

Totipotencialidad en plántulas de aguacate en la resistencia a *Phytophthora cinnamomi**

Totipotency in avocado seedling resistance to *Phytophthora cinnamomi*

Petra Andrade-Hoyos^{1§}, Carlos De León¹, Eduardo Molina Gayosso², María de la Cruz Espíndola Barquera³, Dionicio Alvarado Rosales¹ y Alfredo López Jiménez¹

¹Colegio de Postgraduados-Postgrado en Fitopatología. Carretera México-Texcoco, km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México. C. P. 56230. Tel. 01 738 724 1171, Ext. 150 y 151, 595 95 20200, Ext. 1740, 1681 y 1116. (pandrade@upfim.edu.mx; cdeleon@colpos.mx; dionicio@colpos.mx; lopezja@colpos.mx). ²Universidad Politécnica de Puebla. Tercer Carril del Ejido "Serrano" s/n. San Mateo Cuanalá. Juan C. Bonilla. Tel. 01 222 7746654. (eduardo.molina@uppuebla.edu.mx). ³Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX S. C. Ignacio Zaragoza Núm. 6 Coatepec Harinas, Estado de México. C. P. 51700. Tel. 01 723 1450160. (mespindolab@gmail.com). [§]Autora para correspondencia: andrad@colpos.mx.

Resumen

La identificación de plántulas resistentes de aguacate criollo raza Mexicana, responden de forma natural a la infección por el oomicete *Phytophthora cinnamomi*. Esta respuesta se debe a la variación genética basada en la supervivencia y en la capacidad totipotencial después de la inoculación con el oomicete. El objetivo del presente trabajo fue seleccionar plántulas resistentes para inducir totipotencialidad (formación de nuevos rebrotes) después de la inoculación. En la selección de plántulas de aguacate para resistencia se realizaron dos ensayos, en el primer ensayo se inocularon plántulas de seis genotipos de aguacate Atlixco, Tepeyanco, Tepetl, Toliman, Colín V-33 y Thomas (de 5 cm de altura y de 15 a 20 cm de altura) con un aislamiento virulento de *P. cinnamomi*, en el segundo ensayo se inocularon solamente plántulas de los genotipos Tepeyanco y Atlixco (de 5 cm de altura). La inoculación de plántulas en etapas avanzadas de crecimiento (de 15 a 20 cm de altura) y en etapa juvenil (5 cm de altura) permite detectar resistencia a *P. cinnamomi*. La población de plántulas Atlixco es fuente importante de resistencia debido a que tuvo mayor número de nuevos brotes de plántulas totipotenciales y plántulas asintomáticas. Los genotipos Toliman, Tepetl y Thomas en etapa juvenil

Abstract

The identification of resistant seedlings from native Mexican avocado race, naturally respond to infection by oomycete *Phytophthora cinnamomi*. This response is due to genetic variation based on survival and totipotent capacity after inoculation with oomycete. The aim of this study was to select resistant seedlings to induce totipotency (formation of new shoots) after inoculation. Selecting for resistance avocado seedling, two trials were conducted, in the first trial six avocado seedling Atlixco, Tepeyanco, Tepetl, Toliman, Colin V-33 and Thomas genotypes (of 5 cm and 15 to 20 cm height) were inoculated with a virulent isolate of *P. cinnamomi*; in the second trial only seedlings from Tepeyanco and Atlixco genotypes (5 cm height) were inoculated. Inoculation of seedlings in advanced stages of growth (from 15 to 20 cm height) and juvenile stage (5 cm) allows detecting resistance to *P. cinnamomi*. The seedling population of Atlixco is an important source of resistance, because it had more new shoots of totipotent and asymptomatic seedlings. Toliman, Tepetl and Thomas genotypes in juvenile stage are considered susceptible. Colin V-33 can be a resistant rootstock to *P. cinnamomi*. Atlixco and Tepeyanco are

* Recibido: agosto de 2014
Aceptado: diciembre de 2014

son considerados susceptibles. Colín V-33 puede ser portainjerto resistente a *P. cinnamomi*. Atlixco y Tepeyanco son considerados resistentes-tolerantes al marchitamiento del aguacatero y al cancro producido por *P. cinnamomi*.

Palabras clave: *Persea americana* Mill, oomicete, regeneración de brotes, tristeza del aguacatero, cancro.

Introducción

El oomicete *Phytophthora cinnamomi* causa la pudrición de la raíz y es la enfermedad más destructiva e importante del aguacate en todo el mundo (Zentmyer, 1980; Erwin *et al.*, 1996). En México, una de las principales limitantes en la producción de aguacate es la pudrición de raíces producida por este patógeno. En 1994, esta enfermedad causó la muerte de 100 000 árboles de aguacate *Persea americana* variedad Hass en Uruapan, Michoacán, disminuyendo la producción con pérdidas económicas para los productores por más de 32 millones de pesos (Vidales *et al.*, 1999; Newett *et al.*, 2002). Este oomicete, también ocasiona 90% de incidencia de cancos en el tronco del aguacate, reduciendo la producción y superficie cultivada en la región de Michoacán (Zentmyer 1980; Ceja *et al.*, 2000).

La pudrición de raíces y cancro del tronco del aguacatero causado por el patógeno *P. cinnamomi* se describió por primera vez en Puerto Rico, en 1927 (Zentmyer, 1980; Zentmyer, 1985), y actualmente este patógeno se puede encontrar distribuido en casi todas las áreas productoras de aguacate del mundo (Erwin *et al.*, 1996; Pegg *et al.*, 2008). Este patógeno invade la base del tronco en donde se desarrolla como un cancro que llega a alcanzar de 1 a 2 m de altura, y que se caracteriza por presentar coloraciones de café claro a oscuras y exudaciones acuosas (Zentmyer 1980; Ceja *et al.*, 2000). En 1959, en California EE. UU., se observó por primera vez síntomas de cancro en árboles de macadamia (*Macadamia integrifolia* y *Macadamia tetraphylla*) y aguacate. En 1960, se comprobó que el agente causal del cancro en estos árboles es ocasionado por *P. cinnamomi* (Zentmyer *et al.*, 1961; Zentmyer, 1980).

El oomicete forma clamidosporas, estructuras de resistencia, que sobreviven por largos períodos en el suelo, incluso sin el hospedante, por lo que, una vez establecido en una región determinada, su erradicación es difícil. Las medidas de control para este fitopatógeno son la aplicación de fungicidas

considered resistant-tolerant to marchitamiento del aguacatero (avocado wilt) and cancro (canker) caused by *P. cinnamomi*.

Keywords: *Persea americana* Mill, avocado sadness, canker, oomycete, shoot regeneration.

Introduction

The oomycete *Phytophthora cinnamomi* causes root rot and is the most destructive and important avocado disease worldwide (Zentmyer, 1980; Erwin *et al.*, 1996). In Mexico, one of the main constraints in the production of avocado is root rot caused by this pathogen. In 1994, the disease killed 100 000 avocado trees of *Persea Americana*, Hass variety in Uruapan, Michoacán, reducing the production with economic losses for producers by more than 32 million pesos (Vidales *et al.*, 1999; Newett *et al.*, 2002). This oomycete also causes 90% incidence of cankers on the trunk of avocado, reducing production and cultivated area in the region of Michoacan (Zentmyer 1980; Ceja *et al.*, 2000).

