
- KUNIMOTO, R. K. y KO, W. H. 1984. Brown root of guava fruit in Hawaii caused by *Dothiorella berengeriana*. *Plant Disease* 68(9): 918
- LABANAUSKAS, C. K., STOLZY, L. H. y ZENTMYER G. A. 1975. The effect of root infection by *Phytophthora cinnamomi* and soil oxygen content on the concentration and total amounts of nutrients in avocado plants (*Persea americana* Mill). *California Avocado Society Yearbook* 59: 110-116
- LATORRE, B., DE ANDRACA, F. y BESOAIN, X. 1998. Tristeza del Palto. *Aconex* 59: 18-23
- _____. 1992. Enfermedades de las plantas cultivadas. 4ª. ed. Santiago, Ediciones Universidad Católica de Chile. 628 p.
- _____, y TOLEDO, V. 1984. Cancro áspero del manzano. *Revista Frutícola* 4(3): 84-86
- MAAS, J. and UECKER, F. 1984. *Botryosphaeria dothidea* cane canker disease of thornless blackberry. *Plant Disease* 68(7): 720-726

- MEHRLICH, F. P. 1935. Non-sterile soil leachate stimulating to zoosporangia production by *Phytophthora* sp. *Phytopathology* 25(4): 432-434
- MICHAILIDES, T. 1991. Pathogenicity, distribution, sources of inoculum, and infection courts of *Botryosphaeria dothidea* on pistachio. *Phytopathology* 81(5): 566-573
- MILHOLLAND, R. 1972. Histopathology and pathology of *Botryosphaeria dothidea* on blueberry stems. *Phytopathology* 62(7): 654-660
- MIRCETICH, S. M. and ZENTMYER, G. A. 1967. Existence of *Phytophthora cinnamomi* as chlamydiospores and oospores in roots and soil. *California Avocado Society Yearbook* 51: 117-124
- MITCHELL, D. J. and ZENTMYER, G.A. 1971. Effects of oxygen and carbon dioxide tensions on sporangium and oospore formation by *Phytophthora* spp. *Phytopathology* 61(7): 807-812.
- MORALES, A. 1985. Principales enfermedades bióticas y abióticas en limoneros. *Revista Frutícola* 6(2): 55-59
- _____, y MORENO, P. 1986. Kiwi: pudriciones radiculares. *Aconex* 12: 13-16
- OGAWA, J. and ENGLISH, H. 1991. Diseases of temperate zone tree fruit nuts crops. Oakland, University of California, Division of Agriculture and Natural Resources. 461 p. (P. 3345)
- PENNYCOOK, S. and SAMUELS, G. 1985. *Botryosphaeria* y *Fusicoccum* species associated with ripe fruit rot of *Actinidia deliciosa* (kiwifruit) in New Zeland. *Mycotaxon* 24: 445-485

- PINTO, A., ALVAREZ, M. y TOBAR, G. 1986. Pudrición de frutos y canchros en ramas de palto causados por *Dothiorella* en la V Región-Chile. *Agricultura Técnica* 46(4): 499-501
- _____, y ENGLISH, H. 1972. Principales enfermedades de los frutales de hojas caduca en Chile. Santiago, INIA. 73 p.
- PLOETZ, R. C. y SCHAFFER, B. 1989. Effects of flooding and *Phytophthora* root rot on net gas exchange and growth of avocado. *Phytopathology* 79 (2): 204-208
- _____, and PARRADO, J. L. 1988. Quantitation and detection of *Phytophthora cinnamomi* in avocado production areas of South Florida. *Plant Disease* 72(9): 981-984
- PUSEY, P. 1989. Availability and dispersal of ascospores and conidia of *Botryosphaeria* in peach orchards. *Plant Disease* 73(9): 1000-1003
- RAMOS, L. 1991. Tip dieback of mango (*Mangifera indica*) caused by *Botryosphaeria ribis*. *Plant Disease* 79(3): 315-318
- RIBEIRO, O. 1978. A source book of the genus *Phytophthora*. Cramer, Vaduz, Liechtenstein. 417 p.
- _____, ERWIN, D. C. and ZENTMYER, G. A. 1975. An improved synthetic medium for oospore production and germination of several *Phytophthora* species. *Mycologia* 67: 1012-1019
- RITTENBURG, L. H. and HENDRIX, F. F. 1983. Peach fruit rots caused by *Botryosphaeria* spp. and *Glomerella cingulata*. *Plant Disease* 67(4): 449-450
- ROTH, L. 1963. *Phytophthora cinnamomi* root rot of Douglas-fir. *Phytopathology* 53(11): 1128-1131

