

UNIVERSIDAD DE ALMERÍA

ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR Y FACULTAD DE
CIENCIAS EXPERIMENTALES



INGENIERÍA TÉCNICA AGRÍCOLA

ESPECIALIDAD DE HORTOFRUTICULTURA Y JARDINERÍA

**BIOSOLARIZACIÓN Y BIOFUMIGACIÓN PARA EL CONTROL DE
PATÓGENOS DEL SUELO EN EL CULTIVO DEL AGUACATE EN
VELEZ-MÁLAGA (MÁLAGA).**

DIRECTOR:

Dr. D. Julio C. Tello Marquina

ALUMNO:

Jose Francisco Alemany Porras

Almería, Junio de 2014.

AGRADECIMIENTOS

Mi primer agradecimiento, va dirigido a mi profesor Julio C. Tello. Al cual, debo la confianza puesta en mi, la ayuda prestada, todos los conocimientos adquiridos, además del buen trato recibido.

Agradezco a mi tío Miguel Moreno Marín, por confiar en mí así como poner su finca a disposición de este proyecto.

También agradecer la ayuda prestada por Rosa M^a Pérez Jiménez y Teresa Zea Bonilla, en el I.F.A.P.A. de Churriana.

A Luis Carlos del Corral García por ser ayudante tanto en laboratorio como en campo, a Antonio Miguel Ayllón Moreno por ser perseverante y darme el último empujón a presentar este proyecto.

A aquellos que no confiaron en mi cambiando el proyecto llamado en forma de mofa “Como secar aguacateros”

Quiero dedicar este trabajo a mis padres José Alemany Alemany y Francisca Porras Rueda, que ellos hubieran sido las personas más felices de verme presentar y defender este proyecto, allá donde esteis descansar en paz, que siempre me habian animado a continuar, así como a mis hermanas Pamela y Vanesa Alemany Porras, que también han sido de gran apoyo. Y a mis compañeros de piso que me decían que estaba loco de hacer tal proyecto de esta envergadura tanto trabajo en campo como trabajo en laboratorio, a mis compañeros de carrera, a todos los amigos que serían demasiadas páginas nombrarlos a todos.

Gracias a todos.

Lanzaría una lanza a favor de la investigación, ya que la investigación es el progreso, no el retroceso.

ÍNDICE GENERAL

	Página
1. Introducción.....	1
1.1. El cultivo del aguacate.....	1
1.1.1. Origen, clasificación y distribución	1
1.1.2. Aspectos botánicos.....	2
1.1.3. Cultivares y porta injertos	6
1.1.4. Nutrición.....	7
1.1.5. Plagas	14
1.1.6. Enfermedades	17
1.1.7. Prácticas culturales	19
1.2. Phytophthora cinnamomi	22
1.2.1. Generalidades	22
1.2.2. Antecedentes históricos.....	23
1.2.3. Influencia de factores físicos sobre el desarrollo de Phytophthora cinnamomi	24
1.2.4. Patogenicidad	28
1.2.5. Requerimientos nutricionales para el desarrollo de Phytophthora cinnamomi	34
1.2.6. Saprofitismo y supervivencia	36
1.2.7. Reproducción asexual	39
1.2.8. Control de phytophthora cinnamomi.....	42

2. Objetivos del proyecto.....	53
3. MATERIALES Y MÉTODOS.	
3.1 Descripción del campo de ensayo.....	54
3.1.1 Visita Finca Miguel Moreno.....	54
3.1.2. Elección de los árboles.....	55
3.2 Selección de los árboles a estudiar. Diseño experimental.....	61
3.2.1 Diseño del experimento para el tratamiento de Biosolarización.....	61
3.2.2 Diseño del experimento para el tratamiento de Biofumigación.....	64
3.2.3 Árboles testigo.....	66
3.2.4 Detección de <i>Phytophthora cinnamomi</i> en los árboles de cada tratamiento.....	67
3.3 Evaluación del efecto de la biodesinfección del suelo de los árboles.....	68
3.3.1 Análisis de la microbiota fusárica del suelo. (Tello et al., 1991).....	68
3.3.2 Modo de operar con la muestra de suelo.....	70
3.3.3 Forma de hacer el análisis.....	70
3.3.4 Árboles analizados.....	72
3.4 Análisis para detectar la presencia de <i>Phytophthora</i> en los árboles.....	73
3.4.1 Trampas vegetales.....	73
3.4.2 Trampas usadas en los ensayos.....	74
3.4.3 Análisis de raicillas.....	81
3.5 Patogenicidad de <i>Phytophthora cinnamomi</i>	84
3.5.1 Cepas del oomiceto utilizadas.....	84
3.5.2 Preparación e inoculación de las plántulas.....	84
3.6 Efecto vigorizante de la biodesinfección.....	86
3.6.1 Técnica de evaluación.....	86
4. Resultados y Discusión.	
4.1. Análisis inicial del estado de la finca.....	89
4.2 Resultados sobre el efecto desinfectante en la microbiota fusárica.....	90
4.2.1 Efecto de la biosolarización.....	90
4.2.2 Efecto de la biofumigación.....	93
4.2.3. Comentarios globales a los resultados.....	99

4.3 Resultado sobre el efecto desinfectante en la microbiota conformada por <i>Phytophthora</i> y <i>Pythium</i>	99
4.3.1 Efecto de la biosolarización sobre <i>Phytophthora ssp.</i> y <i>Pythium ssp.</i>	99
4.3.2 Efecto de la biofumigación sobre <i>Phytophthora spp</i> y <i>Pythium spp.</i>	104
4.3.3 Árboles testigo utilizados para el estudio de <i>Phytophthora</i> y <i>Pythium</i> . Comentarios al resultado global.....	107
4.3.4. Comentarios generales a los resultados.....	111
4.4 Resultados sobre patogeneicidad de <i>P. cinnamomi</i> en plántulas de aguacate.....	111
4.5. Resultados sobre el efecto de la biodesinfección en el crecimiento de los árboles.....	116
4.5.1 Resultados de la biosolarización.....	116
4.5.2 Resultados de la biofumigación.....	118
4.5.3 Resultados en los árboles testigos.....	120
4.5.4. Comentarios a los resultados sobre el efecto vigorizante.....	123
5. CONCLUSIONES.....	124
6. BIBLIOGRAFÍA.....	125
6.2 Bibliografía revisada pero no citada expresamente en el texto.....	142
7. RELACIÓN DE FIGURAS Y CUADROS.....	149

1. INTRODUCCIÓN.

1. INTRODUCCIÓN.

1.1 EL CULTIVO DEL AGUACATE.

1.1.1 Origen, clasificación y distribución.

El aguacate *Persea americana* es una planta dicotiledónea, subclase de las dialipétalas, orden de las ranales, familia de las Lauráceas, la cual la componen alrededor de 45 géneros y más de 100 especies. Del género *Persea*, se conocen 50 especies que tienen similitud con el aguacate y se caracterizan porque casi todas estas especies tienen origen americano.

La especie comprende tres grupos o razas ecológicamente definidas:

- ❖ Raza mejicana: *Persea americana* var. *drymifolia*.
- ❖ Raza guatemalteca: *Persea nubigena* var. *Guatemalis*
- ❖ Raza antillana: *Persea americana* var. *Americana*.

Las dos primeras son originarias de los altiplanos guatemaltecos y mejicano, y la última de las tierras bajas de Centro América.

Los principales países productores de aguacate son México, Estados Unidos e Indonesia. Después tenemos aquellos países que no son tan importantes pero tampoco son despreciables ya que poseen unas producciones elevadas y principalmente son los que más exportan a nivel mundial.

Cuadro 1. Principales países productores de aguacate.

País	Producción
México	1.000.000 t
E.E.U.U.	200.000 t
Indonesia	150.000 t

Cuadro 2, Principales países exportadores de aguacate.

País	Exportación
España	68.000 t
Sudáfrica	66.000 t
Israel	58.000 t

1.1.2. Aspectos botánicos.

❖ Raíz

Son generalmente superficiales, pudiendo llegar hasta el 1,5 metros de profundidad, en suelos sueltos, se caracteriza por no tener apenas pelos absorbentes, realizándose la absorción de agua y nutrientes por las puntas de las raíces. Se han encontrado una alta asociación simbiótica de esta especie con hongos endomicorrizicos arbusculares, facilitando la absorción de los elementos minerales, sobre todos aquellos los de baja movilidad como son fósforo, cobre y zinc.

❖ Porte.

El árbol de aguacate posee un crecimiento y desarrollo variado, en su hábitat natural pueden existir hasta de 20-25 metros de altura. Su tallo es leñoso, posee un gran crecimiento vegetativo y en árboles de 50 años de edad se han encontrado diámetros de hasta 1,5 metros. Su copa de ramas extendidas, resulta propagada de anchura y altura, con formas globosas o de campana. Las ramas son gruesas, cilíndricas, al principio verde amarillentas y densamente pubescentes, pero después son negras glabras, opacas o con poco brillo y con cicatrices prominentes diseminadas en las hojas.

❖ Hojas.

Son coriáceas dispuestas en posición alternada, pecioladas, oblongas o elipticolanciadas hasta ovaladas, 8-40 cm de largo con base aguda. Cuando son jóvenes presentan un color rojizo, una vez maduras, el haz es verde oscuro y con brillo escaso, el envés glauco y opaco, al principio densamente pubescente en ambas caras, después glabras, pinnatinervada, con 4-10 pares de nervaduras laterales. Pecíolo largo, semicilíndrico, al principio poco pubescente, después glabra de 1,5 a 5 cm de largo.

❖ Flor.

Se desarrollan inflorescencias en racimos axilares, las flores se presentan en grandes cantidades, insertadas cerca de la base del brote nuevo, caquis cilíndrico o comprimido, de color verde amarillento, densamente pubescente con numerosas brácteas oblongas, lanceoladas de color verde amarillento, pubescente cortas y fugaces. Flores pequeñas, verdosas, hermafroditas, densamente pubescentes, pedicelos cortos. La envoltura exterior o

perianto de la flor es una sola, la cual se ha interpretado como un cáliz constituido por seis partes agudas dispuestas en dos grupos, siendo las extremas ligeramente mayores. Algunos indican, de que se trata de tres sépalos y tres pétalos. Los estambres llegan a 12 en 4 verticilos cuya seria interna formada por tres esta reducida a estaminoides, los tres estambres funcionales mas internos son más largos que los otros con anteras vueltas hacia fuera y con glándulas ovoides de tallo corto de color anaranjado en la base de los filamentos nectararios. Los 6 estambres perfectos más externos tienen anteras con dehiscencia interna y carecen de glándulas. El ovario es unilocular con estilo sencillo el estigma globoso.

La flor es flor de un par de días, dura muy poco y se abre dos veces. El aguacatero tiene la particularidad de ser dicógamo, es decir que la primera vez que se abre la flor lo hace en estado femenino, el pistilo está bien erguido y los estambres cerrados. Luego la flor se cierra, al abrirse por segunda vez generalmente el estigma está muerto y los estambres esta vez, liberando el polen.

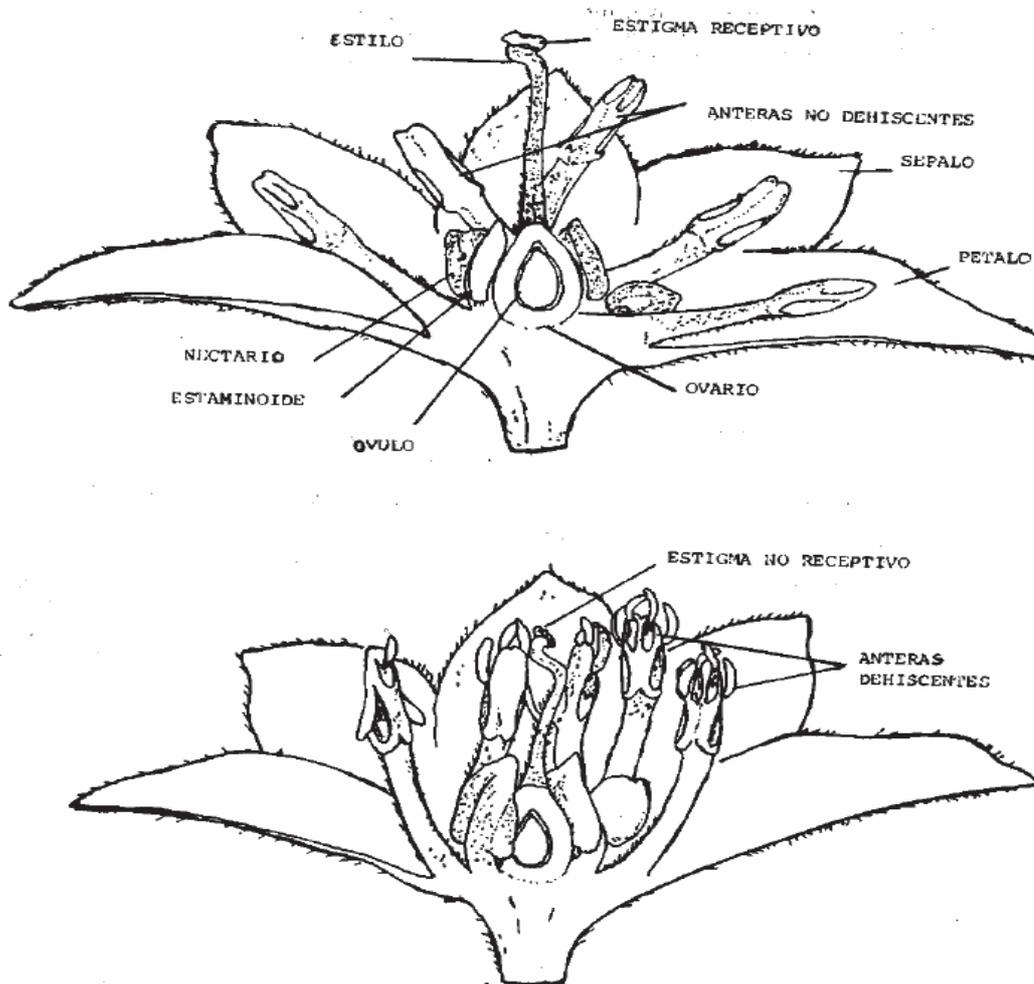


Figura 1. Flor femenina, arriba. Flor masculina abajo.

Los cultivares pueden ser del grupo A o B

❖ **Flor A:**

La primera abertura de la flor tiene lugar por la mañana, actuando exclusivamente como hembra, es decir, su estigma es receptivo; pero las anteras no producen polen. La polinización puede realizarse con polen de variedades del grupo B, que emiten polen durante el mismo periodo de la mañana.

La flor cierra al medio día, para abrirse de nuevo al día siguiente por la tarde, actuando entonces exclusivamente como macho, ya que el estigma no está receptivo, pero sus anteras producen polen. Al final de la tarde se vuelve a cerrar la flor.

❖ **Flor B:**

Se abre por primera vez después del medio día, funcionando exclusivamente como hembra, estando su estigma receptivo pero las anteras no producen polen. La polinización es posible con polen de variedades del grupo A, que actúa como macho durante ese primer periodo. La flor se cierra al final de la tarde para abrirse de nuevo al día siguiente por la mañana, actuando entonces únicamente como macho, ya que las anteras producen polen. La flor vuelve a cerrarse al medio día.

Cuadro 3: Fenología floral en aguacate.

	GRUPO A	GRUPO B
Primer día: Mañana	Las flores abren con el estigma receptivo.	-
Tarde	Flores cerradas	Las flores se abren con el estigma receptivo.
Noche	Flores cerradas	Flores cerradas
Segundo día:	Flores cerradas	Las flores se abren de nuevo con los estambres dehiscentes.
Tarde	Las flores se abren de nuevo con los estambres dehiscentes.	

FUENTE: El Aguacate, Fco. Javier Alvarez de la Peña.

❖ Fruto.

El fruto es una drupa globosa generalmente piriforme, oviforme o globoso de color verde amarillento hasta marrón y púrpura. La piel puede ser notablemente rugosa, gruesa y quebradiza (guatemalteca), lisa (mexicana) y lisa (antillana). La pulpa de color amarillo claro verdoso o verde claro de consistencia de mantequilla y la semilla grande, globosa o puntiaguda, con dos envolturas muy pegadas, los cotiledones son casi hemisféricos y de color rosado, blanco amarillento o verde claro.

En relación al peso pueden encontrarse frutos desde 50 gramos hasta los 2,5 kg.

❖ Valor alimenticio.

Una de las principales características del fruto del aguacate al igual que la aceituna, es su alto contenido en aceite, oscilando según variedades desde un 8% hasta un 25%.

Por este contenido de aceites, el valor energético del aguacate es de 450-300 calorías por cada 100 gramos comestibles de fruto, proporcionando incluso más calorías que la carne. De hecho se le conoce como el “pan de los pobres”.

De acuerdo a Rodríguez. (1982), una muestra de 100 gramos de pulpa de aguacate posee el siguiente contenido de elementos y nutrientes.

Cuadro 4: Elementos y nutrientes en una muestra de 100 g de pulpa de aguacate.

Grasa	8 a 25%
Calorías	152
Proteínas	1,6g
Hidratos de carbono	4,8g
Calcio	24mg
Fósforo	47mg
Hierro	0,53mg
Tiamina	0,09mg
Riboflavina	0,14mg
Niacina	1,9mg
Ácido ascórbico	14mg

La composición del fruto varía según la variedad y la localidad donde se cultive. Dentro de los hidratos de carbono, el mesocarpio presenta alcoholes y azúcares poco usuales como perseitol, D-eritro-D-galacto-ocitol, D-mano-heptulosa, D-glicero-manoctulosa, D-talo-heptulosa, D-glicero-D-galacto-heptosa, D-glicero-L-galacto-octulosa, D-entro-L-glucomanulosa, D-eritro-L-galactomanulsa; además de glucosa, fructosa y sacarosa. El aguacate contiene un 4,7% de azúcares lo que es muy bajo si se compara con otras frutas. También es rica en ácidos oleicos, palmítico, linoleico y palmitoleico, mientras que del esteárico solo tiene trazas. Las semillas del fruto tienen pocas grasas, solo el 1% del total del peso fresco de la fruta.

“Ha sido encontrado que el aceite del aguacate es uno de los ácidos grasos insaturados más valorados, siendo quinto en la lista de los aceites conocidos más deseables como agente anticolesterol. El uso común de aceites insaturados en la dieta, retarda o previene la formación de placas que produce las enfermedades coronarias al corazón”. Otro motivo más para añadir esta fruta a la dieta mediterránea que además de ser una fruta muy saludable se cultiva en esta zona.

En cuanto a vitaminas el fruto es rico, especialmente en aquellas que son liposolubles.

1.1.3. Cultivares y porta injertos.

Los árboles de aguacate en la actualidad se forman por lo general de dos partes resultante del injerto: la copa y la raíz. La copa tiene un origen del cultivar injertado y que también forma parte del tronco, mientras que la raíz es parte del porta injerto. Sin embargo también existe la posibilidad de tener un tronco intermedio que provenga de un interinjerto entre el porta injerto y el cultivar, utilizado por temas de incompatibilidades.

El porta injerto o patrón puede obtenerse por vía vegetativa (patrón clonal) o a partir de semilla (patrón franco), entre los patrones francos los más utilizados son los cultivares mexicana, Topa Topa y Nabal. Con los patrones clonales fue la búsqueda de un porta injerto

con resistencia a *Phytophthora*. Actualmente se han ampliado al desarrollo de otras características, como a condiciones edáficas, tolerancia a otras enfermedades, tolerancia a salinidad, suelos cálcicos, tamaño de árboles, etc.

❖ Variedades

Se conocen más de 500 variedades mejoradas de las cuales unas 25 se cultivan en huertos comerciales en todo el mundo. De estas se considera que la variedad Hass, de raza guatemalteca es la más importante, otras variedades como: Fuerte, Bacon, Colin V-33, Reed, Pikerton, Gwen, Lamb Hass, son utilizadas según zonas y mercados.

1.1.4. Nutrición.

❖ Fertilización.

La nutrición del aguacate debe conducir a mantener unos niveles adecuados de nutrientes en hoja. Para conocerlos, se debe realizar de forma anual ó al menos cada dos años, un análisis foliar, recolectando en octubre-noviembre, cuatro hojas por árbol, de un total de 10 árboles elegidos al azar por cada parcela de 1-2 Ha ó por cada tipo de suelo representativo de la parcela.

Cuadro 5. Nutrientes en hoja, recomendada en la variedad Hass. (Ignacio Escobar et al. 2001)

Elemento	% sobre materia seca	
Nitrógeno	2-2,2	%
Fosforo	0,11-0,13	%
Potasio	0,5-1	%
Calcio	1-3	%
Magnesio	0,3-0,8	%
Boro	30-80	p.p.m
Cobre	5-15	p.p.m
Hierro	50-200	p.p.m
Zinc	30-150	p.p.m
Manganeso	30-500	p.p.m

❖ Nitrógeno.

Máximas necesidades de este macroelemento son entre los meses de mayo a fin de septiembre coincidiendo con el máximo crecimiento del árbol y del fruto.

La deficiencia de nitrógeno se refleja en hojas pequeñas y pálidas, defoliación, caída de frutos temprana y frutos pequeños. Se han encontrado que árboles con deficiencias de nitrógeno son más susceptibles de daños por heladas. Se ha observado que la concentración de N en raíces es más alta que en hojas, lo se sugiere que el patrón podría ser un factor importante en la nutrición nitrogenada y que una raíz sana es fundamental en el rendimiento.

Excesos de nitrógeno provoca un crecimiento excesivo así como una disminución de la producción. Por su parte experimentos de campo con elevados niveles de nitrógeno como nitrato de amonio disminuye el pH del suelo e incrementa el tamaño del árbol, afectando negativamente los rendimientos del cultivar Hass. Por otra parte se ha observado que un exceso de nitrógeno disminuye el cuajado y nutrición de frutos en el árbol, de la variedad Fuerte. (Gamalier Lemus, J et al 2005).

❖ Zinc.

El pH alcalino y la condición calcárea del suelo favorecen la deficiencia de este elemento, debido a que disminuye su disponibilidad a medida que aumenta el pH. Por otra parte la presencia de carbonatos afecta la forma en que el zinc se mueve y metaboliza dentro de la planta.

Su deficiencia produce deformación en fruta la cual en estas condiciones es redondeada con pérdidas del valor comercial y también descensos de la producción. La no corrección conduce al decaimiento total del árbol.

Para su corrección sería adecuado aplicaciones de 3 Kg de ZnSO₄ por árbol, según Garciazabal (2000) recomienda altas dosis de ZnSO₄ al suelo 8 Kg árbol, aplicado localizado en 8 perforaciones bajo la copa. Estas altas cantidades se justificarían por la baja eficiencia de la aplicación al suelo debida al pH alcalino. (Gamalier Lemus, J et al 2005).

Boro.

El boro es otro de los nutrientes que se presenta como uno de los problemas en los aguacateros del mundo. Se trata de un nutriente móvil, traslocándose desde las hojas hasta las inflorescencias. Su déficit se presenta en áreas de pH ácido de alta pluviometría y con igual frecuencia en suelos de pH alcalino. En este último caso el déficit está relacionado al antagonismo entre el calcio, muy presente en suelos alcalinos.

El déficit de boro provoca diferentes trastornos en el árbol pero los más importantes afectan a la producción y calidad de la fruta, debido a que el boro actúa en la activación del crecimiento del tubo polínico, con lo cual un déficit conduce a un menor cuajado y menor producción. Su déficit produce además frutos deformes, con corchocidades, o áreas necróticas que penetran la pulpa, afecta también al calibre. (Gamalier Lemus, J et al 2005).

Hierro.

El déficit de hierro es otro de los problemas de los aguacateros, presentándose en suelos de carácter alcalino. Sin embargo, también se produce el déficit en áreas de suelo de pH muy ácido (menor a 5.0), debido a que la absorción del hierro es competitiva con la de manganeso, elemento cuya solubilidad es fuertemente incrementada en pH ácido.

El hierro tiene una relación directa con la síntesis de la molécula de clorofila, al ser cofactor de varias enzimas que catalizan su formación. Con déficit de hierro las hojas quedan con bajos niveles de clorofila resintiéndose todo el aparato productor de carbohidratos.

Las correcciones que se realizan para disminuir la deficiencia es la aplicación del quelato Fe-EDDHA al suelo, realizándose fundamentalmente en Fertirrigación. De acuerdo a Kadman (1963), la adicción continua de 1 a 2 mg de quelato de Fe en el sistema de goteo controla el problema. Otra forma de aplicación es la adicción directa al suelo de unos 150g/árbol/año. Según estudios realizados por Gregoriu et al, 1983 observaron impactos muy importantes en la producción de aguacate Hass. En árboles severamente afectados se obtuvo rendimientos de 117% respecto al testigo. En los moderadamente afectados un 55% de rendimiento en fruta y árboles levemente afectados alcanzo el 24%.(Gamalier Lemus, J et al 2005).

Manganeso.

Cuando la deficiencia es leve, hay un empalidecimiento de las áreas internerviales de las hojas, permaneciendo verdes las zonas contiguas a los nervios. A medida que la deficiencia se hace más aguda, dichas áreas adquieren una coloración amarillo más intensa, en contraste con las bandas verdes. Estos síntomas pueden manifestarse en hojas jóvenes como en adultas. La carencia de magnesio se combate con aportaciones al suelo del sulfato magnésico al 16% de MgO, a razón de 600 Kg por hectárea. (Gamalier Lemus, J et al 2005).

Cloro.

Presenta problemas de excesos, el cual se manifiesta en las hojas más viejas con una decoloración de la punta de ella, si la toxicidad es leve, llegando a provocar necrosis (muerte) de esta zona y de parte de la lámina.

Estos síntomas pueden ser muy claros a veces, pero otras pueden venir mezcladas principalmente con sodio, o sea, se da una combinación de 2 o más elementos, y entonces la visión del síntoma no es tan clara. También pueden mezclarse problemas de toxicidad de un elemento o sales, con deficiencias de otros. (Gamalier Lemus, J et al 2005).

Calcio.

El calcio es un importante componente de las membranas celulares, que controlan el crecimiento, el intercambio iónico y la actividad enzimática. Los niveles de calcio afectan al tamaño del fruto, la cantidad de cosecha y la calidad de la postcosecha.

El calcio actúa sobre el nitrógeno reduciendo la volatilización del amonio, después de aplicaciones de urea, sobre los micronutrientes el calcio al disminuir el pH de los suelos puede influenciar la disponibilidad de micronutrientes como Fe, Mn, Cu y Zn.

Sobre el drenaje el calcio estabiliza al humus y a las arcillas floculadas. El Ca desplaza al Na de las partículas de arcilla, incrementando la porosidad del suelo y por lo tanto el drenaje interno.

El calcio reduce *Phytophthora* porque estimula el crecimiento radicular del árbol, incrementa la resistencia a enfermedades de raíces, deteriora la actividad de *Phytophthora*, por reducir la formación de esporangios, interfiere la movilidad de las zoosporas o induce a un prematuro encapsulamiento, mejora el drenaje del suelo, así como la estimulación de los microorganismos antagonistas..

Se puede aplicar mediante yeso ($\text{Ca SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). (Gamalier Lemus, J et al 2005).

Fósforo.

En un ensayo en la E.E. La Mayora no se ha bajado el nivel de fosforo 0.11% en hoja después de 30 años sin aportar nada de Fósforo. Debemos de tener cuidado con el fósforo ya que es antagonista del Fe-Zn-Cu-Mn.

La aplicación se realizara durante los meses de abril y finales de mayo coincidiendo con la floración y cuajado.

La deficiencia de fosforo provoca árboles de porte bajo; hojas de color verde pálido, que adquieren tono purpúreo o bronceado en los bordes y ápice. Los frutos maduran lentamente, presentando malformaciones; por consiguiente, la fructificación es de bajo rendimiento. (Gamalier Lemus, J et al 2005).

Potasio.

El potasio es muy utilizado para el engorde del fruto así como de la maduración, los meses de aplicación desde los meses de junio- octubre.

El potasio es antagonista con el Ca y Mg.

La deficiencia de potasio provoca que el árbol adquiera un porte achaparrado. Hojas de un color blanco mortecino, amarillento o rojizo a partir de los bordes, que pardean fácilmente, mueren y se desprenden. Los frutos son pequeños y no se conservan bien. (Gamalier Lemus, J et al 2005).

Azufre.

Toda la planta queda de color amarillo, incluso los brotes nuevos, por un defecto. La cosecha madura muy lentamente. (Gamalier Lemus, J et al 2005).

Molibdeno.

Las hojas toman un aspecto grisáceo, se enrollan, se mustian y se secan. (Gamalier Lemus, J et al 2005).

Cobre.

Las hojas se mustian sin amarillear no tomar color pardo; las yemas se secan y caen, cuando presentan deficiencias. (Gamalier Lemus, J et al 2005).



Figura 2. Hojas cloróticas Deficiencia de hierro. Gardizabal Septiembre 2004



Figura 3. Frutos con deficiencia de boro. Gardizabal Septiembre 2004



Figura 4. Hojas con deficiencia de potasio (izqda.). Frutos con deficiencia de potasio (dcha.).
Gardizabal Septiembre 2004



Figura 5. Hojas con deficiencia del fósforo. Gardizabal Septiembre 2004.

1.1.5. Plagas

Las plagas más comunes en el cultivo del aguacate en España son: Cochinilla (Familia Coccidae), Trips (*Scirtothrips perseae*), Ácaro cristalino (*Oligonychus perseae*). Departamento técnico Trops.

Cochinillas.

Esta plaga segrega una sustancia azucarada donde se desarrolla un hongo (Fumagina) llamado vulgarmente tizne o negrilla, suele aparecer en zonas sombrías del árbol, falta de ventilación e iluminación.

Si la plaga es muy severa provoca una disminución en la capacidad fotosintética del árbol y por tanto afecta al crecimiento de frutos y otros órganos de la planta.

Las especies más frecuentes son: *Ceroplastes floridenis*, *C. Rubens*, *C. rusci*, *Parasaissetia nigra*, *Maconellicocus hirsutus*, *Planococcus ficus*, *Nipaecoccus ripae*. Guía de reconocimiento de plagas.

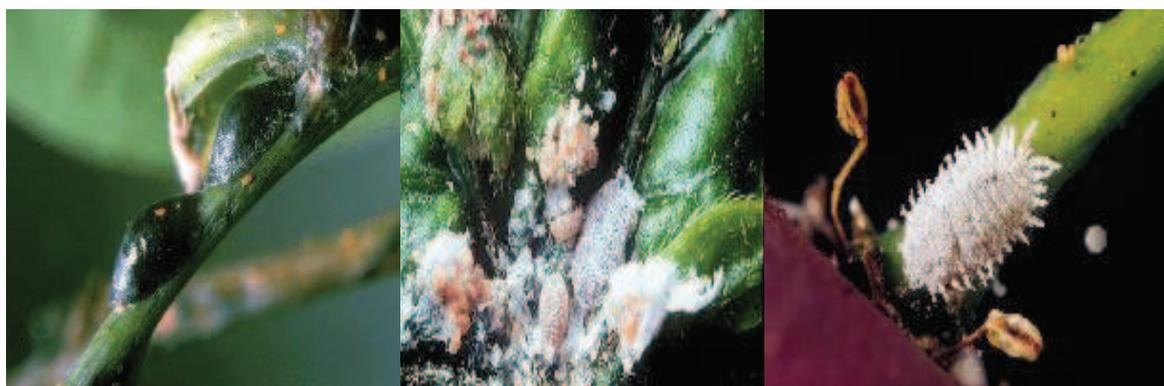
*Ceroplastes floridenis**C. rubens**C. rusci**Paraissetia nigra**Maconellicoccus hirsutus**Planococcus ficus**Nipaecoccus ripae*

Figura 6. Fotografías tomadas de; Guía de Reconocimiento de Plagas. Agosto 2005.

Trips.

Son pequeños insectos que pueden medir de 0.3 a 14 mm de longitud. El principal daño lo causan cuando se alimentan de frutos en fase de crecimiento (tamaño tipo canica), provocando deformaciones en la superficie del pericarpio en forma de protuberancias o crestas, donde estos ataques pueden favorecer la entrada de enfermedades como la de la roña del fruto (piel de cocodrilo), la especie más característica es *Scirtothrips perseae* Nakahara

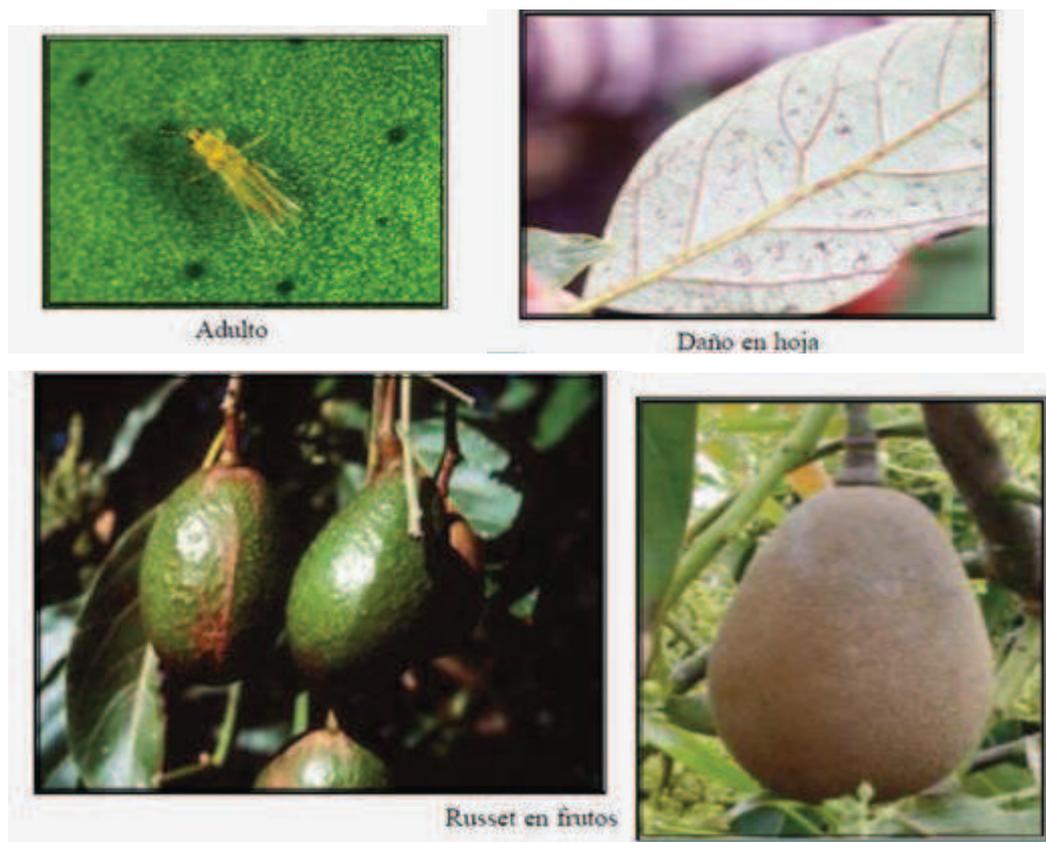


Figura 7. Arriba adulto de trips y daño en hoja, abajo russet en fruto.

Fotografías tomadas de; Guia de Reconocimiento de Plagas. Agosto 2005

Ácaro cristalino.

Es un ácaro, *Olygonychus perseae*, originario de México, que se detecto en el sur de España por el 2004, los adultos hembras son de forma oval aguzado en la parte terminal. De color verde amarillento y con varias manchitas oscuras en la región abdominal, el macho es más pequeño, amarillento y más bien piriforme, ocasionalmente presentan manchas en la región abdominal al igual que las hembras. Los huevos son semiesféricos de color amarillo pálido y presenta, cercano a la eclosión un característico ojo rojo.

El daño que ocasiona esta plaga, al alimentarse de la savia de la planta provocan manchas necróticas que confluyen entre si y llegan a formar bandas que corren a lo largo de los nervios de las hojas.

Las condiciones ideales para esta plaga son temperaturas comprendidas entre los 20-30 °C y una humedad relativa no muy alta, con lo cual la población aumenta a medida que avanza de la primavera al verano.

Para su control se utilizan ácaros depredadores (phytoseiidae), aplicación de abamectina, oleato potásico .Hernández Suarez, Estrella et al.

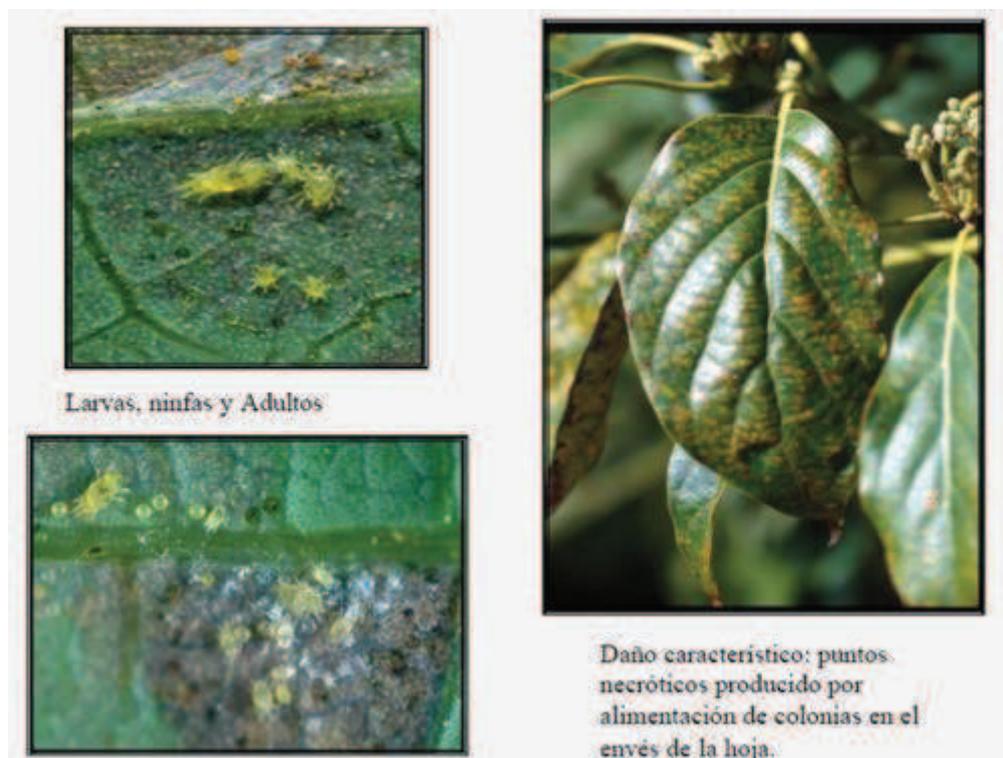


Figura 8. Distintos estadios del acaro cristalino (izqda.), daños del acaro cristalino (dcha.). Fotografías tomadas de; Guia de Reconocimiento de Plagas. Agosto 2005

1.1.6. Enfermedades.

Las principales enfermedades del aguacate en nuestra zona son las causadas por hongos de suelo que provocan la pudrición del árbol. Se trata de *Phytophthora cinamomi*, *Rosellinia necatrix* y *Armillaria mellea*.

Los síntomas de los árboles afectados son decaimiento total o parcial de la planta, con hojas pequeñas cloróticas y muerte final. Otros patógenos que han sido asociados al complejo marchitez son: *P. heveae*, *P. citricola*, *Verticillium spp.*, *Armillaria mellea*, *Cylindrocladium sp.*, *Rosellinia sp.*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *F. equiseti*, *Rhizoctonia sp.*, *Phymatotrichum omnivorum*, *Cylindrocladiella sp.*, *Cylindrocarpon sp.*, *Phytium vexans* y los nemátodos *Helicotylenchus sp.*, *Rotylenchulus sp.*, y *Pratylenchus sp.* (Besoain y Piontelli, 1999; Tamayo, 2007; Pérez, 2008; Morales, 2009; Dann et al., 2011; Bonilla et al., 2011; Vitale et al., 2012). (Hernández, M. L. B. 1999 y Ochoa, A. S. 1997)

El control de *Phytophthora* es posible mediante un control de riego, buen drenaje, contenido alto en materia orgánica, uso de patrones tolerantes y realización de tratamiento a base de fosfito potásico.

Rosellinia necatrix.

Rosellinia necatrix o también denominada podredumbre blanca es una enfermedad muy destructiva. Los síntomas se manifiestan tanto a nivel aéreo como subterráneo, donde puede ser confundida con la causada por *phytophthora cinnamomi*. Los árboles comienzan a presentar una clorosis seguida de una marchitez general del árbol hasta que muere en pocas semanas, bien con la pérdida total de sus hojas o incluso manteniéndose todas las hojas secas en el árbol.

Si descubrimos la base del tronco se presentara ennegrecida y se pueden observar el típico micelio blanco algodonoso en la superficie de la raíz.

La diseminación de la enfermedad se realiza por contacto de raíces infectadas de árboles enfermos con raíces sanas de árboles cercanos, por movimientos de raíces en el suelo a través de labores culturales, o por transporte del micelio del hongo en el agua de riego.

La enfermedad se desarrolla bien en suelos oxigenados, bien fertilizados, con un alto nivel de materia orgánica y pH neutro.

Su distribución en el suelo abarca mayor profundidad que en el caso de *phytophthora cinnamomi*, de ahí su mayor dificultad para combatirlo.

Como métodos químicos se han realizado estudios utilizando varios fungicidas (Benomilo, Carbendazima, Fluazinam, Metil Tiofanato). El que mejor resultados dio fue el Fluazinam, aunque hay que seguir investigando. El problema es que Fluazinam no está autorizado en España.

1.1.7. Prácticas culturales

❖ **Plantación**

La planta debe proceder de un vivero reconocido, más que nada que nos asegure que está libre de patógenos, en bolsas de 50 cm con un grosor de tronco no menor a 1.5 cm y una altura de 1 metro, con el patrón adecuado para cada caso y variedad elegida.