Root rot and canker of trunk in avocado caused by *P. cinnamomi*, was first described in Puerto Rico 1927 (Zentmyer, 1980; Zentmyer, 1985), and now this pathogen can be found in almost all avocado producing areas of the world (Erwin *et al.*, 1996; Pegg *et al.*, 2008). This pathogen invades the base of the trunk where it grows as a canker reaching heights of 1 to 2 m, and is characterized by showing colors from light to dark brown, aqueous exudation (Zentmyer 1980; Ceja *et al.*, 2000). In 1959 in California USA, were noticed for the first time symptoms of canker in macadamia trees (*Macadamia integrifolia* and *Macadamia tetraphylla*) and avocado. In 1960, it was found that the causal agent of canker in these trees is caused by *P. cinnamomi* (Zentmyer *et al.*, 1961; Zentmyer, 1980).

The oomycete forms chlamydospores, resistant structures that survive for long periods in the ground, even without the host, so that, once established in a particular region, its eradication is difficult. Control measures for this pathogen are application of fungicides based on metalaxyl and cultural practices. However, attempts to control this disease show some limitations and are necessary to implement more sustainable measures of control, as in the case of the use of tolerant or resistant rootstock to root rot caused by *P. cinnamomi* (Pegg *et al.*, 2008).

a base de metalaxil y prácticas culturales. Sin embargo, los intentos de control de esta enfermedad presenta algunas limitaciones y es necesario implementar medidas de control más sustentables tal es el caso del uso de portainjertos tolerantes o resistentes a la pudrición de la raíz causada por *P. cinnamomi* (Pegg *et al.*, 2008).

Desde 1940 en California, EE.UU, se ha propiciado la investigación para la búsqueda de portainjertos tolerantes a éste oomicete *P. cinnamomi* Rands. En 1960, Zentmyer colectó semillas de aguacate de varias regiones de México y el Caribe, las colecciones más importantes fueron las provenientes de Atlixco, Puebla, región conocida por su gran variación genética (Anderson, 1950). Estas colecciones de semillas y esquejes presentaban cierto nivel de tolerancia a la enfermedad (Zentmyer, 1961). El origen de los portainjertos de aguacate no es importante para los viveristas ya que utilizaban cualquier tipo de semilla disponible; sin embargo, Pegg *et al.* (2008) mencionan que en Michoacán, México los portainjertos se obtienen a partir de semilla seleccionada de árboles fuertes y sanos. En México, el éxito de la producción de aguacate Hass se debe a que se encuentra injertado sobre el material criollo de la raza Mexicana var. *drymifolia*.

Yasseen (1993) induce variabilidad genética mediante la utilización de bencil adenina y tidiazurón (citocininas) en semillas de aguacate para inducir más de un brote, fenómeno llamado brotes múltiples. Valteur *et al.* (2011) mencionan la utilización de radiación gamma para inducir policaulismo en semillas a utilizar en la propagación clonal de portainjertos tolerantes a *P. cinnamomi*. Sin embargo, estos trabajos no implican la obtención de portainjertos resistentes a este patógeno ya que las semillas no han sido expuestas a la infección por el oomicete.

Zentmyer *et al.* (1994) propuso la selección y desarrollo de portainjertos resistentes como el mejor método para el control de *P. cinnamomi*. Por lo antes expuesto, el objetivo del presente trabajo fue seleccionar portainjertos resistentes a *P. cinnamomi* a partir de plántulas de altura provenientes de semillas de la raza Mexicana (var. *drymifolia*). La resistencia en plántulas criollas de aguacate raza Mexicana responden de forma natural a la infección de *P. cinnamomi*; esta respuesta de resistencia en genotipos criollos se debe a la fuente de riqueza genética basada en la supervivencia y en la capacidad de totipotencialidad después de la infección causada por el oomicete.

Since 1940 in California, USA, research has led to the search for tolerant rootstocks to this oomycete *P. cinnamomi* Rands. In 1960, Zentmyer collected avocado seeds from different regions of Mexico and the Caribbean, the most important collections were from Atlixco, Puebla, a region known for its genetic variation (Anderson, 1950). These collections of seeds and cuttings showed some level of tolerance to the disease (Zentmyer, 1961). The origin of avocado rootstocks is not important for growers as they used any type of seed available; however, Pegg *et al.* (2008) mention that in Michoacán, Mexico rootstocks are obtained selecting seeds from strong and healthy trees. In Mexico, the success of Hass avocado production is that is grafted onto native material Mexican race var. *drymifolia*.

Yasseen (1993) induces genetic variability using benzyl adenine and thidiazuron (cytokinins) in avocado seeds to induce more than one shoot, phenomenon called multiple shoots. Valteur *et al.* (2011) mentioned the use of gamma radiation to induce multiple shoots in seeds used in clonal propagation of *P. cinnamomi* tolerant rootstock. However, these jobs do not involve obtaining resistant rootstocks to this pathogen because seeds have not been exposed to infection by oomycete.

Zentmyer *et al.* (1994) proposed the selection and development of resistant rootstocks as the best method to control *P. cinnamomi*. Based on the latter the objective of this study was to select *P. cinnamomi* resistant rootstocks from seedlings of height from seeds Mexican race (var. *drymifolia*). The resistance in native Mexican avocado seedling naturally responds to infection by *P. cinnamomi*; this response in native genotypes is due to genetic richness based on survival and totipotency ability after infection by oomycete.

Materials and methods

Selecting for resistant seedlings of avocado was conducted in two trials, the first used 90 to 148 seeds of the Mexican race (var. *drymifolia*), and seeds were collected from trees in Atlixco, Puebla and Tepeyanco, Tlaxcala. These genotypes were designated as Atlixco and Tepeyanco. Thomas commercial rootstock (20) and Tepetl (20), Toliman (20) and Colin V-33 (51) genotypes, from seed of the Mexican race, were provided by Salvador Sánchez Colin Foundation,

Materiales y métodos

La selección por plántulas resistentes de aguacate se llevó a cabo en dos ensayos, en el primero se utilizaron de 90 a 148 semillas de la raza Mexicana (*var. drymifolia*), las semillas fueron colectadas de árboles en producción en Atlixco, Puebla y Tepeyanco, Tlaxcala. Estos genotipos se denominaron como Atlixco y Tepeyanco. El portainjerto comercial Thomas (20) y los genotipos Tepetl (20), Toliman (20) y Colín V-33 (51), provenientes de semilla de la raza Mexicana, fueron proporcionados por la Fundación Salvador Sánchez Colín, CICTAMEX S. C. ubicada en Coatepec Harinas, Estado de México (altitud de 2 260 m, latitud de 18° 48' 08" y longitud de 99° 42' 56").

