

# ANÁLISIS ESPACIAL Y TEMPORAL DE LA PUDRICIÓN DE LA RAÍZ DEL AGUACATE CAUSADA POR *Armillaria* spp. EN MICHOACÁN

Jeny Michua-Cedillo<sup>1</sup>, Daniel Téliz-Ortíz<sup>1</sup>, Salvador Ochoa-Ascencio<sup>2</sup>, María del Pilar Rodríguez-Guzman<sup>1</sup>, Alejandro Alarcón<sup>3</sup>, Carlos de León<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Posgrado en Fitosanidad-Fitopatología, Colegio de Postgraduados, 56230 Texcoco, México. <sup>2</sup>Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez" UMSNH, 60170 Uruapan, Michoacán. <sup>3</sup>Posgrado en Edafología, Colegio de Postgraduados, 56230 Texcoco, México.

Autor de correspondencia: [michua0206@gmail.com](mailto:michua0206@gmail.com)

La incidencia, severidad del daño y mortalidad causados por *Armillaria* spp. se evaluaron durante dos años, en tres huertos de aguacate en Michoacán, México. Se analizó la relación de la enfermedad con temperatura, humedad relativa y precipitación ambientales, con variables edáficas y la presencia y actividad de bacterias, actinomicetos, micorrizas arbusculares, hongos y protozoarios del suelo. La dinámica temporal de la enfermedad se ajustó al modelo de crecimiento monomolecular en su forma linearizada. El comportamiento espacial se analizó gráficamente con mapas espaciales. El rendimiento del aguacate se evaluó con número, diámetro y peso de frutos y área foliar. Las tasas de incremento de la incidencia fueron  $r=0.0008$  para el huerto La Cruz,  $r=0.0009$  para La Tepoja y  $r=0.0013$  para Marikita Peshu. En los tres huertos la incidencia y severidad siempre presentaron un patrón espacial en agregados, cuyo tamaño incrementó con el tiempo; y la incidencia de la enfermedad fue mayor cuando la humedad relativa fue menor al 50% y la temperatura osciló entre 12 y 19°C. La tasa de mortalidad (tm) fue 0.009 para La Cruz y Marikita Peshu, y 0.1334 para La Tepoja. En los huertos La Tepoja y Marikita Peshu la incidencia y severidad fueron más elevadas cuando hubo mayor contenido de materia orgánica y nitrógeno, y viceversa. En los tres huertos la textura, pH y materia orgánica del suelo fueron adecuados al desarrollo de los rizomorfos de *Armillaria*. La presencia y actividad de los diferentes microorganismos fue similar en árboles de aguacate y en pinos; sin embargo, en árboles de aguacate con mayor severidad hubo mayor presencia de microorganismos. El menor peso, diámetro y calidad de frutos, y menor área foliar en los niveles de mayor severidad indicó que la productividad del aguacate se ve afectada negativamente por *Armillaria*, llegando a causar la muerte del hospedante.

**Palabras clave:** hongos fitopatógenos, microorganismos del suelo, *Persea americana*, análisis temporal, análisis espacial.

## 1.INTRODUCCIÓN

*Armillaria* es un basidiomiceto fitopatógeno importante de especies forestales en Norte América (Horsley *et al.*, 2002). Ecológicamente, es considerado como componente natural en los ecosistemas forestales, participando con otras especies de hongos en la degradación de madera; sin embargo, algunas especies causan enfermedad en los bosques provocando pérdidas económicas importantes debido a la muerte del hospedante y a la reducción de su crecimiento (Hood *et al.*, 1991; Kile *et al.*, 1991). A nivel mundial, se reportan aproximadamente 36 especies conocidas de *Armillaria* (Kile *et al.*, 1991). La presencia y distribución de éstas especies varía de acuerdo a las condiciones ambientales, por ejemplo, *A. cepistipes* se distribuye en regiones con altitudes entre 590 y 1820 msnm, por lo que Keça y Solheim (2006) consideran que la altitud es una variable importante para la presencia del basidiomiceto. El hospedante es otra variable importante, no todas las plantas

son susceptibles a una especie determinada por ejemplo, *Armillaria ostoyae* coloniza principalmente coníferas (Lung-Escarmant y Guyon, 2003).