La plantación se realiza en primavera, en meses de marzo, abril y mayo.

Los hoyos deben practicarse en suelo roturado a 1 m de profundidad en pase cruzado de subsolador, seguido de arado de vertedera de 60 cm. En estas condiciones se realizarán cuando el suelo este en tempero y tendrán un tamaño de 40*40*40 cm.

Para mejorar el drenaje es conveniente realizar alomados de 50 cm de altura entre en las líneas de árboles.

Al plantar debe cuidarse que el árbol quede al mismo nivel de tierra que tenía en la bolsa del vivero. Debe utilizarse un tutor colocado en la cara de los vientos dominantes, y atando la planta por debajo y encima del punto de injerto.

En el hoyo se añadirán unos dos litros de turba-estiércol apagado-mantillo-abonos de liberación lenta- etc., para mantener un mejor vigor en el amarre de las plantas. Se le puede añadir unos 500 gramos de azufre si el pH del suelo es mayor de 7.5.

Inmediatamente después de plantar es necesario dar dos riegos consecutivos en dos días de unas 6 horas.

❖ **Poda**

Por el año 1969, se pensaban que los aguacates no debían podarse pues se forman solos muy bien en general y se hacen antes grandes y producen mejor. Sin ninguna poda

como recomendaban, los árboles se forman bajos, tocando incluso el suelo las ramas inferiores. Presentan así la ventaja de hacerles menos daño los vientos y ser más fácil los tratamientos insecticidas y fungicidas y la recolección de la fruta, por lo tanto pasado unos años la plantación tiende a expandirse, juntarse los árboles, provocando sombreamientos, y reduciendo la producción y aumentando los problemas por plagas.

Es cierto que el aguacate se poda poco, al ser un árbol vigoroso, no obstante se realiza una poda para mantener la altura del árbol en torno a 5 m, y para mejorar la luminosidad eliminándose chupones, ramas cruzadas y ramas rastreras. Esta poda se realiza durante el verano u otoño. También se poda para evitar en lo posible el efecto de la vecería eliminándose parte de las panículas florales en árboles con exceso de floración en la variedad Hass.

Si queremos que los árboles tengan una forma concreta, habrá que actuar desde los primeros años de la plantación, despuntando y doblando los brotes, dos veces durante el periodo de crecimiento. Es conveniente durante los dos o tres primeros años quitar todas las panículas florales a las plantas, así aumentamos el crecimiento vegetativo y ya en el cuarto año se puede recoger la 1ª cosecha.

Por lo tanto la poda en el aguacate tiene dos objetivos principales: una, la formación del árbol, pensando en arboles estrechos, que permitan el paso de la luz al interior de la copa, y dos, la regulación de la vecería a base de actuaciones en árboles que en febrero muestren un exceso de botones de flor, “destrozando con alguna herramienta-vara.-caña, parte de los ramos florales sobre todo en la cara más soleada.

Debemos de eliminar las ramas secas, las ramas internas que impiden el paso de la luz, las ramas rastreras y los chupones, donde estas operaciones se realizan durante el verano.

❖ **Control de malas hierbas.**

Será durante los primeros años cuando se tendrá que hacer más hincapié en la eliminación de las malas hierbas, debido a la competencia por el agua, nutrientes y luz. Bastara con aplicaciones con herbicidas tipo Glifosato y Paracuat, evitando siempre mojar las partes verdes y tiernas de los árboles.

A medida que pasan los años la frecuencia y las aplicaciones con herbicidas será menor debido a los continuos restos vegetales procedentes de hojas y podas que limitaran la nascencia de las hierbas así como al continuo sombreo de los árboles.

❖ **Cosecha.**

Esta comienza con árboles injertados a partir del tercer-quinto año, la recolección es uno de los factores que más influye en el éxito del mercado. La misma puede hacerse cuando se alcanza la madurez fisiológica, momento óptimo de consumo o madurez comercial, momento en el cual da tiempo a transportarlo a cualquier parte del mundo, y estando el fruto apto para el consumo inmediato.

El fruto no madura en el árbol hasta pasado un año, viéndose en aguacates asilvestrados frutos maduros del año anterior (negros), y frutos en desarrollo del año.

El grado de madurez del fruto para realizar la recolección, es difícil de determinar por la diversidad de variedades y ambientes, por las variaciones en la duración de periodo de floración a cosecha y por las diferencias en el contenido de aceites que se van acumulando durante la maduración del fruto.

El cambio de color de la cascara es el síntoma más obvio de la maduración. La pérdida de la brillantez del color y la adquisicisión de su color característico en los de cascara morada. Es de destacar que una gran mayoría de las variedades exhiben muy pocos cambios en el color de la cascara, lo cual dificulta el procedimiento y exige conocer muy bien el cultivo. El tamaño de los frutos aunque no es un criterio muy práctico, puede ayudar en la determinación del momento de la cosecha, cuando se conoce el tamaño promedio en diferentes variedades. Pero el principal fundamento del que se está siguiendo en los últimos años es el contenido de grasa en el fruto.

❖ **Sistemas de recolección.**

En la recolección de los frutos deben evitarse los daños por algunos hongos como *Colletotrichum gloeosporioides* o especies de *Fusarium*. Debe realizarse cortando el pedúnculo a unos 6-10 mm distante del aguacate. Cosechando los aguacates a mano y los situados a más altura con unas varas a las que se acoplan una bolsa junto con unas varillas y al final de las varillas una cuchilla cortando el pedúnculo del fruto al entrar en la bolsa tirando

hacia atrás. Los frutos se colocaran en cajas y llevadas hasta el almacén para su transformación y embalaje.

❖ **Manejo pos cosecha.**

El tiempo de conservación del aguacate depende esencialmente del estado de madurez en el que la fruta sea cosechada y de los cuidados dispensados durante su manejo. Las frutas cosechadas totalmente maduras, como también aquellas que no alcanzaron su madurez fisiológica o desarrollo completo deben ser rechazadas para su conservación. Los aguacates se conservan muy bien en cámaras frigoríficas durante cuatro semanas, entre 7 y 10°C. Todas se mantienen bien a 7 °C y una humedad relativa del 85-95%. La concentración de CO₂ debe ser del 10%.

1.2 PHYTOPHTHORA CINNAMOMI

1.2.1. Generalidades.

❖ **Historia.**

P. cinnamomi fue aislado por primera vez del árbol de la canela (*Cinnamomum burmanii* Blume) por Rands en 1922, de cuyo nombre *Phytophthora cinnamomi* Rands. Desde entonces se ha citado en unos 70 países y sobre un millar de plantas. Es la especie más extendida del género y con mayor número de huéspedes.

❖ **Origen y distribución.**

El origen geográfico de *P. cinnamomi* ha sido motivo de gran controversia y discusión. Zetmeyer (1988) da como posible centro de origen el sur de Asia, una zona que ocuparía Indonesia, Sumatra, Malasia y Taiwán, y también Nueva Guinea. Ko et al. (1978) apuntan a Taiwán como centro de origen y Broembsen y Kruger (1985) indican la existencia de otro centro de origen en Sudáfrica. Su dispersión desde este punto de origen a otros continentes: América, oeste de Europa y África la habría llevado a cabo exploradores españoles, portugueses, franceses e ingleses, al transportar suelo y material vegetal infestado por las rutas comerciales existentes en la época de las colonias. Localmente su diseminación se ha favorecido por movimientos de tierra, agua, material de viveros y plantas infestadas.

En general *P. cinnamomi* se localiza en zonas templadas, tropicales y subtropicales del planeta.

❖ **Descripción e identificación.**

La descripción de este patógeno fue dada por Waterhouse y Waterson (1966). “Hifa (en agar malta) coraloide (con abundantes nódulos redondeados), ancha 8 micras y de gran resistencia; hinchazones de las hifas típicamente esféricas (40-60 micras de diámetro) y en racimos; pared celular no muy gruesa. Esporangios formados sólo en soluciones acuosas. Esporangióforos, finos (3 micras), ocasionalmente ramificados, con proliferación preferentemente a través del esporangio vacío. Esporangios elipsoides u ovoides (57-33, llegando a 40-100 micras) no papilados, engrosamiento apical ligero; no separado. Órganos sexuales producidos raramente sobre medio sólido en cultivos simples pero abundantes cuando crece con *Phytophthora crytoega* Pet. & Laff. O con una cepa opuesta de *P. cinnamomi*. Oogonios de medida 40-58 micras de diámetro, con pared celular ligera, volviéndose amarillos o dorados con la edad. Anteridios siempre anfiginos, longitud, 21-23x17 micras. Oósporas ocupando casi todo el oogonio, pared celular no coloreada, 2 micras de grosor. Cultivos con abundante micelio aéreo, fuerte, a veces en forma de roseta; min. Temperatura de crecimiento 5°C óptimo 24-28°C max 32-34°C. Las hifas coraloideas permiten distinguir esta especie en cultivos con agar malta de *Phytophthora palmivora* (E.J. Butler)

1.2.2. Antecedentes históricos.

En 1920, varios países productores de aguacate informan, de casi simultánea, sobre la existencia de árboles con síntomas de decaimiento. En un principio estos síntomas fueron asociados a un exceso de agua, ya que, los árboles solían encontrarse en suelos mal drenados.

En 1929, en Puerto Rico, se relaciona la presencia del hongo *P. cinnamomi* con este problema del aguacate (Tucker, 1929). En 1940 en California, se aísla este mismo hongo en raíces necrosadas de árboles enfermos y se confirma la conexión entre la existencia de suelos mal drenados y la capacidad del hongo para causar la enfermedad (Wager, 1940).

❖ **Síntomas de la podredumbre radicular por *Phytophthora cinnamomi*.**

Las infecciones por *P. cinnamomi* causan en el árbol un decaimiento progresivo que puede durar varios años, hasta que finalmente muere El primer síntoma que se observa es la

presencia de hojas con un tamaño menor al normal y una coloración pálida o verde amarillenta, seguida de una marchitez y caída progresiva de las hojas. El crecimiento nuevo aparece de forma escasa u ocasional, a veces los entrenudos llegan a estar tan juntos que apenas llegan a apreciarse. La producción de frutos disminuye, aunque a veces se da una cosecha excepcional pero de pequeño tamaño. Estos síntomas aéreos son consecuencia directa de la podredumbre causada por el hongo en la mayoría de las pequeñas raíces absorbentes de entre 1-3 mm de diámetro, que se encuentran ennegrecidas, quebradizas y muertas, y que en estados muy avanzados de la enfermedad también puede invadir el tronco, presentándose chancros a nivel del suelo, que puede alcanzar de 2 a 2.5 m de altura, con exudados de color blanco.

❖ **Huéspedes.**

De todas las enfermedades *P. cinnamomi* es la más importante de todas, además esta enfermedad se encuentra ampliamente difundida por todo el mundo. No solo afecta al aguacate sino que también se le atribuye un rango de hospedadores de más de 950 especies, (Broadley, 1992).

P. cinnamomi es un parasito facultativo, es decir se alimenta tanto de material vegetal vivo, como de restos de vegetales en descomposición, pero bajo condiciones favorables puede atacar las raíces vivas y el cuello de plantas de interés económico como: piña, durazno, manzano, macadamia, papaya, azalea, pino, ciprés, eucalipto, encina, etc.

Entre las plantas no huéspedes de *P. cinnamomi* se encuentran cultivos de gran importancia como algodónero, alfalfa, café, platanera, caña de azúcar, etc.

Las plantas monocotiledóneas no suelen ser huéspedes. Ocasionalmente, *P. cinnamomi* se ha aislado de tubérculos de patata en campo, cuando las condiciones han sido favorables para el desarrollo del hongo.

1.2.3. Influencia de factores físicos sobre el desarrollo de *Phytophthora cinnamomi*.

❖ **Temperatura**

P.cinnamomi puede definirse como una especie que tolera unas temperaturas moderadas. Su intervalo óptimo de crecimiento micelial se encuentra entre 24 y 27 °C, con un mínimo aproximado de 10 °C y un máximo de 33-34 °C. (Zentmyer, 1980).

Los estudios realizados sobre las temperaturas óptimas, máximas y mínimas de crecimiento de diferentes aislados del patógeno ponen de manifiesto que no existe correlación entre la distribución geográfica de los aislados y su respuesta de crecimiento a distintas temperaturas (Sherpherd y Pratt, 1974; Zentmyer et al., 1976). Se ha observado que entre aislados de Australia, los A2 tienen una velocidad de crecimiento mayor que los A1 (Philips y Weste, 1985).

El micelio de *P. cinnamomi* desarrollado en caldo de patata dextrosa (CPD), no sobrevive a tratamientos con temperaturas de 36°C durante 2-3 días, de 39°C durante 1-2 horas o de 45°C durante 10-30 min. El efecto de temperaturas bajas sobre *P. cinnamomi* es menos conocido, pero se sabe que el hongo no sobrevive en las capas superficiales del suelo en zonas donde en invierno se alcanzan temperaturas inferiores a los 0°C (Steekelenburg, 1973; Benson, 1982).

El intervalo de temperatura óptima para la formación de esporangios y clamidosporas en *P. cinnamomi* oscila entre 22 y 28°C, no formándose a temperaturas inferiores a 15°C ni superiores a 35°C. Un descenso de varios grados de la temperatura a la que se originan, supone la formación y liberación de zoosporas. En general, *P. cinnamomi* responde a temperaturas bajas con una germinación indirecta del esporangio y a temperaturas bajas con una germinación indirecta del esporangio y a temperaturas altas con una germinación directa. Las oosporas germinan con temperaturas de 24-25°C, mientras que las clamidosporas presentan un óptimo de germinación entre 18-30°C (Mircetich et al., 1968).

❖ pH.

P. cinnamomi presenta un crecimiento más favorable en presencia de arginina como fuente de N y con un pH entre 4.5 y 5.5 (Cameron y Nilbrath, 1965). En cambio, las clamidosporas germinan en un intervalo de pH 3-9 óptimo 5.7 (Mircetich et al., 1968).

La producción de esporangios es alta en un intervalo de pH de 4-7 (Chee y Newhook, 1965) mientras que es nula con valores de pH inferiores a 3.6 (Benson, 1984), posiblemente

debido a un efecto indirecto por la inactivación de bacterias que estimulan su formación, a una alteración de la síntesis de los productos que inducen su formación, o como consecuencia del efecto que tienen valores de pH menores a 4 sobre la permeabilidad de membranas.

En cuanto a la liberación de las zoosporas, esta se limita a valores de pH de 3.3, ya que se desorganiza el mecanismo de liberación. Por otro lado el rápido enquistamiento que se da dentro del esporangio, que incluso pueden suponer que germinen dentro del penetrando su pared celular, impide su liberación (Blacker y MacDonal, 1983).

❖ Aireación.

P. cinnamomi tolera muy bien distintos niveles de O₂ y CO₂. El micelio crece en condiciones anaerobias, así como con concentraciones de CO₂ en el aire del 20%. En cambio, la producción de esporangios se reduce cuando la concentración de O₂ del aire es menor del 1% y es nula o muy escasa en condiciones anaeróbicas (Mitsjenn y Zentmyer, 1971). No se ha encontrado correlación entre el porcentaje de germinación de zoosporas y determinadas concentraciones de O₂ (0-21%), pero sí entre la longitud del tubo de germinación y las concentraciones de O₂. Así, para una concentración de O₂ del 0 % el tubo de germinación es muy corto y sin ramificaciones (Davison y Tay, 1986). La producción de oosporas es más abundante cuando las concentraciones de O₂ y CO₂ del aire son bajas (Mitchell y Zentmyer, 1971).

❖ Humedad.

En medio sólido *P. cinnamomi* presenta un crecimiento óptimo con un potencial osmótico del agua de -10 a -15 bares. Cuando el control del potencial del agua se realiza mediante mecanismos matriciales, el crecimiento óptimo se consigue con valores de -5 y -10 bar y se reduce en un 50% con -15 y -20 bar. (Sommers et al., 1970). El hongo crece mejor en medios líquidos in vitro cuando el potencial osmótico oscila entre -2 y -8 bar, y no crece con valores de -20 y -30 bar. La producción de esporangios se reduce parcialmente en un 50% cuando el potencial osmótico es próximo a -6 bares y totalmente cuando es de -10 bares. Estos intervalos varían notablemente según las sales utilizadas para ajustar el potencial osmótico, ya que algunas sales son tóxicas para el hongo y también según el método de cultivo utilizado (Sterne et al., 1977).

La producción de clamidosporas en suelo puede darse con valores variables de humedad, mientras que los esporangios precisan de suelos saturados o próximos a la capacidad de campo para su formación (Reeves, 1975). El intervalo óptimo de potencial matricial del suelo para la producción de esporangios varía entre -15 y -25 mb. (Benson, 1984).

En suelos con valores de potencial matricial de 0 y -0.1 bar la germinación de las clamidosporas es elevada y el tubo de germinación alcanza longitudes de unas 700 micras. Con valores de -0.25 bar la germinación se reducen entre un 33-45% y el tubo de germinación es más corto (150-300 micras). En cambio, para este valor de -0.25 bar, la germinación se eleva a valores comparables a los que se dan con mayor potencial al añadir al suelo glucosa y asparragina (Sterne et al., 1977).

En otras especies de *Phytophthora* la formación de esporangios es óptima en suelos próximos a la saturación y decrece conforme estos pierden agua. Con valores de -10 mb la germinación indirecta del esporangio mediante la liberación de zoosporas es de un 78%. Con valores de -0.3 y -0.4 bar aún se da la liberación de zoosporas, luego no es una condición indispensable la saturación del suelo para que estas se liberen (Cuniway, 1975).

El movimiento de las zoosporas también está determinado por el tipo de suelo y por su potencial matricial, siendo máximo con valores de potencial matricial próximos a cero. El tamaño del poro del suelo limita el movimiento de las zoosporas, ya que estas requieren de un espacio cilíndrico de un diámetro de al menos de 150 micras para poder realizar el movimiento helicoidal de su desplazamiento que tiene una amplitud de 26-70 micras (Allen y Newhook, 1973).

❖ **Luz.**

En un principio se indicó que *P. cinnamomi* produce esporangios solo cuando los cultivos se exponen a la luz continua o alternando luz/oscuridad (Manning y Crossan, 1966). Sin embargo, estudios posteriores que se han realizado utilizando medios estériles y luces monocromáticas a distintas intensidades han puesto de manifiesto que la producción de esporangios por *P. cinnamomi* no es dependiente de la luz. Estos se forman en oscuridad y

bajo distintas longitudes de onda, des cerca del UV 300 nm al infrarrojo (1300nm) (Zentmyer y Ribeiro, 1977).

El número de oosporas germinadas es mayor cuando se forman en oscuridad y a continuación se exponen a longitudes de onda de 450 nm. La producción de oosporas de *P.cinnamomi* con intensidades de la luz bajas (8-60 uw cm⁻¹) y un fotoperiodo de 12 h con longitudes de onda del espectro visible, es significativamente mayor que en oscuridad. En cambio, con intensidades mayores (100 uw cm⁻¹), la producción de oosporas, bajo todas las longitudes de onda ensayadas, es significativamente menor que en oscuridad (Ribeiro et al., 1975; Ribeiro et al., 1976).

1.2.4. Patogenicidad.

❖ Desarrollo de la enfermedad.

La infección de raíces de aguacate por *P. cinnamomi* es un excelente modelo biológico para estudiar el desarrollo de la infección, así como los distintos factores ambientales que le afectan.

El primer contacto que se establece entre la raíz de la planta y las zoosporas de *P. cinnamomi* está dirigido por un proceso de quimiotaxis. Las zoosporas del hongo son atraídas hacia la región de elongación de la raíz de la planta en respuesta a un gradiente de concentración de productos químicos exudados por la raíz. Las zoosporas responde frente a una gran variedad de productos que son componentes de los exudados de las raíces de la mayoría de las plantas, tales como vitaminas, ácidos fenólicos, bases nitrogenadas, nucleótidos, azúcares, ácidos orgánicos, reguladores del crecimiento y aminoácidos (khew y Zetmyer,1973).

Transcurrida 1 hora desde la acumulación de zoosporas en la superficie de la raíz, el tubo de germinación de la zoospora enquistada, que igualmente es atraído de forma positiva hacia la raíz, ha penetrado la epidermis intracelular y extracelularmente. En 24 h aparecen lesiones necróticas en la región de elongación que se extienden rápidamente a lo largo de las pequeñas raíces alimenticias. A las 48 horas se encuentra micelio entre las células del cortex, las células del parénquima se colapsan y sobre la raíz aparecen numerosos microesporangios.

En 4-6 días hay una gran ramificación de hifas en el cortex y medula que forman hinchazones y clamidosporas en el tejido cortical y a los 6-10 días se encuentran oósporos en las raíces (Philips, 1993).

El micelio de *P. cinnamomi* puede invadir directamente las raíces por la región de elongación cuando la cantidad de agua en el suelo es baja y no se forman esporangios. Esta invasión parece ser menos eficiente que la iniciada por las zoosporas, pero puede permitir al hongo escapar del suelo y penetrar los tejidos del huésped (Marx y Brian, 1969).

Generalmente, *P. cinnamomi* solo invade las pequeñas raíces absorbentes del aguacate, aunque de forma excepcional puede progresar invadiendo raíces secundarias más gruesas. En tronco, ramas y raíces gruesas, los chancros que a veces puede producir *P. cinnamomi*, se presentan como consecuencia de heridas, normalmente asociadas a un exceso de agua, que permiten la entrada del hongo. Éste crece en el sistema vascular externo del cortex, extendiéndose verticalmente más rápido que horizontalmente (Zentmyer, 1980).

❖ Base fisiológica de la enfermedad.

La base fisiológica o bioquímica del proceso infectivo de *P. cinnamomi* es poco conocida. Existe una relación directa entre la destrucción de las raíces absorbentes provocada por el hongo, la cual supone una severa reducción de nutrientes y agua, y los síntomas de deterioro del sistema aéreo que se presentan.

Los síntomas de la enfermedad están estrechamente relacionados con un estrés hídrico en la planta, lo que supone una acumulación de niveles tóxicos de NH_3NH_4 en las hojas, lo cual conlleva la marchitez de las puntas de las ramas jóvenes, el pardeamiento de las puntas de sus hojas y finalmente su caída (terne et al., 1977) (Nevin y Lovatt, 1987). Dado que estos son los mismo síntomas que se observan en la infección por *P. cinnamomi* se intentó demostrar si los síntomas observados en la podredumbre radicular causada por *P. cinnamomi* se debían también a una acumulación de iones nitritos y cationes amonio, si estos son debidos directamente al estrés hídrico producido por el hongo o si se deben a la acción directa del patógeno sobre el metabolismo del N en las raíces (Nevin et al., 1990).

Se encontró que el incremento de los iones $\text{NH}_3\cdot$ y cationes NH_4 no es un efecto directo del patógeno, ya que la acumulación de estos no se produce hasta que se manifiestan

los síntomas de estrés hídrico durante la infección. Además, el estrés hídrico inhibe la síntesis de Novo de arginina, síntesis que impide la acumulación de niveles tóxicos de iones amonio, por lo que la inhibición de este paso puede tener como resultado la acumulación de NH_3 y NH_4 . Así vez, con respecto a la síntesis de etileno, que con muchas plantas es una respuesta al estrés hídrico y que conlleva un oscurecimiento y abscisión de hojas, se ha observado que, al menos en hojas desprendidas, y con la acumulación de NH_3 y NH_4 se incrementa la síntesis de etileno y que estos al reaccionar hacen que se manifiesten estos síntomas típicos en hojas (Nervin et al., 1990).

No hay evidencias claras de que en el proceso infectivo intervengan toxinas producidas por el hongo. Sin embargo, algunos autores han observado que el citoplasma de *P. cinnamomi* y otras especies de *Phytophthora* se encuentran micolaminaranos (β 1–3 glucanos con ramificaciones β 1–6), que aunque se piensa que son reserva intracelular de carbohidratos, se comportan como fitotoxinas. Los micolaminaranos y glucanos complejos de la pared celular, inducen marchitez en plantas de *Persea indica*. Esta respuesta puede ser el resultado de un efecto tóxico, un efecto de taponamiento de vasos o una reacción de defensa y no de toxicidad en el sentido clásico. Sin embargo, algunos polímeros de carbohidratos pueden relacionarse con síntomas de marchitez y escasead de agua.

En estudios con el sistema compatible *P.cinnamomi*, *C. sativa* se ha encontrado que el hongo sintetiza una celulasa en presencia de celulosa y glucosa y que presentan actividad peptolítica como consecuencia de la síntesis de una peptin-metilesterasa, pero no se ha determinado el papel exacto de estas enzimas en el desarrollo de la enfermedad (Borrod,1974). En *P. cinnamomi* se ha detectado capacidad para producir enzimas que desfenolizan la lignina (Casares et al., 1986) y que pueden producir una desintegración parcial de las paredes de los vasos del xilema con engrosamiento secundario en el cultivo susceptible de aguacate en variedades topa topa (Philips, 1993).

En vista del papel incierto que juegan las enzimas de maceración y estos productos tóxicos en la colonización de los tejidos del huésped, parece más bien que el hongo penetra mediante una acción mecánica directa sobre las células del huésped y por crecimiento en el espacio intercelular, y que no posee un mecanismo altamente especializado para invadir estos tejidos. De hecho, la penetración se localiza principalmente en la zona de elongación, donde se presenta una resistencia mecánica a la penetración nula o muy baja, con una epidermis

joven, de paredes muy finas, una exodermis no diferenciada y una endodermis poco engrosada (Philips, 1993).

❖ Efecto de factores ambientales en la patogenicidad.

En un sistema tan complejo como el suelo, donde intervienen agentes patógenos, plantas en crecimiento activo y una población heterogénea de microorganismos de suelo, es difícil considerar de forma aislada el efecto de cada uno de los distintos factores ambientales implicados en el desarrollo de las podredumbres radiculares, ya que estas se presentan como consecuencia de una interacción entre todos ellos favorable para el patógeno. Aun así, se han hecho estudios encaminados a determinar cuáles son los de mayor importancia y cuál es la acción específica de cada uno de ellos (Zentmyer, 1980).

❖ Temperatura del suelo.

El desarrollo de las podredumbres radiculares causadas por *P. cinnamomi* está muy influenciado por la temperatura del suelo. Existe una correlación muy directa entre el intervalo de temperaturas requerido para el crecimiento y la producción de esporangios de *P. cinnamomi* y las temperaturas a las que se produce el desarrollo de la enfermedad. El intervalo de temperaturas que permite que se establezca la infección oscila aproximadamente entre 15-27°C, con un óptimo entre 22-26°C. Los valores superiores o inferiores a este intervalo son críticos y no tiene lugar la infección (Zentmyer, 1981).

La población de *P. cinnamomi* en suelo se modifica en las distintas estaciones del año. El principal factor que se correlaciona con estas variaciones es la temperatura, y dentro de los intervalos de temperatura permisivos para el hongo, el potencial del agua. En inviernos, cuando la temperatura es menor a 10 °C la población del patógeno se reduce. En suelos que en verano presentan una humedad muy baja, aun con óptimos de temperaturas, *P. cinnamomi* no sobrevive fuera de las raíces del huésped (Zentmyer, 1980).

❖ pH del suelo.

Hay pocos estudios hechos sobre el efecto del pH del suelo en el desarrollo de las enfermedades causadas por *P. cinnamomi*, aunque se ha observado podredumbre radicular en plantas forestales en viveros cuyo suelo presentaba un pH variable entre 3.2 y 7.0 (Crandal et

al., 1945). El pH óptimo del suelo para el desarrollo de la podredumbre radicular en el aguacate es de 6 con valores inferiores a 3 y valores alcalinos se limita su desarrollo, debido posiblemente, al efecto observado in vitro de que a estos valores de pH no se forman esporangios ni zoosporas. En campo se encuentran daños severos por *P. cinnamomi* en suelos cuyo pH varía entre 4.5 y 7.5 (Bingham y Zentmyer, 1954).

❖ Aireación del suelo.

Se ha estudiado el desarrollo de la enfermedad en cultivos con soluciones nutritivas con aire incorporado con distintas concentraciones de O₂, y se ha observado que una reducción del contenido de O₂ en la solución reduce la eficacia de *P. cinnamomi* para invadir las raíces del aguacate (Curtis y Zentmyer, 1949).

Esta reducción del contenido de O₂, afecta tanto al patógeno como a la planta, la cual muere con exposiciones largas en un ambiente pobre de O₂. La infección de raíces por *P. cinnamomi* es más rápida cuando estas presentan un crecimiento activo, pues las plantas producen más cantidad de exudados y las zoosporas del hongo son atraídas con mayor intensidad. El crecimiento de la raíz se reduce o cesa cuando la velocidad de difusión del O₂ es muy baja. De esta manera, una aeración pobre de la zona de la raíz reduce la cantidad de exudados y en consecuencia, al no atraer las zoosporas, se limita el daño por el hongo (Zentmyer, 1980).

❖ Humedad del suelo.

La relación entre el exceso de humedad del suelo, asociado normalmente a un mal drenaje, y el desarrollo de la enfermedad causada por *P. cinnamomi* ha sido reconocida desde hace muchos años (Rands, 1922).

En California, el desarrollo más espectacular de las podredumbres radiculares por *P. cinnamomi* se ha relacionado siempre con suelos mal drenados, bien por ser poco profundos, tener estratos impermeables, o bien por presentar una gran cantidad de retención del agua en sus capas más superficiales. De ahí que en un principio se relacionase este problema con un exceso de humedad del suelo y no con la presencia de un agente patógeno. En bosques de coníferas y eucalipto, donde *P. cinnamomi* ha causado grandes daños, también se ha encontrado esta relación entre el desarrollo de la enfermedad y la presencia de suelos mal drenados. En suelos bien drenados, la enfermedad puede desarrollarse en zonas con lluvias

más o menos constantes, que contribuyen a mantener una alta humedad del suelo, así como en zonas en las que se presenten años especialmente lluviosos (Zentmyer, 1980).

Las plantas de aguacate regadas normalmente, sin inundarlas, crecen bien en presencia de *P. cinnamomi* por un periodo de al menos seis meses y cuando las plantas se sumergen en agua 24 h, en presencia del patógeno, se dañan rápidamente y se marchitan muriendo en pocos días; mientras que en ausencia del hongo se requiere de unos 10 días de inmersión para que la planta muera (Wager, 1942). En campo, se ha estudiado el desarrollo de la infección de arboles de aguacate de unos cinco años plantados en un suelo poco profundo con una capa impermeable de arcilla a menos de 1 m de profundidad. Tras inocular el suelo con *P. cinnamomi*, la mitad de los arboles de la parcela eran regados una vez por semana y la otra mitad cada 2 semanas, con la misma cantidad de agua. Transcurridos 18 meses se encontró un 100% de arboles con síntomas de podredumbres radicular en la parcela sometida a mayor riego y solo un 40% de ellos ligeramente afectados en la parcela que se rego menos (Zentmyer y Richards, 1952). Trabajos posteriores han confirmado esta acción aditiva de un exceso de humedad a la podredumbre radicular del aguacate por *P. cinnamomi* (Ploetz y Shaffer, 1989).

Los trabajos realizados en relación con el desarrollo de la enfermedad en distintos tipos de suelos y valores de potencial matricial indican que la presión de succión del agua del suelo, variable según el tipo de suelo y no la cantidad absoluta de agua que contenga, es el factor que determina la producción de esporangios. De esta forma, para una misma cantidad de agua, en suelos arenosos se puede estimular una mayor producción de esporangios que en suelos arcillosos, donde la presión de succión del agua es mayor. Por otro lado, en un suelo arenoso, para un valor de potencial matricial de -0.25 bar, la infección por *P. cinnamomi* se reduce más que en un suelo arcilloso, debido posiblemente a una limitación en la disponibilidad de nutrientes más que al valor del potencial matricial de por sí. Todo esto tiene importantes implicaciones en relación con el desarrollo de las enfermedades causadas por *P. cinnamomi* en diferentes suelos bajo condiciones naturales (Reeves, 1975; Sterne et al., 1977; Benson, 1984).

No está claro si bajo condiciones de alta humedad del suelo la severidad de esta enfermedad se incrementa como resultado de una alteración química del suelo, de una reducción de la resistencia del huésped, de un incremento en la actividad del patógeno o de

una combinación de estos factores. El hecho de que la infección por *P. cinnamomi* se acelere, a veces de forma explosiva, cuando hay un exceso de humedad en el suelo, indica que las zoosporas son el agente primario en el inicio de la enfermedad. El agua en el suelo se requiere para la formación de esporangios, liberación de las zoosporas y movilidad de estas hacia las raíces (Zentmyer, 1980).

❖ **Salinidad del suelo.**

Se ha observado que el nivel de salinidad del suelo y la severidad de las podredumbres radiculares causada por *P. parasítica* en cítricos están correlacionados, y se ha concluido que, cuando existe estrés salino, el incremento de la enfermedad puede deberse a una mayor susceptibilidad de los tejidos al patógeno y/o de una inhibición del crecimiento de las raíces y de su regeneración (Blaker y MacDonald, 1986). En aguacate, el estrés salino afecta considerablemente al crecimiento de las raíces (Bernstein et al., 1966), y considerando que la regeneración de raíces es un mecanismo de defensa del aguacate ante la infección por *P. cinnamomi* (Kellan y Coffey, 1985), se puede concluir que en el sistema *P. cinnamomi* y *P. americana* puede ocurrir algo similar a lo descrito en cítricos.

1.2.5. Requerimientos nutricionales para el desarrollo de *Phytophthora cinnamomi*.

❖ **Fuentes de C y N.**

Las fuentes de C más favorables para el crecimiento de *P. cinnamomi* son la glucosa, fructosa, manosa y xilosa, y como fuente de N el KNO_3 (Roncadori, 1965). *P. cinnamomi* crece mejor en medio líquido con L-arginina y DL-alanina que con NH_4NO_3 , caseína o asparragina, mientras que en medio sólido, se da mayor crecimiento con DL-alanina y caseína hidrolizada (Cameron y Milbrath 1965).

Los alcoholes y ácidos orgánicos son fuentes pobres de C y las mejores fuentes de N orgánico son la glutamina y el ácido glutámico que favorecen el crecimiento y esporulación de *P. cinnamomi*. En cambio, el almidón, dextrina y sacarosa favorecen, en extractos de suelos no estériles, el crecimiento y producción de esporangios, mientras que con xilosa el crecimiento más lento y la producción de esporangios se reduce (Chee y Newhook, 1965). En condiciones estériles, la glucosa (10-1000 ppm) y el ácido glutámico (100 ppm) inhiben la

formación de esporangios. En cambio, en condiciones de no esterilidad disminuyen su producción (Ayers y Zentmeyer, 1971).

La producción de oosporas es alta para una relación C/N (utilizando glucosa y asparragina) de 94:1, y si esta es de 4.7:1.0 no se forman (Leal et al., 1967). Las clamidosporas y oosporas se forman abundantemente en caldo de 8 vegetales (CV8) pero no CPD (Morcetocj, 1966), siendo los medios de cultivo más favorables para la formación de oosporas agar extracto de zanahorias y AV8 (Zetmeyer et al., 1979).

La presencia de distintos aminoácidos y caseína hidrolizada inducen una germinación de las clamidosporas del 98%. En cambio, en agua destilada es de un 6%. Esta germinación también se favorece con exudados de raíces de aguacate y eucalipto y determinados ácidos orgánicos, y no se producen en presencia de sacarosa, glucosa o fructosa (Mircetich et al., 1968).

❖ **Vitaminas.**

P. cinnamomi requiere solamente de vitamina B1, para su crecimiento (Robbins, 1938). Este hongo absorbe y almacena tiamina del medio, pero también puede sintetizarla a partir de tiazol y pirimidina (Kavanagh, 1940)

❖ **Esteroles y otros materiales.**

Los hongos pertenecientes a la familia Pythiaceae no pueden sintetizar esteroles. Estos no son necesarios para el crecimiento micelial, mientras que para la reproducción sexual y producción de esporangios si se requieren de forma exógena (Hendrix, 1965). Distintos autores, utilizando fitoesteroles y ergosterol y en condiciones de no esterilidad, han conseguido incrementar la producción de esporangios y el crecimiento de *P. cinnamomi*, pero no la formación de oosporas. *P. cinnamomi* produce oosporas homotáticamente en medios sintéticos con glucosa, asparragina y distintos esteroles, así como en medios que contienen zanahoria o extractos de raíces de aguacate. Estos resultados indican que los esteroles se encuentran implicados en el proceso de reproducción sexual, aunque no se ha encontrado una respuesta clara utilizando esteroles comunes (Zaki et al., 1983).

El crecimiento micelial de *P. cinnamomi* se incrementa al añadir iones Ca^{2+} al medio (Erwin, 1968), mientras que la producción de esporangios en cultivos estériles se inhibe con los iones Ca^{2+} y Fe^{3+} a concentraciones 1000 mM y 10mM respectivamente (Halsall, 1977).

1.2.6. Saprofitismo y supervivencia.

P. cinnamomi tiene capacidad saprofítica, especialmente en condiciones de alta humedad, ya que puede colonizar materia orgánica del suelo y desarrollarse en competencia con otros microorganismos. En ausencia de un huésped puede permanecer en suelos mantenidos con humedad a 20°C por un periodo de hasta 6 años. En cambio, cuando la humedad es baja 2-3%, solo sobrevive unos 3 meses (Zetmeyer y Mircetich, 1966). El micelio del hongo puede colonizar materia orgánica y raíces frescas o necrosadas de *Castanea sativa* Mill. En competencia con otros microorganismos del suelo pues, en ausencia de trozos de raíces o de materia orgánica fresca, el micelio sufre lisis (vaciado de hifas y desintegración de la pared celular) y aparecen clamidosporas y esporangios como estructuras de resistencia a corto plazo (Reeves, 1975). En el suelo, *P. cinnamomi* se concentra alrededor de las raíces vivas y difícilmente coloniza aéreas donde no se presente un huésped (Marks et al., 1975).

Se ha estudiado la supervivencia de *P. cinnamomi* en raíces inoculadas de eucalipto, enterradas durante 10, 100 y 200 días en distintos tipos de suelo y con distintos valores de potencial matricial. Transcurridos 10 días no se forman clamidosporas y se obtiene una alta supervivencia del micelio con valores altos de potencial matricial (-10 bar) mientras que, tras 100 días, *P. cinnamomi* normalmente sobrevive en forma de clamidosporas. Tanto el tipo de suelo como el potencial matricial influyen notablemente en su formación, siendo muy baja con valores de -10 bar (Markay y Weste, 1985).

❖ Reproducción sexual.

➤ Sexualidad de *Phytophthora cinnamomi*.

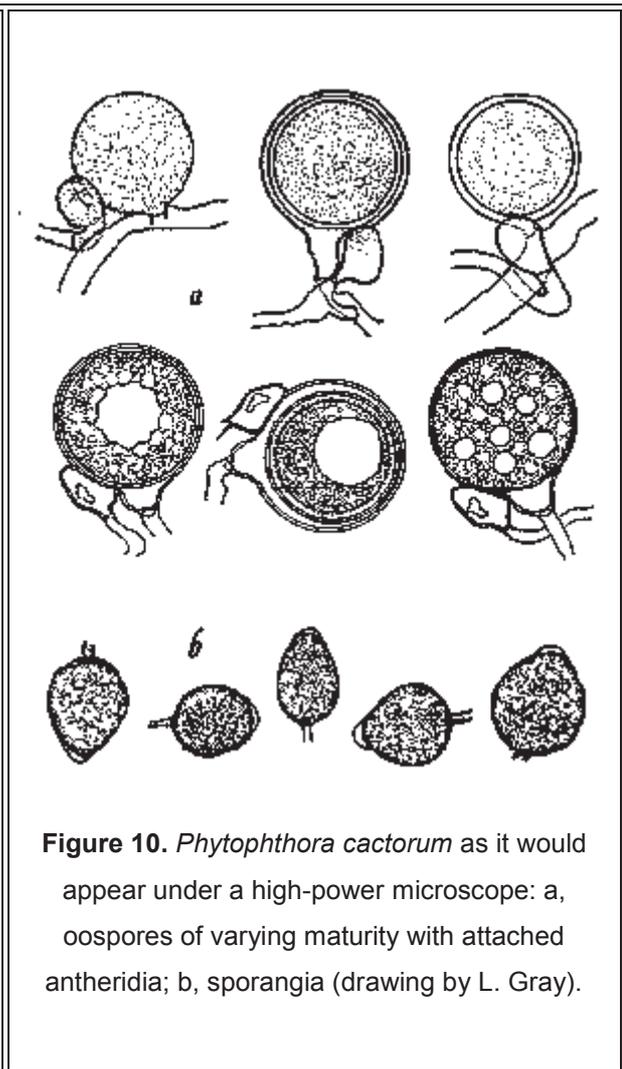
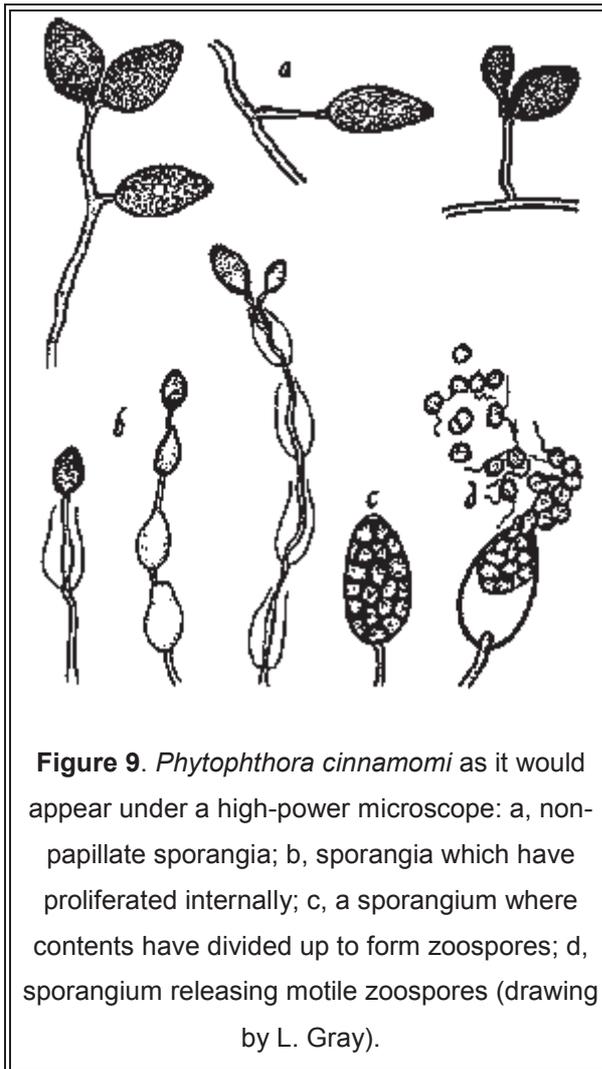
El estado sexual de *P. cinnamomi* puede activarse mediante cruces interespecíficos, en los que sobre el medio de cultivo se enfrenta a *P. cinnamomi* con un aislado de otra especie de *Phytophthora* de tipo de apareamiento opuesto (A1, A2), mediante cruces intraespecíficos, apareando aislados de *P. cinnamomi* A1 y A2 y mediante la inducción del comportamiento homotálico en cultivos simples.