Como fuente de inóculo se utilizó el aislamiento de *P. cinnamomi* CPO-PCU (por sus siglas de registro en el Genbank: Colegio de Postgraduados-*Phytophthora cinnamomi* de Uruapan, número de acceso al Genbank JQ266267) muy virulento, aislado de raíces de aguacate provenientes de un huerto ubicado en Uruapan, Michoacán, México. El oomicete se reactivó en medio agar jugo-V8® a 28 °C durante 8 días. Posteriormente, se transfirieron 10 rodajas del medio de cultivo de 5 mm de diámetro a matraces de 500 mL con medio líquido jugo-V8® (Figura 1) y se incubó a 28 °C. Diez días después de la incubación y multiplicación del oomicete, se procedió a cuantificar el número de fragmentos de micelio por mililitro con un hematocitómetro Neubauer.

Se utilizaron los sustratos de peat moss®, suelo agrícola y agrolita® (en proporción 2:2:1), posteriormente se realizó el llenado de macetas de plástico (capacidad de 1 L) con el sustrato previamente esterilizados por 4 h a 15 lb de presión, durante dos días consecutivos, ocho días después se procedió a sembrar las semillas de aguacate. Previo a la inoculación de los genotipos de aguacate, se hicieron cuatro orificios de 3 cm de profundidad en el suelo circundante a la raíz de plántulas de 5 cm y de 15 a 20 cm de altura en donde se depositaron 200 mL de la suspensión de micelio de *P. cinnamomi* (2.5×10^3 mL), durante el experimento la humedad del suelo se mantuvo a 90%. Las observaciones se realizaron ocho días después de la inoculación, los parámetros a evaluar fueron número de plántulas muertas, número de plantas con desarrollo de cancro y plántulas asintomáticas así como el porcentaje de plántulas que mostraban rebrotes totipotenciales, en 1959 Reinert utilizó este término refiriéndose a las plantas que tienen la capacidad de rebrotar y formar plantas completas (CIAT, 1999; Martínez-Gómez *et al.*, 2004).

CICTAMEX S. C. located in Coatepec Harinas, State of Mexico (altitude 2 260 m, latitude 18° 48' 08" and longitude 99° 42' 56").

As inoculum source an isolate of *P. cinnamomi* CPO-PCU was used (for short log in Genbank: Graduate College-*Phytophthora cinnamomi*-Uruapan, Genbank accession number JQ266267) very virulent, isolated from avocado roots of an orchard located in Uruapan, Michoacán, Mexico. The oomycete was reactivated in V8® agar juice at 28 °C for 8 days. Subsequently, 10 slices of the culture medium of 5 mm diameter were transferred to 500 mL flasks with liquid medium-V8® agar juice (Figure 1) and incubated at 28 °C. Ten days after incubation and oomycete multiplication, proceeded to quantify the number of mycelium fragments per milliliter with a hemacytometer.



Figura 1. Cultivo de *P. cinnamomi*, aislamiento CPO-PCU, en medio líquido jugo-V8®.

Figure 1. Growth of *P. cinnamomi*, isolation CPO-PCU, in liquid medium V8® juice.

Peat moss®, agricultural soil and agrolita® substrates (in proportion 2:2:1) were used, then proceeded to fill plastic pots (1 L capacity) with substrate previously sterilized for 4 h at 15 lb for two consecutive days, eight days later proceeded to sow the seeds of avocado. Prior to inoculation of avocado genotypes, four holes of 3 cm depth were made in the surrounding soil to the roots of seedlings of 5 cm and 15 to 20 cm height in which were placed 200 mL of mycelium suspension *P. cinnamomi* (2.5×10^3 mL) during the experiment soil moisture was maintained at 90%. Observations were made eight days after inoculation, evaluated parameters were number of dead seedlings, number of plants with development of canker and asymptomatic seedlings and percentage of seedlings that showed totipotent sprout, in 1959 Reinert used this

En el segundo ensayo, se utilizaron 320 semillas de raza Mexicana colectadas, de árboles en etapa de producción, de Atlixco, Puebla y Tepeyanco, Tlaxcala, estos genotipos se denominaron Atlixco y Tepeyanco, de los cuales se inocularon 160 plántulas de 5 cm de altura. La tolerancia-resistencia se determinó contabilizando el número de plántulas muertas, con síntomas de cancro y número de plántulas asintomáticas. Entre los 10 a 30 días, simultáneamente, se registró la frecuencia de brotes nuevos después de la muerte de la primera plántula. Con el propósito de evitar escape a la infección los nuevos brotes se reinocularon con 200 mL del concentrado micelial de *P. cinnamomi* ($2.5 * 10^3$ mL). Posteriormente, en los brotes nuevos se registró el porcentaje de mortalidad causada por *P. cinnamomi* y el número de plántulas asintomáticas.

Los datos del número de plántulas muertas, con cancro, asintomáticas y el número de brotes nuevos entre genotipos se analizaron con la prueba de χ^2 (Herrera *et al.*, 2005); los datos fueron analizados con el software SAS® V. 9.0 para Windows (SAS Institute, 2002).

Resultados y discusión

Primer ensayo

Los primeros síntomas de la enfermedad se presentaron de 10 a 20 días después de la inoculación. Estos se caracterizaron por una marchitez en la parte aérea, pudrición de raíces, clorosis general y pérdida de turgencia. Estos síntomas pueden presentarse en cualquier etapa biológica de la planta, desde plántula hasta árboles en producción (Zentmyer, 1985; Téliz *et al.*, 2007). Otro síntoma observado frecuentemente fue el desarrollo de cancro en el tallo que se caracterizó por presentar coloraciones de café claro a oscuras y exudaciones acuosas (Zentmyer, 1980; Ceja *et al.*, 2000); estos síntomas son severos y se presentan cuando las plantas son susceptibles a la infección causada por el patógeno y generalmente provocan la muerte. La variación genética de los genotipos evaluados en plántulas asintomáticas permitirá obtener portainjertos promisorios tolerantes-resistentes a *P. cinnamomi* (Cuadro 1).

La prueba de χ^2 mostró que existen diferencias altamente significativas ($p < 0.001$) entre los genotipos evaluados, donde los genotipos Atlixco y Tepeyanco de la raza Mexicana, al inocularse en su etapa de desarrollo de 5 cm de altura con *P. cinnamomi*, presentaron mayor número de plantas con cancro

term referring to plants that have the ability to sprout and form complete plants (CIAT, 1999; Martínez-Gómez *et al.*, 2004).

In the second trial, 320 Mexican seeds collected of trees from Atlixco, Puebla and Tepeyanco, Tlaxcala were used; these genotypes were called Atlixco and Tepeyanco, from which 160 seedlings of 5 cm were inoculated. Tolerance-resistance was determined by counting number of dead seedlings with canker symptoms and number of asymptomatic seedlings. Between 10 to 30 days, simultaneously, the frequency of new shoots after death of the first seedling was recorded. In order to avoid escape to infection shoots were re inoculated with 200 mL of concentrated mycelia *P. cinnamomi* ($2.5 * 10^3$ mL). Later, in new shoots, mortality rate caused by *P. cinnamomi* and number of asymptomatic seedlings were recorded.

Data on number of dead seedlings, with canker, asymptomatic and number of new shoots among genotypes were analyzed with χ^2 test (Herrera *et al.*, 2005); data were analyzed with SAS V. 9.0 for Windows (SAS Institute, 2002).