- ROYLE, D. J. and HICKMAN, C. J. 1964. Observations on *Phytophthora cinnamomi*. Canadian Journal of Botany 43: 311-318
- RUMBOS, I. 1987. Twig and branch dieback of walnut trees induced by *Botryosphaeria ribis*. Plant Pathology 36: 602-605
- SCHOENEWEISS, D. 1981. The role of environmental stress in diseases of woody plants. Plant Disease 65(6): 707-709
- SMITH, C. O. 1934. Inoculations showing the wide host range of *Botryosphaeria ribis*. J. Agric. Res 49: 467-673
- SMITH, I., DUNEZ, J., LELLIOTT, R., PHILLIPS, D. y ARCHER, S. 1992. Manual de las enfermedades de las plantas. Madrid, Mundi-Prensa. 671 p.
- STERNE, R. E., ZENTMYER, G. A. and KAUFMANN, M. R. 1978. Effect of *Phytophthora* root rot on water relation of avocado: interpretation with a water transport model. Phytopathology 68(5): 595-602
- _____, _____ and _____. 1977. The effect of matric and osmotic potential of soil on *Phytophthora* root disease of *Persea indica*. Phytopathology 67(12): 1491-1494
- SUTTON, T. and ARAUZ, L. 1991. Influence of temperature and moisture on germination of ascospores and conidia of *Botryosphaeria dothidea*. Plant Disease 75(10): 1146-1149
- _____. 1981. Production and dispersal of ascospores and conidia by *Phytophthora obtusa* and *Botryosphaeria dothidea* in apple orchards. Phytopathology 71(5): 584-589
- _____. 1980. The Coelomycetes: Fungi imperfecti with pycnidia acervuli and stromate. Inglaterra, Commonwealth Mycological Institute. 696 p.

- TELIZ, D. 2000. Marchitez necrótica o pudrición de ramas. In: Téliz, D. El aguacate y su manejo integrado. Madrid, Mundi-Prensa. pp 156-157. 219 p.
- THORN, W. y ZENTMYER, G. A. 1952. Host of *Phytophthora cinnamomi* Rands., the causal organism of avocado root rot. California Avocado Society Yearbook 32: 196-200.
- VERGARA, C. 1957. Decaimiento o tristeza del palto. Simiente 27(1-4): 53-55
- WATERHOUSE, M. 1963. Key to the species of *Phytophthora* De Bary. Mycolocal Papers, CMI, 92: 1-22
- WEAVER, D. 1974. A gummosis disease of peach trees caused by *Botryosphaeria dothidea*. Phytopathology 64(12): 1429-1432
- WHILEY, A. W., CHAPMAN, K. and SARANAH, J. B. 1988. Water loss by floral structures of avocado (*Persea americana* Mill cv. Fuerte) during flowering. Aust. J. Agric. Res. 39: 457-567
- _____, PEGG, K. G., SARANAH, J. B. and FORSBERG, L. I. 1986. The control of *Phytophthora* root rot of avocado with fungicides and effects of this disease on water relations, yield and ring neck. Australian Journal of Experimental Agriculture 26: 249-253.
- WHITE, B. 1989. Root of the matter. California Grower 13(3): 6-8
- ZAKI, A. I., ZENTMYER, G. A., SIMS, J. J. and KEEN, N. T. 1983. Stimulation of sexual reproduction in the A2 mating type of *Phytophthora cinnamomi* by oleic acid and lipids from avocado roots. Phytopathology 73(2): 199-203