Existe poca información sobre el comportamiento de los focos de infección y la dinámica de la enfermedad en plantaciones grandes y su relación con la mortalidad (Lung-Escarmant y Guyon, 2004). En Canadá, se han realizado trabajos que describen los patrones espaciales y temporales de la enfermedad en abeto negro de 10 años de edad (Bruhn *et al.*, 1996). Redfern y Filip (1991) mencionan que cuando *Armillaria* se establece persiste durante varios años como saprófito en los tocones del hospedante muerto y en éste caso la infección de plantas nuevas ocurre de manera rápida por el contacto de las raíces constituyendo así el inóculo primario.

Los aspectos epidemiológicos de *Armillaria* en aguacate no han sido estudiados. Esta enfermedad se ha considerado como emergente en el cultivo del aguacate (Ochoa, 2011) en México; el primer reporte en este hospedante lo menciona Coria en 2008 en Morelos. En Michoacán, las superficies afectadas por *Armillaria* se encuentran en las proximidades del volcán Parícutin, en San Juan Viejo y Zacán y es frecuente encontrar un árbol afectado y en torno a él varios más, siendo común en árboles mayores de 5 años (Ochoa, 2011). Cuando las plantaciones son jóvenes la dispersión de la enfermedad se genera a partir de los focos de infección de plantaciones viejas o precedentes como se ha observado en bosques de coníferas (Lung-Escarmant y Guyon, 2003). Debido a que no existen estudios epidemiológicos de la enfermedad causada por *Armillaria* en aguacate en México, el objetivo general de este estudio fue determinar el comportamiento espacio-temporal de la enfermedad causada por *Armillaria* sp. en tres huertos de la franja aguacatera bajo diferente sistema de manejo, en relación a las condiciones edafoclimáticas.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1. Evaluación de la disposición espacial y mapeo de la enfermedad.**

Se realizó la inspección de municipios de la franja aguacatera en el estado de Michoacán, en huertos que mostraban síntomas de daño por *Armillaria* establecidos en áreas anteriormente forestales. Se eligieron tres municipios con alta incidencia del patógeno y en cada municipio (Los Reyes, Charapan, Nuevo Parangaricutiro) se seleccionó un huerto (La Cruz, La Tepoja, Marikita Peshu). Se consideraron algunas variables posiblemente útiles para la expresión de la enfermedad como textura y estructura de suelo, cultivar sembrado y edad del huerto. Para la cuantificación del número total de árboles sintomáticos se realizó el censo en tres huertos comerciales con síntomas de *Armillaria*. Con ésta información, se evaluó la incidencia de la enfermedad durante 24 meses (julio 2015-junio 2017) en intervalos mensuales en cada huerto. El muestreo fue dirigido monitoreando árboles que presentaban sintomatología en el follaje corroborando la presencia de la enfermedad por los signos del patógeno en el tronco. En cada huerto, se realizaron cuadrantes que incluyeron arboles sanos y sintomáticos.

#### **Mapas de contorno.**

En los tres huertos seleccionados, se formaron cuadrantes con 25 unidades experimentales debido a la irregularidad de los predios para realizar los mapas de isolíneas utilizando el software Surfer 10 utilizando los valores del número de árboles sintomáticos

obtenidos por cuadrante en cada huerto. Una excepción fue el huerto La Tepoja donde se seleccionó el área oeste debido a los contrastes en incidencia en diferentes puntos de la zona, considerando un total de 1500 árboles. En La Cruz y Marikita, se censó todo el huerto durante las 24 fechas; sin embargo, se eligieron las fechas más contrastantes para representar los cambios representativos de la epidemia en cada huerto.

## 2.2. Ajuste de las curvas del progreso de la enfermedad y dinámica temporal de la enfermedad en términos de tasas absolutas.

El progreso temporal de la incidencia se cuantificó ajustando los modelos logístico [ $\ln(y/1-y) = \ln(y_0/1-y_0) + r_L t$ ]; monomolecular [ $\ln[1/(1-y)] = \ln[1/(1-y_0)] + r_M t$ ] y Gompertz [ $-\ln(-\ln y) = -n(-\ln y_0) + r_G t$ ] (Campbell y Madden, 1990), en su versión linearizada. Los parámetros de tasa  $r_L$ ,  $r_M$ ,  $r_G$  se estimaron aplicando el modelo lineal general (GLM) y el método de mínimos cuadrados, usando el paquete estadístico SAS. Con base a los resultados del coeficiente de determinación ( $R^2$ ), cuadrado medio del error (CME), error estándar de los estimadores de los parámetros  $\beta_0$  y  $\beta_1$ ,  $\hat{S}_{\beta_0}$  y  $\hat{S}_{\beta_1}$  sus probabilidades, así como el comportamiento de los residuales, se seleccionó el modelo que mejor ajustó la curva del progreso de la enfermedad en los tres huertos. Las tasas absolutas se analizaron mediante los cambios en la incidencia de la enfermedad con respecto al tiempo, se aplicó el modelo de crecimiento monomolecular adaptado con la ecuación:  $dy/dt = (1-y)$ . La incidencia en este modelo se midió como  $y$ , por lo que cuantitativamente la epidemia se describe como  $dy/dt$  que es la tasa absoluta de incremento de la enfermedad (Campbell y Madden, 1990).