➤ **Morfología de los órganos sexuales.**

En los estudios realizados sobre los anteridios, oogonios y oosporas de *P. cinnamomi*, algunos autores consideran que *P. cinnamomi* forma anteridios unicelulares y bicelulares en igual número (Royle y Hickman, 1964), otros encuentran que los anteridios unicelulares son más frecuentes que los bicelulares (Ho y Zentmeyer, 1977). Posteriormente en estudios más detallados, se observa que en los anteridios bicelulares el citoplasma de la célula basal presenta continuidad con el citoplasma de la hifa parental, con lo que en realidad, la célula superior es el verdadero anteridio (Zentmeyer et al., 1979).

El oogonio de *P. cinnamomi* es prácticamente esférico. La oospora madura ocupa casi la totalidad del oogonio y tiene gran cantidad de materiales de reserva. Presenta una pared externa formada por varias capas, de unos 20 nm de grosor, y una pared interna translúcida de aproximadamente una micra de grosor (Hemmes, 1983). El porcentaje de germinación de las oosporas de *P. cinnamomi* es bajo, oscilando entre un 2-10% (Ribeiro et al., 1975). La dificultad en la germinación de las oosporas de las especies de *Phytophthora*, especialmente de las heterotálicas, es uno de los principales inconvenientes para la realización de estudios genéticos en este género.

Zentmeyer (1980) hace una recopilación de las dimensiones del anteridio, oogonio y oosporas de *P. cinnamomi* dadas por distintos autores. Según esta el diámetro del oogonio varía entre 28-47 micras y el de la oospora entre 23-49 micras. La longitud del anteridio oscila entre 8-29 micras y su anchura entre 12-25 micras. Las diferencias encontradas por los distintos autores en las medidas de estas estructuras dependen notablemente del método de obtención utilizado (cultivos simples o dobles) y del medio de cultivo donde se desarrollen las colonias.



❖ Variabilidad de *Phytophthora cinnamomi*.

Morfológicamente se encuentran diferencias entre distintos aislados de *P. cinnamomi*, aunque estas diferencias pueden deberse a la metodología utilizada para la obtención de las estructuras consideradas y no son lo suficientemente consistentes como para indicar la existencia de formas morfológicas distintas.

Con respecto a la patogenicidad y virulencia se han encontrado diferencias entre los aislados de *P. cinnamomi*. Se han descrito dos razas, una más virulenta que la otra sobre el árbol de canela y sobre el aguacate se han detectado aislados más virulentos procedentes del rododendro y del árbol de la canela que los aislados del aguacate (White, 1937). Se ha estudiado la patogenicidad de aislados de *P. cinnamomi* procedentes de castaño y otros cultivos al inocular con ellos nogal y especies de coníferas y ornamentales, concluyéndose

que probablemente existan diferentes razas fisiológicas o biotopos de *P. cinnamomi* (Crandall et al., 1945; Torgenson, 1954; Manning y Crossan, 1966). Sin embargo, a pesar de esta información no existen evidencias claras de la existencia de razas fisiológicas de este patógeno (Erwin, 1983).

Así Zentmyer (1980), en base a numerosas inoculaciones, habla de la variabilidad de la patogenicidad de *P. cinnamomi* sobre distintos huéspedes y de la virulencia sobre el mismo huésped, concluyendo que estas no son lo suficientemente obvias como para diferenciar razas. Este autor hace una reflexión sobre el hecho de que el cultivo tipo de *P. cinnamomi* aislado del árbol de la canela de Sumatra tenga una gama de huéspedes muy amplia y concluye que este sería el patógeno indígena original y que tal vez sus segregantes diseminados por todo el mundo, hayan desarrollado una virulencia decreciente o un rango más limitado de huéspedes.

1.2.7. Reproducción asexual.

Las estructuras de reproducción asexual de *P. cinnamomi* son los esporangios, zoosporas y clamidosporas.

❖ Esporangios.

◆ Morfología.

Los esporangios de *P. cinnamomi* son no papilados (Waterhouse 1963) y no caducos (Al-Hedaithy y Tsao, 1979) de forma elipsoidal u ovoides. Su forma y tamaño varía considerablemente según las condiciones ambientales y nutricionales en las que se desarrollen, por lo que no es un carácter taxonómico estable para su identificación.

Algunos autores han descrito los esporangios de aislados A1 como limociformes y los de los aislados A2 como obpiriformes (Shepherd et al., 1974) y otros al contrario (Ho y Zentmyer, 1977). Sin embargo bajo condiciones estables se observa poca variación en la morfología de los esporangios de aislados procedentes de distintos huéspedes y zonas. En general, se han dado medidas extremas para los esporangios de 15-122.9 micras de longitud y 11-71.4 micras de anchura, la razón L/A varía de 1.4 a 1.9 (Royle y Hichman, 1964). Se han encontrado diferencias en el tamaño de los esporangios según el tipo de apareamiento (A1 y A2) de *P. cinnamomi*, en algunos casos, los esporangios del tipo A1 son del orden de 5-10 micras menores que los del tipo A2 (Galindo y Zentmyer, 1964). En cambio, en otros casos,

se cita que los aislados A1 son ligeramente más alargados (L/A 1.43) que los A2 (L/A 1.39) (Haasis et al., 1964)

◆ **Producción de esporangios.**

Durante largo tiempo se pensó que la producción de esporangios por *P. cinnamomi* requería la presencia de un principio activo en el medio de cultivo donde se desarrollaba el hongo, ya que estos no se formaban en medios estériles. Este principio podría ser un agente microbiológico posiblemente una bacteria puesto que al esterilizar o filtrar el medio con filtros para bacterias de 0.45 micras se eliminaba esta capacidad (Zentmyer y Marshall, 1959). No obstante, Chen y Zentmyer 1970 obtienen esporangios en medio estéril e indican que la presencia de cationes Ca^{++} y Mg^{++} en la solución salina parece ser un factor determinante del proceso. Asimismo se observó que la glucosa impide la formación de esporangios en suelos no estériles, esto indica que los microorganismos del suelo contribuyen a que se dé una reducción de los nutrientes del medio que activan el paso del estado vegetativo al de esporulación (Ayers y Zentmyer, 1971).

◆ **Germinación del esporangio.**

Los esporangios de *P. cinnamomi*, al igual que los de otras especies de *Phytophthora*, pueden germinar mediante formación de un tubo de germinación o por liberación de zoosporas. Factores físicos, como la temperatura del líquido donde se encuentra el esporangio, son los que determinan que se produzca uno u otro tipo de germinación. En general, cuando la temperatura baja varios grados se produce la liberación de las zoosporas, estas se forman por compartimentación del esporangio maduro multinucleado, este proceso dura menos de una hora (Hyde et al., 1991).

El proceso de proliferación interna, que supone la formación de nuevos esporangios, puede ocurrir bien dentro de esporangios ya vacíos, por expansión del citoplasma del esporangioforo a través del septo basal, o bien por crecimiento del esporangioforo a través del esporangio vacío, originando un nuevo esporangio a cierta distancia del anterior (Ribeiro, 1978).

❖ **Zoosporas.**

◆ **Morfología.**

Las zoosporas de *P. cinnamomi* son similares a las de otras especies de *Phytophthora* y *Pythium*. Ovoides y ligeramente alargadas en su parte anterior, están surcadas longitudinalmente por una fisura ventral que les confiere polaridad dorso-ventral. Son móviles y con dos flagelos, uno anterior y otro posterior, que surgen de esta fisura. En su mayor parte uninucleadas (Shepard y Pratt, 1974) con un tamaño de 20*12 micras (Hardham, 1987).

◆ Germinación

Las zoosporas, tras ser liberadas al medio, forman quistes, engrosan sus paredes y adquieren forma esférica entre 8-15 micras. Estos germinan generalmente de forma directa formando un tubo de germinación que origina un apresorio o bien un microesporangio uninucleado. Ocasionalmente pueden germinar de forma indirecta dando una zoospora secundaria, igual a la original. El tipo de germinación está determinado por factores físicos y de metabolismo, y puede tener importantes repercusiones en la patogenicidad del hongo (Ho y Zentmyer, 1977).

◆ Clamidosporas.

Fueron descritas por Rands (1922) como estructuras de pared fina, globosas o piriformes, terminales o en ramificaciones laterales, formando frecuentemente racimos de 3-10 esporas, con un diámetro de 31-50 micras. Las encontró en la corteza de árboles enfermos y comentó que eran muy abundantes en cultivos artificiales. Posteriormente se estudió el proceso de germinación en presencia de distintas fuentes de nitrógeno y exudados de raíces así como su ultra estructura, ilustrándose el proceso de desarrollo y germinación y definiéndose las características que permiten distinguirlas de otras esporas (Mircetich et al., 1968) Estas esporas de resistencia presentan una pared celular fina (máx. 0.6 micras) y tienen una relación material de reserva/ citoplasma funcional muy alta (Hemmes y Wong, 1975).

La formación de clamidosporas es muy abundante en agar jugo de ocho vegetales (AV8) y nula o escasa en agar harina de maíz (AHM), con un tamaño medio de 36 micras (intervalo 10-70 micra) (Gerretson-Cornell, 1983). La presencia de septos de separación en las clamidosporas permite distinguirlas de las hinchazones esféricas características de *P. cinnamomi* (Ho y Zentmyer, 1977).

1.2.8. Control de *Phytophthora cinnamomi*.

a) Control biológico de *Phytophthora cinnamomi*: Microorganismos antagonistas y biodesinfección.

Se han puesto de manifiesto la existencia en Australia de suelos supresivos en relación con *P. cinnamomi*, existiendo plantaciones con árboles de aguacate bien desarrollados aun en presencia del hongo. En estos suelos *P. cinnamomi* produce menos esporangios y el micelio crece más debilitado que en suelos conductivos. Estos suelos se caracterizan por presentar una abundante microbiota y niveles altos de materia orgánica, de N total y de cationes intercambiables, especialmente Ca (Broadbent y Baker, 1974). En Sudáfrica se ha detectado la existencia de suelos sorprendidos y se ha confirmado que estos presentan un mayor porcentaje de microorganismos antagonistas (Actinomicetos, bacterias aeróbicas formadoras de esporas y hongos) que los suelos conductivos. Se postula que la capacidad supresiva de estos suelos se determina por las interacciones que se dan entre el patógeno y otros microorganismos, y que factores como la temperatura, humedad y pH del suelo, así como su contenido en materia orgánica, afectan estas interacciones (Duvenhage et al., 1991).

La existencia de suelos con una capacidad natural para controlar *P. cinnamomi* ha supuesto la evaluación de multitud de microorganismos de suelo para evidenciar su acción antagonista (Rahimian y Casale, 1991).

Se sabe que bacterias que en el suelo están íntimamente asociadas a distintas estructuras del hongo tienen in vitro un efecto antagonista hacia *P. cinnamomi* produciendo lisis de las hifas, inhibición de la producción de zoosporas, rotura de esporangios y descenso de la viabilidad de las zoosporas (Malajczuk et al., 1977). Así se ha observado la capacidad de distintas bacterias presentes en suelo, tales como *Pseudomonas* spp. y actinomicetos como *Streptomyces* spp. Para inhibir el crecimiento de *P. cinnamomi* in vitro al producir sustancias anti fúngicas y toxinas que degradan el micelio (Mass y Kotzé, 1990; Finlay y McCracken, 1991; Stirling et al., 1992). Se ha podido obtener control de raíz causada por *P. cinnamomi* mediante la aplicación de bacterias antagonistas (*Bacillus* spp.) en sustratos de viveros comerciales de Sudáfrica (Duvenhage y Kotzé, 1993).

Existe un gran número de especies fúngicas que manifiestan efecto antagonista hacia *P. cinnamomi* tales como, *Langermannie spp.*, y *Stropharia*, *Mortirella spp.*, *Myrothecium roridum* Tode ex Fr., *Trichoderma spp.*, *Aspergillus spp.*, *Paecilomyces spp.*, *Penicillium foniculosum* Thom (Reeves, 1975; Gess y Coffey, 1989; Casale, 1990; Finlay y McCracken, 1991; Duvenhage y Kotzé, 1993; Fang y Tsao, 1995; Duvenhage y Körne, 1996).

Por otro lado, el efecto bioprotector que pueden ejercer las micorrizas en el control de enfermedades causadas por hongos de suelo es contradictorio (Schenk, 1981). Mientras que en *Chamaecyparis lawsoniana L.* se produce un descenso importante de la podredumbre de raíz causada por *P. cinnamomi* en plantas micorrizadas (Bäertschi et al., 1981), en aguacate (Mataré y Hattingh, 1978) o naranjo (Davis et al., 1978) el impacto de esta enfermedad no se modifica con la endomicorrización. Los ensayos realizados ponen de manifiesto que este efecto es muy variable, dependiendo del huésped (Especie, variedad, estado de desarrollo, etc.), patógeno (Virulencia, dosis de inóculo) y del hongo formador de la micorriza (Guillemin et al., 1994).

❖ **Control de *Phytophthora cinnamomi* por biofumigación.**

Se define como “la acción de las sustancias volátiles producidas en la biodegradación de la materia orgánica en el control de los patógenos de las plantas”.

La Biofumigación utiliza los gases y otros productos resultantes de la biodegradación de las enmiendas orgánicas y residuos agroindustriales como fumigantes para el control de organismos patógenos de vegetales, se contribuye con ello, además, a resolver los problemas ambientales graves que estos productos pueden ocasionar (Bello, 1998).

Incrementa notablemente las poblaciones de microorganismos saprofitos del suelo reduciendo las poblaciones de patógenos por mecanismos de antagonismo y competencia con ellos. Se diferencia del uso de las enmiendas orgánicas en las características de los materiales biofumigantes y en el método de aplicación (Bello et al. 1999). Los restos vegetales deben ser frescos, con una relación carbono/nitrógeno elevada en incorporarse al suelo de forma que se composten in situ, para lo que es imprescindible un grado adecuado de humedad en los suelos que permita la descomposición de los restos.

Se ha encontrado que por lo general cualquier materia orgánica puede actuar como biofumigante dependiendo su eficacia principalmente de las dosis y del método de aplicación.

Los biofumigantes más utilizados han sido estiércol de cabra, oveja y vaca, residuos de arroz, champiñón, aceituna, brasicas y jardinería. Se ha obtenido una eficacia similar a los fumigantes convencionales, al mismo tiempo que mejora las características del suelo y la nutrición de la planta, siendo necesario diseñar una metodología para cada situación. Su coste es mínimo puesto que las diferencias con la aplicación de la materia orgánica. Se ha demostrado que tiene la misma eficacia en el control de nematodos, hongos, insectos, bacterias y plantas adventicias que los pesticidas convencionales, pudiendo regular los problemas de virus al controlar los organismos vectores (Bello et al 200).

La biofumigación es una técnica fácil de aplicación por agricultores y técnicos, pues solo se diferencia de la aplicación de materia orgánica en la elección del biofumigante, que debe estar en vías de descomposición y en el método de aplicación, que deben tener en cuenta la necesidad de retener al menos durante dos semanas los gases biofumigantes producidos en la biodegradación de la materia orgánica, ya que su efecto en la mayoría de los casos no es biocida sino biostático, por lo que es necesario prolongar en el tiempo su acción sobre los patógenos.

Se ha podido constatar, también un marcado efecto herbicida. Se ha demostrado que cualquier residuo agroindustrial o sus combinaciones que presente una relación C/N comprendida entre 8-20 puede tener efecto biofumigante, pudiéndose identificar con facilidad por el agricultor, ya que produce un olor característico de amoníaco, aunque conviene recordad que no solo los derivados del nitrógeno tienen efecto biofumigante, por lo que sería recomendable previamente caracterizar de modo experimental los residuos agroindustriales que quieren utilizarse como biofumigante antes de su aplicación de modo comercial.

Se debe procurar que durante el transporte y almacenaje en campo no se pierdan los gases producidos en la biodegradación, cubriendo los montones del biofumigante con plásticos hasta el momento de su aplicación. Se recomienda la utilización de una dosis de 50t ha, aunque cuando los problemas de nematodos u hongos sean muy graves se deben aplicar 100 t ha, dosis que se puede reducir mediante las técnicas de cultivo, como la aplicación en surcos. Se deben distribuir el biofumigante uniformemente, para que no aparezcan focos de patógenos que puedan crear problemas en el cultivo. Una vez distribuido el biofumigante, se debe incorporar inmediatamente al suelo mediante un pase de rotavator, dejando la superficie

del suelo lisa con la aplicación de la alomadora del rotovator, Se riega, a ser posible por aspersión, hasta que se produce una saturación del suelo, aunque se puede regar a manta o instalar goteros. Se cubre a continuación con plástico para retener, durante al menos dos semanas, los gases producidos en la biodegradación de la materia orgánica.

Cuando los suelos son poco profundos (<30cm), no es necesaria la utilización de plástico, produciéndose la retención de los gases con riegos frecuentes que mantenga una delgada capa de arcilla en la superficie. Se recomienda efectuar la biofumigación cuando la temperatura es superior a 20°C, aunque la temperatura no es un factor limitante. Se recomienda la utilización como biofumigantes de recursos locales, puesto que el principal factor limitante de la biofumigación es el coste del transporte de los materiales orgánicos. Se pueden producir algunos problemas en la fertilización del suelo y la nutrición de la planta como fenómenos de fitotoxicidad y deficiencia de nitrógeno, pero todo ello se puede resolver con una fertilización adecuada.

Es recomendable alternar el empleo de residuos agrarios con abonos verdes, especialmente básicos empleando 5-8 kgm² de materia verde aunque también se pueden aplicar combinaciones de leguminosas con gramíneas. En el caso de la utilización de abonos verdes cultivados en la misma parcela, deben utilizarse plantas de crecimiento rápido para incorporar al menos a los 30 días de haberlo sembrado e impedir que se incrementen las poblaciones de patógenos. El cultivo de brasicas después de la biofumigación nos puede servir como bioindicadores de la posible fitotoxicidad puesto que la germinación de las semillas es sensible a las sustancias fitotóxicas, al mismo tiempo que son muy sensibles a los nematodos fitoparásitos y permiten detectar las áreas del cultivo donde la biofumigación no es eficaz, pudiendo actuar como plantas trampa, y al incorporarlas al suelo, como biofumigantes.

❖ Efecto de la aplicación de estiércol de bovino y harina de alfalfa en la recuperación de árboles afectados con tristeza.

Como un efecto de la aplicación de estiércol de bovino y harina de alfalfa, se evaluó la población de hongos y bacterias benéficas del suelo en arboles afectados por *Phytophthora cinnamomi*. Se obtuvo como resultado que la población de hongos benéficos aplicada a través del estiércol y de la harina de alfalfa, explica la recuperación del árbol en un 75%. Indicando que por cada unidad que se incremente la población de hongos benéficos en el suelo se

incrementara en 2% la recuperación de los árboles en la escala de medida de la enfermedad de Zentmyer (1984).

Nesbitt et al. (1979), quien al efectuar un estudio sobre el efecto de la materia orgánica en la sobrevivencia de *P. cinnamomi* encontraron que las hifas fueron lisadas, al incubar a este hongo en suelos con el 50% de materia orgánica, muchos de los esporangios producidos fueron abortivos, concluyeron que al incrementar la materia orgánica, hay un incremento en la concentración de nutrimentos y en las poblaciones microbianas y estos factores son las causa que las poblaciones de *P. cinnamomi* disminuyan en el suelo.

b) Control físico: Solarización del suelo.

❖ Control de *Phytophthora cinnamomi* por solarización.

En Israel se ha estudiado la eficacia de la solarización para el control de este patógeno en plantaciones donde previamente se eliminaron árboles de aguacate infectados por *P. cinnamomi*. El suelo se cubrió con plástico transparente durante 42 días, tras lo cual recogieron muestras de suelo hasta una profundidad de 70 cm, plantando en este suelo plantas trampas de *P. indica* para determinar el porcentaje de infección de raíces. Se obtuvo una notable reducción en el porcentaje de infección del suelo solarizado (3%) con respecto al control (69%), mientras que en el laboratorio, al calentar suelo infectado de forma natural a 36°C durante 4 h solo sobrevivió un 10% de los propágulos del hongo (Pinkas et al., 1984).

En Sudáfrica se ha valorado el efecto de la temperatura en la inactivación de las clamidosporas de *P. cinnamomi* al someter suspensiones de estas estructuras a temperaturas de 38, 41 y 44°C durante 0, 5, 10, 15, 20,30 min, encontrando inactivación con temperaturas de 38 y 41°C durante 30 min y con 41°C durante 10 min. En ensayos de campo, inóculo artificial del hongo (granos de trigo infestados) enterrado a distintas profundidades (10 y 30 cm) en bloques solarizados y bloques dejados en barbecho durante 3 y 6 semanas para determinar su supervivencia, se ha encontrado una notable reducción en la supervivencia de *P. cinnamomi* a las 3 semanas y una supervivencia nula a las 6 semanas. La inactivación se da posiblemente por un efecto de los incrementos de temperaturas debidos a la solarización, ya

que en todos sus tratamientos se alcanzaban como mínimo 36 °C, y no se descarta la posibilidad de que se encuentren implicados en el proceso otros factores distintos a la inactivación térmica (Barbecheck y Bromembsen, 1986).

En Australia, también se ha estudiado el efecto de la solarización en plantaciones de almendro y cerezo infestadas por *Phytophthora cambivora* (Petri) Buisman, que presenta respuestas a la temperatura similares a *P. cinnamomi*. En laboratorio, aislados sometidos a exposiciones sucesivas con temperaturas de 35, 40 y 45°C durante 6 h, en periodos de 24 h, presentaron variaciones en la sensibilidad térmica, pero, en general, fueron suficientes periodos múltiples de exposiciones a temperaturas de 35°C o más para inhibir el crecimiento y reproducción del hongo. En campo, a 10 cm de profundidad, se aísla *P. cambivora* en el inóculo artificial enterrado y en el suelo. En cambio, las plantas que se sembraron en las parcelas tras la solarización se mantuvieron sin síntomas pasados 12 meses del tratamiento, frente a un 36% de plantas con síntomas en las parcelas no tratadas. Se concluye que otros factores distintos a la temperatura suprimen directa o indirectamente el hongo y que el tratamiento no controla la enfermedad en plantas ya infectadas al iniciar el tratamiento (Wicks, 1988).

En California, se ha trabajado sobre la sensibilidad térmica de tres especies de *Phytophthora cinnamomi*, *P. cactorum* y *P. megasperma*, y sobre el efecto de la solarización en sus supervivencias. En laboratorio, se determinó la sensibilidad térmica de estos hongos en suelo húmedo infestado artificialmente y en ramas de avellano inoculadas, mediante distintas exposiciones de temperatura y tiempo (30, 35, 40 y 45°C durante 5, 10, 20 y 30 min). Para *P. cinnamomi* se determinó que sus propágulos se inactivan con temperaturas de 45°C durante 20 min, tanto en suelo húmedo como en ramas de avellano. En campo, se enterraron bolsas con inóculo del hongo en suelo húmedo (70% de su capacidad de campo) a profundidades de 15, 30 y 45 cm en dos parcelas solarizadas y no solarizadas durante 2 y 4 semanas. La temperatura máxima en el suelo solarizado fue de 45°C a 15 cm de profundidad, y de 35°C a 30 cm. Entre las especies de *Phytophthora*, *P. cinnamomi* es la más sensible a la solarización; sus propágulos fueron completamente inactivados a las 2 semanas en las profundidades de 15 y 30 cm y a las 4 semanas, a los 45 cm. Esta reducción puede atribuirse a un efecto directo de las altas temperaturas alcanzadas por la solarización sobre propágulos del hongo (Juarez-Palacion et al., 1991). Estos resultados son similares a los de Barbercheck y Broembsen 1986

en Sudáfrica y Pinkas et al., 1984 en Israel, aunque se observa diferencia en la sensibilidad térmica de los aislados, debida posiblemente a su distinto origen geográfico.

En las islas Canarias se ha evaluado el efecto de la solarización en plantaciones de árboles adultos con un alto grado de infección. Considerando un índice visual de severidad de la enfermedad (ISE) con una escala de 0 (árbol sano) a 5 (árbol muerto), inicialmente todos los árboles presentaron valores de ISE de 3-4. Tras un año de tratamiento, este se redujo a 2-3, mientras que con un segundo tratamiento este valor bajó a 1-2. Las temperaturas alcanzadas a 5 cm de profundidad fueron de 40°C bajo los árboles y de 45°C al sol. En otro ensayo y en un seguimiento durante 3 años de la muerte de árboles de la raza West Indian en una parcela solarizada, se encontró un alto porcentaje de supervivencia de los árboles solarizados (80%) con respecto al de los de una parcela no solarizada (Gallo Llobet et al., 1996).

En general, se puede concluir que *P. cinnamomi* es sensible a las temperaturas del suelo con los tiempos de exposición que se alcanzan con la solarización, por lo que este método tiene un gran potencial para ser utilizado como método de control físico en las enfermedades causadas por distintas especies de *Phytophthora*, especialmente en cultivos perennes.

El calentamiento artificial del suelo a temperaturas de 60-100 °C mediante vapor de agua es un método, que al igual que la fumigación, se utiliza para la desinfestación del suelo. Sin embargo, este tratamiento conlleva efectos biológicos negativos como fitotoxicidad debida a la liberación de productos tóxicos, y el peligro de una re infestación rápida del suelo por el vacío biológico que crea (Chen et al., 1991), así como inconvenientes técnicos por su difícil y costosa aplicación en campo.

En 1976, se desarrollo un método alternativo para la desinfestación del suelo, la solarización (Katan et al., 1976). Este es un proceso hidrotérmico en el que el calor de la radiación solar es absorbido por el suelo húmedo, que se encuentra cubierto por una fina lamina de plástico transparente, generalmente de polietileno de 25-50 micras de espesor. Con esta técnica, las capas superiores del suelo acolchado pueden alcanzar temperaturas de unos 10°C por encima de la temperatura del suelo no tratado. En algunos climas se alcanzan temperaturas de 45-50°C en profundidades de hasta 20 cm cuando se cubre el suelo 4-6 semanas en verano. Estas temperaturas son suficientes para reducir las poblaciones de la

mayoría de los organismos nocivos para los cultivos (hongos e insectos de suelo, semillas de malas hierbas y de plantas parásitas, nemátodos, etc.), al menos durante el año siguiente a la solarización (Katan et al., 1976).

La solarización del suelo conlleva cambios significativos en los regímenes de temperatura y humedad del suelo, en su estructura física. Estos cambios en su conjunto afectan a sus componentes bióticos, huésped, patógeno y microorganismos del suelo, y finalmente producen cambios en la incidencia de la enfermedad y/o crecimiento de la planta y su rendimiento.

❖ Principios de la solarización.

Las propiedades térmicas de los distintos tipos de suelo como la capacidad térmica y difusión térmica pueden variar entre valores de $0.27-0.8 \text{ cal}\cdot\text{g}^{-1} \text{ C}$ y $10^{-2}-10^{-3} \text{ cm}^2\cdot\text{seg}^{-1}$ respectivamente, dependiendo de su color, humedad y textura. Se han desarrollado modelos matemáticos que describen las variaciones de temperaturas de suelos solarizados en sus ciclos diarios (Cenis, 1989). De esta forma se pueden elegir las regiones y las épocas del año con condiciones climáticas más adecuadas para la solarización y evaluar la importancia de los distintos factores que forman parte del modelo.

Durante el día el suelo acumula calor dada la alta transmitancia del plástico (80-90% para la radiación solar) que se pierde durante la noche, cuando el gradiente térmico es inverso. La pérdida de energía desde el suelo se da en forma de radiación infrarroja de onda larga (7000-11000 nm) mediante conducción, convección y evaporación de agua. En suelos cubiertos, el plástico reduce la convección de calor y evaporación del agua desde el suelo hacia la atmósfera. Como resultado de la formación de gotas de agua en la superficie interna del plástico, la transmitancia de las radiaciones de onda larga es reducida, y en consecuencia, se produce un mayor calentamiento debido a un incremento de su efecto invernadero (Katan, 1981).

❖ Efecto físico de la solarización.

Al analizar el efecto físico de la solarización sobre la densidad de inóculo y el potencial de inóculo que hay que hacer las siguientes consideraciones (DeVay y Katan, 1991):

La tasa de muerte térmica de la población de un organismo depende de la temperatura alcanzada y del tiempo de exposición, que se relacionan inversamente. En algunos casos, se encuentra una relación lineal al representa el logaritmo de la DL90 frente a la temperatura (Pullman et al., 1981). Esto indica que una fracción constante de la población se inactiva por unidad de tiempo. En otros casos esta relación no es lineal y puede deberse a una heterogeneidad en la población del patógeno.

El efecto de las altas temperaturas sobre la mortalidad del patógeno y sobre la reducción en la densidad de inóculo se estima considerando el número de organismos que sobreviven al tratamiento. Sin embargo, los propágulos del patógeno que sobreviven a un calentamiento subletal pueden ser dañados parcialmente o debilitados. Estos son los denominados daños reversibles por calor, que pueden afectar distintas formas de expresión, como una pérdida de patogenicidad, disrupción de membranas y daños en los ácidos nucleicos, incluido el ARN ribosómico. Por tanto, hay que considerar que los datos de densidad de inóculo obtenidos tras el tratamiento pueden subestimar el efecto térmico en condiciones naturales y no reflejar la situación real del potencial de inóculo.

El nivel de humedad del suelo es un factor crucial en el proceso de solarización, ya que la mayoría de los organismos son mucho más resistentes al calor en un ambiente seco. En cierta medida, el efecto del agua puede explicarse en relación con la estabilidad de las proteínas y la hidratación: en presencia del agua se requiere menos energía para desnaturalizar las cadenas peptídicas de las proteínas, con lo cual disminuye su resistencia al calor.

C) Control químico de *Phytophthora cinnamomi*.

Antes de realizar la plantación, el control químico de *P. cinnamomi* puede llevarse a cabo con fumigantes de suelo. La fumigación supone una reducción drástica de la población del patógeno en el suelo durante cierto tiempo, pero no impide su re infestación. Los productos más recomendados son: Vapam, Mylone, D-D, Telone y especialmente bromuro de

metilo (Zentmyer y Abu-El-Haj, 1972; Munnecke et al., 1974), este último prohibido en los países de la Unión Europea y en otros desarrollados.

Una vez establecida la plantación, se han utilizado una gran cantidad de fungicidas para el control de las podredumbres radiculares causadas por *P. cinnamomi*. En la década de los treinta se recomendó el uso de productos a base de Cu; caldo bórdeles (Mehrlich, 1932), sulfato de cobre (Oyler y Bewley, 1937), etc. Estos fungicidas solo reducen el inoculo superficial debido a la baja capacidad de penetración del cobre.

El desarrollo de los fungicidas orgánicos de síntesis, con baja fitotoxicidad, supuso en las décadas de los treinta y cuarenta la evaluación de una gran cantidad de fungicidas de suelo para el control de podredumbres radiculares (Zentmyer, 1955). Entre ellos destacaron como más efectivos: Dexon, piroxicloro, etazol. Estos fungicidas de suelo controlan el desarrollo de las podredumbres radiculares en aguacate, pero han de aplicarse muy frecuentemente por lo que resultan demasiados caros. En 1977 se comercializaron dos nuevos fungicidas orgánicos para el control de las enfermedades causadas por oomicetos: el metalaxyl (Fongarid o Ridomil, Ciba-geigy) del grupo de las acilalaninas (Schiwinn et al., 1977) y el etil fosfito de aluminio y etil fosfito de sodio (Fosetyl-Al y Fosetyl-Na respectivamente, Rhone-Poulenc Co.) del grupo de los fosfitos orgánicos (Bertrand et al., 1977). Los estudios realizados con estos productos confirman su actividad sistémica y su capacidad para controlar las podredumbres radiculares de aguacate causadas por *P. cinnamomi* (Zentmyer y Ohr, 1978).

Las acilalaninas están especialmente indicadas para su aplicación en suelo al ser solubles en agua y tener gran movilidad en él. Además, requieren aplicaciones poco frecuentes y a bajas dosis que previenen el desarrollo de *P. cinnamomi* al interferir el proceso de formación de esporangios y clamidosporas.

Los fosfitos orgánicos, especialmente el Fosetyl-Al, dan unos resultados excelentes en soluciones para aplicaciones foliares a muy baja concentración (0.3% de materia activa) durante la época de crecimiento, con intervalos de unos 45 días tras el primer tratamiento, y mensualmente desde septiembre hasta marzo en años posteriores (Darvas, 1982). El Fosetyl-Al, inyectado en tronco dos veces al año, dosis de 20 g de materia activa en 40 ml de agua por m² de proyección del área foliar del árbol, da unos resultados aun mejores que las pulverizaciones foliares (Snyman y Kotzé, 1983; Darvas, 1983).

A principio de los años 1980 se encontró que los fosfitos orgánicos, tales como el Fosetyl-Al y particularmente su producto de degradación, el ácido fosforoso, inhiben a concentraciones muy bajas el crecimiento micelial de algunas especies de *Phytophthora*, especialmente cuando crecen en un medio con una concentración de fosfatos muy baja (Bompeix y Saindrenan, 1984; Fenn y Coffey, 1984). A partir de entonces se comenzaron a utilizar como fungicidas distintas sales del ácido fosforoso conocidas como fosfonatos.

In vitro, el ácido fosforoso produce sobre *P. cinnamomi* reducción en la producción de esporangios (EC50=3microgramos/mililitro), en la liberación de zoosporas (EC50=6microgramos/mili litro) y en el crecimiento micelial (EC50=5-6microgramos/mili litro) (Coffey y Joseph, 1985), afectando mas a la formación de esporas que a su germinación. In vivo, el acido fosforoso es trascolado en el floema y xilema de la planta (Whiley et al., 1991), y al ser muy soluble en agua permite que pueda ser aplicado en inyecciones a tronco, dando unos resultados excelentes en el control de las podredumbres radiculares del aguacate causadas por *P. cinnamomi* (Pegg et al., 1985, 1987). El mecanismo de actuación de los fosfonatos es complejo y, aparte de producir una acción directa fungistática sobre el hongo, parece ser que actúan indirectamente activando los mecanismos de defensa del huésped (Smillie et al., 1989; Guest y Grant, 1991).

El principal problema derivado del uso de estos productos es la posibilidad de desarrollo, de cepas de *P. cinnamomi* resistentitas a ellos y de microorganismos de suelo con una gran capacidad para degradarlos. En el caso de los fosfitos orgánicos y los fosfonatos, al ser aplicados foliar mente o mediante inyecciones en el tronco se minimiza el problema de su degradación por microorganismos de suelo (Mckenzie y Margot, 1982; Darvas y Becker, 1984).

2. OBJETIVOS DEL PROYECTO.

2. OBJETIVOS DEL PROYECTO.

Uno de los problemas fitopatológicos más importantes de los aguacates de la provincia de Málaga es la podredumbre radicular, que puede estar causada entre otros por los hongos, *Phytophthora cinnamomi* y *Rosellinia necatrix* (*Demathophora necatrix*). El control químico de estos patógenos cuando la plantación ya establecida es muy imperfecta. Por esta razón el proyecto propone como objetivo único ensayar el uso de la biodesinfección, aplicada mediante técnicas de biofumigación y de biosolarización.

3. MATERIAL Y MÉTODOS.

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1 Descripción del campo de ensayo

3.1.1 Visita Finca Miguel Moreno.

Se visitó la finca el día 10 de Abril del 2005, realizándose un plano inicial con objeto de ver si reunía las condiciones adecuada para la realización del ensayo. La finca está situada en el término municipal de Velez-Malaga, junto a la carretera de Benamargosa

La finca tiene una superficie de 15000 m², pudiéndose dividir en 2 partes, unos 5000 m² de aguacatar Hass y Fuerte con una antigüedad de 23 años aproximadamente y otra zona de unos 10000 m² de aguacate hass con una antigüedad de 4 años. Foto 1.



Foto 1, finca, al fondo árboles de 23 años.

Anteriormente al cultivo de aguacate en la finca se producía caña de azúcar, pasándose a cultivos hortícolas, tomates, judías, pimientos, patatas, etc. Posteriormente aguacates. En la zona de 4 años de los cultivos hortícolas se pasó al cultivo del limonero y después aguacatar.

Los árboles de 23 años tiene una procedencia de un plantero particular, con un marco de plantación de 10x5m, mientras que los arboles de 1-4 año de edad proceden del vivero Brocar con un marco de plantación de 7x6m

Las variedades están injertadas en los patrones son bravío (de raza guatemalteca) para los más antiguos y clonados, Topa-Topa de los árboles más jóvenes.

El suelo de la finca es de tipo franco arcilloso (limoso), produciéndose un abundante encharcamiento por lluvia o riego.

El riego es por gotero-latiguillo, con un caudal variable de 60-120 l/h, con una frecuencia de riego es de cada 48 horas con una duración entre 90-120 min.

3.1.2. Elección de los árboles.

Para la elección de los árboles para los distintos tratamientos, se muestrearon todos los árboles de la finca para su posible clasificación para ser evaluados como árboles testigo, árboles biofumigados o árboles biosolarizados.

Se enumeraron todos los arboles siendo un total de 72 árboles a evaluar.

Se tomaron varios factores:

- Índice de Valoración de Síntomas (I.V.E.) de árboles dando un 0 para árboles aparentemente sanos y un 10 para árboles en estado terminal.
- Fruta en el árbol.
- Fruta tirada en el suelo.
- Materia Orgánica en el suelo. Se midió apreciando la existencia o no de hojarasca en la superficie.

Escala visual tomada para la evaluación de los árboles, 0 para árboles totalmente sanos o carentes de síntomas, 10 para árboles moribundos o prácticamente muertos. Índice de Valoración de Síntomas. (I.V.S.)

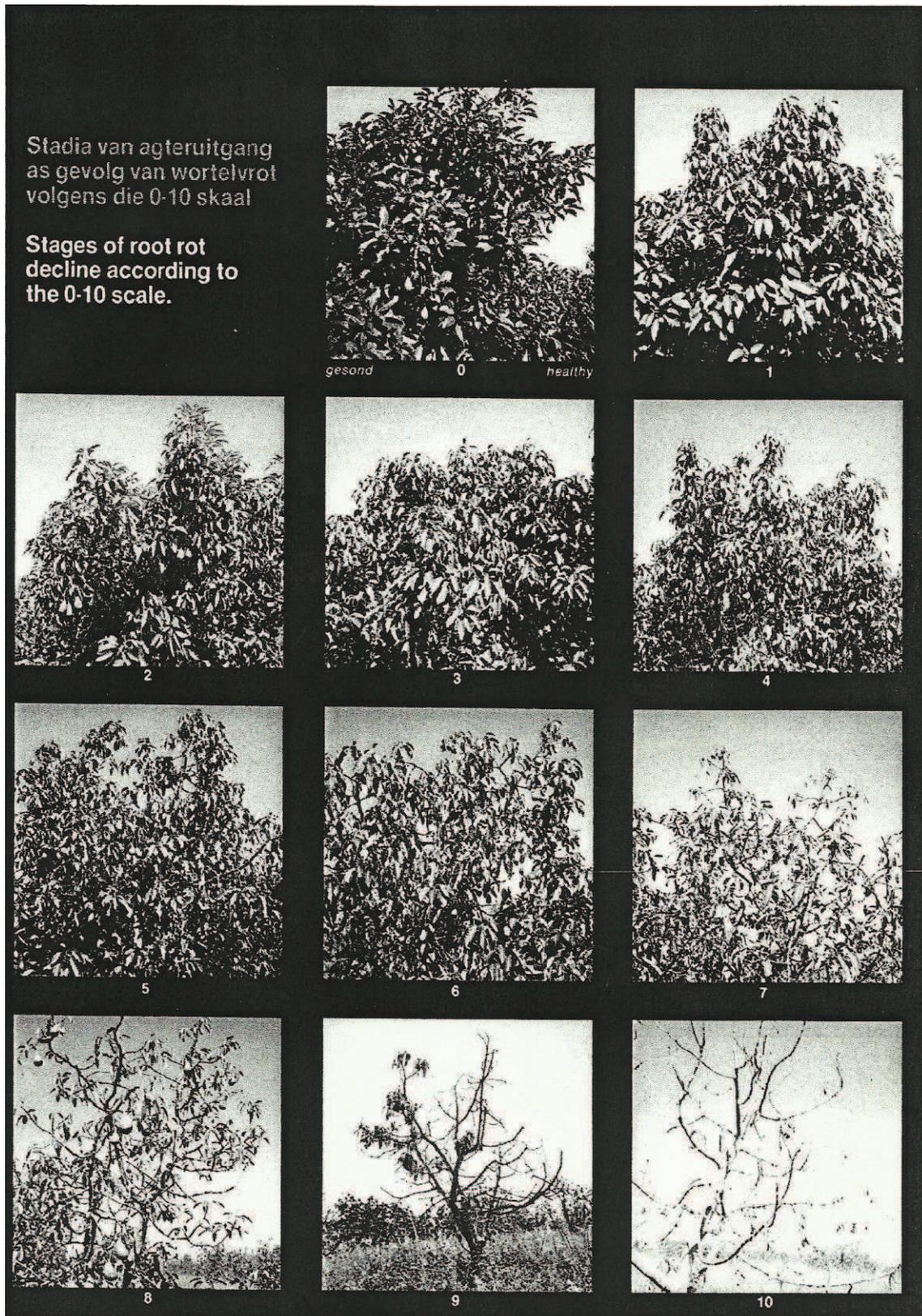


Figura 11, Índice de Valoración de Síntomas. Anónimo.