- ZENTMYER, G. A., MENGE, J. and OHR, H. 1994. *Phytophthora* root rot. In: Ploetz, R. C., Zentmyer, G.A., Nishijima, W. T., Rohrbach, K.G., y Ohr, H. D. eds. Compendium Of Tropical Fruit Diseases. St. Paul, Minnesota. The American Phytopathological Society. pp. 77-79
- _____. 1992. Beyond *Phytophthora*: a survey of avocado diseases. California Grower 16(4): 42-44
- _____. 1983. The world of *Phytophthora*. In: Erwin, D.; Bartnicki-García, S. y Tsao, P. eds. *Phytophthora*: Its biology, taxonomy, ecology and pathology. Minnesota, APS Press. pp. 1-7
- _____. 1980. *Phytophthora cinnamomi* and the disease it causes. St. Paul Minnesota, APS, Press. American Phytopathological Society, 96 p. (Monograph 10).
- _____, KLURE, L. J. and POND, E. C. 1979. The influence of temperature and nutrition on formation of sexual structures by *Phytophthora cinnamomi*. Mycologia 71: 55-67
- _____. 1966. Role of amino acids in chemotaxis of zoospores oh three species of *Phytophthora*. Phytopathology 56(8): 907 (Abstract).
- _____ and MIRCETCH, S. M. 1966. Saprophytism and persistence in soil by *Phytophthora cinnamomi*. Phytopathology 56(6): 710-712
- _____. 1952. A substance stinulating sexual reproduction in *Phytophthora cinnamomi* in relation to avocado decline. Phytopathology 37 (1): 25

ANEXOS

ANEXO 1. Tamaño de los esporangios de *Phytophthora cinnamomi* y de las conidias de *Fusicoccum aesculi*, utilizadas en la inoculación, medidas en micras.

<i>Phytophthora cinnamomi</i>		<i>Fusicoccum aesculi</i>	
Cepa P.C.3	Cepa P.C.2	Cepa F.P.2	Cepa F.P.3
64x46	46x30	24x6	20x6
58x36	56x32	18x4	24x10
64x40	46x30	18x4	24x8
84x52	58x34	20x4	20x4
44x28	78x30	20x6	22x4
66x40	60x36	18x6	18x4
64x38	68x38	18x4	16x6
72x40	62x40	22x8	22x6
88x42	68x44	16x4	16x4
68x44	70x40	20x4	20x4
90x48	66x44	16x4	18x8
60x36	64x36	20x6	18x6
92x50	70x40	22x6	20x4
72x40	60x38	22x4	18x6
96x44	54x36	18x4	18x4
76x40	52x32	18x4	20x6
82x40	56x30	20x6	18x6
90x38	60x40	18x6	16x4
84x36	60x34	18x6	22x8
76x42	40x30	18x6	24x8
Promedio: 74,5x41	Promedio: 67,1x38,7	Promedio: 19,2x5,1	Promedio: 19,7x5,9
Promedio total: 67,1x38,4		Promedio total: 19,5x5,5	

ANEXO 2. Análisis de varianza (ANDEVA) y test de student para la variable incremento en la altura de plantas.

ANDEVA

Fte variación	GL	SC	CM	Fc	Ft
Total	44	3747,41			
TMT	8	1047,56	130,94		
<i>Phytophthora A</i>	2	213,44	106,72	1,42	3,26
<i>Fusicoccum B</i>	2	727,14	363,57	4,84	3,26
Interacción A*B	4	106,98	26,75	0,36	2,63
Error	36	2699,85	74,99		

TEST DE STUDENT

	Variable A	Variable B
Media	15,7253039	13,09888466
Varianza	69,1893568	74,9267209
Observaciones	15	15
Coefficiente de correlación de Pearson	0,144102391	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	14	
Estadístico t	0,915827279	
P(T<=t) una cola	0,187631681	
Valor crítico de t (una cola)	1,76130925	
P(T<=t) dos colas	0,375263362	
Valor crítico de t (dos colas)	2,144788596	

ANEXO 3. Análisis de varianza (ANDEVA) y test de student para la variable número de hojas.

ANDEVA

Fte variación	GL	SC	CM	Fc	Ft
Total	44	13406,58			
TMT	8	3730,18	466,27		
<i>Phytophthora A</i>	2	3021,51	1510,76	5,62	3,26
<i>Fusicoccum B</i>	2	227,38	113,69	0,42	3,26
Interacción A*B	4	481,29	120,32	0,44	2,63
Error	36	9676,4	268,79		

TEST DE STUDENT

	<i>Variable A</i>	<i>Variable B</i>
Media	49,8666667	41,8
Varianza	269,838095	165,457143
Observaciones	15	15
Coefficiente de correlación de Pearson	0,68812924	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	14	
Estadístico t	2,59904006	
P(T<=t) una cola	0,01050828	
Valor crítico de t (una cola)	1,76130925	
P(T<=t) dos colas	0,02101656	
Valor crítico de t (dos colas)	2,1447886	

ANEXO 4. Análisis de varianza (ANDEVA) y test de student para la variable área foliar.