Results and discussion

First trial

The first symptoms of the disease appeared 10 to 20 days after inoculation. These were characterized by wilting in aerial parts, root rot, general chlorosis and loss of turgor. These symptoms can appear at any biological stage of the plant, from seedling to tree production (Zentmyer, 1985; Téliz *et al.*, 2007). Another symptom frequently observed was the development of canker in the stem that was characterized by showing color changes from light to dark brown, aqueous exudation (Zentmyer, 1980; Ceja *et al.*, 2000); these symptoms are severe and occur when plants are susceptible to infection caused by the pathogen and usually cause death. Genetic variation from evaluated genotypes in asymptomatic seedlings will allow obtaining promising tolerant-resistant rootstocks to *P. cinnamomi* (Table 1).

χ^2 test showed that there are highly significant differences ($p < 0.001$) among genotypes, where Atlixco and Tepeyanco genotypes, when inoculated in their development stage of 5 cm height with *P. cinnamomi*, showed higher number of plants with canker (21 and 8), whereas Tepeyanco, Atlixco and Colin V-33 selections showed increased number of dead plants (60, 38 and 21) and high mortality rates that ranged

(21 y 8), mientras que las selecciones Tepeyanco, Atlixco y Colín V-33 mostraron un mayor número de plantas muertas (60, 38 y 21) y altos porcentajes de mortalidad que oscilaron entre 40 y 90% (Cuadro 1). Sin embargo, en los genotipos Tepetl, Toliman y Thomas hubo muerte total de plantas, aun cuando el número de plantas evaluadas fue variable en cada genotipo de aguacate (Cuadro 1).

Los genotipos Tepeyanco y Atlixco de raza Mexicana presentaron mayor número de plantas asintomáticas (22 y 31) y mostraron mejor tolerancia-resistencia ante la infección de *P. cinnamomi*. En el presente trabajo se obtuvieron resultados similares a los reportados por Menge (1999) en el portainjerto Thomas, el cual se comporta susceptible en la etapa de plántula (Cuadro 1).

Cuadro 1. Síntomas en plántulas de aguacate raza Mexicana de 5 cm de altura inoculadas con *P. cinnamomi* para selección de tolerancia-resistencia.

Table 1. Symptoms in avocado seedling 5 cm height inoculated with *P. cinnamomi* selection for tolerance-resistance.

Genotipos	Núm. de plántulas inoculadas	Frecuencia de síntomas por <i>P. cinnamomi</i> en plántulas de 5 cm de altura					
		Cancro		Mortalidad		Asintomáticas	
		Núm.	(%)	Núm.	(%)	Núm.	(%)
Atlixco	90	21 [†]	23	38	42	31	34
Colín V-33	23	0	0	21	91	2	9
Thomas	10	0	0	10	100	0	0
Toliman	10	0	0	10	100	0	0
Tepetl	10	0	0	10	100	0	0
Tepeyanco	90	8	9	60	67	22	24
		$\chi^2=43.09$ $p<0.001$		$\chi^2=18.36$ $p<0.0025$		$\chi^2=18.0037$ $p<0.0029$	

[†] χ^2 con $p<0.001$. Ensayo 1.

En los genotipos de aguacate inoculados en etapa de plántula de 15 a 20 cm de altura, las pruebas de χ^2 ($p<0.001$) mostraron diferencias estadísticas significativas en los diferentes síntomas causados por *P. cinnamomi*. Las selecciones Tepeyanco y Atlixco, tuvieron mayor número de plántulas con cancro y mortalidad en comparación con Thomas, Toliman, Tepetl y Colín V-33, que tuvieron menor valor porcentual de plantas con cancro (Cuadro 2).

Los síntomas del cancro del tallo en plántulas se observaron a los 10 y 25 días después de la inoculación mostraron una necrosis en la epidermis del tallo desde su base de la plántula y hasta 1 cm de longitud arriba de la base. En el tallo, la necrosis se extendió de 15 a 20 cm a los 90 días (Figura 2) cuando las plántulas mostraron síntomas de cancro en la epidermis del tallo, posteriormente se observó marchitez y finalmente murieron. Estos síntomas coinciden con las

from 40 to 90% (Table 1). However, Tepetl, Toliman and Thomas genotypes had complete plant death, even when the number of plants evaluated was variable in each avocado genotype (Table 1).

Tepeyanco and Atlixco genotypes showed higher number of asymptomatic plants (22 and 31) and showed better tolerance-resistance to infection of *P. cinnamomi*. In this study similar results to those reported by Menge (1999) in Thomas rootstock, which behaves susceptible in seedling stage (Table 1) were obtained.

Avocado genotypes inoculated during seedling stage of 15 to 20 cm height, χ^2 tests ($p<0.001$) showed statistically significant differences in the different symptoms caused by

P. cinnamomi. Tepeyanco and Atlixco selections, had higher number of seedlings with canker and mortality compared to Thomas, Toliman, Tepetl and Colin V-33, which had a lower percentage value of plants with canker (Table 2).

Symptoms of stem canker in seedlings were observed at 10 and 25 days after inoculation showed necrosis in epidermal stem from base of the seedling and up to 1 cm in length above the base. In stem, necrosis extended from 15 to 20 cm at 90 days (Figure 2) when seedlings showed canker symptoms in epidermal stem, subsequently was observed wilt and eventually died. These symptoms are consistent with the observations made by Ceja *et al.* (2000). Since 1959, were determined for the first time in California, USA, that *P. cinnamomi* was the causal agent of canker in macadamia (*Macadamia integrifolia*) and avocado (*Persea americana*) trees (Zentmyer *et al.*, 1961; Zentmyer, 1980).

observaciones realizadas por Ceja *et al.* (2000). Desde 1959, se determinó por primera vez en California, EE.UU., que *P. cinnamomi* era el agente causal del cancro en árboles de macadamia (*Macadamia integrifolia*) y aguacate (*Persea americana*) (Zentmyer *et al.*, 1961; Zentmyer, 1980).

Los genotipos Tepeyanco, Atlixco, Colín V-33, Toliman y Tepetl presentaron mayor mortalidad de plántulas en comparación con Thomas (Cuadro 2) la variabilidad genética y la respuesta en mortandad se debe a que los genotipos provienen de colectas realizadas de árboles de polinización abierta, con respecto al portainjerto Thomas, el cual proviene de semilla colectada de un árbol clonado y con información genética fija, es decir genéticamente homogénea, el cual le confiere una mejor tolerancia a patógenos del suelo. Entre los genotipos se encontraron 99 y 62 plántulas de los genotipos Tepeyanco y Atlixco como tolerantes-resistentes a *P. cinnamomi*, al mostrar mayor cantidad de plántulas asintomáticas la alta variabilidad genética encontrada en genotipos provenientes de polinización abierta es una opción para encontrar resistencia y posteriormente para clonar y evaluar el comportamiento de la resistencia. Thomas se considera tolerante cuando presentó 6 (60%) plantas asintomáticas. Las selecciones de Tepetl y Toliman se consideran susceptibles al presentar 1 respectivamente, plantas asintomáticas debido a que la mayor población de plántulas se distribuyó en síntomas de cancro y mortalidad (Cuadro 2).