Se realizaron unos cuadros para ver si correspondían los estados visuales del decaimiento con la presencia de algún patógeno de las raíces. Para ello se analizaran diez raicillas por árbol, complementando los resultados de los análisis de raicillas, se complementó con análisis del suelo de las raíces con pétalos de clavel, (Tello et al, 1991), para ver otro método se realizó con pétalos de clavel, (cuadro 6 y cuadro 7).

Cuadro 6 Evaluación de síntomas y presencia de hongos en la finca.

I.V.S.	P. cinnamomi		Otros hongos							
	P/A	Nº raíces	Cyln	Fus.	Rizct.	Pyth	Ganod.	Asp	Stre	Tric.
0	-	0/10	+	+	+	-	-	+	+	+
1	-	0/10	+	+	+	+	-	+	-	+
2	-	0/10	+	+	+	+	-	-	-	-
3	+	1/10	+	+	+	+	-	-	-	-
4	+	3/10	+	+	+	+	-	-	-	-
5	+	3/10	+	+	+	+	-	-	-	-
6	+	5/10	+	+	+	+	-	-	-	-
7	+	6/10	+	+	+	+	-	-	-	-
8	+	7/10	+	+	+	+	-	-	-	-
9	+	10/10	+	+	+	+	+	-	-	-
10	+	10/10	+	+	+	+	+	-	-	-

Leyenda del cuadro 6.

I.V.S.	Índice de valoración de síntomas
P. cinnamomi	Phytophthora cinnamomi
P/A	Presencia-Ausencia del hongo
Nº raíces	Numero de raíces sembradas
Cyl.	Cylindrocarpon
Fus	Fusarium
Rizct.	Rizoctonia solani

Leyenda del cuadro 6.	
Pyth.	Pythium
Ganod	Ganoderma
Asp.	Aspergillus
Stre	Streptomyces
Tric	Thricoderma

Cuadro 7. Relación entre el índice de síntomas y la presencia de Oomicetos en el suelo colonizado por las raíces.

Pétalos de clavel			
I.V.S.	P. cinnamomi	Pythium	Protozoos
0	-	-	+
1	-	-	+
2	-	+	+
3	-	+	+
4	-	+	+
5	-	+	+
6	+	+	+
7	+	+	+
8	+	+	+
9	+	+	-
10	+	+	-

Se tomaron 15 árboles para cada tratamiento y otros 15 de árboles testigos siendo un total de 45 árboles. El aspecto de los árboles y de la parcela, se resume en el cuadro 8.

Cuadro 8. Estado de los árboles y aspecto de la parcela.

Código Árbol	Fructificación	Frutos Suelo	I.V.S.	Materia Orgánica en Superficie	Muestra
Cate 1	Bastante	45	7	Hojarasca	Si
Cate 2	Regular	10	4	Hojarasca	Si
Cate 3	Normal	20	6	Hojarasca	Si
Cate 4	Normal	5	2	Hojarasca	Si
Cate 5	Escasa	5	2	Hojarasca	Si
Cate 6	Escasa	5	3	Hojarasca/ malas hierbas	Si
Cate 7	Escasa	5	3	Hojarasca	No
Cate 8	Bastante	8	2	Hojarasca	No
Cate 9	Escasa	5	3	Hojarasca	No
Cate 10	Bastante	15	4	Hojarasca	No
Cate 11	Escasa	15	7	hojarasca -	No
Cate 12	Excelente	20	3	Hojarasca	No
Cate 13	Escasa	15	7	hojarasca -	No
Cate 14	Escasa	8	4	hojarasca +	Si
Cate 15	Normal	5	4	hojarasca +	No
Cate 16	Normal	5	5	hojarasca -	Si
Cate 17	Normal	5	1	Hojarasca	Si
Cate 18	Nula	5	1	hojarasca +	Si
Cate 19	Nula	5	1	Hojarasca	No
Cate 20	Escasa	5	1	Hojarasca	No
Cate 21	Escasa	8	5	Hojarasca	Si
Cate 22	Bastante	20	6	Hojarasca +	No
Cate 23	Normal	15	6	Hojarasca+	No
Cate 24	Regular	5	2	Hojarasca +	Si
Cate 25	Normal	10	4	Hojarasca	No
Cate 26	Bastante	20	6	Sin hojarasca	Si
Cate 27	Escasa	8	8	Hojarasca+	Si
Cate 28	Escasa	5	4	Hojarasca +	No
Cate 29	Escasa	5	4	Hojarasca	Si
Cate 30	Bastante	10	6	Hojarasca-	No
Cate 31	Bastante	15	6	Hojarasca	No
Cate 32	Nula	5	1\2	Hojarasca +	No
Cate 33	Bastante	15	2	Hojarasca +	No
Cate 34	Bastante	15	4	Hojarasca +	Si
Cate 35	Bastante	20	7\6	Hojarasca	No
Cate 36	Normal	15	4	Hojarasca -	No
Cate 37	Nula	3	5	Hojarasca	Si
Cate 38	Escasa	5	4	Hojarasca	Si

Continuación cuadro 8.

Código Árbol	Fructificación	Frutos Suelo	I.V.S.	Materia Orgánica en Superficie	Muestra
39	Escasa	5	4	Hojarasca	Si
40	Bastante	10	2	Hojarasca	No
41	Bastante	25	6\7	Hojarasca	No
42	Bastante	25	4	Hojarasca +	No
43	Escasa	3	4	Hojarasca	No
44	Escasa	5	4	Hojarasca	No
45	Bastante	10	5\6	Hojarasca	Si
46	Bastante	20	6\7	Hojarasca	No
47	Escaso	10	7\8	Hojarasca	No
48	Bastante	15	5	Hojarasca	Si
49	Bastante	20	3	Hojarasca	No
50	Escaso	5	6\7	Hojarasca / malas hierbas	No
51	Normal	20	7\8	Hojarasca / malas hierbas	Si
52	Escaso	5	3	Hojarasca	No
53	Bastante	10	3\4	Hojarasca	No
54	Bastante	15	4	Hojarasca	No
55	Escaso	5	5	Hojarasca +	No
56	Escaso	5	6	Hojarasca/ malas hierbas	No
57	Bastante	15	4	Hojarasca +	Si
58	Bastante	10	3\4	Hojarasca	Si
59	Bastante	15	6\7	Hojarasca	No
60	Escaso	10	4\5	Hojarasca	Si
61	Escaso	10	4\5	Hojarasca	Si
62	Escasa	10	5	Hojarasca +	Si
63	Escasa	5	4	Hojarasca	No
64	Escaso	5	5	Hojarasca	No
65	Normal	10	5\6	Hojarasca	No
66	Bastante	10	4\3	Hojarasca	No
67	Escasa	10	8\9	Hojarasca	Si
70	Bastante	10	6	Hojarasca +	Si
71	Bastante	15	6	Hojarasca	No
72	Normal	10	6	Hojarasca	Si
Bot	Escaso	2	4\3	Hojarasca	Si

3.2 Selección de los árboles a estudiar. Diseño experimental.

3.2.1 Diseño del experimento para el tratamiento de Biosolarización.

Una vez detectada la presencia de *Phytophthora cinnamomi*, realizada de siembra en placas de Petri en medios C.M.A.V. (específico para hongos Oomicetos), y medio P.D.A.A. se eligieron los árboles de forma visual, índice de valoración de síntomas, (I.V.S.), aquellos que comprendían entre un 7-8 de la escala dando prioridad a estos árboles con estos síntomas, además incluyendo aquellos que tenían un menor I.V.S. con árboles se agrupaban en I.V.S. entre 4 y 6.

Cuadro 9. Árboles seleccionados para la biosolarización.

Código árbol	I.V.S.	M. O.	Muestreado
Cate 1	7	Hojarasca	Si
Cate 3	6	Hojarasca	Si
Cate 11	7	Hojarasca	No
Cate 13	7	Hojarasca	No
Cate 26	6	-	Si
Cate 27	8	Hojarasca	Si
Cate 35	7	Hojarasca	No
Cate 37	5	Hojarasca	Si
Cate 38	4	Hojarasca	Si
Cate 39	4	Hojarasca	No
Cate 41	6	Hojarasca	No
Cate 47	6	Hojarasca	No
Cate 50	7	Hojarasca+malas hierbas	No
Cate 59	7	Hojarasca	No
Cate 67	8	Hojarasca	Si

Los 15 árboles biosolarizados se les hizo una poda severa, eliminando aquellas ramas secas, y sobre todo eliminando parte aérea para que hubiese un mejor equilibrio entre la parte aérea y la parte de la raíz, así como una mejor entrada de luz hacia la parte a solarizar.

Posteriormente se llevó a cabo un blanqueo con blanco de España con fijador (por si hubiesen llovias, consiguiendo una mejor fijación al tronco), para que el sol no quemase las ramas y el tronco del árbol.

A continuación se realizó la aportación de la materia orgánica. Para la aplicación de materia orgánica, primero se labró con un motocultor-retovator por todo el alcorque del árbol, tras roturar el suelo, le acoplábamos al motocultor una especie de palas, que al irle dando

vueltas concéntricas y en espiral se iba echando la tierra hacia el exterior del alcorque, facilitando la extracción de esos 15-20 cm de profundidad necesaria para la aportación de la materia orgánica, foto 6. Para cada árbol se aportaron unas 16 cajas tipo cunera de unos 20 litros de capacidad (un total de 320 litros por árbol), foto 7, totalmente repartida por todo el alcorque y mezclada con la tierra que se le extrajo y removida, (hay que mencionar que en esta tierra contiene las ramas finas y hojarasca del árbol con lo cual es más materia orgánica extra).

Seguidamente se le dió un riego hasta saturación, mojando uniformemente toda la zona.

Tras el riego se comienza el cubrimiento con el plástico, de un espesor de 120 galgas y una anchura de 6,5 metros. Se hicieron cuadrados de 6.5x6.5metros, Foto 2, haciéndoles un corte hasta el centro, donde en la terminación del corte estaría ubicado el tronco y uniéndolas con una cinta adhesiva dicho corte. Foto 4.

Los bordes del plástico se cubrieron con tierra y rocas para una mayor fijación y anclaje al suelo. Fotos 2,3 y 5.

La duración del tratamiento fue de 30 días.



Foto 2, Izqda. Tiras de plástico de 6.5x6.5m. Derecha cubrición del alcorque con el plástico.



Foto 3 Izqda. y Derecha distintos estadios de la cobertura con el plástico.



Foto 4, Izqda. Detalle del sellado del plástico por la unión, con cinta de plástico.

Derecha cobertura de los bordes y fijación con tierra.



Foto 5, Izqda. y Derecha, Árbol finalizado con el plástico.

El día en el que se pusieron a biosolarizar fue el 19 de Julio 2005, y finalizando el 18 de Agosto del 2005.

3.2.2 Diseño del experimento para el tratamiento de Biofumigación.

Sabiendo que los árboles presentaban síntomas de *Phytophthora cinnamomi* se eligieron aquellos árboles que en la escala, I.V.S., comprendía entre los valores 4-7.

Cuadro 10. Árboles biofumigados.

Código árbol	I.V.S	M. O.	Muestreado
Cate 14	4	Hojarasca	Si
Cate 16	5	Hojarasca	Si
Cate 25	4	Hojarasca	No
Cate 29	4	Hojarasca	Si
Cate 30	6	Hojarasca	No
Cate 45	6	Hojarasca	Si
Cate 46	7	Hojarasca	No
Cate 48	5	Hojarasca	Si
Cate 56	6	Hojarasca+malas hierbas	No
Cate 61	5	Hojarasca	Si
Cate 64	5	Hojarasca	No

Cate 65	6	Hojarasca	No
Cate 70	6	Hojarasca	Si
Cate 71	6	Hojarasca	No
Cate Bot	4	Hojarasca	Si

Se eligieron 15 árboles, de los cuales se les realizó una poda ligera para equilibrar la parte aérea respecto la parte radicular, puesto que al roturar la tierra se eliminarán una buena parte de raicillas.

Primero se realizó con un motocultor-retovator por todo el alcorque del árbol, tras roturar el suelo, le acoplábamos al motocultor una especie de palas, que al irle dando vueltas concéntricas y en espiral se iba echando la tierra hacia el exterior del alcorque, facilitando la



Foto 6.Izq. rotovator roturando el alcorque del árbol. Derecha pala apartando la tierra.

extracción de esos 15-20 cm de profundidad necesaria para la aportación de la materia orgánica. Foto 6.

A continuación se realiza la aportación de la materia orgánica, hay que mencionar que la materia orgánica utilizada es estiércol de equino ligeramente digerida y con abundante paja, lo que hace que aumente la cantidad de celulosa-lignina.

Para cada árbol se aportó unas 16 cajas tipo cunera de unos 20 litros de capacidad un total de 320 litros por árbol, totalmente repartida por todo el alcorque y mezclada con la tierra que se le extrajo, (hay que mencionar que en esta tierra contiene las ramas finas y hojarasca del árbol con lo cual es una materia orgánica extra). Foto 7.



Foto 7. Cantidad de materia orgánica a aportar por árbol a tratar.

Posteriormente se le aplica un riego uniforme y mojando toda la zona a tratar. Cabe hacer especial mención que para los árboles biofumigados, se cambió el sistema de riego, de un riego en tobera, (latiguillos de un caudal de 30 litros unidad), con 8 latiguillos por árbol y un caudal de 240 litros/hora y un riego de unos 90 minutos cada 48 horas con un total de 360 litros de agua, era un riego excesivo con lo cual provocaba numerosos encharcamientos.

El nuevo sistema de riego fue el de aspersión colocando 2-3 aspersores por árbol de tal forma que cubrieran toda la zona del alcorque. El caudal paso de 360 litros mal repartidos a 120-180 litros repartidos entre todo el alcorque unos 2-3 litros m² aproximadamente. Con este sistema de riego evitamos el encharcamiento del agua en la zona de riego.

3.2.3 Árboles testigo.

Los arboles elegidos para ser testigos una vez detectadas la presencia de *P. cinnamomi*, fueron aquellos que comprendían entre el índice de valoración de síntomas comprendidos entre 2-7, de tal forma que nos sirvieran de testigo para el tratamiento de Biofumigación así como el de Biosolarización. (Cuadro 11).

Cuadro 11. Árboles testigo.

Código árbol	I.V.S.	M. O.	Muestreado
Cate 4	2	Hojarasca	Si
Cate 5	2	Hojarasca	Si
Cate 6	3	Hojarasca+malas hierbas	Si
Cate 21	5	Hojarasca	Si
Cate 22	6	Hojarasca	No
Cate 24	2	Hojarasca	Si
Cate 34	4	Hojarasca	Si
Cate 51	7	Hojarasca+malas hierbas	Si
Cate 53	3	Hojarasca	No
Cate 54	3	Hojarasca	No
Cate 57	4	Hojarasca	Si
Cate 58	3	Hojarasca	Si
Cate 60	4	Hojarasca	Si
Cate 62	5	Hojarasca	Si
Cate 72	6	Hojarasca	Si

Se les realizó una poda ligera, eliminando aquellas ramas secas, así como la eliminación de los chupones.

El riego fue el mismo que siempre 90 min de agua cada 48 horas donde la hora de riego comenzaba siempre alrededor de las 18:30 de la tarde terminando 20:00, y con el sistema tradicional, de latiguillos-toberas de aproximadamente 40 litros y de unos 8 por árbol.

3.2.4 Detección de *Phytophthora cinnamomi* en los árboles de cada tratamiento.

Para la detección de *Phytophthora cinnamomi* se realizó los siguientes análisis, haciéndose 11 análisis previos, un análisis para cada I.V.S., (0-10) para comprobar, que realmente el índice de valoración de síntomas estaba en relación con la presencia de *Phytophthora*.

Una vez cogida las muestras de tierra tomadas de 4 puntos distintos del árbol, Norte, Sur, Este y Oeste, de cada árbol, se extraen las raicillas que la contienen en él, se procede a la desinfección de las raíces en lejía al 20% durante 3 min, y posterior secado en papel previamente esterilizado en un horno Pasteur.

Los medios utilizados para estos análisis iniciales fueron; CMAV, medio selectivo para *Phytophthora cinnamomi*, y PDAA, medio para ver cualquier tipo de hongo presente en las raíces.

Para la tierra se aplicaron trampas vegetales, para hacer capturas de *Phytophthora*, haciéndose 3 repeticiones con 5 pétalos de clavel por repetición con un total de 15 pétalos. (Tello et al., 1991).

CMAV: medio selectivo para hongos pitiáceos (Tsao y Ocana, 1969), se utiliza para el aislamiento de *P. cinnamomi*.

Composición por litro de medio: 17 g de harina de maíz agar Difco, 10 ppm de pirimacina, 100 ppm de pentacloronitrobenzeno (PCNB), 200 ppm de vancomicina, 950 ml de agua destilada.

Los antibióticos y fungicidas se disuelven en 50 cc de agua estéril antes de añadirlos al medio.

PDAA: permite el crecimiento de cualquier hongo y limita notablemente el crecimiento de bacterias.

Composición por litro: 39 g de patata dextrosa agar Difco, 50 gotas de ácido láctico al 50%, 1000 ml de agua destilada.

3.3 Evaluación del efecto de la biodesinfección del suelo de los árboles.

3.3.1 Análisis de la microbiota fusárica del suelo. (Tello et al., 1991)

Como ejemplo de aquellos métodos en los que el suelo problema es añadido directamente al medio de cultivo fundido, se expone, a continuación, la técnica para análisis selectivo de *Fusarium*.

-Material necesario para una muestra:

-16 placas de Petri o plástico de 17 cm de diámetro (Las de 10 cm son también validas). Las placas estériles se mantendrán en estufa a 50-52 °C hasta el momento del análisis.

-Termómetro graduado hasta 100°C.

- Micro espátula para tomar la tierra a analizar.
- Cuatro frascos con tapadera, limpios y desinfectados para contener la tierra a analizar.
- Distribuidor de medio, regulado a 10 ml.
- Probeta de 50 ml estéril.
- Pipeta de 2 ml.
- Frasco con cabezal para aireación continúa...

El medio de cultivo (Komada, 1975) consta de tres componentes.

Solución A:

Asparguina 2 g, fosfato bipotásico 1 g, sulfato de magnesio ($\text{SO}_4\text{Mg}\cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0.5 g, cloruro potásico 0.5 g, galactosa 10 g, agar 10g, agua destilada 1000 ml.

Poner el agua a calentar al baño María (puede hacerse en el autoclave mientras éste se calienta). Añadir uno a uno los componentes de la receta según el orden que en ella se indica, agitando con varilla de vidrio para favorecer la disolución del compuesto añadido.

-Solución B:

Ácido etilen diamino tetraacético (EDTA) 37.5 g, sulfato ferroso ($\text{SO}_4\text{Fe}\cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 27.85 g, agua destilada 1000 ml.

Los componentes de la receta se ponen en aireación continua durante 24 horas. Una instalación de aire comprimido constituye la fuente de burbujeo continuo, cuando se carece de ella un motorcito de acuario puede suplirla con la misma eficacia. Al final la solución adquiere un color topacio, lo que es indicativo de la quelación de hierro ferroso (Fe^{++}).

Por cada 1000 ml de la solución A se le añaden 2 ml de la B. El conjunto se esteriliza en el autoclave durante 30 min a 120°C (1 atmósfera).

Obviamente, la solución B se preparara en una menor cantidad de la indicada de la receta, dado el pequeño volumen a utilizar.

-Solución C:

Pentacloronitrobenzeno (PCNB) 10 g, Oxgall 4g, sulfato de estreptomycin 4 g, borato de sodio 4 g, agua destilada estéril 160 ml.

El pH de la solución deberá ajustarse a 3.8 con ácido fosfórico. En caso de necesidad se puede neutralizar con sosa (OHNa). Puede conservarse a 0°C durante noventa y cinco días.

Una nota práctica de interés la constituye el hecho de no poder utilizar el PCNB puro, ya que no se disuelve en el medio de cultivo. Es recomendable emplearlo como preparado comercial en polvo, del que existen formulaciones con el 30% de materia activa (Saniclor) y el del 75% (Medeclorex).

Una vez estéril la mezcla de las soluciones A y B se añaden, con una probeta estéril, 20 ml de la solución C por cada 1000 ml de la mezcla.

Para el análisis, el medio deberá enfriarse hasta 40-42 °C.

3.3.2 Modo de operar con la muestra de suelo.

El suelo molido y tamizado (tamaño máximo 200 micras) que compone la muestra problema, se reparte en los cuatro frascos de vidrio preparados el efecto (60-80 g por frasco aproximadamente dos cucharitas de café). Cada frasco será una de las repeticiones, y deberán señalarse por letras o números. Pesar cada repetición antes del análisis con una precisión mínima de 0.001 g. De cada muestra se habrá obtenido el peso seco, conociendo así el peso aportado por la humedad que la acompaña.

3.3.3 Forma de hacer el análisis.

El medio de cultivo enfriado a 40-42 °C, y manteniendo a temperaturas próximas a estas, se distribuirá a razón de 10 ml por placa de Petri (cualquiera que fuere su diámetro, comprendido entre 9 y 17 cm).

Por cada repetición se utilizarán cuatro placas de Petri, calentadas a 40-50°C, en estufa hasta el momento de analizar (en caso contrario, al caer el medio sobre una superficie fría se solidificará, impidiendo la homogeneización de la tierra en el seno del medio de cultivo). En cada Capsula de Petri se añadirá una pequeña cantidad de tierra con ayuda de una micro espátula, espolvoreándola sobre el medio fundido previamente vertido. Unos suaves

movimientos permitirán la homogeneización de la tierra en el medio de cultivo. La operación se repetirá 16 veces, tantas como placas de Petri necesita la muestra problema.



Foto 8; distintos procedimientos de secado, tamizado, preparación para la siembra y siembra en placas Petri.

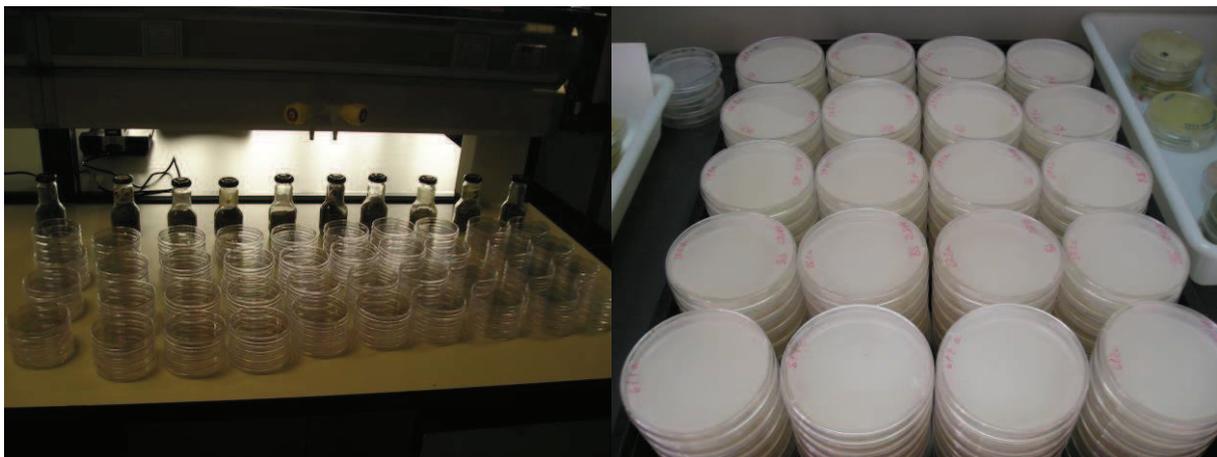


Foto 9; distintos procedimientos de secado, tamizado, preparación para la siembra y siembra en placas Petri, para analizar el suelo de manera selectiva para Fusarium.

Finalizado el análisis, se pesarán nuevamente, el frasco de las cuatro repeticiones. La diferencia entre el peso inicial y final, será la tierra analizada, que deberá ser corregida para calcular el peso seco.

Solidificado el medio de cultivo, las capsulas de Petri se incubaran en un recinto a 25-28°C con luz fluorescente continua (3-4 tubos de 40W por 2m² de superficie a una altura sobre las placas de 30-50 cm). El tiempo de incubación puede oscilar entre seis y diez días.

Esta forma de trabajar permite, hasta cierto punto una coloración diferencial de las colonias de las diferentes especies de *Fusarium* (aproximadamente, y no siempre, *F. oxysporum* toma color blanco, rosa o violeta; *F. solani*, azul, blanco, verde, etc.), que orientara la lectura.

Las colonias, agrupadas por especies, obtenidas en cuatro placas de Petri (una repetición) se sumaran y se anotaran en estadillos. La simple división del número de colonias de cada *Fusarium*, obtenidas en cada repetición, por el peso de suelo seco gastado en el análisis proporcionara el número de unidades formadoras de colonias, (U.F.C.) por g. de suelo seco. (1 propágalo= 1 colonias= unidad del hongo capar de reproducirlo). El resultado final se expresara, para la tierra problema, como la media de U.F.C. de cada especie en las cuatro repeticiones acompañada de su desviación típica o error típico de la media.

3.3.4 Árboles analizados.

Se analizaron entre 6 y 7 muestras por tratamiento, biosolarización, biofumigación y testigo.

Cuadro 12, Árboles cuyos suelos fueron analizados para la microbiota fusárica.

Tratamiento	Biosolarización	Biofumigación	Testigo
Código Árbol	Cate 1	Cate 14	Cate 4
	Cate 3	Cate 25	Cate 5
	Cate 13	Cate 29	Cate 51
	Cate 26	Cate 48	Cate 58
	Cate 27	Cate 56	Cate 60
	Cate 37	Cate 61	Cate 72
	Cate 39	Cate Bot	-

3.4 Análisis para detectar la presencia de *Phytophthora* en los árboles.

3.4.1 Trampas vegetales.

Basados en introducir una trampa en el suelo problema, que selecciona o caza el hongo buscado. Es decir, se pretende que la trampa sea colonizada, lo más selectivamente posible, por un micromiceto concreto.

En este apartado expondremos ejemplos de aquellos métodos que utilizan trampas vegetales (fragmentos de plantas, normalmente) y trampas más o menos inertes, (papel de filtro, por ejemplo). En unos casos se detallaran para obtener una respuesta de sí o no está el hongo, y en otros las precisiones se harán para cuantificar con las trampas la densidad de inóculo en el suelo.

Desde que Campbell (1949) aislara *Phytophthora* del suelo utilizando una patata como trampa numerosos ensayos han pretendido buscar porciones vegetales suficientemente específicas para atrapar *Phytophthora*. Así, semillas germinadas de altramuza (*Lupinus* spp.) y frutos de aguacate (*Persea americana*) han permitido cazar *P. cinnamomi* del suelo (Chee y Newhook, 1965; Zentmyer et al., 1967). Para *Phytophthora megasperma* se ha usado plántulas y trozos de tallos de alfalfa (Marks y Mitchell, 1970). *Phytophthora* de cítricos, *Phytophthora cactorum* en fresón, etc. La propia experiencia podría, además, alargar el uso de algunas trampas, tal es el caso de los pétalos inmaduros de clavel, capaces de cazar en diferentes cultivos, *P. capsici*, *P. cactorum*, *P. cryptogea*, incluso en ciertas ocasiones *P. cinnamomi*.

Ciertamente, los sustratos que conforman las trampas muestran una cierta especificidad dentro del mismo género *Phytophthora*: otros, por el contrario, son fácilmente invadidos por gérmenes no deseados. Algunas de estas interferencias pueden ser eliminadas por simples trucos en la manipulación: una delgada película de agua sobre la muestra de tierra elimina una parte de la microflora no productora de zoosporas. Sin embargo, los *Pythium* pueden convertirse en los casi exclusivos contaminantes al colonizar rápidamente la trampa.

No es *Phytophthora* el único género que se ha estudiado para aislarlo del suelo mediante trampas vegetales, (Nash y Synder, 1962) proponen el uso de fragmentos de tallos de judía para aislar *Fusarium solani*; sobre trozos vegetales depositan una gota de la suspensión del suelo problema. Plántulas de habichuela y rodajas de zanahoria son preconizadas por (Maloy y Alexander 1958), para detectar *F. solani f. sp. Phaseoli* y *thielaviopsis basicola*, respectivamente.

Esta enumeración de ejemplos no tiene como único fundamento ilustrar al lector interesado. Tal vez, puedan estimular la imaginación de quienes han de diagnosticar la presencia de un hongo en un suelo, turba, sustrato, etc., independientemente de su valor para cuantificar la densidad de inóculo, son útiles para obtener una respuesta de ausencia/presencia de un concreto patógeno en el suelo. Esta aplicación cualitativa es fácil, rápida y masiva. Por esta razón parece interesante detallar dos de ellos cuya eficacia ha estado bien probada.

3.4.2 Trampas usadas en los ensayos.

Las trampas vegetales usadas en la realización de este proyecto fueron, los pétalos de clavel, y los frutos verdes de aguacates.

❖ Frutos Verdes de Aguacates, (Tello et al., 1991).

Colocar el suelo problema en un vaso y humedecerlo hasta rebasar ligeramente la capacidad de saturación. Tomar un fruto de aguacate lejos de su punto de maduración: una precaución mínima es la de recogerlo sin que haya tocado el suelo de donde procede. Como esta premisa puede no ser conocida, es conveniente, para mayor seguridad, practicar una desinfección superficial eliminando posteriormente los restos del desinfectante. Se hunde el fruto en el suelo y se deja incubar el conjunto durante 5 ó 6 días en la bancada del laboratorio. Finalizado este tiempo, se saca el fruto y se lava con agua corriente, de manera que la tierra adherida sea eliminada. Se deja incubar en un recipiente limpio y al cabo de varios días (3-5) aparecen, si *Phytophthora cinnamomi* está presente, sobre la superficie de la corteza del fruto que estuvo sumergida en la tierra unas manchas circulares de colores rojo o marrón oscuro, que indican que la trampa ha cazado. Al cortar el fruto, coincidiendo con la mancha epidérmica, la pulpa presenta una podredumbre blanda.

La siembra de trozos de frutos podridos sobre cualquier medio agarizado, preferentemente selectivo, nos indicara si hay Phytophthora. Pueden ser atrapados algunos Pythium, representado un factor perturbador, hasta enmascarador, en el análisis.

Con el fin de poder capturar Phytophthora cinnamomi se probó mediante trampas con frutos de aguacate. No solo se hizo con muestras de suelo, sino que para descartar una posible contaminación acuífera también se realizó análisis del agua de riego en este caso agua del pantano de La Viñuela. Se tomaron dos muestras de agua, una superficial y otra a unos 3-4 metros de profundidad, con dos repeticiones cada una.

Cuadro 13, Trampas fruto Aguacate del agua de riego procedente pantano La Viñuela

Trampa Fruto Aguacate	Repeticiones	
Agua Pantano La Viñuela (Fondo)	Fondo 1	Fondo 2
Agua Pantano La Viñuela (Superficie)	Superficie 1	Superficie 2

Para cada muestra se cogió un poco de tierra, echándose en vaso de un litro de capacidad aportando 400 g de tierra, se saturo de agua, de tal manera que una vez sido absorbida por la tierra se le aporato para que quedara de 1 a 2 cm, una película de agua por encima del sustrato.

A continuación se añadió un fruto de forma vertical e incluso incrustándolo en el sustrato para que se quedara sujeto.

La fecha de siembra fue (2/12/2006), trascurridos 6 días de la siembra se retiraron los frutos, enjuagándose, retirando la tierra adherida y dejándose secar en un medio seco, envueltos en papel.

Pasados 6 días, se cogieron los frutos y se les hicieron cortes transversales, y sembrando pequeños trozos de frutos ennegrecidos. Los medios elegidos fueron agar-malta y CMAV.



Foto 10 vista de siembra en trampas fruto.



Foto11 Izqda., frutos puestos a secar; derecha detalle de manchas en frutos.

Cuadro 14, Árboles analizados para las trampas fruto de aguacate.

Tratamiento	Biosolarización	Biofumigación	Testigo
Código árbol	Cate 1	Cate 14	Cate 2
	Cate 3	Cate 16	Cate 4
	Cate 13	Cate 29	Cate 5
	Cate 26	Cate 45	Cate 21
	Cate 27	Cate 48	Cate 24
	Cate 37	Cate 61	Cate 51
	Cate 39	Cate 70	Cate 57
	Cate 67	Cate Bot	Cate 58
	-	-	Cate 60
	-	-	Cate 62
	-	-	Cate 72

Transcurridos 3 meses de los tratamientos se volvió hacer un muestreo aleatorio de la parcela, para la realización del trampeo con frutos de aguacate, también se incluyó arboles de la zona joven, un árbol que llevaba varios años muerto del que tan sólo quedaba el tocón, y dos limoneros que estaban presentes en la finca, con el fin de ver la presencia o ausencia de *Phytophthora cinnamomi* en esas muestras.

Cuadro 15. Trampas fruto transcurridos 90 días del experimento

Tratamiento	Biosolarización	Biofumigación	Testigo
Código Árbol	Cate 11	Cate 25	Cate 22
	Cate 35	Cate 29	Cate 24
	Cate 38	Cate 30	Cate 51
	Cate 41	Cate 42	Cate 54
	Cate 47	Cate 46	Cate 60
	Cate 50	Cate 48	Cate 62
	Cate 59	-	Cate 72
	Cate 67	-	-

Cuadro 16 Trampas fruto en zonas anexas a los tratamientos.

Trampa Fruto	
Código Muestra	Árbol caído
	Cate zona joven
	Limonero 1
	Limonero 2

❖ Trampa pétalos de clavel. (Tello et al., 1991)

Para la realización de este experimento se cogará tierra, esta se pondrá en contacto con los pétalos de clavel, que sirven de trampa. Los pétalos a utilizar deberán ser inmaduros, tomados de un capullo que todavía no haya comenzado a abrir. En variedades de color estarán blancos sin asomo de tinte alguno.

Siembra de los pétalos. Según el volumen de suspensión del suelo que se quiera poner en contacto con los pétalos, dos manipulaciones alternativas pueden ser empleadas:

Una gotita de 0.02 ml se deposita con ayuda de una pipeta Pasteur sobre el pétalo de clavel, previamente colocado en una cámara húmeda.

El pétalo se deja flotar sobre 1 a 3 ml de la suspensión del suelo a analizar. El volumen indicado se deposita en un alveolo de una placa de las usadas para cultivos celulares. En este caso el inóculo no está en contacto directo con la trampa pero si las zoosporas liberadas por el hongo. Una precaución necesaria: la altura de la suspensión en el alveolo no deberá sobrepasar los 10 mm.



Foto 12; izqda. distintas diluciones de suelo, derecha placas sembradas con pétalos de clavel.

Cuadro 17, Trampa pétalos de clavel.

Tratamiento	Biosolarización	Biofumigación	Testigo
Código árbol	Cate 1	Cate 14	Cate 2
	Cate 3	Cate 16	Cate 4
	Cate 13	Cate 29	Cate 5
	Cate 26	Cate 45	Cate 21
	Cate 27	Cate 48	Cate 24
	Cate 37	Cate 61	Cate 51
	Cate 39	Cate 70	Cate 57
	Cate 67	Cate Bot	Cate 58
	-	-	Cate 60
	-	-	Cate 62
	-	-	Cate 72

❖ Identificación del parásito, para los pétalos de clavel.

Después de 36 a 48 horas de incubación en estufa a 24°C, los pétalos contaminados se vuelven blandos y translucidos, en tanto que los otros se conservan intactos durante al menos una semana. La esporulación, que se produce en el borde de los pétalos, puede ser observada con una lupa binocular a 100 aumentos con el microscopio. Sin embargo, es conveniente esperar hasta el quinto día para hacer la lectura definitiva, contabilizando los pétalos que han atrapado *Phytophthora*. Las contaminaciones por *Pythium* pueden ser importantes manifestando las trampas el mismo aspecto que si hubiesen cazado *Phytophthora* por lo que la

lectura microscópica será siempre necesaria. Y todavía un remarque más anteriormente detallado y es que el pétalo puede además de *Phytophthora parasítica* cazar otras especies del género, ejemplo *P. cinnamomi*.

Lo dicho hasta ahora es válido para obtener una respuesta tipo presencia/ausencia para diagnosticar la sanidad de un suelo. Ciertas sencillas modificaciones de este modo de proceder permiten una agilización, tan necesaria en la dinámica de un laboratorio con una importante cantidad de muestras a resolver: preparada la suspensión madre del suelo tal cual viene del campo, se distribuye en placas de Petri de 9 cm de diámetro a razón de 15-20 ml, por capsula (es conveniente agrandar el agujero de salida de la pipeta para facilitar la caída de la suspensión de tierra). Se añaden cinco o seis pétalos a cada placa de Petri, y se incuba hasta un máximo de 5 días, y a temperaturas comprendidas 15 y 30 °C, comenzando la primera lectura a las 48 horas.

Esta modificación es válida en supuestos como los que a continuación se describen a título de ejemplo:

A veces es muy difícil, a pesar de la clara sintomatología, aislar *Phytophthora* del material vegetal. Esto es frecuente en la pareja *P. cactorum*/fresón y en *P. cactorum*/frutales. El análisis de la tierra rizosférica utilizando la técnica precocinada suele ser muy eficaz para atrapar el micromiceto.

Viveristas y medieros demandan, antes de alquilar un terreno, conocer el estado sanitario del suelo en lo referente a presencia de *Phytophthora*. El método propuesto suele ser suficiente para dar una solución a este tipo de planteamientos.

La estimación cualitativa del efecto de un fungicida contra *Phytophthora*, así como la persistencia de su acción, es una aplicación no desdeñable.

Es, para finalizar este paréntesis sobre aplicación rápida, posible aislar a partir de los pétalos, las especies de *Phytophthora* atrapadas. Varias precauciones deberán ser tomadas a tal efecto: a) los pétalos se sembraran en un medio selectivo para *Phytophthora*; b) eliminar el agua del pétalo antes de proceder a su siembra, para ello basta colocarlo sobre un papel de filtro, que sirva de secante, durante unos minutos; c) seleccionar a la lupa o microscopio un pétalo donde no se visualice *Pythium*.

Prosiguiendo con la exposición sobre el fundamento que hace posible que las trampas cuantifiquen el inoculo de *Phytophthora* en el suelo

3.4.3 Análisis de raicillas.

❖ Toma de muestras.

Una vez localizado un árbol sintomático se descubrían sus raíces más superficiales para observar su aspecto general y detectar zonas necrosadas. Cuando se observaban pequeñas raíces absorbentes necrosadas, daños típicos de la podredumbre radicular causada por *P. cinnamomi*, las muestras consistían en raíces de 1 a 3 mm de diámetro, tomadas de cuatro puntos diametralmente opuestos del árbol en la zona de los goteros, zonas húmedas. Las muestras recogidas se guardaron en bolsas de plástico para su transporte, identificando cada muestra y conservándola en una cámara frigorífica mantenida a una temperatura de unos 5°C, hasta su manejo en el laboratorio.

❖ Aislamiento de hongos.

Las muestras de raíces recolectadas en campo se lavaban previamente con agua del grifo para eliminar los restos de tierra adheridas a las raíces. Cuando la necrosis se localizaba en raíces pequeñas, se seleccionaban unos 20 trozos de 5 mm de longitud por muestras.



Foto 13, Izqda. Selección de raíces de muestra, derecha desinfección de las raíces recogidas.



Foto 14 Izqda., secado de raíces, derecha siembra de raíces en placas Petri en medio cmav.

Posteriormente, los trozos de raíces finas seleccionados se lavaban con agua destilada y se envolvían en una gasa estéril para su posterior desinfestación superficial, mediante inmersión en una disolución al 20% de hipoclorito sódico (50 g de CL por litro) durante 3 min, seguida de un último lavado en agua estéril. Las muestras desinfestadas así superficialmente se envolvían en papel de filtro, previamente esterilizado en horno Pasteur durante 2 h a 120°C, y se sembraban 10 trozos por muestra, en medios de cultivos adecuados. Las placas sembradas se incubaban a 24°C durante varios días para realizar una identificación posterior de las colonias fúngicas crecidas.

Como medio no selectivo para los aislamientos se utilizó APD acidificado (APDA) que permite el crecimiento de cualquier hongo y limita notablemente el crecimiento de bacterias.

P. cinnamomi se utilizó AHM con vancomicina y un fungicida (AHMVF), medio selectivo para hongos pitiaceos (Tsao y Ocamá, 1969). Para la detección de basidiomicetos se utilizó AM con tiabendazol (AMT).

❖ Identificación de hongos.

La identificación de los hongos aislados en los diferentes medios de cultivo se llevó a cabo por las claves de Barnett y Hunter (1972) y Arx (1974) mediante su observación con un microscopio invertido leitz laborver.