### 2.2.1. Análisis temporal de la pudrición de la raíz del aguacate por *Armillaria* spp.

La intensidad de la enfermedad se evaluó aplicando la escala de severidad desarrollada por Michua (2014) (Figura 1). Las evaluaciones de severidad de la enfermedad se realizaron mensualmente durante dos años (2015-2017).

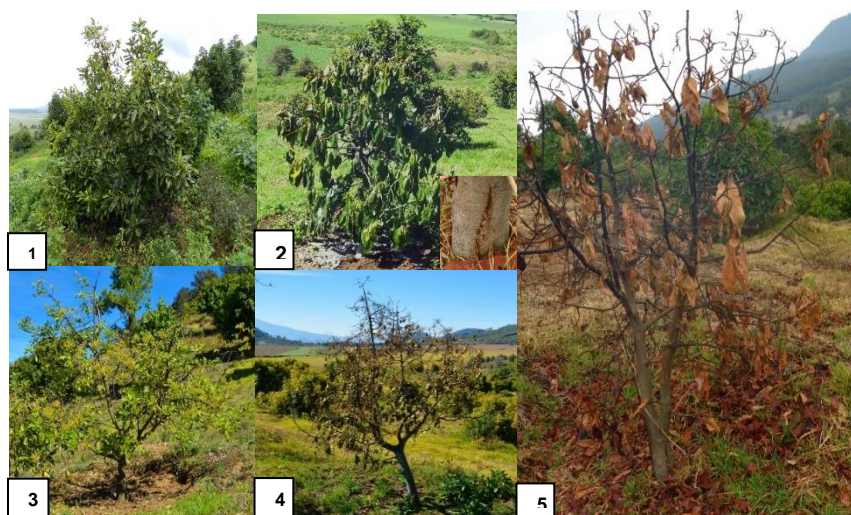


Figura 1. Escala de severidad diseñada por Michua (2014) para la sintomatología de *Armillaria* en aguacate. 1. Sano; 2. Sintomático inicial (flacidez, amarillamiento y grieta en la base del tronco); 3. Sintomático intermedio (Defoliación apical); 4. Sintomático avanzado (defoliación total o parcial, follaje con necrosis); 5. Muerto.

Para el cálculo del índice de severidad se empleó la siguiente fórmula (Campbell y Madden, 1990):

$$IS = \frac{(n_1 \times 1) + (n_2 \times 2) + (n_3 \times 3) + (n_4 \times 4) + (n_5 \times 5)}{n_1 + n_2 + n_3 + n_4 + n_5} \times 100$$

Donde n, se refiere al número de árboles ubicados en el nivel de severidad 1, 2...n; multiplicado por el propio nivel de severidad que le corresponde

También se evaluó el número de árboles muertos en relación al tiempo, como la tasa absoluta de mortalidad, y se cuantificó aplicando el modelo logístico en versión linearizada.

### **2.2.2. Evaluación de variables climáticas y edafológicas**

Las variables climáticas evaluadas fueron temperatura, humedad relativa y precipitación pluvial, las cuales se tomaron de las tres estaciones meteorológicas de APEAM (Asociación de Productores Exportadores de Aguacate de México) cercanas a los huertos, localizadas en San Juan Viejo, Nuevo Zirosto y Tingüindín, respectivamente. Para la evaluación de características edafológicas, se seleccionaron los sitios con diferentes grados de incidencia por *Armillaria*. Las muestras se tomaron a 15 cm de profundidad de los cuatro puntos cardinales de la zona de goteo (1 m de distancia del tronco). Posteriormente, se hizo una muestra compuesta de cada árbol de los diferentes sitios seleccionados en los tres huertos de acuerdo a la superficie muestreada.