ANDEVA

Fte variación	GL	SC	CM	Fc	Ft
Total	44	2,42*10 ⁸			
TMT	8	8,16*10 ⁷	1,02*10 ⁷		
<i>Phytophthora</i> A	2	4,15*10 ⁷	2,07*10 ⁷	4,64	3,26
<i>Fusicoccum</i> B	2	1,54*10 ⁷	7683994	1,72	3,26
Interacción A*B	4	2,47*10 ⁷	6177348	1,38	2,63
Error	36	1,61*10 ⁸	4467038		

TEST DE STUDENT

	Variable A	Variable B
Media	7581,91884	6608,73653
Varianza	7784954,77	6207325,15
Observaciones	15	15
Coefficiente de correlación de Pearson	0,59783947	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	14	
Estadístico t	1,58141979	
P(T<=t) una cola	0,06805227	
Valor crítico de t (una cola)	1,76130925	
P(T<=t) dos colas	0,13610454	
Valor crítico de t (dos colas)	2,1447886	

ANEXO 5. Análisis de varianza (ANDEVA) para la variable largo del cancro.

ANDEVA

Fte variación	GL	SC	CM	Fc	Ft
Total	44	138,21			
TMT	8	97,57	12,2		
<i>Phytophthora</i> A	2	14,58	7,29	6,46	3,26
<i>Fusicoccum</i> B	2	42,07	21,03	18,64	3,26
Interacción A*B	4	40,92	10,23	9,06	2,63
Error	36	40,63	1,13		

ANEXO 6. Cálculo del área foliar total de cada unidad experimental.

TMT	Largo hoja (cm)	Ancho de hoja (cm)	Área foliar (cm ²)	Nº hojas	Área foliar total (cm ²)
T0R1	15,3	6,3	151,409412	75	11355,7059
T0R2	17,52	6,3	173,3786208	34	5894,873107
T0R3	19,56	7,4	227,3638752	52	11822,92151
T0R4	14,56	5,64	128,9915827	30	3869,747482
T0R5	18,44	7,24	209,7105965	25	5242,764912
T1R1	18,5	6,42	186,563916	32	5970,045312
T1R2	18,28	6,5	186,642456	48	8958,837888
T1R3	16,52	6,48	168,1535117	30	5044,60535
T1R4	17,34	5,62	153,0757166	36	5510,725799
T1R5	12,84	4,44	89,55067968	45	4029,780586
T2R1	14,08	5,6	123,8544384	44	5449,59529
T2R2	18,3	6,86	197,1950904	45	8873,779068
T2R3	15,32	5,84	140,537591	49	6886,341961
T2R4	17,24	6,14	166,2748349	30	4988,245046
T2R5	12,18	5,26	100,6361294	52	5233,078731
T3R1	17,22	7,72	208,8196387	52	10858,62121
T3R2	17,28	5,84	158,5175962	60	9511,05577
T3R3	14,3	6,1	137,020884	37	5069,772708
T3R4	15,94	6,62	165,7552142	70	11602,865
T3R5	16,1	6,04	152,7508752	55	8401,298136
T4R1	16,94	5,88	156,4629898	39	6102,056601
T4R2	12	4,8	90,47808	77	6966,81216
T4R3	11,64	4,3	78,6216816	58	4560,057533
T4R4	16,18	6,14	156,0514402	34	5305,748965
T4R5	16,06	5,68	143,2896326	50	7164,481632
T5R1	13,32	5,34	111,729119	54	6033,372428
T5R2	16,4	6,28	161,7798336	34	5500,514342
T5R3	10,36	3,38	55,00438944	87	4785,381881
T5R4	10,68	4,1	68,7821904	80	5502,575232
T5R5	15,74	6,28	155,2691818	60	9316,150906
T6R1	17,22	7,38	199,6229189	31	6188,310485
T6R2	15,14	6,52	155,0580662	15	2325,870994
T6R3	13,2	4,74	98,2818144	25	2457,04536
T6R4	12,88	5,8	117,3450432	60	7040,702592
T6R5	13,26	6,32	131,6380666	28	3685,865864
T7R1	15,86	6	149,477328	26	3886,410528
T7R2	14,92	6,08	142,4929229	31	4417,280609
T7R3	11,74	4,9	90,3618408	57	5150,624926
T7R4	17,98	7,66	216,3412574	26	5624,872693
T7R5	13,08	5,14	105,606769	70	7392,473827
T8R1	13,18	5,18	107,2422859	46	4933,145152
T8R2	15,16	5,88	140,0223686	31	4340,693428
T8R3	12,5	6,56	128,8056	55	7084,308
T8R4	14,68	5,72	131,8994477	46	6067,374593
T8R5	18,76	6,96	205,0987277	12	2461,184732