La identificación de *P. cinnamomi* se realizó por la presencia del micelio coraloide típico de esta especie en las colonias desarrolladas en placa de Petri (Waterhouse y Waterson, 1966; Stamps et al., 1990) y confirmación posterior según la morfología y tamaño de los esporangios. Los esporangios se obtuvieron por la técnica de Chen y Zentmyer (1970) ligeramente modificada, cortando discos de 5 mm de diámetro del borde de colonias de *P. cinnamomi* crecidas en AHM y sembrándolos en placas con 15 ml de CV8 clarificado, que se incubaron a 24°C durante 24 h. transcurridos este tiempo, el hongo crecido en este medio líquido se lavó cuatro veces con una solución de extracto de suelo a intervalos de 30 min. Dicha solución se preparó mezclando 10 g de suelo con 1 litro de agua, sedimentado 2 h y filtrado mediante una bomba de vacío con papel Whatman no 1 (Zentmyer, 1959). Tras el último lavado, los discos, mantenidos en esta solución, se incubaron una estufa en condiciones estándar de crecimiento (CEC): 24°C en oscuridad. Transcurridos dos días comenzaron a formarse los esporangios, que podían ser observados directamente en el microscopio invertido.

AHM: Composición por litro; 17 g de harina de maíz agar difco.

CV8: Composición por litro; 200 ml de zumo de ocho vegetales, 2 g de CO₃Ca y 800 ml de agua destilada.

Cuadro 18, Muestras seleccionadas para la siembra de raicillas.

Tratamiento	Biosolarización	Biofumigación	Testigo
Código árbol	Cate 1	Cate 14	Cate 2
	Cate 3	Cate 16	Cate 4
	Cate 13	Cate 29	Cate 5
	Cate 26	Cate 45	Cate 21
	Cate 27	Cate 48	Cate 24
	Cate 37	Cate 61	Cate 51
	Cate 39	Cate 70	Cate 57
	Cate 67	Cate Bot	Cate 58
	-	-	Cate 60
	-	-	Cate 62
	-	-	Cate 72

3.5 Patogeneidad de *Phytophthora cinnamomi*.

3.5.1 Cepas del oomiceto utilizadas.

Para este experimento se cogieron de los aislados obtenidos en laboratorio de las placas de *P. cinnamomi*, se estudió la reacción y virulencia en plántulas de aguacate. Así como el crecimiento vegetativo y la masa radicular de las plántulas.

Los aislados fueron: 72.2 Ph1, 16.1 Pcin3, 1.1 Pcin2, BOT1, 2.1 Pcin1.

Cuadro 19, Cepas utilizadas para la inoculación de plántulas.

Cepas utilizadas	
Código Cepa	72.2 Ph1
	16.1 Pcin3
	1.1 Pcin2
	Bot 1
	2.1 Pcin1

3.5.2 Preparación e inoculación de las plántulas.

Primero se cogieron semillas de aguacate de la variedad Zutano una variedad de piel fina así como un árbol de bastante vigor.

Las frutas una vez recolectadas del árbol se dejaron una semana en un saco de papel para facilitar la maduración y así un mejor pelado en la extracción de la semilla. La semilla se extrajo de la fruta mediante un corte transversal y posteriormente girando el fruto, dejando la semilla en todo un lado mientras en el otro trozo no está de manera que sale perfectamente la semilla con un solo corte. Las semillas se sembraron en unos vasos de un litro usados a modo de maceta, rellenos de vermiculita desinfectada, aproximadamente unos 400 cc. Se sembraron unas 150 plántulas, para así tener una mejor selección a la hora de elegir las plántulas para el experimento. La fecha de siembra fue 10/01/2007.

Para cada aislado se eligieron 10 plántulas siendo cinco cepas la seleccionadas en total serian 50 plántulas más 10 que harían de testigo en total 60 plántulas, eligiendo aquellas que tenían un mayor crecimiento aéreo así como un mayor vigor y salud.

Las plántulas estuvieron en un invernadero, en donde tan solo se regaban días alternos, sin añadir ningún tipo de fertilización, tan solo agua.

❖ Preparado para la inoculación.

En un vaso de precipitado se echó 600 ml de agua de grifo, incluyendo el contenido de una placa Petri. A continuación se trituró con la batidora sin tocar el vidrio, de lo contrario podría romperse el vaso de precipitado. Una vez triturado se echó en una botella y enrasando hasta los 1000 ml.



Foto 15, Izqda., inoculo, derecha plántulas a inocular.

La batidora es enjuagada con agua al cambiar de cepa, se seca y pulverizamos con alcohol la parte metálica, y flameamos suavemente.

❖ Inoculación en plántulas.

De cada botella de 1000 ml se cogió un vaso de 100 ml y se fue regando suavemente cada maceta, de tal forma de que no lixiviera sino que la vermiculita fuera embebiendo el líquido. Se usó un vaso de 100 ml distinto para cada aislado para evitar contaminaciones de aislados. La fecha de la inoculación fue del 30/05/2007.



Foto 16 Detalle de plántula de aguacate en vaso con vermiculita.

Cuadro 20, código de plántulas de los aislados, (La primera letra es para cada código de aislado y la segunda letra es para la repetición por cada código con un total de 10 repeticiones por aislado.)

Cód. Aislado	Código de plántula									
72,2 Ph1	A.A	A.B	A.C	A.D	A.E	A.F	A.G	A.H	A.I	A.J
16.1 PCin3	B.A	B.B	B.C	B.D	B.E	B.F	B.G	B.H	B.I	B.J
1,1 PCin2	C.A	C.B	C.C	C.D	C.E	C.F	C.G	C.H	C.I	C.J
BOT 1 Ph8	D.A	D.B	D.C	D.D	D.E	D.F	D.G	D.H	D.I	D.J
2,1 Pcin1	E.A	E.B	E.C	E.D	E.E	E.F	E.G	E.H	E.I	E.J
Testigo	T.A	T.B	T.C	T.D	T.E	T.F	T.G	T.H	T.I	T.J

Transcurridos 90 días de las inoculaciones se realizó mediciones del estado vegetativo de las plántulas en cm, estado visual de las raíces así como su masa radicular.

3.6 Efecto vigorizante de la biodesinfección

3.6.1 Técnica de evaluación.

Con el fin de estudiar el crecimiento vegetativo de los distintos tratamientos, biosolarización, biofumigación y testigo, el estudio consistió en medir tanto el crecimiento en longitud como en el grosor.

La elección de las ramitas se hizo al azar de un total de unas 10 ramitas por árbol y de 10 árboles por tratamiento para que fuese representativo, siendo un total de 30 árboles.

La fecha de la toma de datos fue el día 24/07/2006, en donde en el mes de agosto el árbol tiene una etapa de un crecimiento vegetativo. La fecha de la recogida de los datos para la finalización del estudio fue el 23/09/2006. Con un tiempo de 60 días.

El instrumento para la realización de las medidas fue un pide de rey para el grosor dada en mm, (calibre digital 0-150mm, Sesa tools, S.A.)



Foto 17 detalle de enumeración y medidas en ramas de aguacate.

Cuadro 21, Árboles en los que se evaluó el efecto vigorizante de los árboles de los distintos tratamientos. Mediciones tanto en longitud y grosor de ramas.

Tratamiento			Tratamiento			Tratamiento		
Cód. Árbol	Biosolarización		Cód. Árbol	Biofumigación		Cód. Árbol	Testigo	
	Long.	Grosor		Long.	Grosor		Long.	Grosor
Cate 1	-	-	Cate 16	-	-	Cate 4	-	-
Cate 3	-	-	Cate 25	-	-	Cate 21	-	-
Cate 13	-	-	Cate 30	-	-	Cate 22	-	-
Cate 26	-	-	Cate 56	-	-	Cate 24	-	-
Cate 35	-	-	Cate 61	-	-	Cate 34	-	-
Cate 37	-	-	Cate 64	-	-	Cate 51	-	-
Cate 38	-	-	Cate 65	-	-	Cate 54	-	-
Cate 41	-	-	Cate 70	-	-	Cate 58	-	-
Cate 47	-	-	Cate 71	-	-	Cate 62	-	-
Cate 50	-	-	Cate Bot	-	-	Cate 72	-	-

4. RESULTADOS.

4. Resultados y Discusión.

4.1. Análisis inicial del estado de la finca.

Porcentaje de hongos inicialmente al comenzar el proyecto para evaluar la microbiota del suelo de la finca estudiada, figura 12.

Porcentaje de hongos de las de resultados 76 muestras.

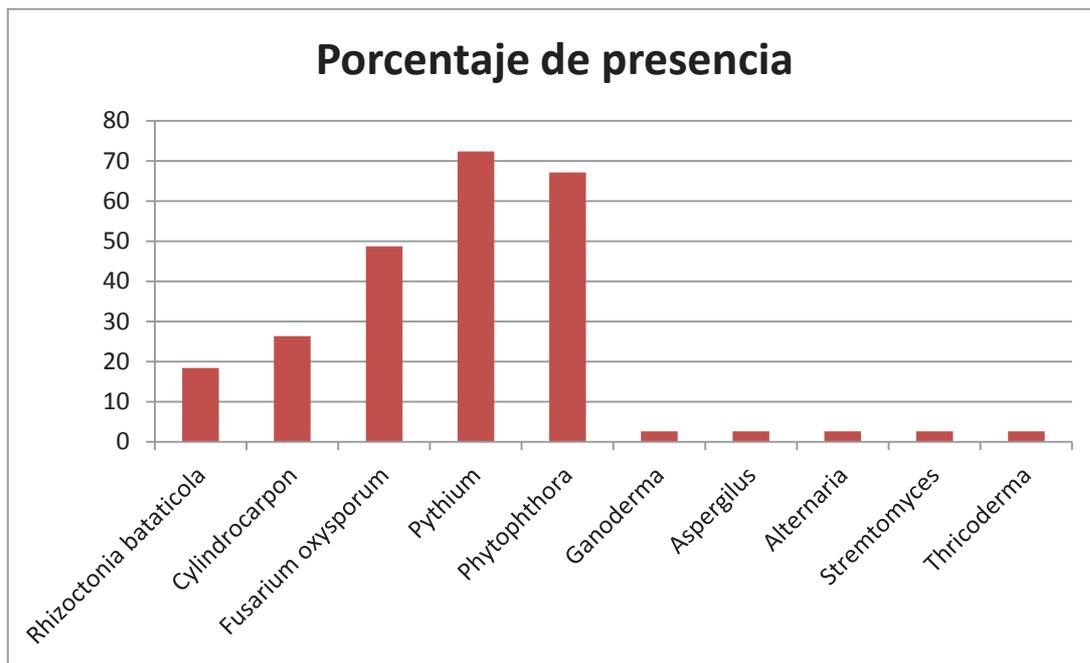


Figura 12, Porcentaje de las 76 muestras analizadas de hongos presentes en la finca inicialmente antes de realizar el ensayo.

De los resultados obtenidos se pudo averiguar que el hongo más frecuente fue *Pythium* sp. Con un 72.36%, seguido de *Phytophthora* sp. 67.10% presente en la finca. Cabe mencionar que *Fusarium* sp, concretamente *Fusarium oxysporum* también hace elevada su presencia con un 48.68%.

Rhizoctonia bataticola con un 18.42%, *Cylindrocarpon* con un 26.31%, también caben mencionarlos.

Otros hongos que también aparecen son *Ganoderma* con un 2%, *Aspergillus* 2% *Thricoderma* 2%.

También se encontraron actinomicetos del género *Streptomyces* pero en porcentaje poco elevado (2%).

4.2 Resultados sobre el efecto desinfectante en la microbiota fusárica.

4.2.1 Efecto de la biosolarización

Los árboles utilizados para el tratamiento fueron los siguientes para los biosolarizados frente a los árboles testigo.

Cuadro 22, Árboles biosolarizados y testigo para el estudio de la flora fusárica.

Tratamiento	Biosolarización	Testigo
Código Árbol	Cate 1	Cate 4
	Cate 3	Cate 5
	Cate 13	Cate 51
	Cate 26	Cate 58
	Cate 27	Cate 60
	Cate 37	Cate 72
	Cate 39	-

Los resultados para análisis de suelo selectivo para hongos del género *Fusarium*, antes y después de aplicar la biosolarización, se resumen en el cuadro 23 y en las figuras 13,14,15 y 16, donde puede apreciarse que el efecto del tratamiento ha disminuido las poblaciones de las tres especies de manera significativa, aunque no ha conseguido que estas desaparezcan del análisis. La excepción para *F. oxysporum* puede encontrarse en el árbol codificado como cate27, donde aumenta. Pese a ello podría decirse que la biosolarización disminuyó las poblaciones de *Fusarium*, pero no las llevo a niveles no detectables analíticamente como le sucedió a Martínez Francés 2008, aplicando el procedimiento en cultivos de pimientos bajo invernadero en el campo de Cartagena (Murcia).

Fue interesante detectar la presencia de especies de *Cylindrocarpon*, hongo muy próximo al género *Fusarium*, pero muy poco común en los suelos hortícolas pero presente en los suelos de frutales y forestales, (Rodríguez Molina, 1996).

Cuadro 23, Resultados de los análisis del suelo selectivo para *Fusarium* de árboles biosolarizados. En el código de muestra el 1 significa antes del tratamiento y 2 para después del tratamiento. Muestran la media de colonias \pm la desviación estándar.

Código Muestra	F. oxysporum	F. solani	F. roseum	Cylindrocarpon
Cate 1.1	289.25 \pm 5.73	28 \pm 4.54	4.75 \pm 3.30	29.25 \pm 1.70
Cate 1.2	89 \pm 2.16	26 \pm 3.46	0.75 \pm 0.95	22.25 \pm 2.69
Cate 3.1	634.25 \pm 4.34	41.75 \pm 1.70	2.25 \pm 0.95	10.75 \pm 0.95
Cate 3.2	178 \pm 2.16	36.75 \pm 1.70	0.75 \pm 0.5	6 \pm 2.16
Cate 13.1	661.25 \pm 4.27	115.5 \pm 3.10	1.5 \pm 1.29	15 \pm 1.63
Cate 13.2	238 \pm 1.82	94 \pm 2.16	1 \pm 0.81	2.25 \pm 1.5
Cate 26.1	781.25 \pm 2.62	23.5 \pm 2.38	1.5 \pm 1.91	19.5 \pm 4.65
Cate 26.2	443 \pm 5.47	1 \pm 0.816	0.25 \pm 0.5	1 \pm 0.81
Cate 27.1	142.25 \pm 2.62	32 \pm 3.65	3.25 \pm 1.89	7.25 \pm 2.21
Cate 27.2	284.75 \pm 3.40	1.5 \pm 2.38	0.75 \pm 0.95	0.25 \pm 0.5
Cate 37.1	692.5 \pm 4.50	37 \pm 3.91	6.75 \pm 3.5	20.5 \pm 3.10
Cate 37.2	682.25 \pm 4.03	0 \pm 0	2.75 \pm 1.25	2.25 \pm 1.70
Cate 39.1	394.25 \pm 4.03	61.75 \pm 1.70	5.5 \pm 3.31	20.25 \pm 4.64
Cate 39.2	443.25 \pm 2.75	1.75 \pm 2.36	1.75 \pm 2.21	2.5 \pm 1.29

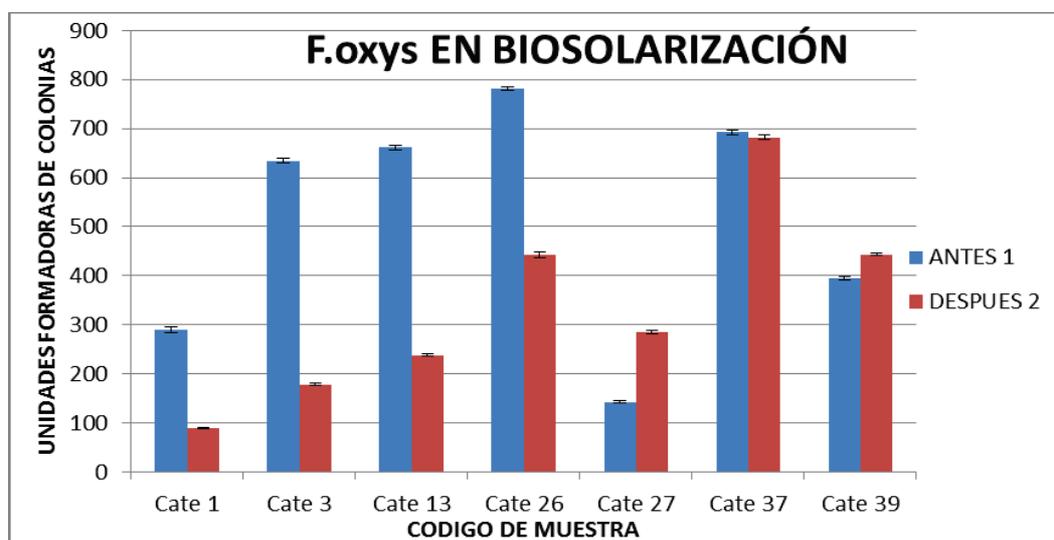


Figura 13, Expresión gráfica de la densidad de inóculo de *Fusarium oxysporum* en biosolarización.

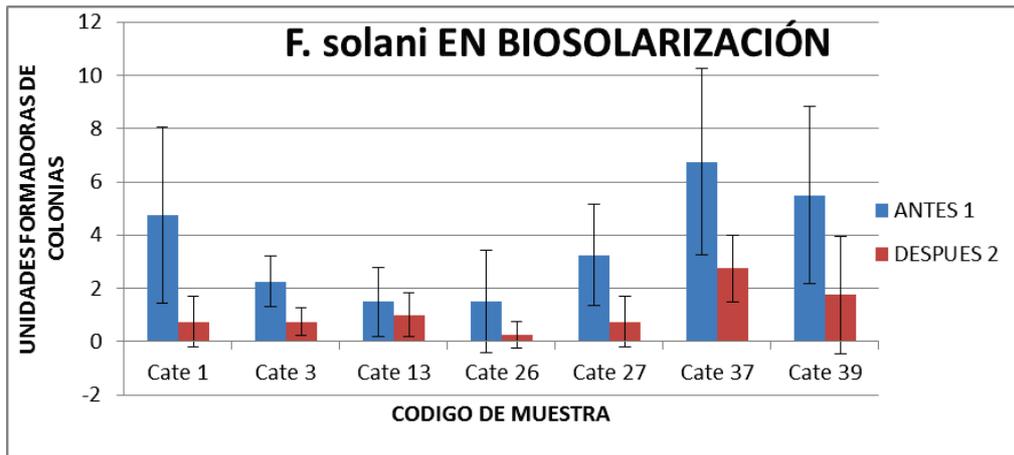


Figura 14, Expresión gráfica de la densidad de inóculo de Fusarium solani en biosolarización.

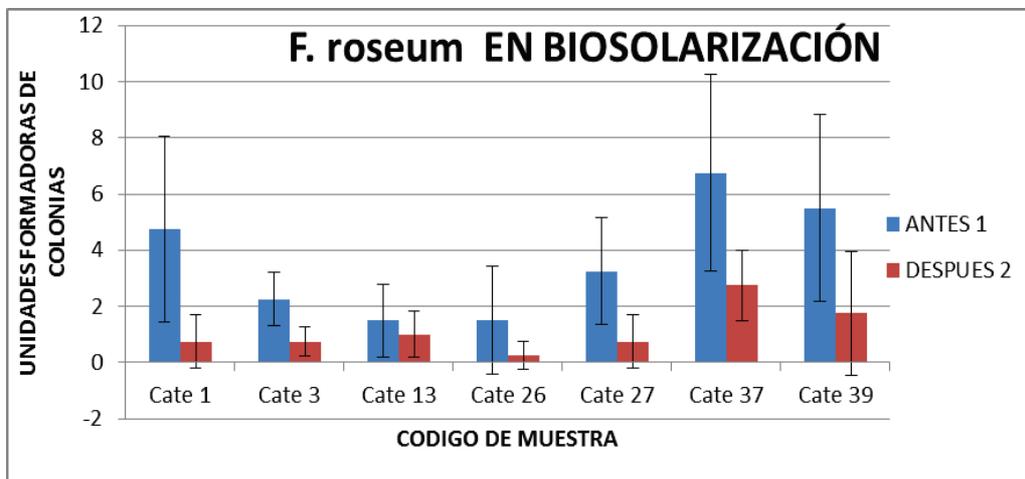


Figura 15, Expresión gráfica de la densidad de inóculo de Fusarium roseum en biosolarización.

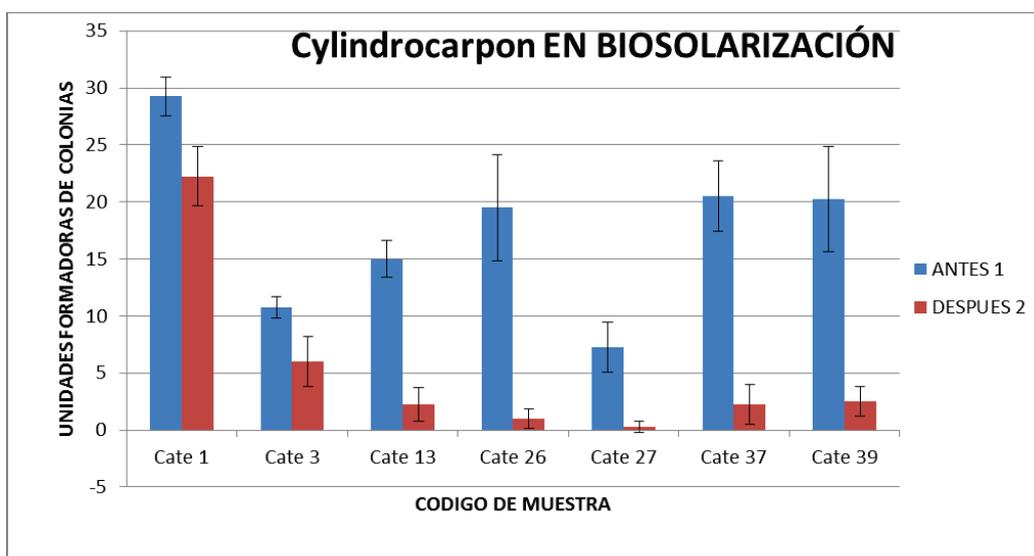


Figura 16, Expresión gráfica de la densidad de inóculo de Cylindrocarpon en biosolarización.

4.2.2 Efecto de la biofumigación.

Cuadro 24, Árboles biofumigados para el estudio de flora fusarium.

Tratamiento	Biofumigación
Código Árbol	Cate 14
	Cate 25
	Cate 29
	Cate 48
	Cate 56
	Cate 61
	Cate Bot

En el cuadro 25 y en las figuras 17,18 y 19 se muestra el efecto de la biofumigación para especies de Fusarium en el mismo cuadro y en la figura 20 se resumen los correspondientes al género Cylindrocarpon. Se vuelve a encontrar el mismo efecto que se apreció en la biosolarización, una disminución de la microbiota fusárica y en la presencia de Cylindrocarpon. Podría decirse que ambos tratamientos tienen un efecto comparable.

Cuadro 25, Resultado de los análisis de suelo selectivos para *Fusarium* de árboles biofumigados. En el código de muestra el 1 significa antes del tratamiento y 2 para después del tratamiento. Muestran la media de colonias \pm la desviación estándar.

Código Muestra	F. oxysporum	F. solani	F. roseum	Cylindrocarpon
Cate 14.1	352 \pm 2.16	44 \pm 9.12	2.5 \pm 1.29	9 \pm 2.16
Cate 14.2	193 \pm 2.94	18.25 \pm 1.70	1 \pm 0.81	0.75 \pm 0.95
Cate 25.1	156.75 \pm 1.70	59 \pm 1.41	2.75 \pm 2.21	7.5 \pm 3.87
Cate 25.2	102 \pm 1.82	19.5 \pm 1.29	0.75 \pm 0.95	1.75 \pm 1.70
Cate 29.1	644.5 \pm 4.20	80.5 \pm 1.29	27 \pm 3.55	6.5 \pm 1.29
Cate 29.2	320.75 \pm 1.70	57.5 \pm 1.29	20.25 \pm 3.77	2.25 \pm .5
Cate 48.1	401 \pm 2.94	63.5 \pm 1.29	7.25 \pm 3.40	22 \pm 2.94
Cate 48.2	187 \pm 2.16	17.5 \pm 3.87	1 \pm 0.816	1.5 \pm 1.29
Cate 56.1	138.75 \pm 1.25	21.25 \pm 6.84	2.75 \pm 1.70	20.5 \pm 8.06
Cate 56.2	52 \pm 2.58	7 \pm 4.76	1.5 \pm 1.29	0.75 \pm 0.95
Cate 61.1	500.25 \pm 8.26	93 \pm 4.082	31 \pm 6	14.5 \pm 2.08
Cate 61.2	438.25 \pm 6.23	39.25 \pm 2.5	7.75 \pm 3.5	1.5 \pm 1.29
Cate Bot1	662.25 \pm 6.07	37.75 \pm 3.40	12.75 \pm 5.18	22.25 \pm 12.99
Cate Bot2	177.75 \pm 8.30	17.5 \pm 3.69	2.5 \pm 2.51	1.25 \pm 1.5

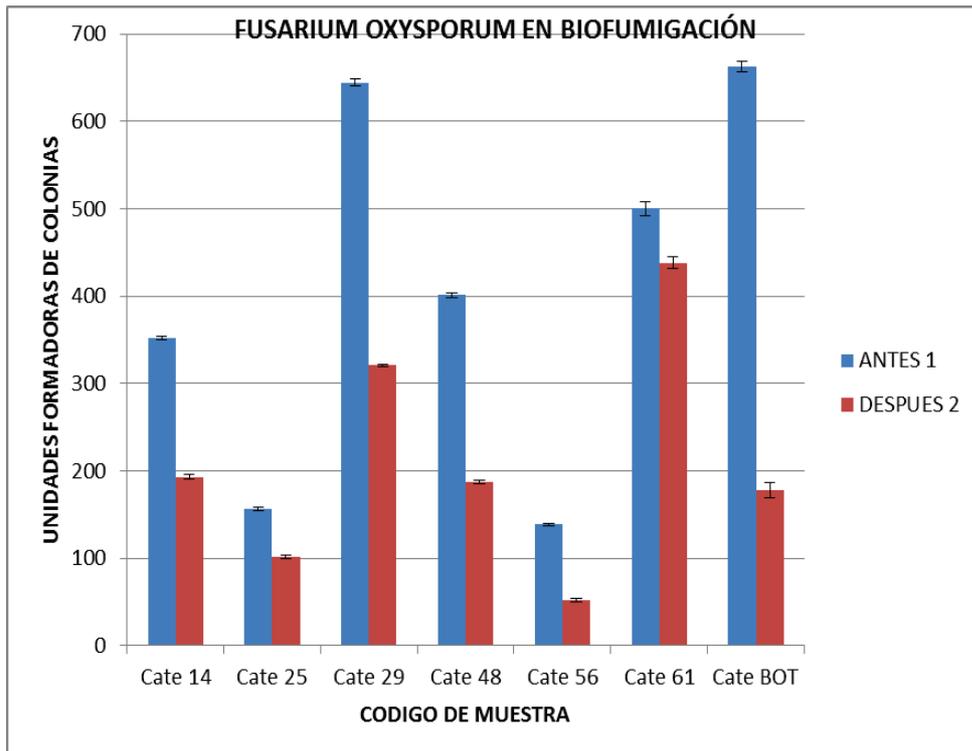


Figura 17, Expresión gráfica de la densidad de inóculo de *Fusarium oxysporum* en biofumigación.

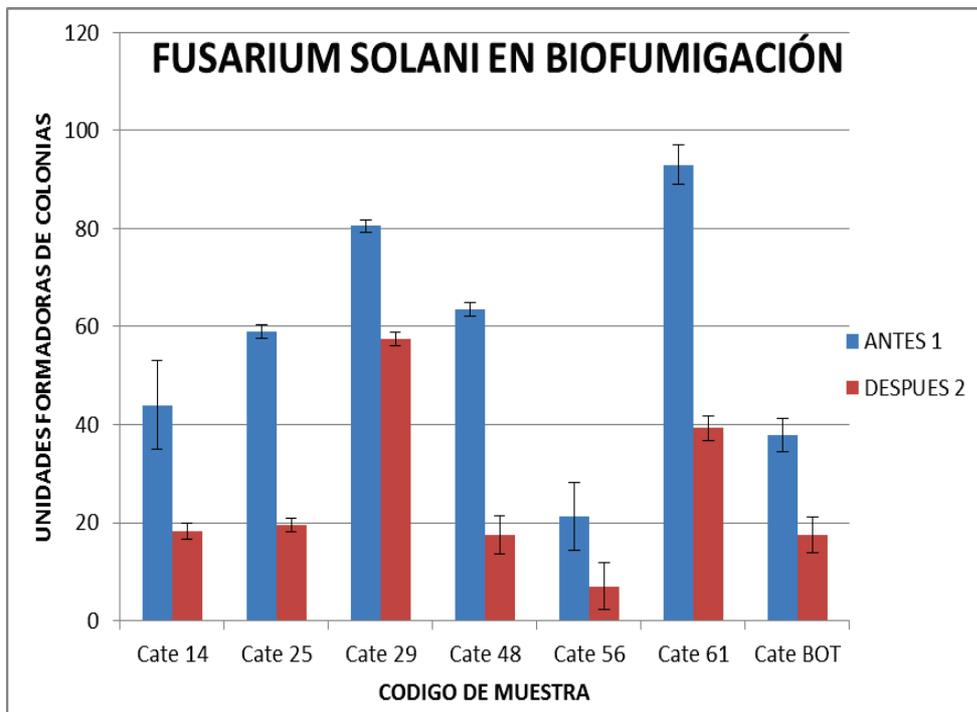


Figura 18, Expresión gráfica de la densidad de inóculo de *Fusarium solani* en biofumigación.

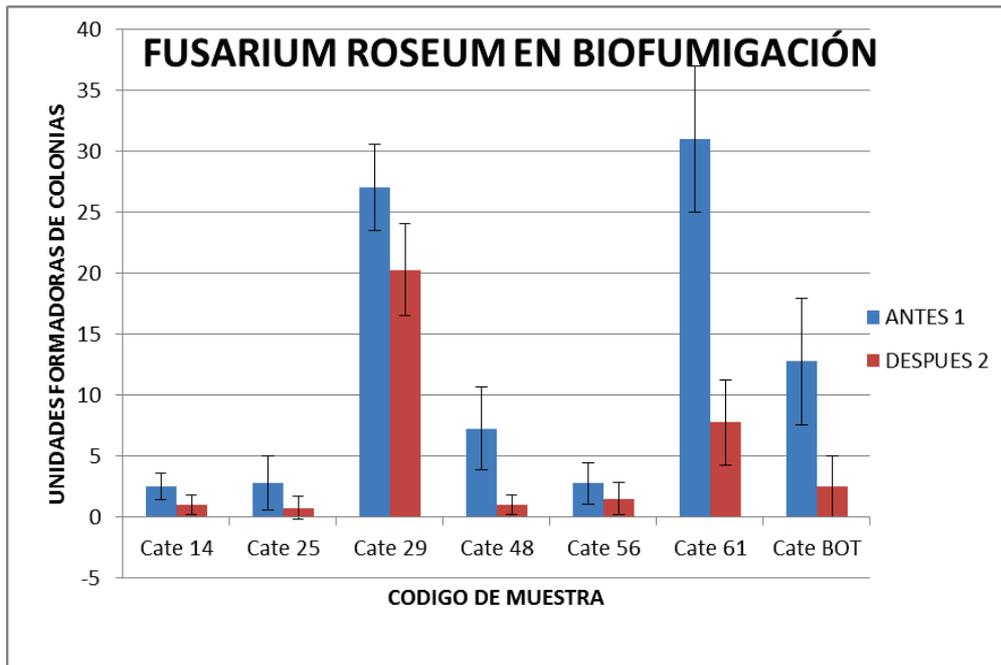


Figura 19, Expresión gráfica de la densidad de inóculo de *Fusarium roseum* en biofumigación.

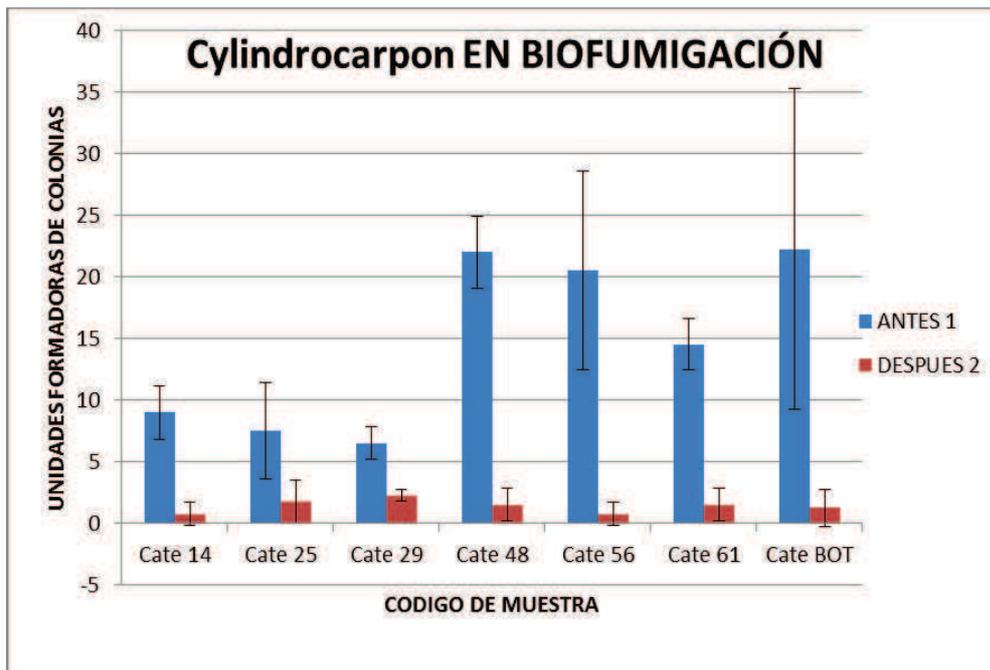


Figura 20, Expresión gráfica de la densidad de inóculo de *Cylindrocarpon* en biofumigación.

Árboles testigo

En el cuadro 26 se reflejan los resultados correspondientes a los árboles testigo, (no biosolarizados ni biofumigados).

Cuadro 26. Resultados de los análisis de suelos selectivos para *Fusarium* de árboles testigos. En el código de muestra el 1 significa antes del tratamiento y 2 para después del tratamiento. Muestran la media de colonias \pm la desviación estándar.

Código Muestra	F. oxysporum	F. solani	F. roseum	Cylindrocarpon
Cate 4.1	95.5 \pm 2.38	204.75 \pm 5.79	6.75 \pm 0.95	21.5 \pm 1.29
Cate 4.2	107.5 \pm 3.87	238.75 \pm 2.98	13.5 \pm 1.73	35.5 \pm 1.29
Cate 5.1	343.25 \pm 2.75	44.5 \pm 1.29	2.25 \pm 1.25	7 \pm 1.82
Cate 5.2	199.75 \pm 1.70	44 \pm 3.74	2.75 \pm 1.70	9.75 \pm 0.95
Cate 51.1	294.75 \pm 3.5	41.75 \pm 2.36	4.5 \pm 1.29	11.25 \pm 0.95
Cate 51.2	573 \pm 5.59	55 \pm 3.36	9 \pm 2.16	15.25 \pm 1.25
Cate 58.1	146 \pm 2.16	62 \pm 2.16	1.5 \pm 0.57	5.5 \pm 1.29
Cate 58.2	208.25 \pm 7.27	71.75 \pm 1.70	2.5 \pm 1.29	11.5 \pm 1.29
Cate 60.1	306.25 \pm 3.5	39 \pm 2.16	2 \pm 1.41	4.75 \pm 0.95
Cate 60.2	208 \pm .82	63 \pm 2.58	3.5 \pm 2.38	7.75 \pm 0.5
Cate72.1	141 \pm 5.94	23 \pm 2.94	1 \pm 0.81	21 \pm 2.16
Cate 72.2	136.25 \pm 2.62	29.75 \pm 1.25	1.25 \pm 0.5	21 \pm 2.16

En el cuadro 26 puede apreciarse como no ocurre una disminución generalizada de las microbiota fusárica y de *Cylindrocarpon*, antes al contrario parecen aumentar en la mayoría de los casos, (gráficas para Fo, Fs, Fr y *Cylindrocarpon*), aunque dicho aumento no es muy significativo.

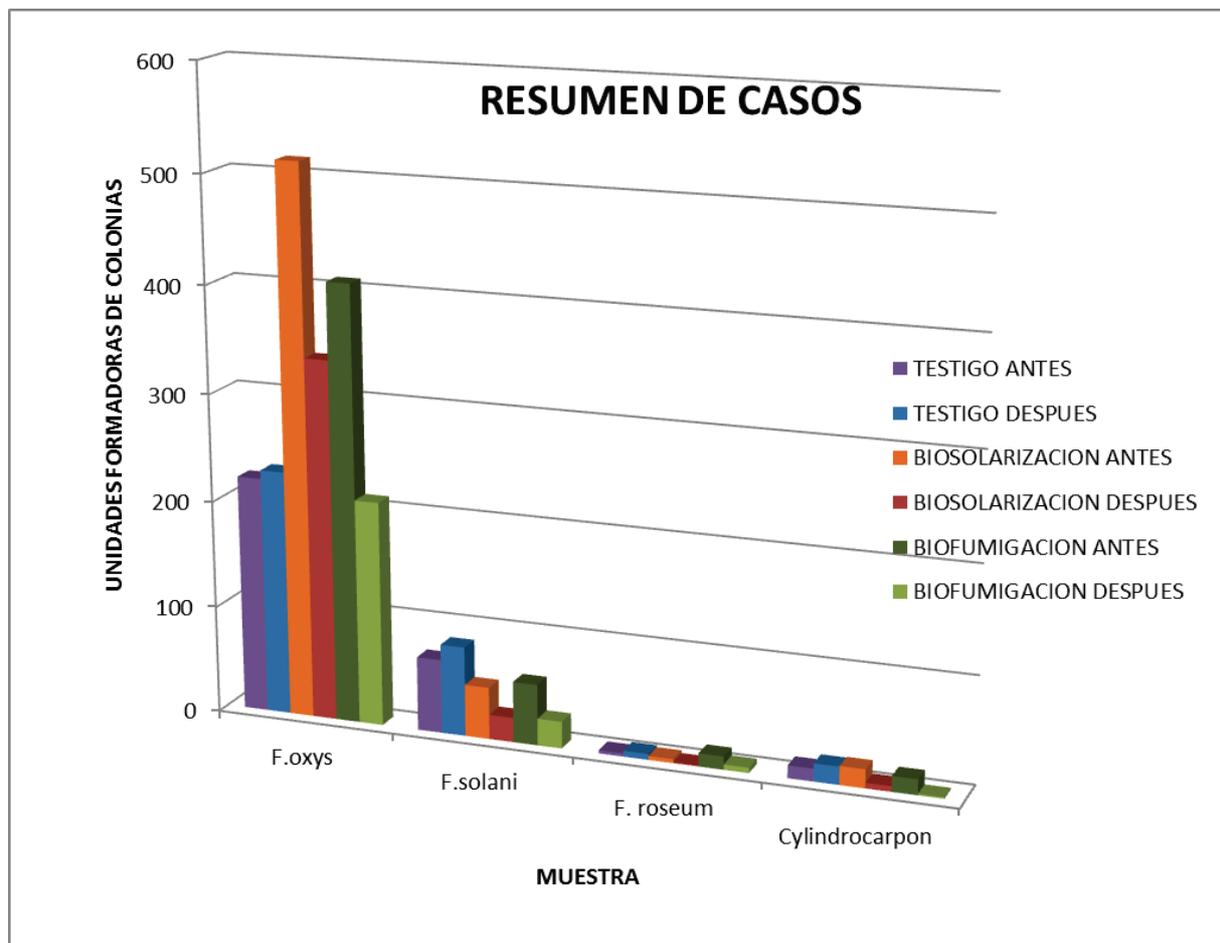


Figura 21, gráfica de resúmenes de casos de unidades formadoras de colonias de los distintos tratamientos antes y después en los distintos hongos, *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. roseum* y *Cyndrocarpon*.

De forma general podemos decir que tanto los tratamientos de biosolarización como de biofumigación las poblaciones tanto de la flora fusárica como de las poblaciones de Cyndrocarpon disminuyeron mientras que en los testigo aumento ligeramente las poblaciones.

4.2.3 Comentarios globales a los resultados.

En la gráfica 23 se resumen los resultados, especie por especie de Fusarium y para el género Cylindrocarpon.

Podrá comprobarse que en los tratamientos testigo la población de Fusarium y de Cylindrocarpon varía muy poco, mientras que en los tratamientos con biodesinfección dichas poblaciones aumentan significativamente. De igual manera, la aplicación de la materia orgánica con o sin biosolarización disminuyen de manera general, y apreciadamente las poblaciones de ambos géneros. Esta parte del trabajo tenía como objetivo comprobar si la biodesinfección del suelo sería apreciable en la plantación arbórea, donde el sombreado ocasionado por los propios aguacateros podría disminuir o diluir el efecto de la biosolarización, bien es cierto que no se ha mostrado tan drástica como muestran los resultados de Martínez Francés (2008), para el cultivo de pimiento bajo invernadero en el campo de Cartagena (Murcia).

¿Se podría apreciar el efecto de la biodesinfección en el huerto de aguacates para Oomicetos como *Phytophthora* o *Pythium*? Téngase en cuenta que mientras las especies de Fusarium y las de Cylindrocarpon no ha sido citados como patógenos del aguacatero, *Phytophthora cinnamomi* (y otras especies) es un activo productor de la podredumbre radicular de los árboles.

4.3 Resultado sobre el efecto desinfectante en la microbiota conformada por *Phytophthora* y *Pythium*.

Se presentan a continuación los resultados concernientes a la biodesinfección y su efecto sobre los Oomicetos Pythium y Phytophthora.