### **2.2.3. Extracción de ácidos grasos**

La extracción de ácidos grasos se realizó a partir de muestras compuestas de suelo tomadas en cada uno de los diferentes niveles de severidad. De cada huerto se tomaron dos árboles de cada nivel de severidad. Las muestras se tomaron a 1m de distancia del tronco y de la zona de goteo y a 15 cm de profundidad considerado el sitio con mayor actividad microbiana. Las muestras se trasladaron al Laboratorio de Agroecología del Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad, UNAM, Campus Morelia, en donde se procesaron bajo la asesoría del Dr. John Larsen. El protocolo utilizado para esta técnica fue el de Sasser (1990) que consistió en cuatro fases: saponificación, metilación, extracción y lavado básico. Una vez realizada la extracción, los ácidos grasos se cuantificaron en un cromatógrafo de gases Agilent Technologies® 7890B GC System. El software utilizado para registrar y procesar los datos fue el GC Open AB que es un software diseñado para la visualización, procesamiento y análisis de datos obtenidos en cromatografía de gases multidimensional (GC-GC / Deans Switch), cromatografía de gases bidimensional completa (GCxGC) con modulación de flujo y retrolavado al principio, medio o final de la columna analítica de las muestras (Agilent, 2018).

### **2.2.4. Evaluación del efecto de la enfermedad en la producción biológica y agronómica de la planta hospedante.**

#### **2.2.4.1. Producción y área foliar**

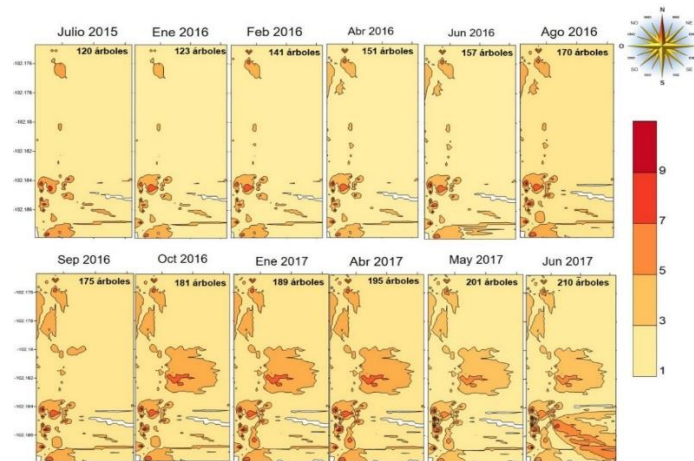
Se evaluó el efecto de la enfermedad sobre la productividad del hospedante; la productividad biológica se evaluó a través de la medición del área foliar, mientras que la productividad agronómica a través de la cantidad y calidad de frutos. Durante el periodo de cosecha se cuantificaron los frutos de cinco árboles de cada nivel de severidad si las unidades experimentales (árboles) se encontraban completas. El peso de frutos se midió en una balanza granataria Ohaus Triple BeamTJEII y el diámetro se tomó con un vernier Surtek®. Los datos obtenidos se graficaron y analizaron estadísticamente mediante un diseño completamente al azar, con el paquete estadístico SAS versión 9.0. El área foliar se evaluó mensualmente durante seis períodos. Se seleccionaron ocho árboles en cada uno de los cinco niveles de severidad de cada huerto. De cada árbol, se colectaron 20 hojas, 10 del estrato superior y 10 del estrato inferior y posterior a la colecta, se midió el área foliar con el método de la cuadrícula (Schaeffer-Noveli y Cintron, 1986).

### **3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **3.1. Análisis espacial**

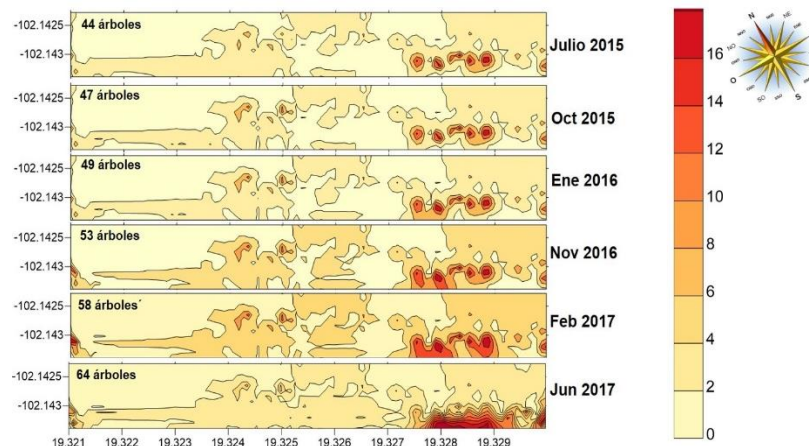
##### **3.1.1. Distribución gráfica de la incidencia de la enfermedad**