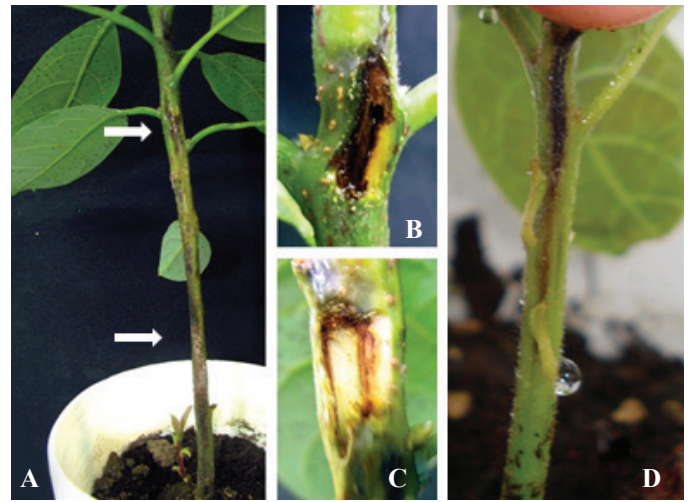


Figura 2. Síntomas inducidos por *Phytophthora cinnamomi* en plántulas de aguacate (*Persea americana* var *drymifolia*) A) cancro (plántulas inoculadas de 15 a 20 de altura); B) cancro con exudaciones acuosas; C) cancro con coloraciones de café claro a oscuras; y D) plántulas con necrosis y constricción del tallo (inoculadas a 5 cm de altura).

Figure 2. Induced symptoms by *Phytophthora cinnamomi* in avocado seedlings (*Persea americana* var *drymifolia*) A) canker (inoculated seedlings of 15 to 20 cm height); B) canker with aqueous exudates; C) canker with colors from light to dark brown; and D) seedlings with necrosis and stem constriction (inoculated at 5 cm height).

Cuadro 2. Síntomas en plántulas de aguacate raza Mexicana de 15 a 20 cm de altura inoculadas con *P. cinnamomi* para selección de tolerancia-resistencia.

Table 2. Symptoms in avocado seedling of 15 to 20 cm height inoculated with *P. cinnamomi* for selection of tolerance-resistance.

Genotipos	Núm. de plántulas inoculadas	Frecuencia de infección por <i>P. cinnamomi</i> en plántulas de 15 a 20 cm de altura					
		Cancro		Mortalidad		Asintomáticas	
		Núm.	(%)	Núm.	(%)	Núm.	(%)
Atlixco	132	38 [†]	29	32	24	62	47
Colín V-33	28	4	14	19	68	4	14
Tepetl	10	4	40	5	50	1	10
Tepeyanco	148	13	9	36	24	99	67
Thomas	10	1	10	3	30	6	60
Toliman	10	3	30	6	60	1	10
		$\chi^2 = 23.1463$ $p < 0.0003$		$\chi^2 = 29.7182$ $p < 0.0001$		$\chi^2 = 44.6981$ $p < 0.0001$	

[†] χ^2 con $p < 0.001$. Ensayo 1.

En genotipos de aguacate inoculados a edad temprana (5 cm de altura) es posible encontrar resistencia a *P. cinnamomi*, debido a que se pueden detectar diferencias

Tepeyanco, Atlixco, Colin V-33, Toliman and Tepetl genotypes had higher seedling mortality compared to Thomas (Table 2), genetic variability and response in

entre los genotipos de aguacate evaluados. Los genotipos Atlixco y Tepeyanco mostraron ser fuente importante de resistencia ya que presentaron mayor número de plantas sanas (asintomáticas) en etapa de plántulas (5 cm de altura) y aún en la etapa más avanzada de crecimiento (15 a 20 cm de altura).

Los materiales evaluados para resistencia en plántulas inoculadas con *P. cinnamomi* emitieron brotes nuevos tras morir el primer brote, como expresión de resistencia al oomicete o mecanismo de respuesta de la planta que se conoce como totipotencialidad (CIAT, 1991). En el Cuadro 3 se muestra el número de rebrotes que se producen después de la inoculación con el oomicete. Las plántulas de 5 cm de altura en los genotipos de Colín V-33, Tepetl, Tepeyanco y Atlixco presentaron valores porcentuales similares; los resultados posiblemente se deben a que provienen de una población genéticamente variable; es decir, que la población de semillas colectadas de árboles en producción tiene un amplio pool de genes por encontrarse en un huerto de polinización abierta, como resultado la prueba de χ^2 ($p < 0.05$) no mostró diferencias estadísticas significativas entre los genotipos de aguacate para la generación de nuevas plántulas. Sin embargo, Thomas y Toliman no formaron nuevos brotes después de la inoculación con *P. cinnamomi*; la ausencia de nuevos brotes se debe a la incapacidad y baja frecuencia genética del carácter.

mortality is due to genotypes come from collections made from open pollinated trees, regarding to Thomas rootstock, which comes from seed collected from a cloned tree and fixed genetic information, that is to say genetically homogeneous, which gives better tolerance to soil pathogens. Among genotypes were found 99 and 62 seedlings of Tepeyanco and Atlixco genotypes as tolerant-resistant to *P. cinnamomi*, showing greater number of asymptomatic seedlings; high genetic variability found in genotypes from open pollination is an option to find resistance and subsequently to clone and evaluate the behavior of resistance. Thomas is considered tolerant for showing 6 (60%) asymptomatic plants. Tepetl and Toliman selections are considered susceptible for showing 1 asymptomatic plants respectively, because most seedling population were distributed in canker symptoms and mortality (Table 2).

In avocado genotypes inoculated at an early age (5 cm height), is possible to find resistance to *P. cinnamomi*, because it can detect differences between evaluated genotypes. Atlixco and Tepeyanco genotypes shown to be an important source of resistance as they presented a higher number of healthy plants (asymptomatic) at seedling stage (5 cm high) and even in the most advanced stage of growth (15-20 cm).

Cuadro 3. Totipotencialidad y síntomas en plántulas de aguacate raza Mexicana de 5 cm de altura inoculadas con *P. cinnamomi* para selección de tolerancia-resistencia.

Table 3. Totipotency and symptoms in avocado seedlings 5 cm height, inoculated with *P. cinnamomi* for selection of tolerance-resistance.

Genotipos	Núm. de plántulas inoculadas	Frecuencia totipotencial e infección por <i>P. cinnamomi</i> en plántulas de 5 cm de altura					
		Nuevos brotes		Mortalidad		Asintomáticas	
		Núm.	(%)	Núm.	(%)	Núm.	(%)
Atlixco	90	12 [†]	13	2	17	10	83
Colín V-33	23	4	17	1	25	3	75
Tepetl	10	2	20	2	100	0	0
Tepeyanco	90	15	17	5	33	10	67
Thomas	10	0	0	0	0	0	0
Toliman	10	0	0	0	0	0	0
		$\chi^2 = 4.29$ $p < 0.5081$		$\chi^2 = 5.77$ $p < 0.1231$		$\chi^2 = 5.77$ $p < 0.1231$	

[†] χ^2 con $p < 0.001$. Ensayo 1.