4.3.1 Efecto de la biosolarización sobre Phytophthora ssp. y Pythium ssp.

En el cuadro 27 se presenta el efecto medido con tres técnicas analíticas diferentes. Trampas vegetales (pétalos de clavel y frutos de aguacate) y análisis de raicillas en un medio selectivo.

Cuadro 27, Resultados sobre el análisis de suelo del alcorque y de las raicillas de árboles biosolarizados utilizando diferentes técnicas para Phytophthora sp.

Técnica Aplicada

Biosolarización	Trampa Clavel		Frutos Aguacate		Raicillas %	
	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después
Cate 1	-	-	+	-	20	10
Cate 3	+	+	+	+	60	10
Cate 13	-	-	-	-	0	0
Cate 26	-	-	-	-	75	0
Cate 27	-	-	-	-	10	0
Cate 37	+	-	-	-	40	20
Cate 39	+	-	-	-	15	10
Cate 67	+	+	+	-	55	0

Tanto en trampas de clavel como en los frutos aguacate el += Presencia y el — Ausencia del hongo, la lectura microscópica debe ser cuidadosa, ya que las colonias de Pythium pueden enmascarar las colonias de Phytophthora.

Para los frutos aguacate se daría como positivo no solo la presencia de manchas si no la siembra en medio de cultivo Agar Malta, sembrándose trozos de frutos ennegrecidos, y posteriormente vistas al microscopio para ver dichas colonias corresponden a de Phytophthora.

Con ambas técnicas se observa el erratismo de la respuesta. Así, antes de tratar con los pétalos de clavel aparecen un 50% de las muestras con presencia positiva de Phytophthora, mientras que con los frutos de aguacate solo se aísla en el 37.5%. Y además, no son muestras coincidentes. Solamente coinciden 2 de las 8 muestras analizadas (cate3 y cate 67). Desde un punto de vista de la eficacia del tratamiento, si es cierto que con ambas técnicas se aprecia una disminución, esta evidentemente no es suficiente y su validez está ligada al ya mencionado erratismo de los análisis.

Cuando se observan los resultados obtenidos con la técnica de análisis de raicillas en un medio selectivo para Phytophthora (Cuadro 27 y figura 22). Puede apreciarse igualmente que con las otras técnicas una disminución de la presencia del hongo pero no se logra la desaparición analítica del hongo.

El deficiente efecto de la biosolarización en el suelo de los alcorques se aprecia también cuando se observan los resultados concernientes a Pythium (Cuadro 28, figura 23). Efecto que aparentemente esta mejor evaluado sobre las raicillas que sobre el suelo.

La expresión de resultados en lo concerniente a los pétalos de clavel se a promediado de la siguiente manera; En las trampas para clavel se realizó un total de 15 pétalos por muestra dando como positivo cada pétalo infectado, debido a que la intensidad de pétalos infectados era demasiado alta se decidió darle valor numérico para que fuera más visual ver dichos resultados. Cada pétalo infectado por al menos una colonia se dio como positivo dándose un valor numérico 1, sumándose los 15 pétalos y realizándose la media así como la desviación estándar

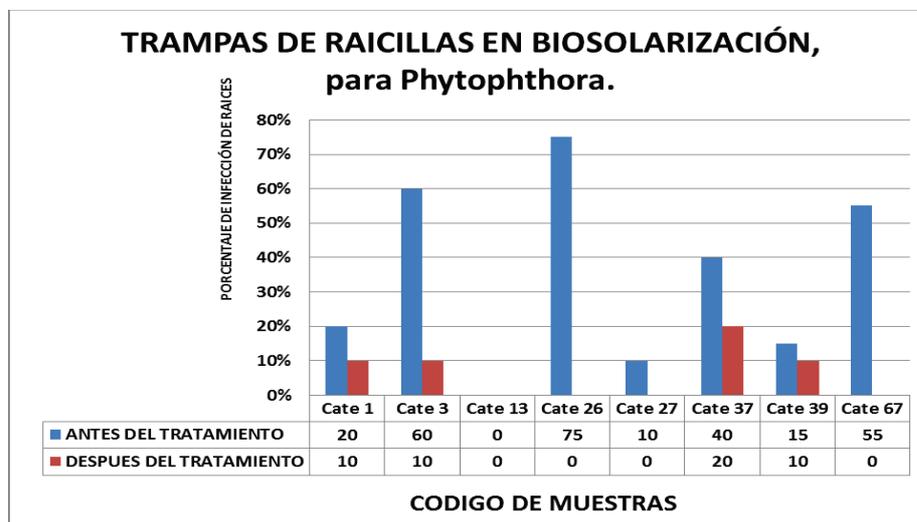


Figura 22 Aislamiento de Phytophthora de las raicillas de árboles de aguacate antes y después de biosolarizar.

Cuadro 28, Efecto de la biosolarización en suelo y raicillas de aguacatero en la disminución de la presencia de *Pythium spp.*

Técnica Aplicada				
Biosolarización	Trampas Clavel		Trampas Raicillas %	
Código muestra	Antes	Después	Antes	Después
Cate 1	5±0	3.66±0.47	40	25
Cate 3	2.66±0.47	2±0.81	35	10
Cate 13	2.66±0.47	0±0	30	0
Cate 26	5±0	3±0	35	0
Cate 27	4.33±0.94	2±0.81	25	0
Cate 37	4.66±0.47	1.66±0.47	15	0
Cate 39	5±0	2±0.81	20	0
Cate 67	4.33±0.94	2.33±0.47	45	25

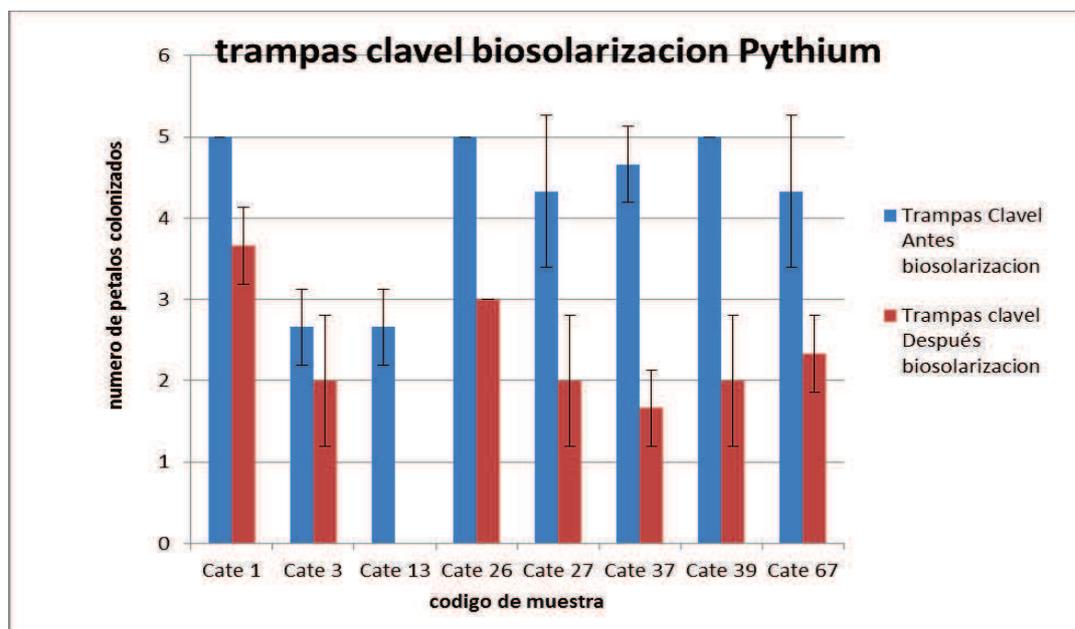


Figura 23 Expresión gráfica de los resultados del análisis del suelo para *Pythium spp.* antes y después de biosolarizar.

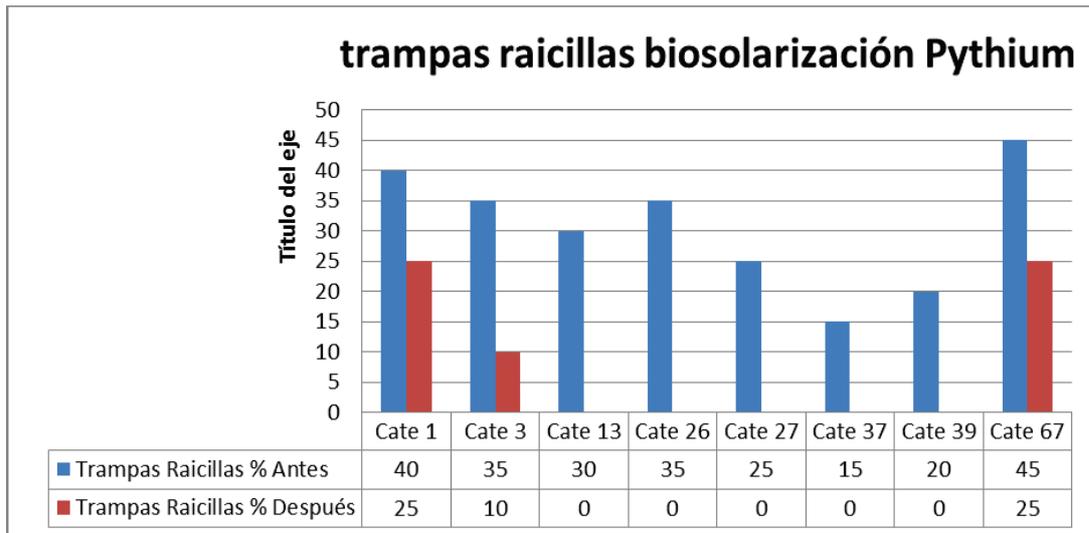


Figura 24, Expresión gráfica de los resultados del análisis de raicillas de aguacate para *Pythium ssp.* antes y después de biosolarizar.

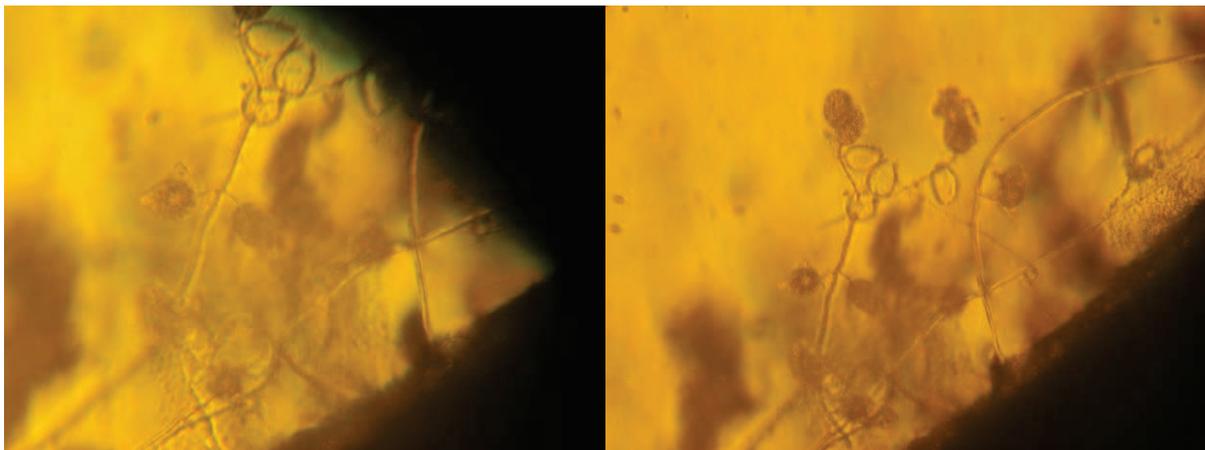


Foto 18, Esporangios de *Phytophthora* en las trampas con pétalos de clavel.

4.3.2 Efecto de la biofumigación sobre Phytophthora spp y Pythium spp.

Se presentan los resultados para Oomicetos en el ensayo donde se aplicó la biofumigación.

Cuadro 29, Efecto sobre Phytophthora spp de la biofumigación en suelo y raicillas de árboles de aguacate biofumigados.

Técnica Aplicada

Biofumigación	Trampa Clavel		Frutos Aguacate		Raicillas %	
	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después
Cate 14	-	+	-	+	20	10
Cate 16	+	+	-	-	40	25
Cate 29	+	+	-	-	40	25
Cate 45	-	-	-	-	45	5
Cate 48	-	-	+	-	70	30
Cate 61	+	-	+	-	35	10
Cate 70	-	-	+	-	40	35
Cate Bot	+	-	+	+	45	45

En el cuadro 29 vuelve a presentarse para las tres técnicas aplicadas el mismo erratismo de las muestras para capturas Phytophthora. En este caso hay un aspecto que ahonda dicho erratismo: la aparición del hongo en la muestra recogida después del tratamiento, cuando en el análisis previo no se aisló. (Muestra cate 14). De manera general y tomando el comentario con toda precaución, podría decirse que el efecto desinfectante aunque existe, este es menos llamativo que con la solarización. Esto está de manera más patente en el análisis de las raicillas (figura 25), donde la presencia de Phytophthora no desaparece en ninguna muestra. Los análisis de Pythium antes y después de biofumigar (cuadro 30 y figuras 26 y 27) corroboran los comentarios realizados para Phytophthora.

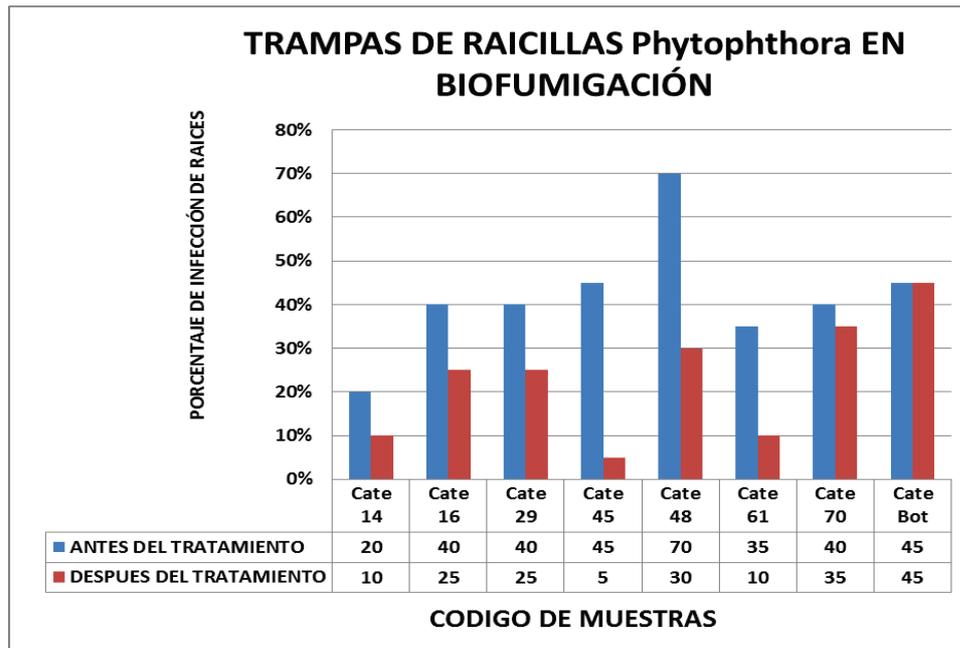


Figura 25, Aislamiento de *Phytophthora* de las raicillas de árboles de aguacate antes y después de biofumigar.

Cuadro 30, Efecto de la biofumigación en suelo y raicillas de aguacatero sobre *Pythium spp.*

Técnica Aplicada				
Biofumigación	Trampas Clavel		Trampas Raicillas %	
	Antes	Después	Antes	Después
Cate 14	5±0	4±0	25	10
Cate 16	5±0	3.33±0.47	20	15
Cate 29	4±0	2.66±0.47	45	30
Cate 45	1.33±0.94	1.33±0.47	5	0
Cate 48	3.33±2.35	2±0.81	0	0
Cate 61	4±1.41	2.33±0.47	80	75
Cate 70	3.33±1.24	2±0.81	30	10
Cate Bot	5±0	3±0.81	45	25

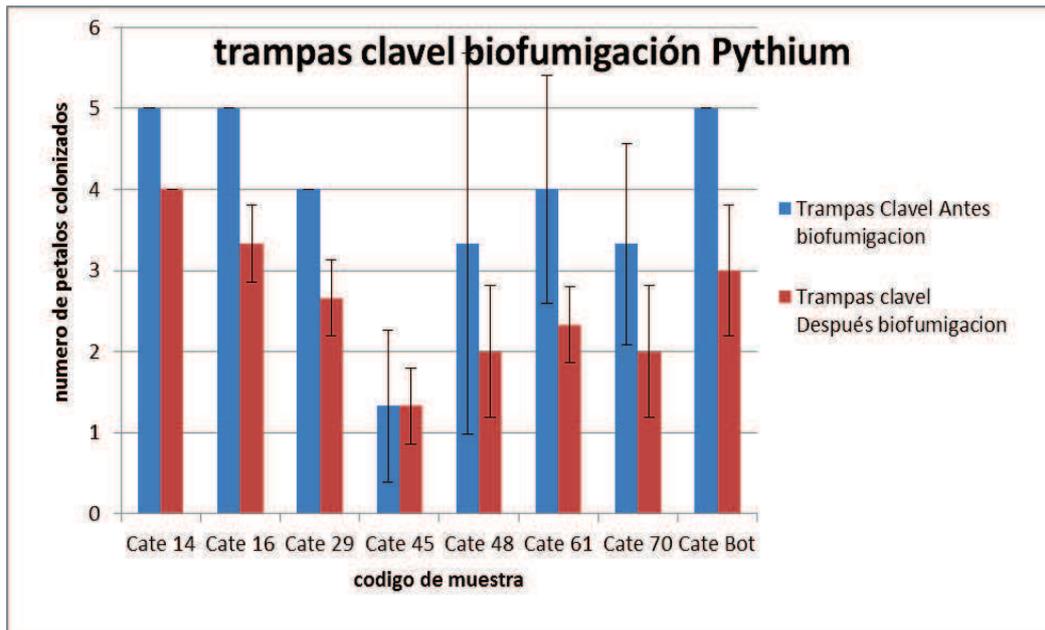


Figura 26, Expresion gráfica de los resultados analíticos del suelo para *Pythium* spp. antes y despues de biofumigar.

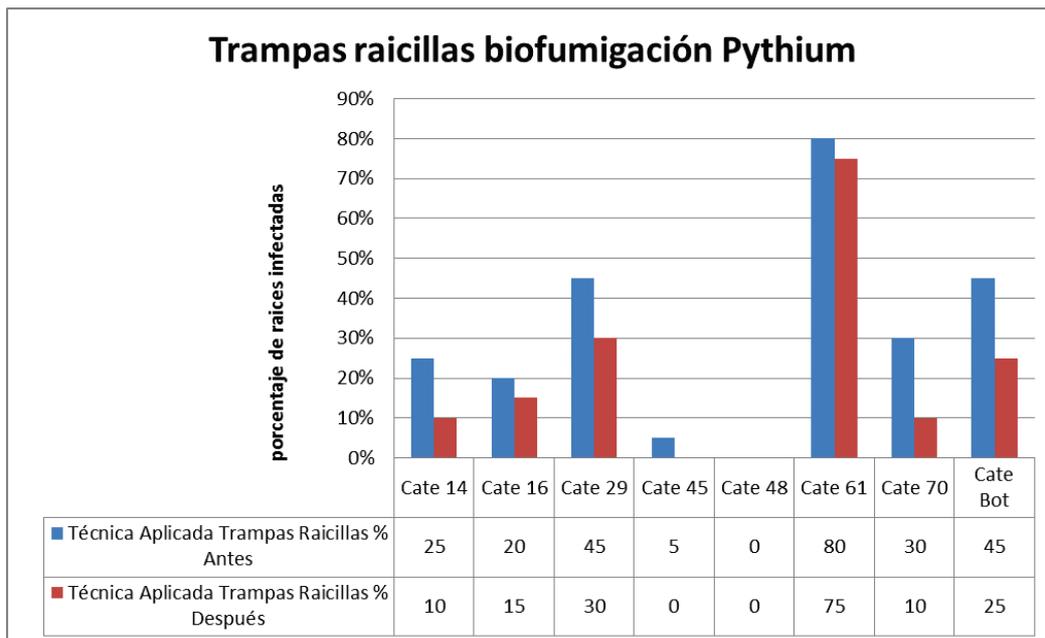


Figura 27, Expresión gráfica de los resultados del análisis de raicillas de aguacatero para *Pythium*, antes y despues de biofumigar.

4.3.3 Árboles testigo utilizados para el estudio de Phytophthora y Pythium. Comentarios al resultado global.

Los resultados se resumen en el cuadro 31.

Cuadro 31, Resultados sobre el análisis del suelo del alcorque y de las raicillas de árboles testigo utilizando diferentes técnicas de aislamiento de Phytophthora.

Técnica Aplicada						
Testigo Código Árbol	Trampa Clavel		Frutos Aguacate		Raicillas %	
	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después
Cate 2	-	-	-	+	45	30
Cate 4	+	-	-	-	30	55
Cate 5	-	-	-	-	20	35
Cate 21	-	+	-	-	0	25
Cate 24	-	-	+	+	35	45
Cate 51	-	-	+	+	60	20
Cate 57	+	+	-	-	50	25
Cate 58	-	-	-	-	35	35
Cate 60	-	-	+	+	10	25
Cate 62	-	-	+	+	50	55
Cate 72	+	+	-	+	20	60

Los resultados ponen de manifiesto una vez más, el erratismo del muestreo del suelo, aunque las raíces presenten una mayor uniformidad en la respuesta, permitiendo sugerir que la biosolarización tuvo un efecto más apreciable que la biofumigación. Así puede apreciarse en el cuadro 32 y en la figura 28.

Apréciase la drástica disminución global que ocurre para el caso de la biosolarización en lo concerniente a Phytophthora.

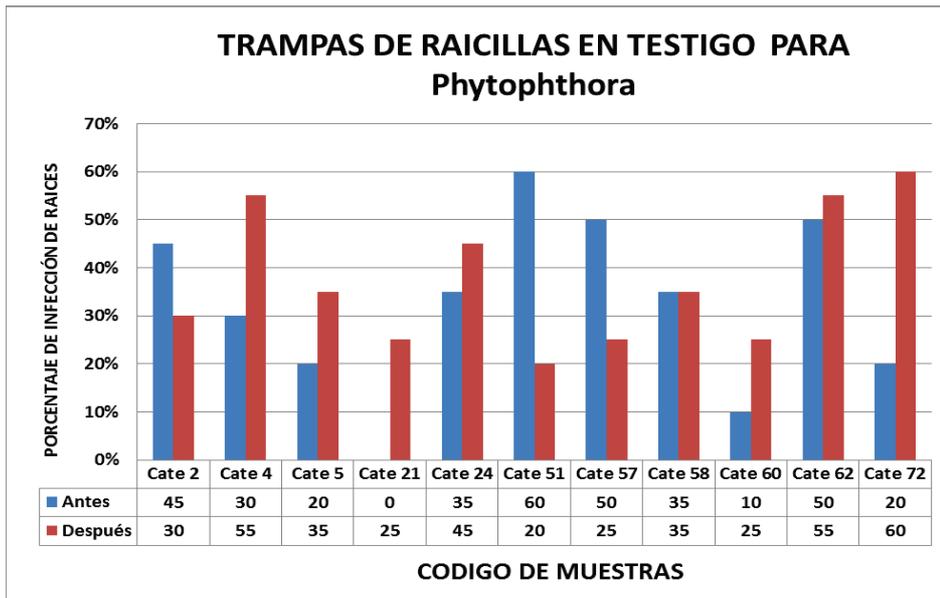


Figura 28, Expresión gráfica de los resultados del análisis de raicillas de aguacatero para *Phytophthora*, antes y después testigo.

Cuadro 32, Media y desviación estándar de la presencia de *Phytophthora* en las raicillas de los aguacateros para los tratamientos de biodesinfección en relación al testigo, considerando todos los árboles.

Tratamiento	Raíces Antes	Raíces Después
Árboles Testigo	32.27±17.62	37.27±13.54
Biosolarización	34.37±25.30	6.25±6.95
Biofumigación	41.87±12.97	23.12±12.97

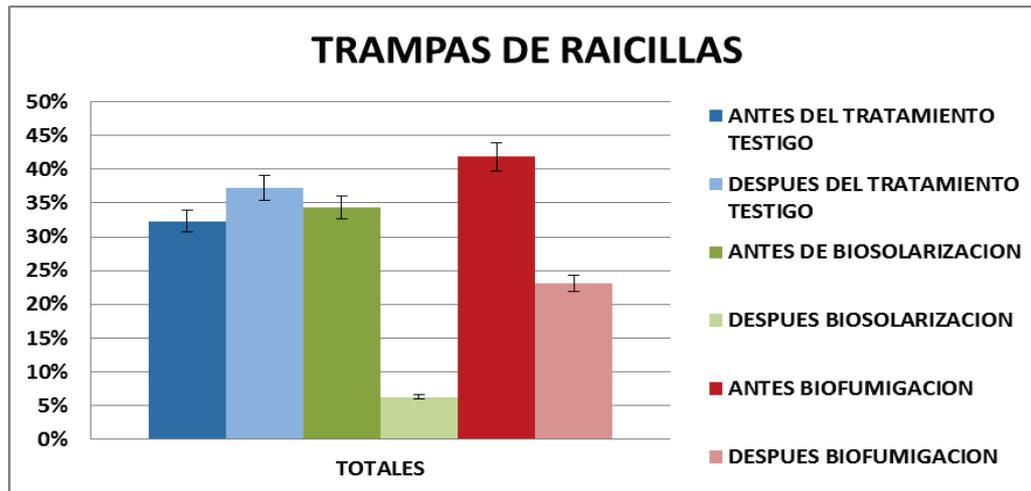


Figura 29, Expresión gráfica de la disminución de *Phytophthora* en las raíces de los árboles, antes y después de biodesinfectar.

Considerando la presencia de *Pythium*, en el cuadro 33 se resumen los resultados obtenidos para los árboles tomados como testigo, realizándose después un resumen global para todos los árboles y tratamientos (Cuadro 34).

Cuadro 33, Resultados sobre el análisis para *Pythium* del suelo del alcorque y de las raicillas de los árboles testigos utilizando diferentes técnicas de aislamiento.

Técnica Aplicada				
Testigo	Trampas Clavel		Trampas Raicillas %	
Código muestra	Antes	Después	Antes	Después
Cate 2	3±1.63	3.33±0.47	30	25
Cate 4	5±0	4.66±0.47	25	25
Cate 5	3.33±0.47	3.66±0.47	25	25
Cate 21	4±0	5±0	30	20
Cate 24	3±2.1	3.66±0.94	5	0
Cate 51	5±0	4±0	25	20
Cate 57	5±0	4.66±0.47	0	0
Cate 58	5±0	5±0	0	0

Cate 60	5±0	5±0	45	35
Cate 62	0.33±0.66	2.66±0.47	100	95
Cate 72	5±0	5±0	35	25

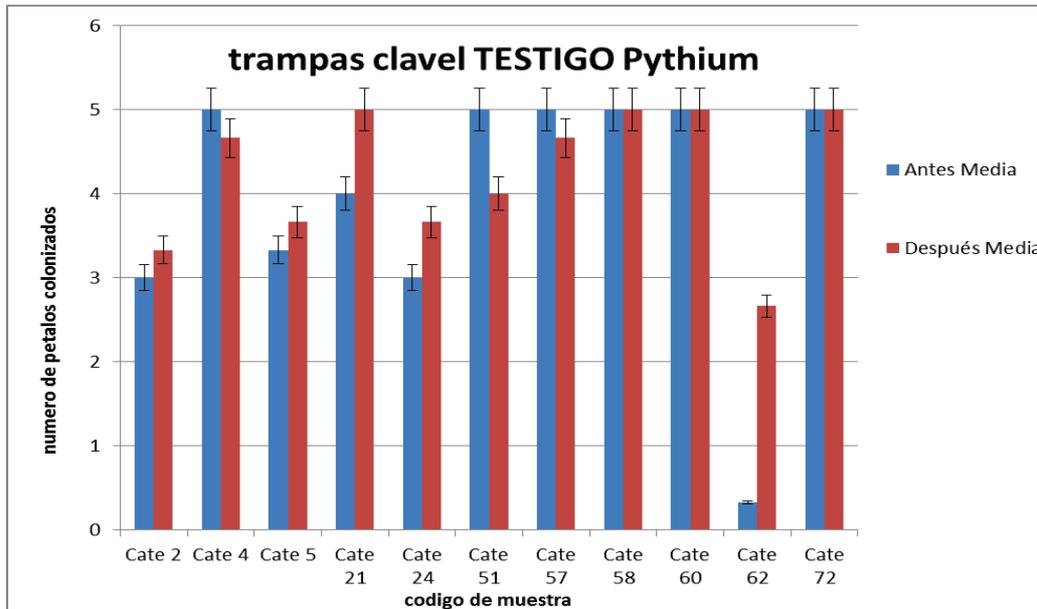


Figura 30 Expresion gráfica de los resultados analíticos del suelo para *Pythium* spp. antes y después testigo.

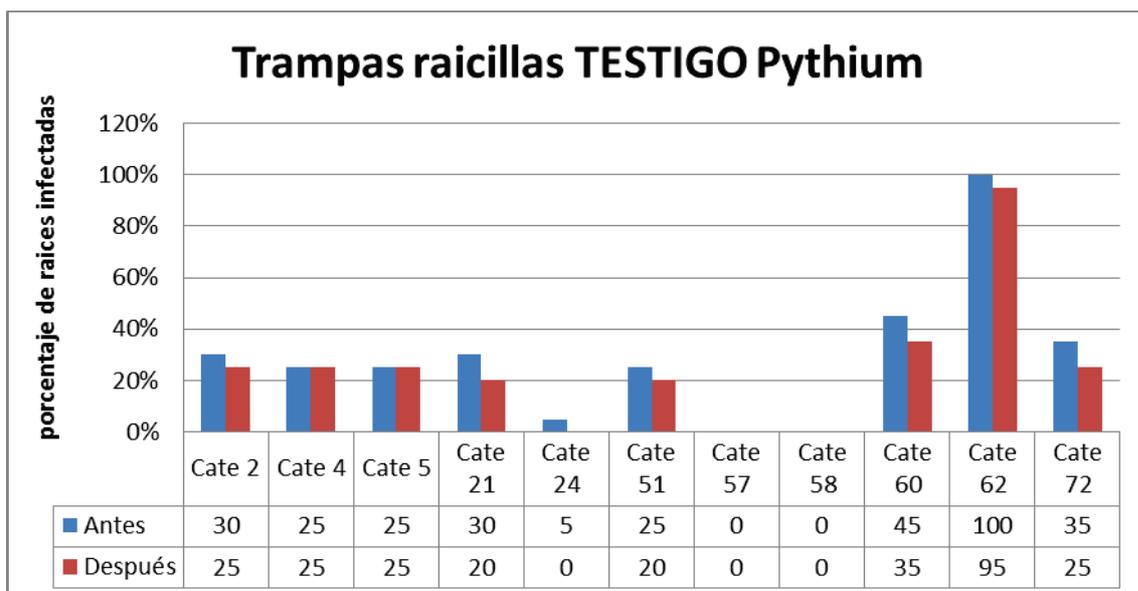


Figura 31, Expresión gráfica de los resultados del análisis de raicillas de aguacatero para *Pythium*, antes y después testigo.

Cuadro 34, Media y desviación estándar de las raíces de trampas de raíces para *Pythium* de los tratamientos biosolarización, biofumigación y árboles testigo.

Tratamiento	Raíces Antes	Raíces Después
Biosolarización	30.62±9.49	7.5±10.60
Biofumigación	31.25±23.94	20.65±22.83
Árboles Testigo	29.09±26.35	24.54±25.05

4.3.4 Comentarios generales a los resultados.

De igual manera que se apreció un efecto de la biodesinfección en la disminución de la microbiota fusárica en los árboles tratados, también se ha observado un efecto análogo sobre los Oomicetos *Phytophthora* y *Pythium*. Efecto mucho más acusado en el caso de la biosolarización que en la de la biofumigación. Resultados que hay que contemplarlos con la versatilidad que aporta el muestreo. Es cierto que los trabajos del equipo del Dr. Lacasa Plascencia, centrados en el cultivo del pimiento bajo el invernadero en el Campo de Cartagena (Murcia), la biosolarización conseguía disminuir hasta cero la presencia de *Phytophthora capsici* y *P. parasítica*, aunque la enfermedad no se erradicaba, también hay que tener presente que se trataba de cultivos y manejos de los tratamientos al suelo muy diferentes.

4.4 Resultados sobre patogeneicidad de *P. cinnamomi* en plántulas de aguacate.

La fecha de inoculación fue el 30/05/2007, trascurridos 90 días se procedió a la realización de los análisis, siendo la fecha de estos de 3/09/2007.

Los resultados se presentan en el cuadro 48 y corresponden a medidas realizadas durante los 90 días que se mantuvieron las plantas inoculadas. Lo primero que debe señalarse es que no murió ninguna planta durante el periodo de tiempo considerado. Las columnas que con más claridad revelan los efectos de cada una de las cepas de *Phytophthora cinnamomi* inoculadas son las correspondientes a la gravedad de síntomas (figura 32) al crecimiento Λ de la h^5 , (figura 33). La relación con el testigo es bien neta. Sin embargo, el peso de las raíces

que es el lugar donde tienen su actividad el patógeno no da una información válida. Tal vez esta respuesta radicular este en consonancia con lo que ocurre en el campo: Desde la primera manifestación de síntomas de un árbol hasta que muere, puede transcurrir varios años. Una secuencia fotográfica del estado de las raíces puede apreciarse en las fotos 19, 20 y 21.

Testigo

En las plántulas testigo a pesar de tener un buen aspecto radicular (6.4), estas eran escasas y de poca masa, (18.8g), no encontrándose raicillas necrosadas, pero esto no quiere decir que no tuviera buena salud de la parte aérea con una media de 12.4 cm

72.2 Ph1.

Con una escala visual (5), la cantidad de raíces era abundante encontrándose algunas necrosadas, pesando (45.7g), en donde aquí la altura si influyo bastante con solo (6.07) cm de altura.

16.1 Pcin3.

En esta muestra la escala visual de (4) con unos (25.5) g de peso en raíces y una altura (4 cm), se ve claramente que con esta cantidad de raíces y con bastante necrosidad no pudieron crecer demasiado.

1.1Pcin2

Con una escala visual (3.2) y un peso de (16.2) g, donde las raíces en algunas muestras eran casi inexistentes y numerosas necrosadas. A pesar de no tener raicillas llegaron a un incremento de altura de 1.5 cm.

Bot1.Ph8.

Con un buen estado visual de las raicillas (7.2), y un peso de (34.04)g y bastante altura (15)cm. Parece ser que en este caso el hongo patógeno a favorecido al crecimiento tanto radicular como vegetativo.

2.1Pcin1.

Estado visual de (4), masa radicular (26.48)g y un crecimiento de 2 cm.

Debemos resaltar que 1.1Pcin2 y 2.1Pcin1 son los más agresivos, conteniendo numerosas raicillas necrosadas y con un crecimiento radicular escaso, con lo cual su bajo peso y como mayor inconveniente-consecuencia una disminución de la parte aérea, quedándose con un crecimiento menor.

Le sigue 16.1Pcin3 siendo menos agresivo que los dos anteriores. Bot1Ph8, parece no haberle afectado la inoculación del hongo patógeno.

72.2Ph1 a pesar de tener una buena masa radicular el crecimiento vegetativo fue menor.

Cuadro 35, patogenicidad de los aislados de *P. cinnamomi* sobre plántulas de aguacatero.

Cog. de aislado	G. Sintomas ¹	M.P. raíces ² (g)	M.h.i ³ (cm)	M.h.final ⁴	Δ de h ⁵
72.2 Ph1	5±2.32	45.7±12.97	17.5±6.76	23.57±6.76	6.07±1.69
16.1 Pcin 3	4.5±2.01	25.56±9	33±8.84	37±9.53	4±1.48
1.1 Pcin 2	3.2±0.87	16.2±6.81	37.5±6.80	39±6.63	1.5±0.5
Bot 1 Ph8	7.2±2.4	34.02±11.48	43±3.68	58±5.63	15±2.32
2.1 Pcin1	4.4±1.62	26.48±21.93	42.5±8.86	44.5±9.06	2±0.63
Testigo	6.4±1.90	18.88±8.36	35.3±13.73	47.7±16.17	12.4±4.10

Leyenda; G.sintomas¹ gravedad de los síntomas, M.P. raíces² media del peso de las raíces; M.h.i³ (cm) media de altura inicial en centímetros; M.h.final⁴ media de la altura final después del ensayo; Δ de h⁵ Incremento de altura en centímetros. Todos los valores están representados con su media ± su desviación estándar

El valor de escala fue de un estado visual de las raíces siendo un 10 para un buen estado y un 0 para un mal estado de las raíces.

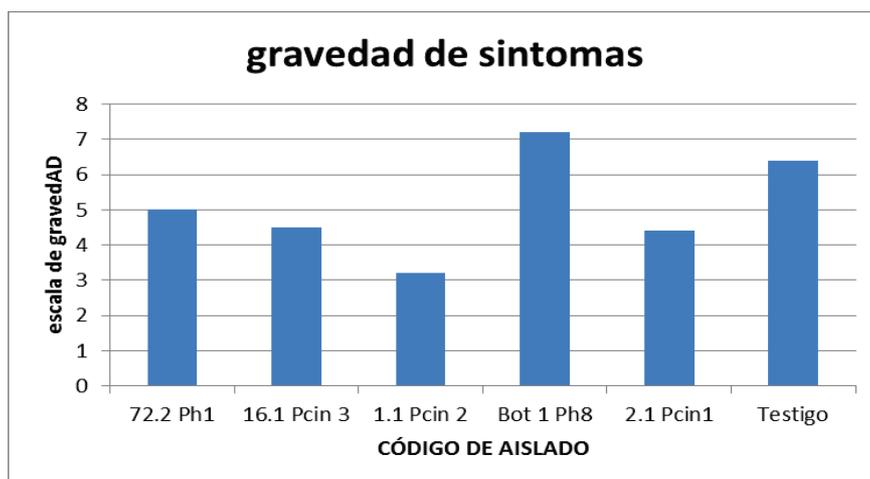


Figura 32, Expresión gráfica de la gravedad de los síntomas de las distintas cepas inoculadas con *P. cinnamomi*.

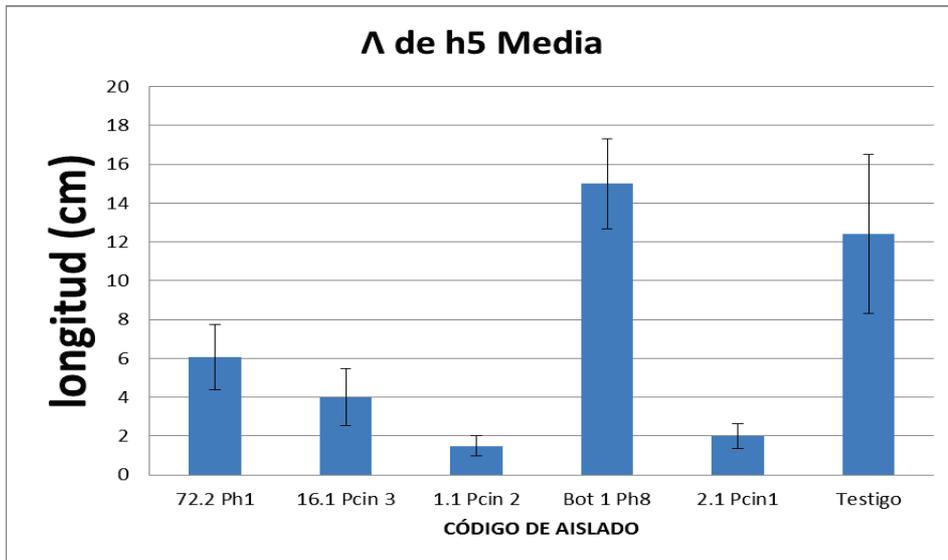


Figura 33, Expresión gráfica del incremento del crecimiento expresado en centímetros total de las plántulas inoculadas con P. cinnamomi.

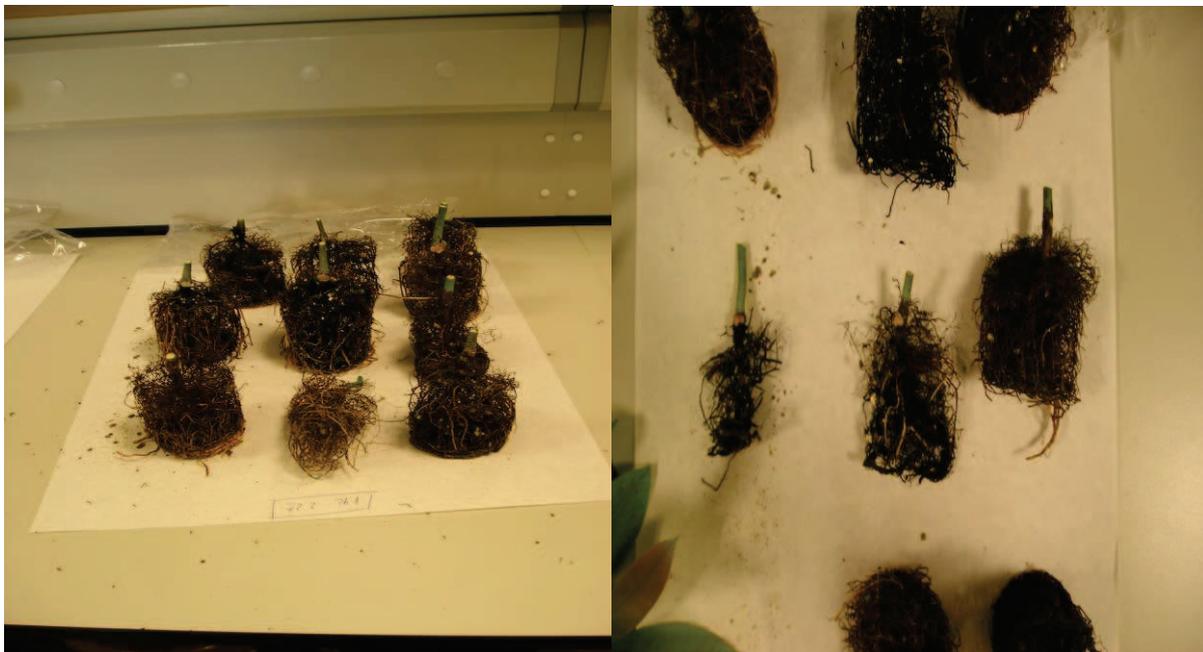


Foto 19; Aspecto de las raíces de plántulas inoculadas con *P. cinnamomi* Izqda. 72.2 Ph1, Derecha 16.1 Pcin3.