De acuerdo a los mapas de contorno de isolíneas, en los tres huertos se observan agregados de diferentes tamaños de árboles enfermos en cada periodo de evaluación. La Tepoja (Figura 2), presentó agregados de hasta nueve árboles enfermos por cuadrante (36% de incidencia). A pesar del número e incidencia de árboles enfermos, la distribución y crecimiento de agregados es lenta, este comportamiento se ilustra por los cambios en el patrón de julio 2015, octubre 2016 y junio 2017. En el huerto Marikita Peshu (Figura 3), se distinguieron dos zonas con incidencia contrastantes, el mapeo de todo el huerto mostró la presencia de una mayor incidencia en la zona con baja del huerto que se mantuvo durante los dos ciclos de la enfermedad en comparación con la zona alta del huerto donde se observaron incidencias por cuadrantes del 64%. En el huerto Marikita Peshu, los mayores agregados de incidencia se formaron con 16 árboles sintomáticos, mientras que en La Cruz (Figura 4), los cuadrantes presentaron sólo tres árboles enfermos, aunque el proceso de dispersión en Marikita fue aún más lenta respecto a La Tepoja.



**Figura 2.** Mapas de contorno de isolíneas del Huerto La Tepoja mostrando agregados de diferente tamaño de la incidencia de *Armillaria* spp en aguacate. Municipio de Charapan, Michoacán, durante dos años de evaluación. La intensidad de agregación (número de árboles enfermos) está representada por la intensidad del color: entre más oscuro es el color mayor la intensidad de la agregación.

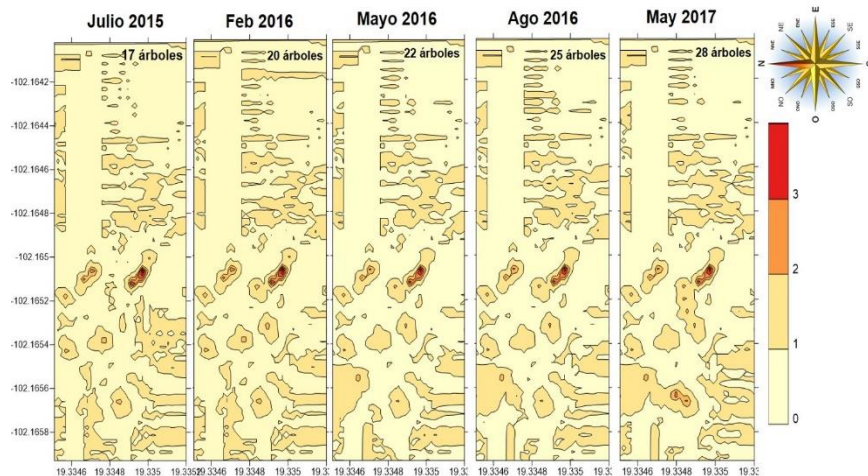
No podemos afirmar que se trate sólo de una dispersión de la enfermedad, puesto que como menciona Aguín *et al.* (2015) en vid, se puede dar el caso de que el patógeno se encuentre en el suelo, pero no en planta, y que el inóculo del suelo sea el que infecte directamente las raíces de los árboles sanos; el mismo fenómeno se puede presentar en el caso de los árboles de aguacate que fueron sembrados sobre suelo infestado con inóculo de *Armillaria*. En aguacate se observó que la enfermedad se dispersó a través de rizomorfos. Se desconoce si árboles de aguacate aparentemente sanos estén o no infectados por *Armillaria*, pero, de ser así, se asume que el patógeno está presente en estos suelos y que fue introducido.



**Figura 4.** Mapas de contorno de isolíneas del Huerto Marikita Peshu (Municipio de Nuevo Parangaricutiro, Michoacán, durante dos años de evaluación) mostrando agregados de diferente tamaño de la incidencia de *Armillaria* spp en aguacate. La intensidad de agregación (número de árboles enfermos) está representada por la intensidad del color: entre más oscuro es el color mayor la intensidad de la agregación.

En el huerto La Cruz (Figura 5), se observaron los focos de infección al inicio del ciclo (julio 2015) distribuidos de forma aleatoria. De acuerdo a las características agronómicas del huerto, la mayor incidencia se localiza en la zona de transición del huerto entre los árboles de siete y 30 años, la presencia de síntomas en ésta zona concuerda con lo

que reporta Ochoa (2011), que hace referencia a que los árboles más susceptibles son aquellos que tienen una edad mayor a cinco años. Siete meses después (febrero 2016), se observa que la enfermedad avanza, aunque la dispersión del hongo es lenta.