ANEXO 7. Variables evaluadas en los tratamientos de inoculación con *Fusicoccum aesculi* y *Phytophthora cinnamomi*.

TMT	Largo brote 1 (cm)	Largo brote 2 (cm)	%incremento	Nº hojas	Área foliar (cm ²)	Largo cancro (cm)
T0R1	63,1	76,2	20,76	75	11355,7	0,0
T0R2	58	65	12,07	34	5894,9	0,0
T0R3	58	74,4	28,28	52	11822,9	0,0
T0R4	41	50,8	23,90	30	3869,7	0,0
T0R5	79,2	90	13,64	25	5242,8	0,0
T1R1	50,9	57,2	12,38	32	5970,0	2,7
T1R2	62,6	72	15,02	48	8958,8	4,7
T1R3	67,2	70,8	5,36	30	5044,6	4,3
T1R4	68,3	68,3	0,00	36	5510,7	3,5
T1R5	60	63,1	5,17	45	4029,8	3,9
T2R1	70	74,4	6,29	44	5449,6	3,1
T2R2	51	59	15,69	45	8873,8	3,3
T2R3	71,4	80,4	12,61	49	6886,3	5,5
T2R4	62,4	62,8	0,64	30	4988,2	1,8
T2R5	59,1	73,7	24,70	52	5233,1	2,7
T3R1	56,6	72,3	27,74	52	10858,6	0,0
T3R2	63,7	73	14,60	60	9511,1	0,0
T3R3	66,6	78,2	17,42	37	5069,8	0,0
T3R4	70,4	88,5	25,71	70	11602,9	0,0
T3R5	69,5	74,9	7,77	55	8401,3	0,0
T4R1	59,2	62,8	6,08	39	6102,1	0,0
T4R2	75	76,8	2,40	77	6966,8	0,0
T4R3	60,4	70	15,89	58	4560,1	0,0
T4R4	44	50,5	14,77	34	5305,7	0,0
T4R5	74,2	77,8	4,85	50	7164,5	0,0
T5R1	66	73,8	11,82	54	6033,4	1,7
T5R2	61,9	69,3	11,95	34	5500,5	5,5
T5R3	72	72,3	0,42	87	4785,4	4,4
T5R4	71,3	80,4	12,76	80	5502,6	3,2
T5R5	82	92	12,20	60	9316,2	2,2
T6R1	52,5	76	44,76	31	6188,3	0,8
T6R2	41,3	45,8	10,90	15	2325,9	1,1
T6R3	55,7	60	7,72	25	2457,0	1,9
T6R4	61,6	81,3	31,98	60	7040,7	4,8
T6R5	47,7	55	15,30	28	3685,9	1,1
T7R1	52	58,4	12,31	26	3886,4	2,2
T7R2	60,2	68,2	13,29	31	4417,3	2,4
T7R3	53,1	63,8	20,15	57	5150,6	4,7
T7R4	60,8	74	21,71	26	5624,9	2,0
T7R5	70,7	86	21,64	70	7392,5	2,5
T8R1	64,1	71,2	11,08	46	4933,1	1,1
T8R2	47,4	49,4	4,22	31	4340,7	3,2
T8R3	58,5	69,1	18,12	55	7084,3	1,4
T8R4	71,5	74,6	4,34	46	6067,4	5,7
T8R5	37,6	47	25,00	12	2461,2	1,8