Foto 20; Aspecto de las raíces de plántulas inoculadas con *P. cinnamomi* Izqda. 1.1 Pcin2. Derecha BOT1Ph8.



Foto 21, Aspecto de las raíces de plántulas inoculadas con *P. cinnamomi* Izqda. 2.1 Pcin1, Derecha plántulas testigos.

4.5. Resultados sobre el efecto de la biodesinfección en el crecimiento de los árboles.

Uno de los efectos de la aplicación de la biosolarización es el aumento del vigor. Aumento ya evaluado para otros cultivos arbóreos como el olivo. En este apartado se recogen dichos resultados.

4.5.1 Resultados de la biosolarización.

Se resumen en los cuadros 36 y 37 y en las figuras 34 y 35.

Cuadro 36, Incremento del crecimiento de los brotes de árboles biosolarizados tanto en longitud como en grosor.

Código Árbol	Media del crecimiento en longitud (cm)	Media del crecimiento en grosor (cm)
Cate 1	3.56±5.39	0.14±0.195
Cate 3	3.7±5.10	0.18±0.21
Cate 13	0.55±0.72	0.03±0.03
Cate 26	0.24±0.45	0.01±0.02
Cate 35	2.7±2.83	0.09±0.11
Cate 37	10±7.38	0.12±0.09
Cate 38	9.52±5.32	0.32±0.02
Cate 41	21±25.20	0.31±0.48
Cate 47	3.30±2.94	0.10±0.05
Cate 50	3.65±3.73	0.16±0.17

Cuadro 37, Valores medios de los incrementos de grosor y longitud de los brotes de los árboles biosolarizados.

Tratamiento	Media longitud (cm)	Media grosor (cm)
Árboles biosolarizados	5.79±6.74	0.15±0.12

Se podrá comprobar que no todos los aguacateros respondieron uniformemente. Los codificados como cate 38 y cate 41 presentaron unos máximos frente a los codificados cate 13 y cate 26. Ello puede apreciarse en la desviación típica de la media de la longitud.

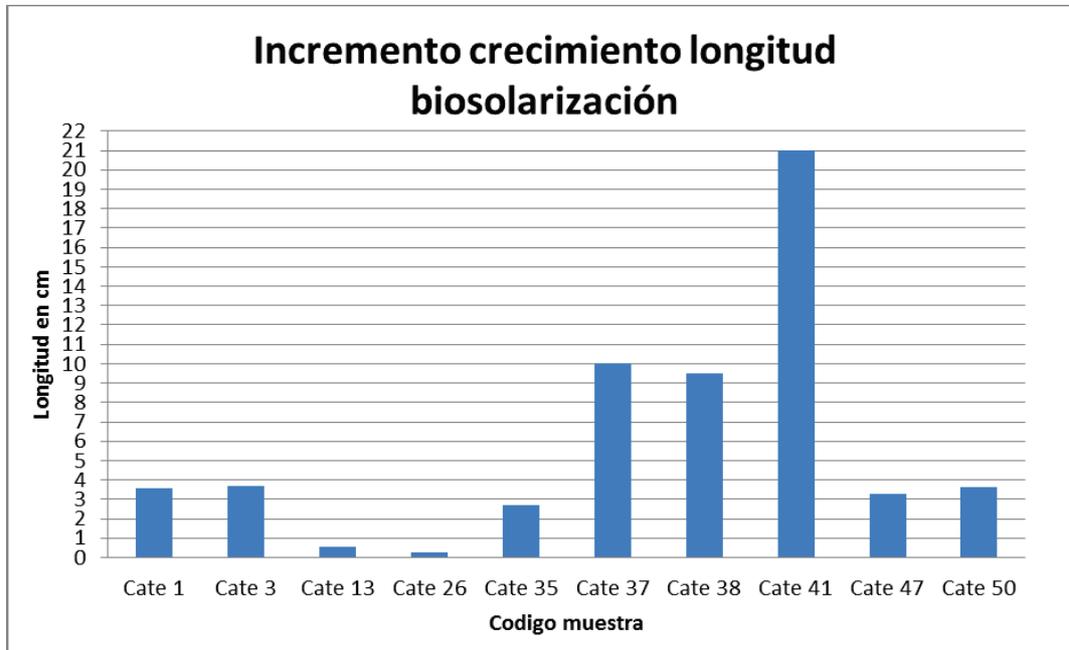


Figura 34, Expresión gráfica del incremento de crecimiento en longitud en centímetros del tratamiento biosolarización.

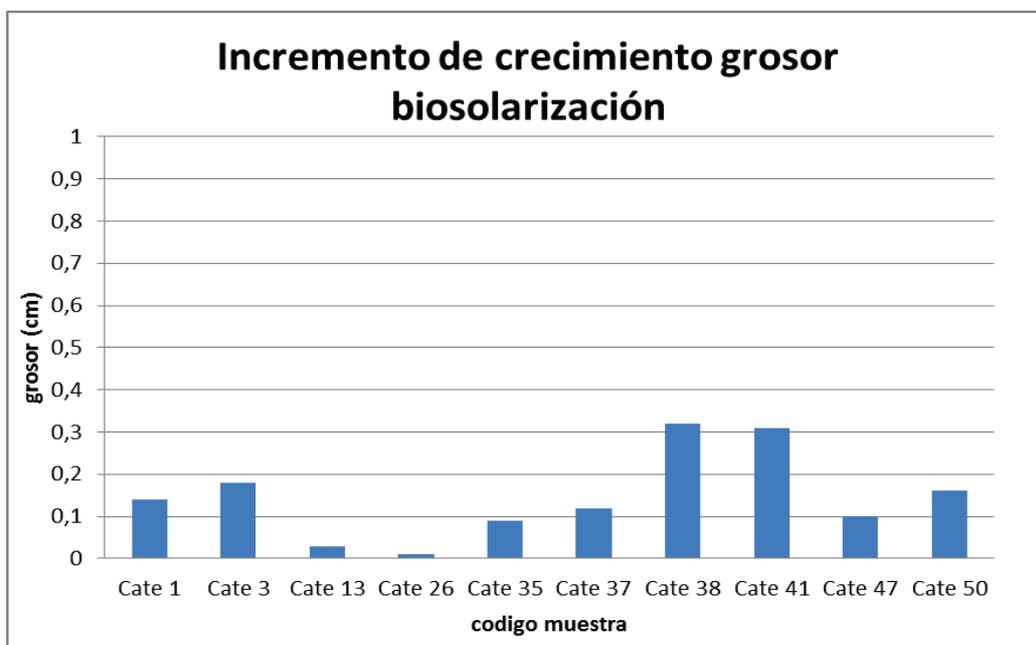


Figura 35, Expresión gráfica del aumento del grosor en centímetros del tratamiento biosolarización.

4.5.2 Resultados de la biofumigación.

Se resumen en los cuadros 38 y 39 y en las figuras 36 y 37.

Cuadro 38, Incremento del crecimiento de los árboles biofumigados tanto en longitud como en grosor.

Código Árbol	Media del crecimiento en longitud (cm)	Media del crecimiento en grosor (cm)
Cate 16	0.32±0.31	0.04±0.036
Cate 25	0.76±1.28	0.03±0.02
Cate 30	2.15±2.53	0.04±0.02
Cate 56	3.73±2.54	0.18±0.13
Cate 61	3.6±4.43	0.14±0.12
Cate 64	2.25±3.37	0.17±0.18
Cate 65	0.65±0.63	0.05±0.03
Cate 70	2.4±2	0.12±0.12
Cate 71	1.15±0.86	0.05±0.04
Cate Bot	2.9±2.46	1.17±0.94

Cuadro 39, Valores medios de los incrementos del grosor y longitud de los brotes de los árboles biofumigados

Tratamiento	Media longitud (cm)	Media grosor (cm)
Árboles biofumigados	1.99±1.22	0.95±0.05

Como ocurrió en la biosolarización los resultados son dispares, de manera que hay aguacateros que crecen considerablemente más que otros.

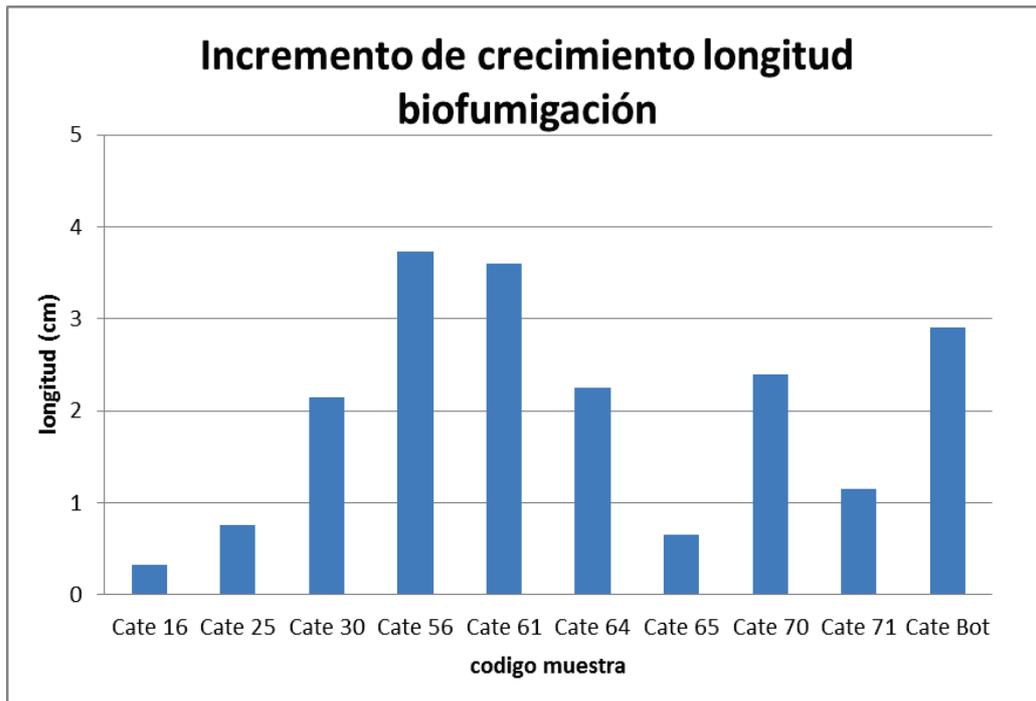


Figura 36, Expresión gráfica del incremento de crecimiento en longitud en cm del tratamiento biofumigación.

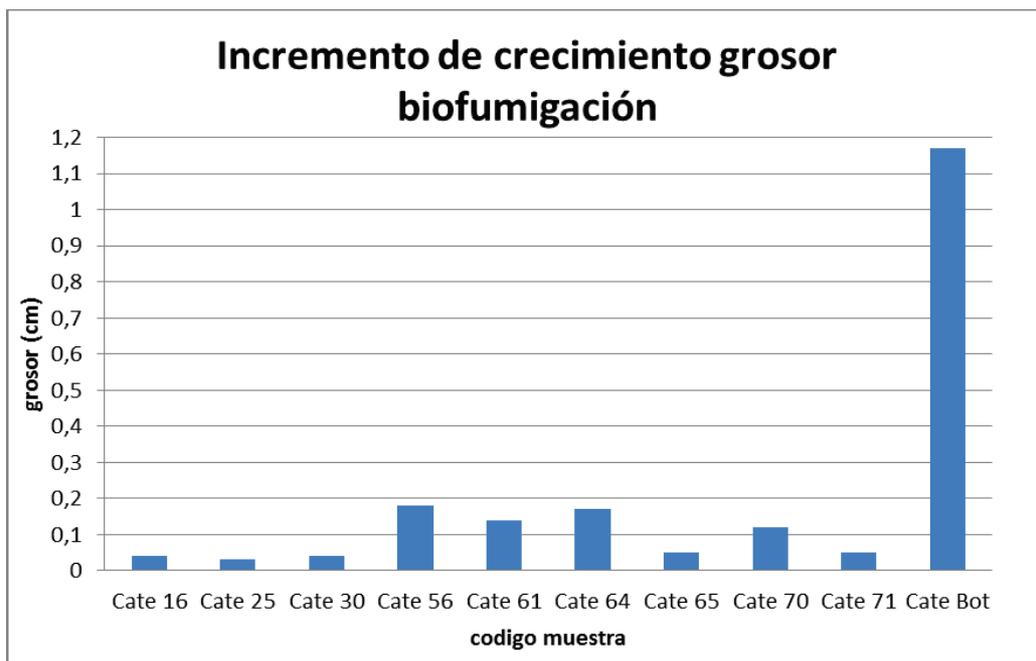


Figura 37, Expresión gráfica del incremento de crecimiento en grosor cm del tratamiento biofumigación.

4.5.3 Resultados en los árboles testigos.

Se resumen en los cuadros 40 y 41 y en las gráficas 38 y 39.

Cuadro 40. Incremento del crecimiento de los árboles testigo tanto en longitud como en grosor.

Código Árbol	Media del crecimiento en longitud (cm)	Media del crecimiento en grosor (cm)
Cate 4	3.38±3.99	0.082±0.081
Cate 21	2.40±4.2	0.03±0.03
Cate 22	0.45±0.41	0.08±0.07
Cate 24	2.11±2.48	0.09±0.10
Cate 34	0.4±0.3	0.02±0.03
Cate 51	1.6±1.51	0.04±0.06
Cate 54	1.8±2.03	0.03±0.03
Cate 58	1.6±0.83	0.10±0.07
Cate 62	0.76±0.68	0.06±0.05
Cate 72	1.00±0.57	0.07±0.04

Cuadro 41, Valores medios de los incrementos del grosor y longitud de los brotes de los árboles testigo.

Tratamiento	Media longitud (cm)	Media grosor (cm)
Árboles Testigo	1.31±1.39	0.63±0.02

Como ocurrió en los tratamientos de biodesinfección, los árboles testigo muestran una importante variabilidad en la respuesta.

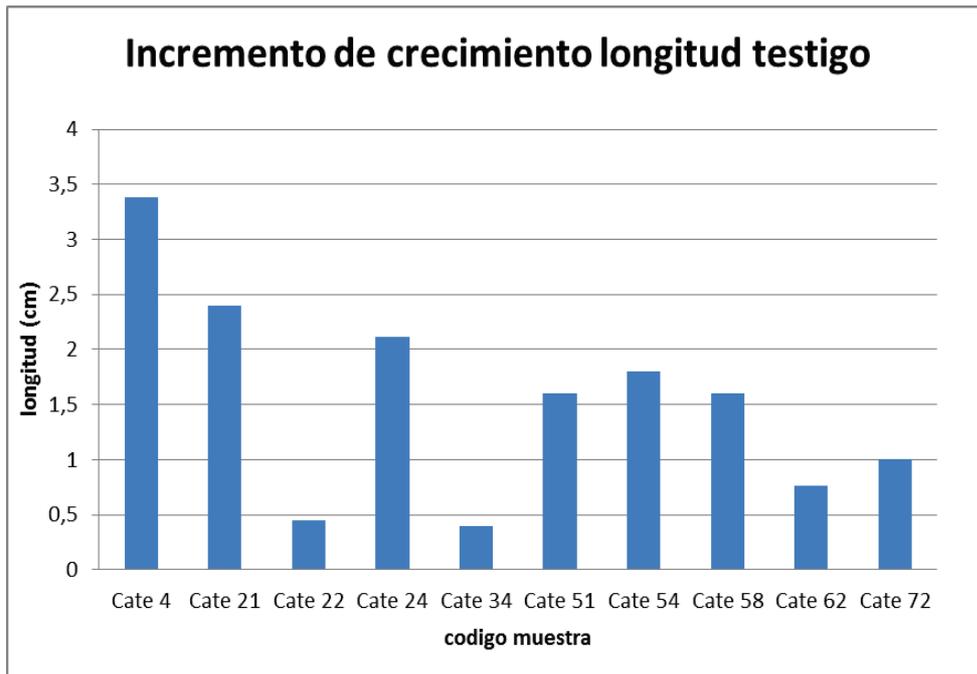


Figura 38 , Expresión gráfica del incremento de crecimiento en longitud en cm del tratamiento árboles testigo

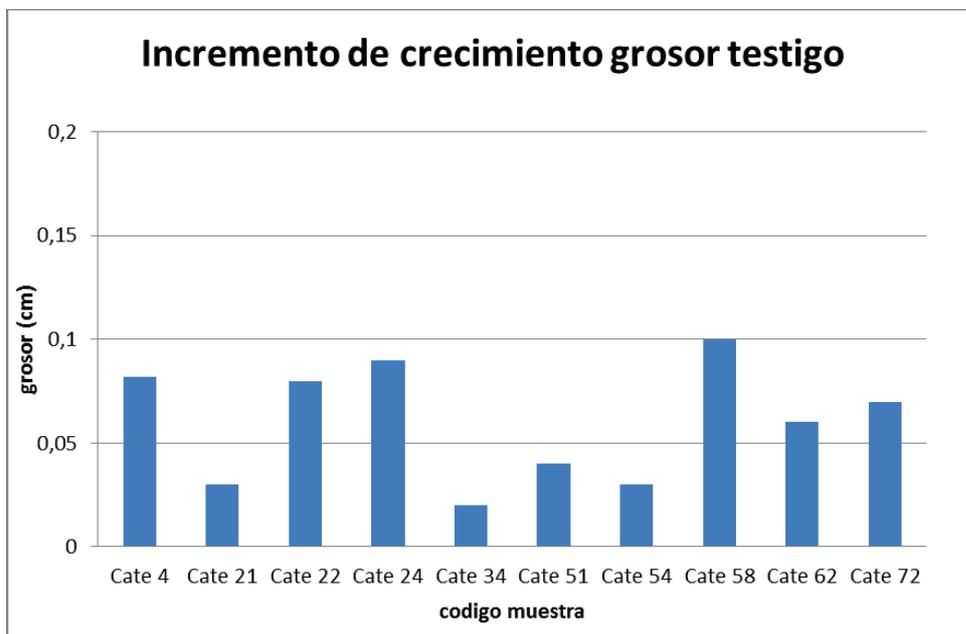


Figura 39, Expresión gráfica del incremento de crecimiento en grosor cm del tratamiento árboles destigo.

Cuadro 42, Valores medios del vigor de los brotes de los árboles con biodesinfección frente al testigo.

CUADRO GLOBAL		
Tratamiento	Media longitud (cm)	Media grosor (cm)
Biosolarización	5.79±6.74	0.15±0.12
Biofumigación	1.99±1.22	0.2 ±0.05
Testigo	1.31±1.39	0.063±0.02

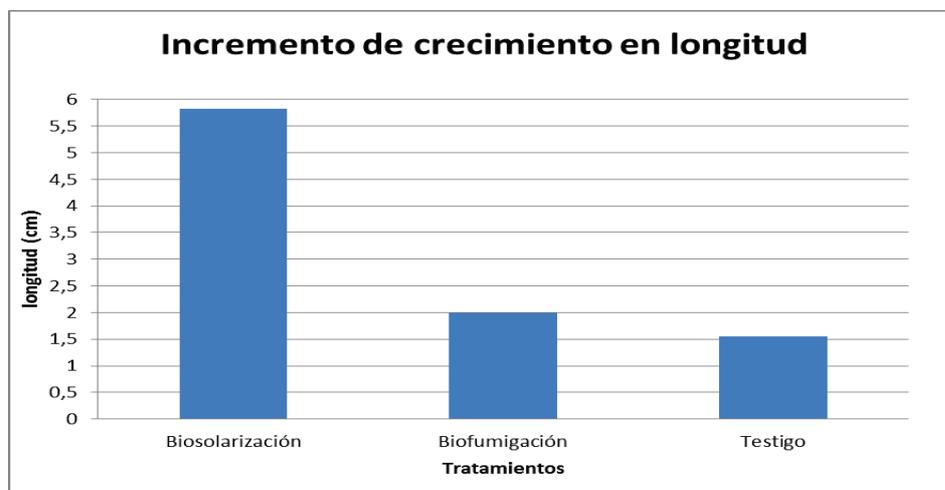


Figura 40, Expresión gráfica del incremento de crecimiento en longitud en cm de los distintos tratamientos, biosolarización, biofumigación y testigo.

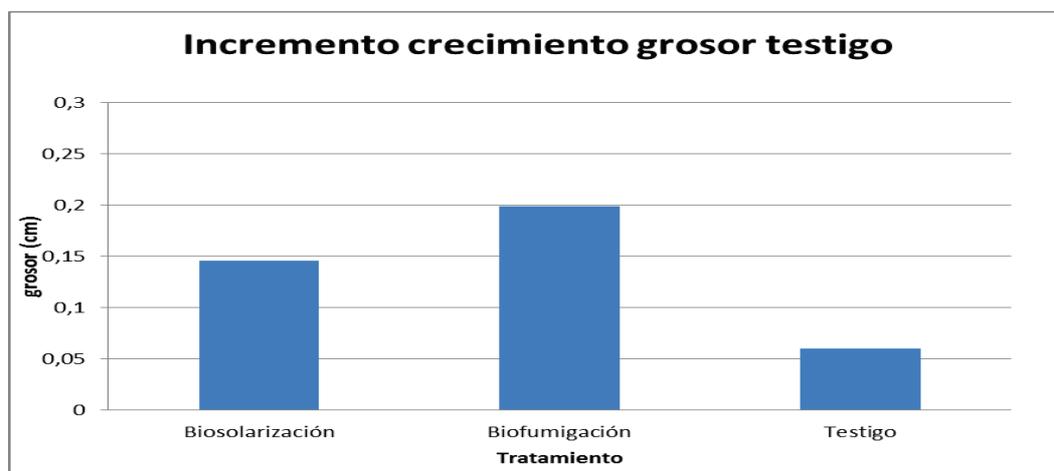


Figura 41, Expresión gráfica del incremento de crecimiento en grosor en cm de los distintos tratamientos, biosolarización, biofumigación y testigo.

4.5.4. Comentarios a los resultados sobre el efecto vigorizante.

La comparación de los tratamientos de biodesinfección con los árboles no tratados y pese a la dispersión de las medidas, sugieren con claridad que la biosolarización promueve el crecimiento longitudinal de los brotes de una manera importante frente a la biofumigación y frente al testigo. De igual manera en la biofumigación se observa un efecto vigorizante y de menor tamaño que con la cubierta plástica.

5. CONCLUSIONES.

5. CONCLUSIONES.

El trabajo presentado ha puesto de manifiesto que, la aplicación de la biodesinfección del suelo en los alcorques de aguacateros afectados por marchitez o decaimiento, en el cual esta implicados, *Phytophthora cinnamomi*, puede ser aplicada sin ejercer ningún efecto negativo sobre los árboles, antes al contrario parece producir una acción vigorizante. Acción que es notablemente más acusada para la técnica de biosolarización que para la de biofumigación.

Además, la biodesinfección, de manera global, provoca una disminución en la microbiota conformada por especies del genero Fusarium, que aunque no se han citado como patógenos en el cultivo del aguacatero, pueden servir como indicadoras de la eficacia del procedimiento. Eficacia que es mayor al utilizar la biosolarización. Biosolarización que también ha mostrado su actividad frente a Phytophthora, una de cuyas especies ha sido considerada como uno de los mayores problemas del cultivo.

La técnica de biofumigación también ha ejercido un efecto apreciable en la disminución de la densidad de inóculo de Phytophthora pero en menor medida que cuando se ha combinado con la solarización. La actividad desinfectante de la biodesinfección también ha sido observada para el género Pythium, cuyo papel parasitario en las raíces de los árboles no ha sido citada.

El trabajo sugiere que la reiteración de la técnica de biosolarización merecería una investigación más amplia, centrada, especialmente, en la repetición anual sobre los mismos árboles.

6. BIBLIOGRAFÍA

6. BIBLIOGRAFÍA

AL-HEDAITHY, S.S.A., TSAO, P.H., 1979. The effects of culture media and sporulation methods on caducity and pedicel length of sporangia in selected species of *Phytophthora*. *Mycologia*, 71(2):392-401.

ALLEN, R.N., NEWHOOK, F.J., 1973 Chemotaxis of zoospores of *Phytophthora cinnamomi* to ethanol and capillaries of soil pore dimensions. *Transactions of the British Mycological Society*, 61:287-302

ARX, J.S.VON, 1974. The genera of fungi sporulating in pure culture. Gantner Verlag, A.R., FL-9490 Vaduz, 315 pp.

AYERS, W.A., ZENTMEYER, G.A., 1971 Effect of soil solution and two soil *Pseudomonads* on sporangium production by *Phytophthora cinnamomi*. *Phytopathology*, 61:1188-1193.

BARNETT, H.L., HUNTER, B.B., 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishing Company ed., Minneapolis, Minnesota, 241 pp.

BÄRTSHI, H., GIANINAZZI-PEARSON, V., VEGH, I., 1981. Vesicular-arbuscular mycorrhiza formation and root rot disease (*Phytophthora cinnamomi*) development in *Chamaecyparis lawosiana*. *Phytopathologische Zeitschrift*, 102:213-218.

BELLO, A., LÓPEZ PÉREZ, J.A., DÍAZ-VIRULICHE, L., TELLO, J., Alternativas al bromuro de metilo como fumigante del suelo en España.

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

BENSON, D.M. 1984. Influence of pine bark, matric potential, and pH on sporangium production of *Phytophthora cinnamomi*. *Phytopathology*, 74: 1359-1363

BERNTEIN, N., ZILBERSTAIN, M., MEIRI, A., 1966. Inhibition of avocado root growth by CIN under stress. *Phytoparasitica*, 24(1):81.

BERTRAND, A., DUCRET, J., DEBOURGE, J.C., HORRIÈRE, D., 1977. Etude des propriétés d'une nouvelle famille de fongicides: les monoéthyl phosphites métañoiques. *Phytoterapie Phytopharmacie*, 26:3-18.

BESOAIN, X., PIONTELLI, E., 1999. Pudrición negra en raicillas de palto (*Persea americana* Mill.) por *Cylindrocarpon destructans*: patogenicidad y aspectos epidemiológicos. *Boletín Micológico*, 14(1-2):41-47.

BONILLA, T., SÁNCHEZ, P., GONZALES, M., Y PÉREZ, M. 2011. *Neofusicoccum parvum* y *Phytophthora vexans*: nuevos patógenos del aguacate descritos en Andalucía. En: *Memorias del VII Congreso Mundial del Aguacate*. Cairns Australia. P 1-5.

BINGHAM, F.Y., ZENTMYER, A., 1954. Relation of hydrogen-ion concentration of nutrient solution to *Phytophthora* root rot of avocado seedling. *Phytopathology*, 44:911-914.

BLAKER, N.S., MACDONALD, L.D., 1983. Influence of container medium pH on sporangium formation, zoospore release, and infection of *Rhododendron* by *Phytophthora cinnamomi*. *Plant disease*, 67(3):259-263

BLAKER, N.S., MACDONALD, L.D., 1986. The role of salinity in the development of *Phytophthora* root rot of citrus. *Phytopathology*, 76(10):970-975

BOMPEIX, G., SAINDRENAN, P., 1984. In vitro antifungal activity of Fosetyl-Al and phosphorous acid on *Phytophthora* species. *Fruits*, 39:777-786.

BORROD, G., 1974. Contribution a l'étude du parasitisme du chataignier par le *Phytophthora cinnamomi* Rands. *Ann. Phytopathology*, 6:83-90

BRIENBSEB, S.L. VON, KRUGER, F.J., 1985. *Phytophthora cinnamomi* associated with mortality in native vegetation in South Africa *Plant disease*, 69:715-717.

BROADBENT, P., BAKER, K.F., 1974. Behaviour of *Phytophthora cinnamomi* in soils suppressive and conducive to root rot. *Australian Journal of Agriculture Reseach*, 25(1):121-137.

CAMBELL, W.A., COPELAND, O, L., 1954. Littleleaf disease of shortleaf and loblolly pines.

CAMERON, H.R.MILBRATH, G.M., 1965. Variability in Genus *Phytophthora*. I. Effects of nitrogen sources and pH on growth. *Phytopathology*, 55:653-657.

CASALE, W.L., 1990. Analysis of suppressive soils and development of biological control methods for *Phytophthora* root rot of avocado. *California Avocado Society Yearbook*, 74:53-56

CASARES, A., MELO, E.M.P.F., FERRAZ, J.F.P., RICARDO, C.P.P., 1986. Differences in ability of *Phytophthora cambivora* and *P. cinnamomi* to dephenolize lignin. *Transaction of the British Mycological Society* 87(2):229-235

CENIS, J.L., 1989. Temperature evaluation in solarized soils by Fourier analysis. *Phytopathology*, 79(5):506-510.

CHEE, KH. NEWHOOK, F.J., 1965. Variabiliy in *Phytophthora cinnamomi* Rands. *New Zealand Journal of Agricultural Reseach*, 8:96-103

CHEN, D., ZENTMYER, G.A., 1970. Production of sporangia by *phytophthora cinnamomi* in axenic culture. *Mycologia*, 62(2):397-402.

COFFEY, M.D., JOSEPH, M.C., 1985. Effects of phosphorous acid and Fosetyl-Al on the life cycle of *Phytophthora cinnamomi* and *P. citricola*. *Phytopathology*, 75(9):1042-1046.

CRANDALL, .B.S., 1950. The distribution and significance of the chestnut root rot *Phytophthora cinnamomi* and *Phytophthora cambivora*. *Plant Disease Reporter*, 34(6):194-196.

CRANDALL, B.S.G, GRAVATT, G.F., RYAN, M.M., 1945. Root diseases of *Castanea* species and some coniferous and broadleaf nurse stocks, caused by *Phytophthora cinnamomi*. *Phytopathology*, 35:162-180

Cultivo del aguacate en la zona subtropical de la península. Conferencia de Andres Garcia Cabezón. Mayo 1969. Instituto Nacional de Investigación Agronómicas. Centro de cultivos subtropicales Málaga.

Cultivo del aguacate en la zona subtropical de la península. Conferencia pronunciada por D. Andrés García Cabezón, Ingeniero Jefe Del centro de las islas Canarias y Director de la escuela de ingeniería técnica agrícola de la laguna.

CURTUS, D.S., ZENTMYER G.A., 1949. Effect of oxigen on *Phytophthora* root rot of avocado in nutrient solution. *American Journal of Botany*, 36:471-474.

DAMN, E., FORBERG, L., KOOKE, A., PEGG, K., SHIVAS, R., TAN, Y., 2011. The „Cylindro“ complex of avocado root pathogens. En *Memorias del VII Congreso Mundial del Aguacate*. Cairns Australia. P 1-12

DARVAS, J.M., 1982. Chemical control of *Phytophthora* root rot on fully grown avocado trees. *South African Avocado Growers Association Yearbook*, 5: 96-97.

DARVAS, J.M., 1983. Systemic fungicides applied as trunk paint against root rot of avocados. *South African Avocado Growers Association Yearbook*, 6:78.

DARVAS, J.M., BECKER, O., 1984. Failure to control *Phytophthora cinnamomi* and *Pythium splendens* with Metalaxyl after its prolonged use. South Africa Avocado Growers Association Yearbook, 4:63-66.

DAVISON, E.M., TAY, F.C.S., 1986. The effect of aeration on colony diameter, sporangium production and zoospore germination of *Phytophthora cinnamomi*. New Phytologist, 103(4):735-744.

DEVAY, JE, KATAN, J., 1991. Mechanism of pathogen control in solarized soils. Soils Solarization. Katan,j.,DeVay,J.E., CR Press, Inc. Boca Raton,FL, 267 pp.

DUNIWAY, J.M., 1977. Predisposing effect of water stress on the severity of *Phytophthora* root rot in safflower. Phytopathology 67:884-889.

DUNIWAY, J.M., 1979. Water relations of water molds. Annu. Rev. Phytopathol. 17:431-460.

DUVENHAGE, J.A. KOTZÉ, J.M. MAAS, E.M.C., 1991. Supressive soils and biological control of *Phytophthora* root rot. South African Avocado Growers Association Yearbook, 14:6-11.

DUVENHAGE, J.A. KOTZÉ, J.M., 1993. Biocontrol of root rot of avocado seedlings. South african Avocado Growers Association Yearbook, 16:70-72.

DUVENHAGE, J.A., KÖHNE, S.,1966. Biocontrol of *Phytophthora cinnamomi* on avocado: identification and field testing of local natural antagonists, and evaluation of rootstocks for resistance. Phytoparasitica, 24:74

ERWIN, D.C., 1983. Variability within and among species of *Phytophthora*. *Phytophthora its Biology Taxonomy and Pathology*. Erwin,D.C.,Bartniki Garcia,S..Tsao,P.H.,eds., APS,St Paul, Minnesota, 391 pp.

FANG, J.G., TSAO, P.H., 1995. Efficacy of *Penicilium funiculosum* as biological control agent against *Phytophthora* root rots of azalea and citrus. *Phytopathology*, 85(8):871-878.

FENN, M.E., COFFEY, M.D.,1984. Studies on the in vitro and in vivo antifungal activity of Fosetyl-Al and Phosphorous acid. *Phytopathology*, 74:606-611.

FINLAY, A.R., MCCRAKEN, A.R., 1991. Microbial suppression of *Phytophthora cinnamomi*. Press Cambrige, 447 pp.

GAMALIER LEMUS, J., RAÚL FERREYRA E., PILAR GIL M., PATRICIO MALDONADO B., CARLOS TOLEDO G., CRISTIÁN BARRERA M., JOSÉ MIGUEL CELEDÓN DE ANDRACA., 2005. El cultivo del Palto. Boletín INIA-Nº 129, 2ª Edición.

GALINDO, J., ZENTMYER,G.A., 1964. Mating types in *Phytophthora cinnamomi*. *Phytopathology*, 54:238-239

GARDIAZABAL, F. ROSENBERG, G. 1991. El cultivo del palto. Universidad Católica de Valparaíso. 201 p.

GARDIAZABAL,F., 1998. Factores Agronómicos a Considerar en la Implantación de un Huerto de Paltos. Seminario Internacional de Paltos, Viña del Mar.

GARDIAZABAL, F., 2000. Fertirrigación en Paltos 1º Seminario Internacional de Fertirriego de Chile. Soquimich Comercial S.A. 28-29 Agosto 2000. Santiago, Chile.

GARDIAZABAL, F., 2004. Riego y Fertilización en Paltos. 2º Seminario Internacional de Paltos 29-30 Septiembre, 1 Octubre 2004.

GEES,R., COFFEY,M.D., 1989. Evaluation of strain of *Myrothecium roridum* as a potencial biocontrol agent against *Phytophthora cinnamomi*. *Phytopathology*, 79(10):1079-1084.

GERRETSON-CORNELL, L., 1983 Acompendium of the morphology of *Phytophthora cinnamomi* Rands from Australia. *Acta Botanica Hungarica*, 29(1-4):91-105

GREGORIU, C., PAPADEMETRIU, A., CHISTOFIDES.L., 1983. Use of Chelates for Correcting Iron Chlorosis in Avocado growing in Calcareous Soils in Cyprus. *California Avocado Society Yearbook*. 67: 115-122.

GUEST, D.I., GRANT, B., 1991. The complex action of the phosphonates as antifungal agents. *Biological Review*, 66:159-187.

GUILLEMIN, J.P., GIANINAZZI,S., GIANNINAZZI-PEARSON,V., MARCHAL,J., 1994. Contribution of arbuscular micorrhizas to biological protection of micropropagated pineapple (*Ananas comosus*) against *Phytophthora cinnamomi* Rands. *Agricultural Science in Finland*, 3(3):241-251

HAASIS,F.A., NELSON,R.R., MARX,D.H., 1964. Morphological and physiological characteristics of mating types of *Phytophthora cinnamomi*. *Phytopathology*, 54:1146-1151.

HALSSALL, D.M., 1977. Effects of certain cations on the formation and infectivity of *Phytophthora* zoospores. 2 effect of copper, boron, cobalt, manganese, molibdenum, and zinc ions. *Canadian Journal of Microbiology*, 23:1002-1010.

HARDHAM, A.R., 1987. Ultrastructure and serial section reconstruction of zoospores of the fungus *Phytophthora cinnamomi*. *Experimental Mycology*, 11(4):297-306.

HEMMES, D.E., 1983. Cytology of *Phytophthora*. *Phytophthora its Biology Taxonomy and Patology*. Erwin,D.C.,Bartniki Garcia,S., Tsao,P.H.,eds.,APS, St. Paul, Minnesota,391pp

HEMMES, D.E.,WONG,L.D.,1975. Ultrastructure of chlamidospores of *Phytophthora cinnamomi* during development and germination. *Canadian Journal of Botany*, 53:2945-2957

HENDRIX, J.W., 1965. Influence of sterols on growth and reproduction of *Phythium* and *Phytophthoa* ssp. *Phytopathology*, 55:790-797.

HERNÁNDEZ, M.L.B. 1999. Caracterización morfológica y patogenicidad de 12 aislamientos de *Rhizoctonia* sp de aguacate (*Persea americana* Mill). Tesis profesional. Facultad de Agrobiología. U.M.S.N.H.

HERNANDEZ SUAREZ, ESTRELLA, TORRES LUIS, EDUARDO, VELASQUEZ HERNANDEZ, YISELL, PERERA GONZALEZ, SANTIAGO. Departamento de Protección Vegetal (ICIA). Servicio Técnico de Agricultura y Desarrollo Rural del Cabildo Insular de Tenerife.

HO, H.H., ZENTMYER, G.A., 1977. Infection of avocado and other species of *Persea* by *Phytophthora cinnamomi*. *Phytopathology*, 67(9):1085-1089

HYDE, G.J., GUBLER, F., HARDHAM, A.R., 1991. Ultrastructure of zoosporogenesis in *Phytophthora cinnamomi*. *Mycological Research*, 95(5):577-591

IGNACIO ESCOBAR, JAVIER GARCIA TAPIA. El aguacate en la costa de Granada: Fruticultura subtropical. Gabinete técnico caja rural de Granada 2001.

KADMAN, A., COHEN, A., 1977. Experiments with Zinc Application to Avocado trees .California Avocado Society Yearbook. 61:81-85

KATAN, J., 1981. Solar heating (solarization) of soil for control of soilborne pests. Annual review of *Phytopathology*, 19:211-236

KATAN, J., GREENBERGER, A., ALON, H., GRINSTEIN, A., 1976. Solar heating by polyethylene mulching for the control of diseases caused by soil-borne pathogens. *Phytopathology*, 66:683-688.

KAVANAGH, F., 1942. The interaction between thiamine and four fungi. *Bull. Torrey Bot. Club*, 69:669-691

KELLAN, M.K., COFFEY, M.D., 1985. Quantitative comparison of the resistance to Phytophthora root rot in three avocado rootstocks. *Phytopathology*, 75:230-234.

KHEW, K.L., ZENTMYER, G.A., 1973. Chemotactic response of zoospores of five species of Phytophthora. *Phytopathology*, 63:1511-1517

KO, W.H., 1978. Heterothallic Phytophthora: evidence of hormonal regulation of sexual reproduction. *Journal of General Microbiology*, 107:15-18

LEAL, J.A., GALLEGLY, M.E., LILLY, V.G., 1967. The relation of carbon-nitrogen ratio in the basal medium to sexual reproduction in species of Phytophthora. *Mycologia* 59:953-964.

MALAJZUK, N., NESBITT, H.J., GLENN, A.R., 1977. A light electron microscope study of the interaction of soil bacteria with Phytophthora cinnamomi Rands. *Canadian Journal of Microbiology*, 23:1518-1525.

MANNING, W.J., CROSSAN, D.F., 1966. Evidence for variation degree of pathogenicity of isolates of Phytophthora cinnamomi to broadleaf and coniferous evergreens. *Plant disease*, 50:647-649

MALOY, O.C., y ALEXANDER, M. 1958. The "Most Probable Number" method for estimating populations of plant pathogenic organisms in the soil. *Phytopathology* 48, 126-128.

MANNING, W.J., CROSSAN, D.F., 1966. Effect of a particular soil bacterium on sporangial production in Phytophthora cinnamomi in liquid culture. *Phytopathology*, 56:235-237

MARX, D.H., BRYAN, W.C., 1969. Effect of soil bacteria on the mode of infection of pine roots by Phytophthora cinnamomi. *Phytopathology*, 59:614-619

MARKS, G.S., MITCHELL, J.E., 1970. Detection, Isolation and Pathogenicity of *Phytophthora megasperma* from Soils and Estimation of Inoculum levels. *Phytopathology*. Vol. 60. November 1970.

MARTINÉZ FRANCÉS, M.A., 2008. La microbiota fúngica de los suelos de los invernaderos de pimiento. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Cartagena. 260 pp.

MASS, E.M.C., KOTZÉ, J.M., 1990. The effect of bacteria on root severity caused by *Phytophthora cinnamomi*. *South African Avocado Growers Association Yearbook*, 13:65-66.