**Figura 5.** Mapas de contorno de isolíneas del Huerto La Cruz (Municipio de Los Reyes, Michoacán, durante dos años de evaluación) mostrando agregados de diferente tamaño de la incidencia de *Armillaria* spp en aguacate. La intensidad de agregación (número de árboles enfermos) está representada por la intensidad del color: entre más oscuro es el color mayor la intensidad de la agregación.

### 3.1.2. Ajuste de las curvas del progreso de la enfermedad y dinámica de la epidemia en términos de tasas absolutas.

Los resultados del ajuste de los datos de incidencia de los tres huertos con los modelos epidemiológicos, permitió seleccionar el modelo más adecuado. En los tres huertos, el modelo monomolecular fue el que mejor describió el progreso de la enfermedad, con un porcentaje superior al 90% y un CME menor a 0.005 en los tres sitios. En los tres huertos, la distribución de los residuales indicó que el modelo monomolecular fue el más adecuado para describir la epidemia. Sin embargo, en otros hospedantes, como *P. elliotis* y *P. patula*, donde se ha evaluado la intensidad de enfermedad causada por *Armillaria*, el modelo logístico es el que describe las curvas del progreso de la enfermedad (Swift, 1972), mientras que en abetos negros (*Picea mariana*) la función monomolecular fue también la más apropiada (Bruhn *et al.*, 1996) para describir el comportamiento temporal. La tasa de incremento de la enfermedad en los tres huertos fue menor a 0.05 que concuerda con la velocidad de infección de la enfermedad durante los dos ciclos. Al inicio de la evaluación, La Tepoja fue el huerto que mayor porcentaje de árboles sintomáticos registro, seguido de Marikita Peshu y La Cruz.

Marikita Peshu y La Tepoja mostraron incrementos similares de la enfermedad, con una tasa de incremento estimada de 0.0013 y 0.0008, respectivamente por mes, lo que sugiere que el contagio entre árboles sanos y enfermos es relativamente lento. Esto podría deberse a la biomasa de la raíz y las reacciones de defensa del hospedante con la edad ya que cuando un hospedante es longevo, el proceso de infección por parte del patógeno es lento y se observan respuestas de defensa como la resinosidad y formación de callos principalmente en especies forestales (Mackenzie, 1987; Morrisson *et al.*, 1991), lo fundamenta la incidencia en el huerto La Cruz, en donde el área con mayor presencia de la enfermedad se localizó en árboles menores a 10 años, en comparación con árboles adultos (>30 años), en donde se encontraron tres árboles sintomáticos en los dos años de evaluación. Esto coincide con los datos obtenidos en *P. pinaster* de 10 y 12 años de edad que son más resistentes a la infección

por *Armillaria*, pero es muy susceptible cuando es joven (Lung-Escarmant y Taxis, 1985). Sin embargo, las reacciones de defensa del huésped pueden estar ausentes en pinos maduros (Lung-Escarmant *et al.*, 2002) y *Armillaria* puede continuar causando la muerte del árbol en pinos de 20 a 35 años como reportó Lundquist (1993) en *Pinus elliottii* en Sudáfrica. En el caso de aguacate los pinos del huerto La Cruz que estaban cercanos al sitio de estudio, no mostraron síntomas causados por el patógeno. Al igual que en el patosistema *A. ostoyae* - *Pinus pinaster*, el origen de la enfermedad se debe a que las plantaciones se establecen en sitios la vegetación precedente fue dañada por *Armillaria*, particularmente *A. ostoyae* que es capaz de eliminar un tercio de los árboles plantados en los primeros 10 años. Un caso similar de incidencia fue descrita por Self *et al.* (1988), en *Pinus radiata* en Nueva Zelanda en plantaciones de primera rotación establecidas en sitios convertidos de bosques indígenas. Estas investigaciones respaldan los resultados encontrados en el sistema *Armillaria* spp – *Persea americana*, donde muy probablemente el cambio de uso de suelo es el origen de la pudrición de las raíces del aguacate por el hongo. La densidad del inóculo inicial está relacionada con la velocidad de dispersión o contagio. En el patosistema *Armillaria*, la distancia entre un árbol muerto o enfermo a un árbol joven aumenta o disminuye la probabilidad de infección (Lung-Escarmant y Guyon, 2003).