El genotipo Atlixco presentó bajo porcentaje de mortalidad (Cuadro 3), mientras que Colín V-33 y Tepeyanco mostraron 25 y 33% de muerte, respectivamente, mientras que Tepetl presentó 100% de mortalidad después de 10 días de la

The materials evaluated for resistance in seedlings inoculated with *P. cinnamomi* showed new shoots after the first shoot died, as an expression of resistance to oomycete or response mechanism of plant that is known as totipotency

inoculación. Los genotipos Atlixco y Tepeyanco se consideran resistentes a *P. cinnamomi*, al mostrar el porcentaje más alto de rebrotes asintomáticos (equivalente a 10 nuevos brotes) en comparación con el genotipo Colín V-33 que emitió 3 brotes de plántulas asintomáticas (Cuadro 3).

La inoculación en plántulas de 5 cm de altura estimuló la totipotencialidad (capacidad de rebrotación). En la Figura 3, se muestra la muerte de la primera plántula tras la inoculación con *P. cinnamomi* y la formación del nuevo brote con el desarrollo de una raíz principal y raíces adventicias vigorosas. La capacidad de regenerar nuevas raíces en estos genotipos es un mecanismo de respuesta de resistencia genética basada en la supervivencia y capacidad totipotencial ante la inoculación de plántulas con el patógeno. Esta respuesta de la plántulas se puede observar cuando las plántulas o portainjertos provienen principalmente de semillas de raza Mexicana. Por lo anterior, la mayoría de los árboles de aguacate en Australia y México están injertados sobre portainjertos de semillas procedentes de árboles de polinización libre, de raza Mexicana, que provee la posibilidad de que exista una variación genética en sus huertos para la selección de resistencia a *P. cinnamomi*. Pegg *et al.* (2008) mencionan que los portainjertos australianos cultivar Thomas y genotipo de raza Mexicana como Duke sobreviven y prosperan en condiciones de alta presión de inóculo debido a la capacidad de los portainjertos para regenerar rápidamente nuevas raíces.



Figura 3. A) totipotencialidad en plántulas de Atlixco y; B) totipotencialidad en plántulas de Tepeyanco con 5 cm de altura, 10 días después de la inoculación con *P. cinnamomi*.

Figure 3. A) totipotency of Atlixco seedlings and B) totipotency of Tepeyanco seedlings with 5 cm height 10 days after inoculation with *P. cinnamomi*.

(CIAT, 1991). Table 3 shows the number of new shoots produced after inoculation with oomycete. Seedlings of 5 cm in Colin V-33, Tepetl, Tepeyanco and Atlixco had similar percentages; the results probably are due to they come from a genetically varying population; i.e. the population of seeds collected from trees in production have a large pool of genes found in an open pollination orchard, as result χ^2 test ($p < 0.05$) showed no statistically significant differences among genotypes for the generation of new seedlings. However, Thomas and Toliman did not form new shoots after inoculation with *P. cinnamomi*; the absence of new shoots is due to the inability and low gene frequency of character.

Atlixco showed low mortality rate (Table 3), while Colin V-33 and Tepeyanco showed 25 and 33% death, respectively, while Tepetl showed 100% mortality after 10 days of inoculation. Atlixco and Tepeyanco genotypes are considered resistant to *P. cinnamomi*, showing the highest percentage of asymptomatic new shoots (equivalent to 10 new shoots) compared with Colin V-33 that showed three asymptomatic seedling shoots (Table 3).

Inoculation of seedlings 5 cm height stimulated totipotency (shoot formation capacity). Figure 3 shows the death of the first seedling after inoculation with *P. cinnamomi* and formation of new shoot with development of main root and vigorous adventitious roots. The ability to regenerate new roots in these genotypes is a response mechanism of genetic resistance based on survival and totipotent capacity before seedling inoculation with the pathogen. This response can be observed when seedling or rootstocks come from seeds of Mexican race. Therefore, most avocado trees in Australia and Mexico are grafted onto seed rootstock coming from open pollinated trees of Mexican race, which provides the possibility of a genetic variation in orchards for selections of resistance to *P. cinnamomi*. Pegg *et al.* (2008) mention that Australian Thomas rootstock and Mexican race genotypes as Duke survive and thrive under high inoculum pressure due to the ability of rootstocks to quickly regenerate new roots.

The results obtained in studies of formation of new shoots after inoculation suggest that Tepeyanco, Atlixco and Colin V-33 can be considered as tolerant-resistant to *P. cinnamomi*. This pathogen, according to the observation in seedlings, could be responsible for natural mutations by inoculating seedlings, causing the death of these; then some have the ability to regenerate new shoots from seedlings with vigorous roots. Still the mechanisms involved in resistance to

Los resultados obtenidos en los estudios de la formación de nuevos brotes después de la inoculación sugieren que Tepeyanco, Atlixco y Colín V-33 pueden considerarse como tolerantes-resistentes a *P. cinnamomi*. Este fitopatógeno, de acuerdo a la observación en plántulas, podría ser el responsable de provocar mutaciones naturales al inocular en plántulas y provocar la muerte de estas, posteriormente algunas tienen la capacidad regenerar brotes nuevos de plántulas con raíces vigorosas. Aún se desconocen los mecanismos involucrados en la resistencia a la infección de *P. cinnamomi* en plántula de aguacate. Una explicación podría corresponder con los estudios realizados por Ehrenberg *et al.* (1956) quienes mencionan que otras sustancias químicas producidas por hongos pueden llegar raramente a provocar mutaciones; sin embargo, pueden aumentar la proporción de las mutaciones génicas visibles. Tal es el caso del hongo *Clitocybe nebularis* que aumenta la frecuencia de las mutaciones visibles.

En la inoculación de plántulas de 15 a 20 cm de altura, χ^2 ($p < 0.05$) no se observaron diferencias estadísticas significativas entre los genotipos que emitieron nuevas plántulas (Cuadro 4).

Cuadro 4. Totipotencialidad y síntomas en plántulas de aguacate raza Mexicana de 15 a 20 cm de altura reinoculadas con *P. cinnamomi* para selección de resistencia.

Table 4. Totipotency and symptoms in seedlings of avocado Mexican race of 15 to 20 cm height, re inoculated with *P. cinnamomi* for selection of resistance.

Genotipos	Núm. de plántulas inoculadas	Frecuencia totipotencial e infección por <i>P. cinnamomi</i> en plántulas de 15 a 20 cm de altura					
		Nuevos brotes		Mortalidad		Asintomáticas	
		Núm.	(%)	Núm.	(%)	Núm.	(%)
Atlixco	132	8 [†]	6	3	38	5	63
Colín V-33	28	5	18	2	40	3	60
Tepetl	10	3	30	1	33	2	67
Tepeyanco	148	8	5	3	38	5	63
Thomas	10	0	0	0	0	0	0
Toliman	10	1	10	0	0	1	100
		$\chi^2 = 14.03$ $p < 0.015$		$\chi^2 = 0.62$ $p < 0.960$		$\chi^2 = 0.621$ $p < 0.96$	

[†] χ^2 con $p < 0.001$. Ensayo 1.