MCKENZIE, D., MARGOT, P., 1982. Control of *Phytophthora cinnamomi* causing root rot of avocados. *South African Avocado Growers Association Yearbook*, 5:101.

MIRCETICH, S.M., ZENTMYER, G.A., KENDRICK, J.B., 1968. Physiology of germination of chlamydospores of *Phytophthora cinnamomi*. *Phytopathology*, 58:666-671.

MITCHELL, D.J., ZENTMYER, G.A., 1971. Effects of oxygen and carbon dioxide tensions on growth of several species of *Phytophthora*. *Phytopathology*, 58:787-791.

MITCHELL, D.J., ZENTMYER, G.A., 1971. Effects of oxygen and carbon dioxide tensions on sporangium and oospore formation by *Phytophthora* spp. *Phytopathology*, 61:807-810.

MORALES, J. 2009. Enfermedades de pos cosecha del fruto de aguacate: Fitosanidad. En *Memorias III congreso latinoamericana del aguacate*. Rionegro (Ant)-Colombia. P 1:44

MUNNECKE, D.E., BRICKER, J.L., KOLBEZEN, M.J., 1974. Dosage response of *Phytophthora cinnamomi* to methyl bromide. *Phytopathology*, 64:1007-1009.

NASH, S., SNYDER, W.C., 1962. Quantitative estimations by plate count of propagules of the bean root *Fusarium* in field soil. *Phytopathology* 52: 567-572

NEVIN, J.M., LOVATT, C.J., 1987. Demonstration of ammonia accumulation and toxicity in avocado leaves during water-deficit stress. South African Avocado Growers Association Yearbook, 10: 51-54

NEVIN, J.M., LOVATT, C.J., EAKS, I.L., OHR, H.D., 1990. Separation of the effects of drought and infection by *Phytophthora cinnamomi* on Hass avocado. Acta Horticulture, 275:729-736.

NEWHOOK, F.J., KH CHEE,, 1965- New Zealand Journal of Agricultural ..., - Taylor & Francis Improved methods for use in studies on *Phytophthora cinnamomi* Rands and other *Phytophthora* species

OCHOA, A.S. 1997. Pudrición de raíz y cuello del aguacate causado por *Rhizoctonia*. Memorias XXIV Congreso Nacional de Fitopatología. Sociedad Mexicana de Fitopatología

OYLER, E., BEWLEY, W.F., 1937. A disease of cultivated heaths caused by *Phytophthora cinnamomi* Rands. Annals of Applied Biology, 24:1-16

PEGG, K.G., WHILEY, A.W., LANGDON, P.W., SARANAH, J.B., 1987. Comparison of phosetyl-Al, phosphorous acid and metalaxyl for the long-term control of *Phytophthora* root rot of avocado. Australian Journal of Experimental Agriculture, 27(3):471-474.

PEGG, K.G., WHILEY, A.W., SARANAH, J.B., GLASS, R.J., 1985. Control of *Phytophthora* root rot of avocado with phosphorus acid. Australasian Plant Pathology, 14(2):25-32

PÉREZ, M. 2008. Significant Avocado Diseases Caused by Fungi and Oomycetes. The European Journal of Plant Science and Biotechnology, 2 (1), 1-24.

PÉREZ JIMENEZ, R.M., ZEA BONILLA, T., and LÓPEZ HERRERA, C.J., Avocado root rots in Andalucía: A review.

PHYLLIPS, D., WESTE, G., 1985. Grow rates of four Australian isolates of *Phytophthora cinnamomi* in relation to temperature transactions of the Mycological society, 84:183-185.

PHYLLIPS, D.P., 1993 Pathological anatomy of root diseases caused by Phytophthora species. Root diseases caused by Phytophthora, cap 10:205-235, CRC Press, Inc.,

PLOETZ, R.C., SCHAFFER, B., 1989. Effect of flooding and Phytophthora root rot on net gas exchange and growth of avocado. *Phytopathology*, 79(2):204-208.

PULLMAN, G.S., DEVAY, J.E., GARBER, R.H., 1981. Soil solarization and thermal death: a logarithmic relationship between time and temperature for four soilborne plant pathogens. *Phytopathology*, 71:959-964.

RAHIMIAN, M.K., CASALE, W.L., 1991. Evaluation of Phytophthora root rot-suppressive soils from California avocado groves. *Proceedings of World Avocado Congress*, 1992:123-128.

RANDS, R.D., 1922. Streepkanker van kaneel, veroorzaakt door *Phytophthora cinnamomi* n. sp. *Meded. Inst. Plantenziekt*, 54:41

REEVES, R.J. 1975. Behaviour of *Phytophthora cinnamomi* Rands in different soils and water regimes *Soil Biology and Biochemistry*. 7:19-24

RIBEIRO, O.K., ZENTMYER, G.A., ERWIN, D.C., 1976. The influence of qualitative and quantitative radiation on reproduction and oospore germination of four *Phytophthora* species. *Mycologia*, 68:1162-1173

RIBEIRO, O.K., ZENTMYER, G.A., ERWIN, D.C., 1975. Comparative effects of monochromatic radiation on the germination of oospores of three *Phytophthora* spp. *Phytopathology*, 65:904-907

RIBEIRO, O.K., 1978. A source book of the genus *Phytophthora*. Cramer J., ed., FL, 417pp

RIBEIRO.O.K, ERWIN, D.C., ZENTMYER, G.A., 1975. An improved synthetic medium for oospore production and germination of several Phytophthora species. *Mycologia*,67:1012-1019.

RICCI, P., 1974: Mesure de la densité d'inoculum d'un agent pathogène dans le sol a l'aide d'une technique d'isolement par «tout ou rien». *Ann. Phytopathoi*, 6(4): 441-453.

RICCI, P., 1977. Contribution a l'epidemiologie des maladies d'origine tellurique: comportement de quelques Pythiacées phytopathogènes dans les sols cultivés. These Doct. Univ. Nice, Nice, 61 pp.

ROBBINS, W.M., 1938. Thiamine and growth of species of Phytophthora. *Bull. Torrey Bot. Club*, 65:267-276

RODRIGUEZ MOLINA, M.C. 1996. Ensayo de caracterización de suelos agrícolas y forestales de Extremadura, tomando como indicadores a *Fusarium Link* y *Pythium Pringsheim*: la representatividad del muestreo. Tesis doctoral. Universidad Politecnica de Madrid. 209pp.

RONCADORI, R.W., 1965. A nutritional comparison of some species of phytophthora. *Phytopathology*, 55:595-599

ROYLE, D.J., HICKMAN, C.J., 1964 Observation on phytophthora cinnamomi. *Canadian Journal of Microbiology*, 42:311-318

SCHENCK, N.C., 1981. Can mycorrhizae control root disease. *Plant Disease*, 65(3):231-234.

SCHWINN, F.J., STAUB, T., URECH, P.A., 1977. A new type of fungicide against diseases caused by oomycetes. *Meded. Fac. Landbouwwet Rijksuniv. Gent*, 42:1181-1188.

SHEPHERD, C.J.PRATT, B.H., TAYLOR, P.A., 1974 Comparative morphology behavioru af A1 and A2 isolates of Phytophthora cinnamomi. *Australian Journal of Botany*, 22:461-470

SHEPHERD, C.J.PRATT, B.H., 1974. Temperature-growth relations and genetic diversity of A2 mating type isolates of *Phytophthora cinnamomi* in Australia. *Australian Journal of Botany*, 22:231-249

SMILLIE, R., GRANT, B.R., GUEST, D., 1989. The mode of action of phosphite: evidence for both direct and indirect modes of action on three *Phytophthora* spp. In *platns. Phytopathology*, 79(9):921-926.

SNYMAN, C.P., KOTZÉ, J.M., 1983. Efficacy of systemic fungicides applied as a trunk paint and a sponge band for the control of root rot on five year old avocado trees. *South african Avocado Grower association Yearbook*,6:70-71

SOMMERS, L.E., HARRIS, R.F., DALTON, F.N., GARDNER, W.R., 1970. Water potencial relations of three root-infecting *Phytophthora* species. *Phytopathology*, 60:932-934.

STAMPS, D.J., 1990. Revised tabular key to the species of *phytophthora*. *Mycological Papers n°* 162:28.

STEEKELENBURG, N.A.M.VAN, 1973. Influence of low temperatures on the survival of *Phytophthora cinnamomi* Rand in soil. *Mededelingen Fakultiet Landrouwwetenschappen Rijksuniversiteit, Gent*.38:1399-1405

STERNE, R.E., ZENTMYER, G.A., KAUFMANN, M.R., 1977. The effect of matric an osmotic potencial of soil on *Phytophthora* roots diseade of *Persea indica*. *Phytopahology*, 67:1491-1494

STERNE, R.E., ZENTMYER, G.A., KAUFMANN, M.R., 1977 c. Enviroment effect on transpiration an leaf water potencial in avocado. *Physiologia Plantarum* 41:1-6

STERNE, R.E., ZENTMYER, G.A., KAUFMANN, M.R., 1977. The influence of matric potencial, soil texture and soil amendment on root disease caused by *Phytophthora cinnamomi*. *Phytopathology*, 67:1495-1500

STIRLING, A.M., HAYWARD, A.C., PEGG, K.G., 1992. Evaluation of the biological control potencial of bacteria isolated from soil suppressive to *Phytophthora cinnamomi*. *Australian Plant Pathology*, 21(4):133-142.

TAMAYO, P. 2007. Enfermedades del aguacate. *Revista politécnica*, No 4: 52-71

TÉLIZ, D., MORA, G., RODRIGUEZ, . 1989 Manejo integrado de la tristeza (*phytophthora cinnamomi*) del aguacate en atlixco, Pue. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 7(2):225-230.

TELLO, J.C., VARES, F., LACASA, A., 1991. Análisis de muestras. En: *Manual de laboratorio. Diagnóstico de hongos y bacterias y nematodos patógenos*, 5:81-82. Mapa.

TORGENSON, D.C., 1954. Root rot of lawson cypress and other ornamental caused by *Phytophthora cinnamomi*. *Contrib. Boyce Thompson Inst.*, 17:359-373.

TSAO, P.H OCANA, G., 1969. Selective isolation of species of *phytophthora* from natural soils in an improved antibiotic medium. *Nature*, 223 (5206):636-638.

TUCKER, C.M., 1929 Report of the plant pathologist. *Rep. Porto Rico Agric. Exp. Stn.*, 1928:29-35

VITALE, A., AIELLO, D., GUARNACCIA, V., PERRONE, G., STEA, G., POLIZZI, G. 2012. First Report of Root Rot Caused by *Ilyonectria* (= *Neonectria*) *macrodidyma* on Avocado (*Persea americana*). *Italy Journal Phytopathology*, 160:156–159

WAGER, V.A., 1942. *Phytophthora cinnamomi* and wet soil in relation of dying-back of avocado trees. *Hilgardia*, 14:519-532.

WATERHOUSE, G.M, WATERSON, J.M., 1966. Phytophthora cinnamomi. Commonwealth Mycological Institute, Description of Pathogenic Fungi and Bacteria nº 113, 2 pp.

WATERHOUSE, G.M., 1963. Key to species of Phytophthora de Bary. Commonwealth Mycological Institute, Mycological Papers,92:22p

WHILEY, A.W., SARANAH, J.B., LANGDON, P. W., HARGREAVES, P.A., PEGG, K.G., RUDDLE, L.J., 1991. Timig of phosphonate trunk injection for Phytophthora root rot of avocado. Proceedings of Second World Avocado Congress, 1992:75-78

WHITE, R.P., 1937. Rhododendron wilt and root rot.N.J. Agr. Exp. Stn. Bull., 615:32 pp

www.aecientificos.es/Alternativas.html.

www.avocadosource.com

ZAKI, A.I., ZENTMYER, G.A., SIMS, J.J., 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., LEARY, J.V., KLURE, L.J., GRANTHAM, G.L.,1976.Variability in growth of Phytophthora cinnamomi in relation with temperature. Phytopathology,66:982-986.

ZENTMYER, G.A. RIBEIRO, O.K., 1977.The effect of visible and near-visible radiation on sporangium production by Phytophthora cinnamomi. Phytopathology, 67:91-95

ZENTMYER, G.A., 1980. Phytophthora cinnamomi and the diseases it causes. The American Phytopathological Society, Monograph nº 10

ZENTMYER, G.A., MARSHALL, L.A., 1959. Factors affecting sporangial production by *Phytophthora cinnamomi*. *Phytopathology* (abstract), 49:556

ZENTMYER, G.A., RICHARDS, S.J., 1952. Pathogenicity of *Phytophthora cinnamomi* to avocado trees, and the effect of irrigation on disease development. *Phytopathology*, 42:35-37

ZENTMYER, G.A., 1981 The effects of temperature on growth and pathogenesis of *Phytophthora cinnamomi* and on growth of its avocado hosts. *Phytopathology*, 71(9):925-928.

6.2 Bibliografía revisada pero no citada expresamente en el texto.

Control de *Phytophthora cinnamomi* Rands y clorosis férrica en plantaciones de aguacates en la costa del sol. Doctores **Diego Barranco Navero, Manuel Benloch Marin, Ricardo Fernandez Escobar**. Caja Rural de Granada. 1992. Universidad de Córdoba Ingenieros Agrónomos y Montes.

I Jornadas Andaluces de Frutos Subtropicales. Torremolinos (Málaga) 19-20 Mayo 1988. Colección: Congresos y Jornadas nº 9-1989. Junta Andalucía.

Guía de Reconocimiento de Plagas. Gobierno Chile. División Protección agrícola Vigilancia Agrícola. Agosto 2005.

Aguilar, J.R., Prieto, C. O. Y E. Pavón. 1994. Exploración, colecta y caracterización de los recursos genéticos de aguacate en el centro del Estado de Veracruz y oriente de Puebla. Tesis Ing. Agr, Universidad Veracruzana. Archivo General de la Nación. 1914

Arpaia, 1997. Avocado Germplasm Preservation. California Avocado Society, Avocado Research project plan and gran requiriment. University of California Riverside.

Barrera-G. J. L., Ramírez M.R., Martínez J.O.A. 1994. Genotipos criollos de aguacate *Persea Americana* Mill. Selección durante 6 años en varios municipios de Guanajuato. In: Resúmenes 11 congreso Latinoamericano de Genética y XV congreso de Fitogenética p 197.

Barrientos-Priego, A.F., M.W. Borys, E. Escamilla-prado, A. Ben Ya'acov, E. De la Cruz Torres, and L. López López. 1992. A study of the avocado genetics resources: Findigs of the mexican Gulf Región. In: C. J. Lovatt (de) Proc 2nd World Avocado Congress Orange CA 2: 551 – 558.

Barrientos-Priego, A.F., M.W. Borys, E. Escamilla-Prado, A. Ben-Ya'acov, E. de la Cruz-Torres, and L. López-López. 1992. Study of avocado germplasm resources, 1988-1990. IV. findings in the Mexican Gulf region. Proc. of Second World Avocado Congress II: 551-558.

Barrientos-Priego, A.F., M.W. Borys, A. Ben-Ya'acov, L. López-López, M. Rubí-Arriaga, G. Bufler, and A. Solis-Molina. 1995. Progress of the study of the avocado genetic resources. III. findings in the Mexican Gulf region. Program and book of abstracts of the World Avocado Congress III. October 22-27, Tel Aviv, Israel. p. 107.

Ben Ya'acov, A. L. López López, E. De la Cruz Torres, and A. Barrientos O. 1992. A study of the avocado genetics resources: the findings from central part of México. In: C. J. Lovatt (ed) Proc 2nd World Avocado Congress Orange CA 2: 543 –544.

Ben-Ya'acov, A., G. Bufler, A.F. Barrientos-Priego, E. de la Cruz-Torres, and L. López-López. 1992. A study of avocado germplasm resources, 1988-1990. I. General description of the international project and its findings. Proc. of Second World Avocado Congress II: 535-541.

Ben-Ya'acov, A., A. Solis M. and E. Peri. 1995. Progress of the study of avocado genetic resources. II. The avocado genetic resources in Costa Rica. Program and Book of Abstracts of the World Avocado Congress III. October 22-27, Tel Aviv, Israel. p.109.

Bergh, B. O. 1967. Some late maturing avocado seedlings of various parentage. California Avocado Society Yearbook 51: 131-158.

Bergh, B. 1992. The origin, nature and genetic improvement of the avocado. California Avocado society yearbook 76: 61-75.

Bergh, B., and Ellstrand. 1987. Taxonomy of the avocado. California Avocado Society Yearbook 70: 135-145.

Bergh, B. O., R. W. Scora, and W. B. Storey. 1973. A comparison of leaf terpenes in *Persea* subgenus *Persea*. *Bot. Gazette*. 134: 130-134.

Bergh, B. O., A. M. Torres, G. A. Zentmyer, and N. C. Ellstrand. 1989. Allozyme variation in relation to the systematics of *Persea americana* (Lauraceae). Publicación inédita.

Bringhurst, R. 1954. Interspecific hybridization and chromosome numbers in *Persea*. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 63: 239-242.

Borys, M. W., H. Leszczyńska-Borys, S. Ramírez-Marañón, and L. Castro. 1993. Avocado relative: *Beilschmiedia anay* (Blake) Kosterm. fruit source. *California Avocado Society Yearbook* 79: 125-136.

Brom, R. E. y Carvalho, C. F. 1966. El aguacate. Ed. Juan Lozoya Dávila. 122p

Bufler, G., and A. Ben-Ya'acov. 1992. Study of avocado germplasm resources, 1988-1990. II. Ribosomal DNA repeat unit polymorphism in avocado. *Proc. of Second World Avocado Congress II*: 545-550.

Bufler, G., and J. Fiedler. 1996. Avocado Genetic Resources: Final Report. GIARA B-14. July, 1996. 50 p.

Burger, W., and H. van der Werff. 1990. *Flora costaricensis*. *Fieldiana* 23:102-107.
Darlington, C. D., and A. P. Wylie. 1956. *Chromosome Atlas of Flowering Plants*. 2^a Ed. London. George Allen & Unwin Ltd. p. 16.

Cook, R. 1997. Introducción a los principios de comercialización. Curso Internacional comercialización del Aguacate en Estados Unidos. Paz Mendoza y Asociados S. C. Uruapan Michoacán, México.

Ellstrand, C., J. M. E. Lee, B. O. Bergh, M. D. Coffey, and G. A. Zentmyer. 1986. Isozymes confirm hybrid parentage for 'G 755' selections. California Avocado Society Yearbook 70: 199-203. 120

Furnier, G. R., M. P. Cummings, and M. T. Clegg. 1990. Evolution of the avocados as related by DNA restriction fragment variation. Journal of Heredity 81: 183-188.

Gallegos, E. R. 1983. Algunos aspectos del aguacate y su producción en Michoacán. Universidad Autónoma de Chapingo.

García V. A. 1970. Estudio Botánico-citológico del canelillo. (*Persea* aff. *Cinerascens* Blake) y su posible utilización agronómica Tesis M.C. Chapingo, México

García, A. 1970. Estudio botánico-citológico del "Canelillo" (*Persea* af. *cinerascens*, Blake) su posible utilización. *Agrociencia* 5(1): 119-127.

García, A. 1972. Estudio citológico del "chinini" (*Persea schiedeana*). *Agrociencia* 8: 67-72.

García, A. 1975. Cytogenetical studies in the genus *Persea* (Lauraceae). I. Karyology of seven species. *Can. J. Genet. Cytol.* 17: 173-180.

García, A., and K. Tsunewaki. 1977. Cytogenetical studies in the genus *Persea* (Lauraceae). II. Electrophoretical studies on peroxidase isozymes. *Japan Journal of Genetics* 52(5): 379-386.

García, A., and S. Ichikawa. 1979. Cytogenetical studies in the genus *Persea* (Lauraceae). III. Comparative morphological study on 61 avocado strains. *Japan Journal of Breeding* 29(1): 66-76.

Hernández Suárez, Estrella; Torres Luis, Eduardo; Velásquez Hernández, Yisell. Perera González, Santiago

Departamento de Protección Vegetal (ICIA) Servicio Técnico de Agricultura y Desarrollo Rural del Cabildo Insular de Tenerife.

Kopp, L. E. 1966. A taxonomic revision of the genus *Persea* in the Western Hemisphere (*Perseae-Lauraceae*). *Memoirs of the New York Botanical Garden* 14(1): 1-120.

López López, L., Saavedra G. C. y Rubí A. M. 1995. Selección de segregantes de aguacate *Persea Americana* Mill. bajo condiciones de salinidad. In: Resúmenes 11 congreso Latinoamericano de genética y XV congreso de Fitogenética p 197.

López López, L., y Rubí, A. M. 1993. La biodiversidad del aguacate antillano (*Persea americana* var. *Americana*) en el estado de Nayarit. Memoria 1993 Fundacion Salvador Sanchez Colin CICTAMEX S. C. pp: 61 – 70.

Martínez, B. R. 1997. La producción nacional de aguacate y su importancia en el mercado internacional. Memorias del VI curso de aprobación fitosanitaria en el manejo del aguacate. Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez” Uruapan Michoacán México.

Popenoe W. 1952. The Avocado. In *Central American fruit culture*. CEIBA. 1:305-310 187.

Rodríguez, A. J. y Becerril R., A. E. 1993. La investigación y la docencia en fruticultura en México *Ciencia*. 44:99-110.

Rhodes, A. M., S. E. Malo, C. W. Campbell, and S. G. Carmer. 1971. A numerical taxonomic study of the avocado (*Persea americana* Mill.). *Journal of the American Society for Horticultural Science* 96: 391-395.

Ruiz Valencia, G. 1912. Secretaria de fomento, Dirección General de Agricultura, Estación Agrícola Central. San Jacinto, D.F. Boletín No. 71.

Salazar , G. S., Borys, M. W. y Enríquez R.S.A. 1984. Tolerancia de aguacates *Persea americana* Mill. y *Persea schiedeana* Ness. A condiciones de salinidad progresiva III Caracterización de plantas sobresalientes. *Revista Chapingo* 45 – 46: 16-19.

Sánchez - Colín, S. 1989. Nuevas tecnologías en el cultivo del aguacate. Academia Mexicana de Ingeniería. 59

Sánchez - Colin S. y Campos R. E. 1997. Aguilar y Encinos: Dos nuevas selecciones de aguacate. In: Rubí A. M., López López, L., y G. Zapata (eds.). Memoria 1997 Fundacion Salvador Sanchez Colin CICTAMEX, S. C. pp: 137-134.

Sánchez, P., J.L. 1995. La necesidad de la preservación de recursos genéticos del aguacate y sus parientes silvestres. Memorias Recursos Genéticos Potenciales, tecnologías, alternativas y mercados para la agricultura de la región centro occidente de México CRUCO - Universidad Autónoma de Chapingo, México pp:57-63.

SARH-DGEA, 1983. Econotecnia agrícola (Consumo aparente de los productos agropecuarios) 9:64-67.

Schieber, E., and G. A. Zentmyer. 1977. Exploring for *Persea* in Latin America. Proc. 1st international Tropical fruit Short Course, The Avocado. University of Florida, Gainesville, Florida. USA. pp. 16-20.

Schieber, E., and G. A. Zentmyer. 1987. *Persea zentmyerii*: a new species from Guatemala. California Avocado Society Yearbook 76: 199-203.

Schieber, E., and G. A. Zentmyer. 1992. Ancestors of the Guatemalan “criollo” (*Persea americana* var. *guatemalensis*). as studied in the Guatemalan Highlands. Proc. of Second World Avocado Congress II: 535-541.

Schroeder, C. A. 1952. Floral development, sporogenesis and embryology in avocado, *Persea americana*. *Botanical Gazette* 113(3): 270-278.

Scora, R. W., B. O. Bergh, and J. A. Hopfinger. 1975. Leaf alkanes in *Persea* and related taxa. *Biochemical Systematic and Ecology* 3: 215-218.

Scora, R. W., and B. O. Bergh. 1990. The origin and taxonomy of avocado (*Persea americana* Mill.). *Lauraceae. Acta Horticulturae* 275: 387-394.

Smith, C.E. Jr. 1966. Archeological evidence for selection in avocado. *Economic Botany* 20: 169-175.

Smith, N. J.; J. Williams; D. L. Plunknett; and J. P. Talbot. 1992. *Tropical Forest and their Crops.* Comstock Publishing Associates, Cornell University Press. New York. USA. 568 p.

Smith C.E. Jr 1969. Additional notes on preconquest avocados in Mexico. *Economic Botany* 23: 135-140.

Turner, B. L. II, and C.H. Miksiek. 1984. Economic plant species associated with prehistoric agriculture in the Maya lowlands. *Economic Botany* 38(2): 179-173.

Westoby, J., 1989. *Introduction to World Forestry.* Basil Blackwell. Oxford, England.

Williams, L.O. 1977a. The botany of the avocado and its relatives. Proc. 1st international Tropical fruit Short Course, The Avocado. University of Florida, Gainesville, Florida. USA. pp.9-15.

Williams, L.O. 1977b. The avocados, a synopsis of the genus *Persea*, subg. *Persea*. *Economic Botany* 31: 315-320.

Zamora Hernández A. 1997. Fitosanidad en la producción de planta de vivero. Memorias del VI curso de aprobación fitosanitaria en el manejo del aguacate.

7. RELACIÓN DE FIGURAS Y CUADROS

7. RELACIÓN DE FIGURAS Y CUADROS

FIGURAS

	Página
Figura 1. Flor femenina, arriba. Flor masculina abajo.....	3
Figura 2. Hojas cloróticas Deficiencia de hierro. Gardizabal Septiembre 2004.....	12
Figura 3. Frutos con deficiencia de boro. Gardizabal Septiembre 2004.....	13
Figura 4. Hojas con deficiencia de potasio (izqda.). Frutos con deficiencia de potasio (dcha.). Gardizabal Septiembre 2004.....	13
Figura 5. Hojas con deficiencia del fósforo. Gardizabal Septiembre 2004.....	14
Figura 6. Fotografías tomadas de; Guia de Reconocimiento de Plagas. Agosto 2005.....	15
Figura 7. Arriba adulto de trips y daño en hoja, abajo russet en fruto Fotografías tomadas de; Guia de Reconocimiento de Plagas. Agosto 2005.....	16
Figura 8. Distintos estadios del acaro cristalino (izqda.), daños del acaro cristalino (dcha.). Fotografías tomadas de; Guia de Reconocimiento de Plagas. Agosto 2005.....	17
Figure 9. <i>Phytophthora cinnamomi</i> as it would appear under a high-power microscope: a, non-papillate sporangia; b, sporangia which have proliferated internally; c, a sporangium where contents have divided up to form zoospores; d, sporangium releasing motile zoospores (drawing by L. Gray).38	
Figure 10. <i>Phytophthora cactorum</i> as it would appear under a high-power microscope: a, oospores of varying maturity with attached antheridia; b, sporangia (drawing by L. Gray.....	38
Figura 11 Índice de Valoración de Síntomas. Anónimo.....	56
Figura 12, Porcentaje de las 76 muestras analizadas de hongos presentes en la finca inicialmente antes de realizar el ensayo.....	89
Figura 13, Expresion gráfica de la densidad de inóculo de <u>Fusarium oxysporum</u> en biosolarización...91	
Figura 14, Expresión gráfica de la densidad de inóculo de <u>Fusarium solani</u> en biosolarización...92	
Figura 15 Expresión gráfica de la densidad de inóculo de <u>Fusarium roseum</u> en biosolarización...92	
Figura 16, Expresion gráfica de la densidad de inóculo de <u>Cylindrocarpon</u> en biosolarización...92	
Figura 17, Expresión gráfica de la densidad de inóculo de <u>Fusarium oxysporum</u> en biofumigación...95	
Figura 18, Expresión gráfica de la densidad de inóculo de <u>Fusarium solani</u> en biofumigación...95	
Figura 19, Expresión gráfica de la densidad de inóculo de <u>Fusarium roseum</u> en biofumigación...96	
Figura 20 Expresión gráfica de la densidad de inóculo de <u>Cylindrocarpon</u> en biofumigación,...96	
Figura 21, gráfica de resúmenes de casos de unidades formadoras de colonias de los distintos tratamientos antes y después en los distintos hongos, <i>F. oxysporum</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. roseum</i> y <i>Cylindrocarpon</i>	98

Figura 22 Aislamiento de <u>Phytophthora</u> de las raicillas de árboles de aguacate antes y después de biosolarizar.....	101
Figura 23, Expresion gráfica de los resultados del analisis del suelo para <u>Pythium spp.</u> antes y despues de biosolarizar.....	102
Figura 24, Expresión gráfica de los resultados del análisis de raicillas de aguacate para <u>Pythium spp.</u> antes y después de biosolarizar.....	103
Figura 25, Aislamiento de <u>Phytophthora</u> de las raicillas de árboles de aguacate antes y despues de biofumigar.....	105
Figura 26, Expresion gráfica de los resultados analiticos del suelo para <u>Pythium spp.</u> antes y despues de biofumigar,.....	106
Figura 27. Expresión gráfica de los resultados del análisis de raicillas de aguacatero para <u>Pythium</u> , antes y despues de biofumigar.....	106
Figura 28, Expresión gráfica de los resultados del análisis de raicillas de aguacatero para <u>Phytophthora</u> , antes y despues testigo.....	108
Figura 29 Expresion gráfica de la disminucion de <u>Phytophthora</u> en las raices de los árboles, antes y despues de biodesinfectar,.....	109
Figura 30, Expresion gráfica de los resultados analiticos del suelo para <u>Pythium spp.</u> antes y despues testigo.....	110
Figura 31, Expresión gráfica de los resultados del análisis de raicillas de aguacatero para <u>Pythium</u> , antes y despues testigo.....	110
Figura 32 Expresión gráfica de la gravedad de los síntomas de las distintas cepas inoculadas con <u>P. cinnamomi</u> ,.....	113
Figura 33, Expresión gráfica del incremento del crecimiento expresado en centímetros total de las plántulas inoculadas con <u>P. cinnamomi</u>	114
Figura 34, Expresion gráfica del incremento de crecimiento en longitud en centímetros del tratamiento biosolarización.....	117
Figura 35,Expresión gráfica del aumento del grosor en centímetros del tratamiento biosolarización.....	117
Figura 36 Expresión gráfica del incremento de crecimiento en longitud en cm del tratamiento biofumigación.....	119
Figura 37 Expresión gráfica del incremento de crecimiento en grosor cm del tratamiento biofumigación.....	119
Figura 38 Expresión gráfica del incremento de crecimiento en longitud en cm del tratamiento árboles testigo.....	121
Figura 39. Expresión gráfica del incremento de crecimiento en grosor cm del tratamiento árboles destigo.....	121

Figura 40 Expresión gráfica del incremento de crecimiento en longitud en cm de los distintos tratamientos, biosolarización, biofumigación y testigo.....	122
Figura 41 Expresión gráfica del incremento de crecimiento en grosor en cm de los distintos tratamientos, biosolarización, biofumigación y testigo.....	122

CUADROS

	Página
Cuadro 1. Principales países productores de aguacate.....	1
Cuadro 2, Principales países exportadores de aguacate.....	1
Cuadro 3: Fenología floral en aguacate.....	4
Cuadro 4: Elementos y nutrientes en una muestra de 100 g de pulpa de aguacate.....	5
Cuadro 5. Nutrientes en hoja, recomendada en la variedad Hass. (Ignacio Escobar et al. 2001).....	7
Cuadro 6. Evaluación de síntomas y presencia de hongos en la finca.....	57
Cuadro 7. Relación entre el índice de síntomas y la presencia de Oomicetos en el suelo colonizado por las raíces.....	58
Cuadro 8. Estado de los árboles y aspecto de la parcela.....	59
Cuadro 9. Árboles seleccionados para la biosolarización.....	61
Cuadro 10. Árboles biofumigados.....	64
Cuadro 11. Árboles testigo.....	67
Cuadro 12. Árboles cuyos suelos fueron analizados para la microbiota fusárica.....	72
Cuadro 13, Trampas fruto Aguacate del agua de riego procedente pantano La Viñuela.....	75
Cuadro 14, Árboles analizados para las trampas fruto de aguacate.....	77
Cuadro 15. Trampas fruto transcurridos 90 días del experimento.....	77
Cuadro 16 Trampas fruto en zonas anexas a los tratamientos.....	78
Cuadro 17, Trampa pétalos de clavel.....	79
Cuadro 18, Muestras seleccionadas para la siembra de raicillas.....	83
Cuadro 19, Cepas utilizadas para la inoculación de plántulas.....	84
Cuadro 20, código de plántulas de los aislados, (La primera letra es para cada código de aislado y la segunda letra es para la repetición por cada código con un total de 10 repeticiones por aislado.)....	86

Cuadro 21, Árboles en los que se evaluó el efecto vigorizante de los árboles de los distintos tratamientos. Mediciones tanto en longitud y grosor de ramas,.....	88
Cuadro 22, Árboles Biosolarizados y testigos para el estudio de la flora fusárica.....	90
Cuadro 23, Resultados de los análisis del suelo selectivo para Fusarium de <u>árboles biosolarizados</u> . En el código de muestra el 1 significa antes del tratamiento y 2 para después del tratamiento. Muestran la media de colonias \pm la desviación estándar.....	91
Cuadro 24, Árboles biofumigados para el estudio de flora fusarium.....	93
Cuadro 25, Resultado de los análisis de suelo selectivos para Fusarium de árboles biofumigados. En el código de muestra el 1 significa antes del tratamiento y 2 para después del tratamiento. Muestran la media de colonias \pm la desviación estándar.....	94
Cuadro 26, Resultados de los análisis de suelos selectivos para Fusarium de árboles testigos. En el código de muestra el 1 significa antes del tratamiento y 2 para después del tratamiento. Muestran la media de colonias \pm la desviación estándar.....	97
Cuadro 27. Resultados sobre el análisis de suelo del alcorque y de las raicillas de árboles biosolarizados utilizando diferentes técnicas para <u>Phytophthora sp</u>	100
Cuadro 28, Efecto de la biosolarización en suelo y raicillas de aguacatero en la disminución de la presencia de <u>Pythium spp</u>	102
Cuadro 29, Efecto sobre <u>Phytophthora spp</u> de la biofumigación en suelo y raicillas de árboles de aguacate biofumigados.....	104
Cuadro 30, Efecto de la biofumigación en suelo y raicillas de aguacatero sobre <u>Pythium spp</u>	105
Cuadro 31, Resultados sobre el análisis del suelo del alcorque y de las raicillas de árboles testigo utilizando diferentes técnicas de aislamiento de <u>Phytophthora</u>	107
Cuadro 32, Media y desviación estándar de la presencia de <u>Phytophthora</u> en las raicillas de los aguacateros para los tratamientos de biodesinfección en relación al testigo, considerando todos los árboles.....	108
Cuadro 33, Resultados sobre el análisis para <u>Pythium</u> del suelo del alcorque y de las raicillas de los árboles testigos utilizando diferentes técnicas de aislamiento.....	109
Cuadro 34. Media y desviación estándar de las raíces de trampas de raíces para Pythium de los tratamientos biosolarización, biofumigación y árboles testigo.....	111
Cuadro 35 patogeneicidad de los aislados de P. cinnamomi sobre plántulas de aguacatero.....	113
Cuadro 36 , Incremento del crecimiento de los brotes de árboles biosolarizados tanto en longitud como en grosor.	116
Cuadro 37, Valores medios de los incrementos de grosor y longitud de los brotes de los árboles biosolarizados.....	116
Cuadro 38, Incremento del crecimiento de los árboles biofumigados tanto en longitud como en grosor.....	118

Cuadro 39, Valores medios de los incrementos del grosor y longitud de los brotes de los árboles biofumigados.....	118
Cuadro 40. Incremento del crecimiento de los árboles testigo tanto en longitud como en grosor.....	120
Cuadro 41. Valores medios de los incrementos del grosor y longitud de los brotes de los árboles testigo.....	120
Cuadro 42. Valores medios del vigor de los brotes de los árboles con biodesinfección frente al testigo.....	122

FOTOS

Foto 1, finca, al fondo árboles de 23 años.....	54
Foto 2, Izqda. Tiras de plástico de 6.5x6.5m. Derecha cubrición del alcorque con el plástico.....	62
Foto 3 Izqda. y Derecha distintos estadios de la cubrición con el plástico.....	63
Foto 4, Izqda. Detalle del sellado del plástico por la unión, con cinta de plástico.....	63
Foto 5, Izqda. y Derecha, Árbol finalizado con el plástico.....	64
Foto 6.Izq. rotovator roturando el alcorque del árbol. Derecha pala apartando la tierra.....	65
Foto 7. Cantidad de materia orgánica a aportar por árbol a tratar.....	66
Foto 8; distintos procedimientos de secado, tamizado, preparación para la siembra y siembra en placas Petri.....	71
Foto 9; Distintos procedimientos de secado, tamizado, preparación para la siembra y siembra en placas Petri, para analizar el suelo de manera selectiva para <u>Fusarium</u>	71
Foto 10 vista de siembra en trampas fruto.....	76
Foto11 Izqda., frutos puestos a secar; derecha detalle de manchas en frutos.....	76
Foto 12; izqda. distintas diluciones de suelo, derecha placas sembradas con pétalos de clavel....	79
Foto 13, Izqda. Selección de raíces de muestra, derecha desinfección de las raíces recogidas.....	81
Foto 14 Izqda., secado de raíces, derecha siembra de raíces en placas Petri en medio cmav.....	82
Foto 15, Izqda., inoculo, derecha plántulas a inocular.....	85
Foto 16 detalle de plántula de aguacate en vaso con vermiculita.....	86
Foto 17 detalle de enumeración y medidas en ramas de aguacate.....	87

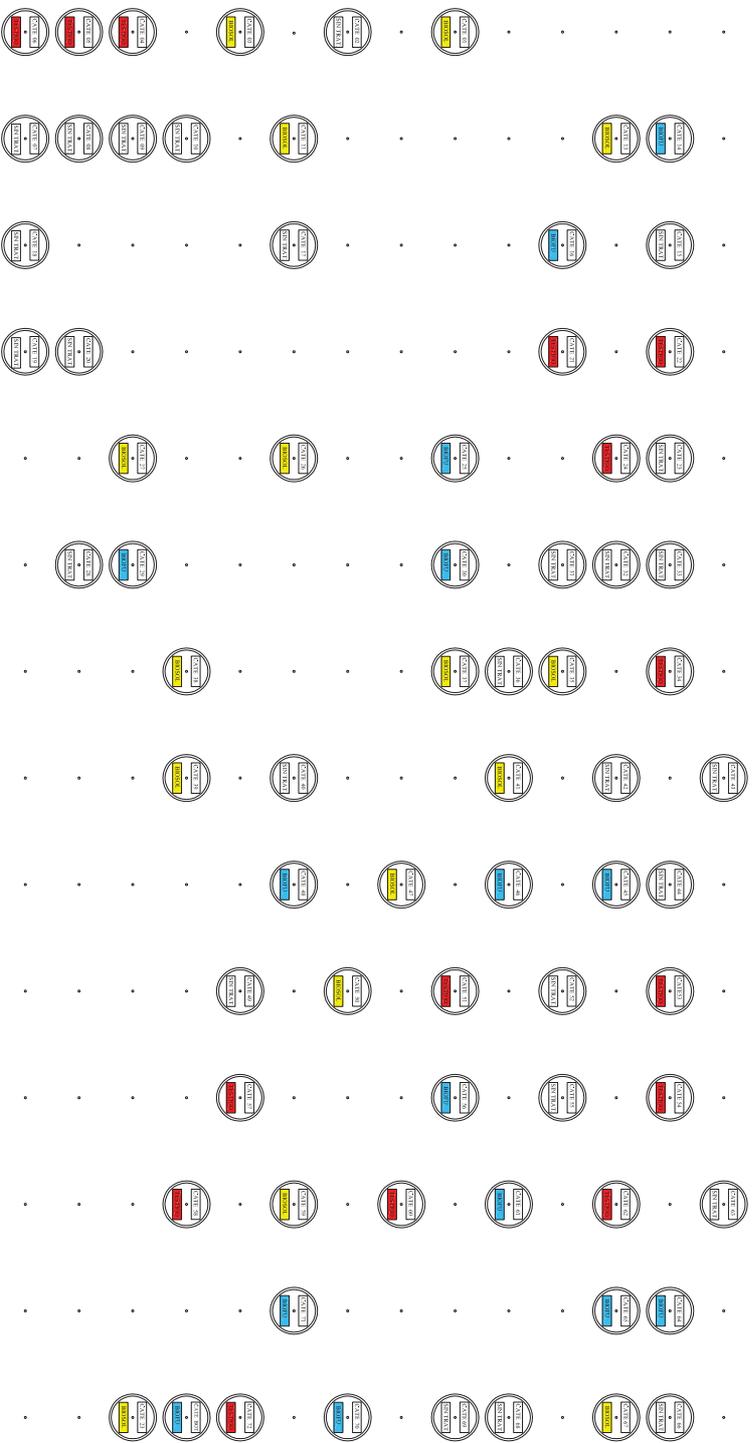
Foto 18, Esporangios de *Phytophthora* en las trampas con pétalos de clavel.....103

Foto 19, Foto 19; Aspecto de las raíces de plántulas inoculadas con *P. cinnamomi* Izqda. 72.2 Ph1, Derecha 16.1 Pcin3.....114

Foto 20; Aspecto de las raíces de plántulas inoculadas con *P. cinnamomi* Izqda. 1.1 Pcin2. Derecha BOT1Ph8.....115

Foto 21, Aspecto de las raíces de plántulas inoculadas con *P. cinnamomi* Izqda. 2.1 Pcin1, Derecha plántulas testigos.....115

CARRETERA DE BENAMARGOSA



- ARBOLES BIOMINGUOS
- ARBOLES BOSQUE AZULADO
- ARBOLES FESTIVO
- ARBOLES SIN TRAXAR

INVERNADERO

ZONA AGUACATES 4 AÑOS

ESQUEMA VISUAL DE LOS ARBOLES

ESCALA 1:500