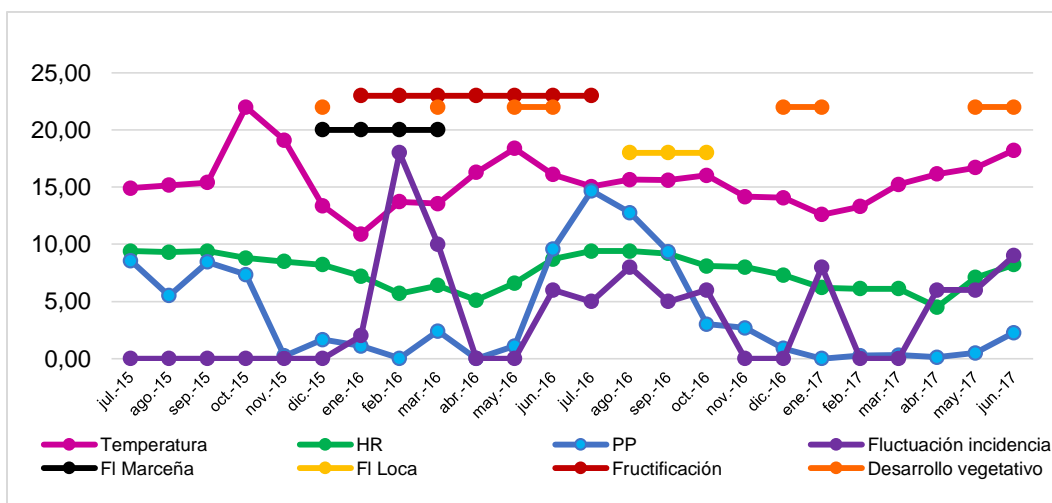
A diferencia de hospedantes forestales donde la enfermedad es lenta, en el caso de aguacate la mortalidad varió en cada huerto, probablemente debido al período de evaluación. En el caso de especies forestales, generalmente se evalúan más de 10 años (Lung-Escarmant y Guyon, 2003), como en *P. pinaster*, mientras que en el presente estudio solo se evaluaron dos años. Particularmente, en éste estudio, donde el período de evaluación fue de 17 años, se identificaron tres periodos de la epidemia determinados por la edad del hospedante, con la primera que mostró el mayor porcentaje de mortalidad (76.5%) cuando la edad del hospedante se encuentra entre uno y seis años, que, análogamente con los datos observados en aguacate existe coincidencia en la susceptibilidad cuando el hospedante es joven.

### **3.2. Variables edafoclimáticas y su relación con la enfermedad**

#### **3.2.1. Relación de variables climáticas con la fluctuación de la incidencia de la enfermedad.**

Los valores máximos de incidencia se presentaron en diferentes fechas, en La Tepoja con una incidencia máxima en febrero de 2016 (Figura 6). Particularmente, en ésta fecha se observaron 18 focos nuevos de la enfermedad en diferentes sitios del huerto y otros que coalescieron entre sí, mientras que en agosto 2016, enero y junio 2017, la incidencia fue de 8, 4 y 9 árboles sintomáticos, respectivamente. En las fechas donde hubo aumento de incidencia, la humedad relativa fue >50% en las cuatro fechas mencionadas anteriormente y el rango de temperatura fue entre 13 y 18.7° C. Estos datos podrían indicarnos una relación indirecta entre la presencia del patógeno y la influencia de las variables ambientales temperatura y humedad relativa del aire; sin embargo lo más indicado es que se evalúen de forma sistemática, durante más años (10-20 años) y se registren las variables de humedad relativa y temperatura del suelo y de precipitación pluvial.





**Figura 6. Dinámica temporal de las variables climáticas, de la fenología del aguacate y de la incidencia de *Armillaria* en el huerto La Tepoja, durante julio-2015 a Junio-2017, en el municipio de Charapan, Michoacán. Escala de la HR 1:10 medida en %: PP en mm y Temperatura en °C.**