En los brotes reinoculados, el porcentaje de mortalidad fue superior en Colín V-33, Atlixco, Tepeyanco y Tepetl (entre 30 y 40%), se incrementó el porcentaje de plántulas asintomáticas. Los resultados indican que los genotipos Colín V-33, Tepeyanco, Atlixco y Tepetl tienen comportamiento tolerante-resistente a *P. cinnamomi* (Cuadro 4) y pueden utilizarse en zonas productivas de aguacate. Entre los

infección de *P. cinnamomi* in avocado seedling are unknown. One explanation could correspond to studies conducted by Ehrenberg *et al.* (1956) who mentioned that other chemical substances produced by fungi may rarely cause mutations; however, these may increase the proportion of visible genetic mutations. Such is the case of the fungus *Clitocybe nebularis* that increases the frequency of visible mutations.

In the inoculation of seedlings of 15 to 20 cm, χ^2 ($p < 0.05$), showed no statistically significant differences among genotypes that had new seedlings (Table 4).

In re inoculated shoots, mortality rate was higher in Colin V-33, Atlixco, Tepeyanco and Tepetl (30 to 40%), the percentage of asymptomatic seedlings increased. The results indicate that Colin V-33, Tepeyanco, Atlixco and Tepetl genotypes have a tolerant-resistant behavior to *P. cinnamomi* (Table 4) and can be used in production areas of avocado. Among the studied genotypes, Tepeyanco and Atlixco have been selected for their resistance to infection in inoculated seedlings in stage of 5 cm height and for producing new shoots with the highest number of asymptomatic seedlings after re-inoculation.

Second trial

In order to induce the stimulation of new shoots and obtain individuals showing this promising resistance capability to *P. cinnamomi* g, a second trial was assessed using Atlixco Tepeyanco seedlings, possibly these have greater genetic variability for this character of new shoots formation.

genotipos estudiados Tepeyanco y Atlixco han sido seleccionados por su resistencia a la infección en inoculación de plántulas en la etapa de 5 cm de altura y por producir nuevos brotes con mayor número de plántulas asintomáticas después de la reinoculación.

Segundo ensayo

Con la finalidad de inducir la estimulación de nuevos brotes y poder obtener individuos que muestran esta capacidad de resistencia promisoría a *P. cinnamomi*, se evaluó un segundo ensayo utilizando plántulas de los genotipos Tepeyanco y Atlixco, posiblemente tienen mayor variabilidad genética por este carácter formación de nuevos brotes.

Las plántulas reinoculadas de 5 cm de altura no mostraron diferencias significativas a la infección entre ambos genotipos, los cuales presentaron número similar de plántulas (40 y 45) con síntomas de cancro. Sin embargo, Atlixco mostró mayor número (81) y porcentaje de plántulas muertas (51%) en comparación con Tepeyanco que presentó 27 plántulas muertas (Cuadro 5). En los resultados obtenidos en plántulas asintomáticas, Tepeyanco tuvo mayor frecuencia de plántulas resistentes (93 que correspondió a 58%), mientras que Atlixco tuvo menos número de plántulas sin presencia de síntomas (34 correspondiente a 21%).

Cuadro 5. Síntomas en plántulas de aguacate raza Mexicana de 5 cm de altura reinoculadas con *P. cinnamomi* para selección de resistencia.

Table 5. Symptoms in Mexican avocado seedling of 5 cm height, re inoculated with *P. cinnamomi* for selection of resistance.

Genotipos	Núm. de plántulas inoculadas	Frecuencia de infección por <i>P. cinnamomi</i> en plántulas de 5 cm de altura					
		Cancro Núm.	(%)	Mortalidad Núm.	(%)	Asintomáticas Núm.	(%)
Atlixco	160	45 [†]	28	81	51	34	21
Tepeyanco	160	40	25	27	17	93	58
		$\chi^2 = 0.4$ $p < 0.5268$		$\chi^2 = 40.75$ $p < 0.0001$		$\chi^2 = 45.44$ $p < 0.0001$	

[†] χ^2 con $p < 0.001$. Ensayo 2.

En la prueba para resistencia en plántulas a la marchitez del aguacatero, se está llevando a cabo simultáneamente un método de selección para resistencia a cancro del tronco, ya que recientemente esta enfermedad en la región de Michoacán alcanzó incidencia de 90% (Ceja *et al.*, 2000). Por tanto es de suma importancia contar con portainjertos resistentes no sólo a la marchitez del aguacatero sino también al cancro del tronco.

The re inoculated seedlings of 5 cm height showed no significant differences to infection between the two genotypes, which showed similar number of seedlings (40 and 45) with symptoms of canker. However, Atlixco showed higher number (81) and percentage of dead seedlings (51%) compared to Tepeyanco that had 27 dead seedlings (Table 5). Results obtained in asymptomatic seedlings, Tepeyanco had higher frequency of resistant seedlings (93 which corresponded to 58%) while Atlixco had fewer number of seedlings without the presence of symptoms (34 corresponding to 21%).

In the test for resistance in seedlings to avocado wilt, it is being carried out simultaneously a method of selection for resistance to canker trunk, since recently this disease in the region of Michoacán reached incidence of 90% (Ceja *et al.*, 2000). Therefore it is important to count with rootstock not only resistant to avocado wilt but also to trunk canker.

Stimulation of shoot formation induced by inoculation of Atlixco and Tepeyanco genotypes was 13 and 11 accounted for 8% and 54%, respectively, of a population of 160 inoculated seedlings (Table 6). Totipotent seedlings frequency was low because in nature occurs randomly and at low frequencies. To increase the frequency of new shoots of avocado embryonic axes uses the induction of growth hormones (cytokinins) (Mohamed *et al.*, 1993;

Keightley *et al.*, 2009). Re inoculation ensures *P. cinnamomi* infection on new shoots, which was possible to prove in this research, because no statistically significant differences were found in the number of seedlings of Atlixco and Tepeyanco genotypes. Moreover, the number of asymptomatic seedlings in Atlixco and Tepeyanco was not significant and can be considered that both genotypes are resistant to canker and avocado wilt (Table 6).

La estimulación de rebrotes inducidos por la inoculación de los genotipos Atlixco y Tepeyanco fue de 13 y 11 que correspondió a 8% y 54%, respectivamente, de una población de 160 plántulas inoculadas (Cuadro 6). La frecuencia de plántulas totipotenciales fue baja debido a que en la naturaleza ocurre al azar y en bajas frecuencias. Para aumentar la frecuencia de nuevos brotes de ejes embrionarios de aguacate se utiliza la inducción por hormonas de crecimiento (citocininas) (Mohamed *et al.*, 1993; Keightley *et al.*, 2009). La reinoculación asegura la infección por *P. cinnamomi* en los nuevos brotes, lo cual fue posible comprobar en esta investigación, debido a que no se encontraron diferencias estadísticas significativas en el número de plántulas de los genotipos Atlixco y Tepeyanco. Además, el número de plántulas asintomáticas en Atlixco y Tepeyanco no fue significativo, pudiéndose considerar que ambos genotipos son resistentes al cancro y la marchitez del aguacatero (Cuadro 6).

Conclusions

Inoculation of seedlings allows inducing totipotency and detecting resistance to *P. cinnamomi*. It is possible to obtain resistant rootstocks to *P. cinnamomi* from Atlixco and Tepeyanco populations for their totipotency and health.

Totipotency from Tepeyanco, Atlixco and Colin V-33 populations makes them tolerant-resistant populations to *P. cinnamomi*. These results show new prospects for deepening in the mechanisms of shoot formation as response for seedling defense in Mexican avocado race against infection caused by *P. cinnamomi*.

End of the English version



Cuadro 6. Totipotencialidad en plántulas de aguacate raza Mexicana de 5 cm de altura inoculadas con *P. cinnamomi* para selección de resistencia.

Table 6. Totipotency in Mexican avocado seedlings of 5 cm height inoculated with *P. cinnamomi* for selection of resistance.

Genotipos	Núm. de plántulas inoculadas	Frecuencia totipotencial e infección por <i>P. cinnamomi</i> en plántulas de 5 cm de altura					
		Nuevos brotes Núm.	(%)	Mortalidad Núm.	(%)	Asintomáticas Núm.	(%)
Atlixco	160	13 [†]	8	7	54	6	46
Tepeyanco	160	11	7	6	55	5	45
		$\chi^2=0.1802$ $p \leq 0.671$		$\chi^2=0.0012$ $p > 0.972$		$\chi^2=0.0012$ $p > 0.972$	

[†] χ^2 con $p \leq 0.001$. Ensayo 2.

Conclusiones

La inoculación de plántulas permite inducir la totipotencialidad y detectar resistencia a *P. cinnamomi*. Es posible obtener portainjertos resistentes a *P. cinnamomi* de las poblaciones Atlixco y Tepeyanco por su totipotencialidad y sanidad.

La totipotencialidad de las poblaciones Tepeyanco, Atlixco y Colín V-33 las convierte en poblaciones tolerantes-resistentes a *P. cinnamomi*. Estos resultados muestran nuevas perspectivas para profundizar en los mecanismos de formación de rebrotes como reacción para defensa en plántulas de aguacate raza Mexicana contra la infección causada por *P. cinnamomi*.

Literatura citada

- Anderson, E. 1950. Variation in avocado at the rodiles plantation. *Ceiba* 1:50-55.
- Ceja, T. L. F.; Téliz, O. D.; Osada, K. S. y Morales, G. J. L. 2000. Etiología, distribución e incidencia del cancro del aguacate *Persea americana* Mill. en cuatro municipios del estado de Michoacán, México. *Rev. Mex. Fitopatol.* 18:79-86.
- Ehrenberg, L. A.; Gustafsson; D. and Von Wettstein. 1956. Studies on the mutation process in plants. Regularities and intentional control. Wageningen Chromosome Conf. *In*: Brauer, H.O. *Fitogenética aplicada*. 1987. Mutaciones Cap. 16. Editorial Limusa. 514 p.
- Erwin, D. and Ribeiro, O. 1996. *Phytophthora* diseases worldwide. American Phytopathol. Soc., MN. 270-271 pp.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAOSTAT). 2010. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>.

- Herrera, H. J. G. y Barreras, S. A. 2005. Manual de procedimientos (aplicación del programa SAS). Análisis estadístico de experimentos pecuarios. 2ª (Ed.). Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, Montecillo, Estado de México. 215 p.
- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). 1991. Cultivo de tejidos en la agricultura. *In: fundamentos y aplicaciones*. Roca, W. M. y Mroginski, L. A. (Eds.). Cali, Colombia. 970 p.
- Keightley, P. D. and Halligan, D. L. 2009. Analysis and implications of mutational variation. *Genetica* 136:359-369.
- Martínez-Gómez, P.; Sánchez-Pérez, R.; Dicenta, F. y Gradziel, T.M. 2004. Caracterización de embriones múltiples en almendro. *In: Laurens, F. and Evans, K. (Eds.). XI the eucarpia symp. on fruit breed and genetics. Acta Hort.* 663:819-822.
- Menge, J. A. 1999. Screening and Evaluation of New Rootstocks with resistance to *Phytophthora cinnamomi*. Calif. Avocado Research Symposium. Calif. Avocado Soc. and Univ. of Calif., Riverside. 69-72 pp.
- Mohamed-Yasseen, Y. 1993. In Vitro Propagation of Avocado (*Persea americana* Mill.). Calif. avocado Society Yearbook. 77:107-111.
- Newett, S. D. E.; Crandy, J. H. and Balerdi, C. F. 2002. Cultivars and rootstocks. *In: Whaley, A.; Schaffer, W. and Wolstenholme, B. Avocado: botany, production and uses. BN. (Eds.). CABI Publ.* 161-187 pp.
- Pegg, K.; Smith, L.; Dann, L.; Coates, L. and Whaley, T. 2008. *Phytophthora* resistance in avocado rootstocks. *In: Burke, T. MP Minister for agriculture, fisheries and forestry presenting the RIRDC Australian rural woman of the year award 2008 to Mrs Ros Smerdon. Canberra.* 19(2):52.
- SAS Institute Inc. 2001. SAS/STAT User guide. Release 9.0. North Carolina, USA. 1289 p.
- Téliz, O. D. y Mora, A. A. 2007. Enfermedades del aguacate. *In: Téliz, O. D. y Mora, A. A. El aguacate y su manejo integrado. (Eds.). Mundi-Prensa, Méx.* 171-208 pp.
- Valteur, A.; Cantuarias, A. T. and Ferrari, L. 2011. Use of gamma-ray irradiation on seeds of different avocado cultivars for propagation purposes. *In: VII World Avocado Congress. Cairns, Australia.* 55 p.
- Vidales, F. J. A. y Morales, G. J. L. 1999. Guía para el cultivo del aguacate. Secretaría de Agricultura y recursos Hidráulicos (SARH)- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Guía técnica Núm. 5. 46 p.
- Yasseen, Y. M. 1999. *In vitro* propagation of avocado (*Persea americana* Mill.). Calif. avocado Soc. Yearbook. 77:107-111.
- Zentmyer, G. A. and Storey, W. B. 1961. *Phytophthora* canker of macadamia trees. Calif. Avocado Soc. Yearbook. 45:107-109.
- Zentmyer, G. A. 1980. *Phytophthora cinnamomi* the diseases it causes. Monograph. No. 10. The American Phytopathol. Soc. 96 p.
- Zentmyer, G. A. 1985. Origen and distribution of *Phytophthora cinnamomi*. Calif. Avocado Soc. Yearbook. 69:89-94.
- Zentmyer, G. A.; Menge, J. and Ohr, H. 1994. Compendium of tropical fruit diseases. *In: Ploetz, R. C.; Zentmyer, G. A.; Nishijima, W. T.; Rohrbach, K. G. and Ohr, H. D. Phytophthora root rot. Eds. St. Paul, MN. American Phytopathol. Soc.* 77-79 pp.