En Marikita Peshu, sólo se observaron dos fechas importantes con cuatro y tres árboles enfermos correspondientes a las fechas de diciembre 2016 y mayo 2017 (Figura 28). La baja incidencia en este huerto podría estar relacionada directamente con el empleo de diferentes estrategias de manejo integrado que se aplicaron para la enfermedad, lo que pudo haber restringido y evitado la dispersión del patógeno a los árboles adyacentes a los focos de infección (árboles infectados originalmente). En el huerto la Tepoja, el valor más bajo de HR fue de 57%, mientras que en Marikita Peshu se registró un valor de 46% y un rango de temperatura entre 12 y 16°C en las fechas representativas de la incidencia. La Cruz, registró HR entre 46 y 51% y temperaturas oscilaron entre 15 y 19°C. La mayor incidencia se presentó en mayo del 2017 con tres árboles sintomáticos de entre 10 y 30 años de edad. En los tres huertos, la humedad relativa es probable que sea uno de los factores clave para la presencia del patógeno y la incidencia de la enfermedad que causa; en La Tepoja y La Cruz la enfermedad con mayor número de árboles sintomáticos se registró una humedad relativa menor a 60%, caso contrario al huerto Marikita Peshu esta relación se observó con 81% de HR. Dempster (2017), menciona que probablemente la incidencia de *Armillaria* aumente con condiciones cálidas y secas, situación que similar a los resultados obtenidos en huertos aguacateros como los de éste estudio. Estas condiciones climáticas podrían influir en el crecimiento y distribución de los rizomorfos en el suelo. Con un clima ambiental cálido pero con baja temperatura del suelo, no se limita el crecimiento rizomorfo (La Porta *et al.*, 2008); sin embargo, las condiciones mencionadas afectan los procesos de esporulación y propagación del patógeno.

### 3.2.2. Correlación de variables edáficas con la incidencia y severidad de la enfermedad

En el caso de *A. gallica* y *Armillaria* sp., las características que tienen relación con la incidencia y severidad de la enfermedad son materia orgánica y nitrógeno (Shaw y Kile, 1991). En los huertos La Tepoja y Marikita Peshu, se observó que en los sitios donde hay mayor contenido de materia orgánica y nitrógeno, la incidencia y severidad son más elevadas y en donde estas variables son menores la incidencia es menor. Caso contrario a éste se observó en el huerto La Cruz donde la relación fue inversa, cuando el nivel de nitrógeno y

materia orgánica fue mayor, la incidencia fue menor y viceversa. Por otra parte, el contenido de fósforo potasio y calcio no mostró una relación clara entre la concentración y la severidad.

De acuerdo a Shaw y Kile (1991) las necesidades de *Armillaria* son: temperatura 20 - 26° C, suelo con pH ácido y alto contenido de materia orgánica favorece el desarrollo de los rizomorfos y una precipitación de 1300 mm, además de estar asociado con algunos microorganismos como *Aureobasidium pullulans* que estimulan el desarrollo de los rizomorfos, pero que no necesariamente tienen que estar presentes. Respecto al nitrógeno, los rangos donde se presenta una mortalidad alta oscilan entre 23.6 - 44 mg/kg (Mallet y Maynard, 1998). Respecto a la relación entre la concentración de nutrientes con la enfermedad, Morrison *et al.* (1991), mencionan que la defoliación está estrechamente relacionada con los niveles de carbohidratos y de nitrógeno en las raíces y que, a medida que aumenta la defoliación, el contenido de almidón en las raíces disminuye, como lo muestra el estudio histopatológico realizado por Michua (2014). En árboles de maple y encino rojo, el contenido de nitrógeno en forma de amino es una buena fuente para el desarrollo de *Armillaria* (Weinhold y Garraway, 1968). Algunos estudios, mencionan que la presencia de *Armillaria* es frecuente en suelos con deficiencias nutrimentales como en plantaciones de té y pino, donde el manejo se enfatiza en las prácticas de nutrición (Silverborg y Gilbertson, 1961). En nogal, la deficiencia de calcio está relacionada con el incremento en la severidad de la enfermedad (Marchal y Foex, 1931), mientras que en abeto, niveles bajos de calcio y fosforo y alto de potasio están relacionadas con la mortalidad del hospedante (Shields y Hobbs, 1979).

### 3.2.3. Extracción de ácidos grasos

La tendencia general en todos los grupos de microorganismos cuantificados, mostró que, en aguacate el contenido es ligeramente mayor que en pinos aunque estadísticamente no es significativa, el grupo predominante en ambos casos fue el de las bacterias Gram (-), seguido por actinomicetos, bacterias Gram (+), hongos, micorrizas y protozoarios (Figura 7). La edad de los hospedantes no influyó en el contenido, a pesar de que *P. moctezuma* tuvo una edad mayor a 15 años y *Persea americana* 8 años, no se observaron diferencias contrastantes en comparación con estudios realizados en praderas vírgenes, cuando la edad es un elemento clave en la concentración de microorganismos (McKinley *et al.*, 2005).

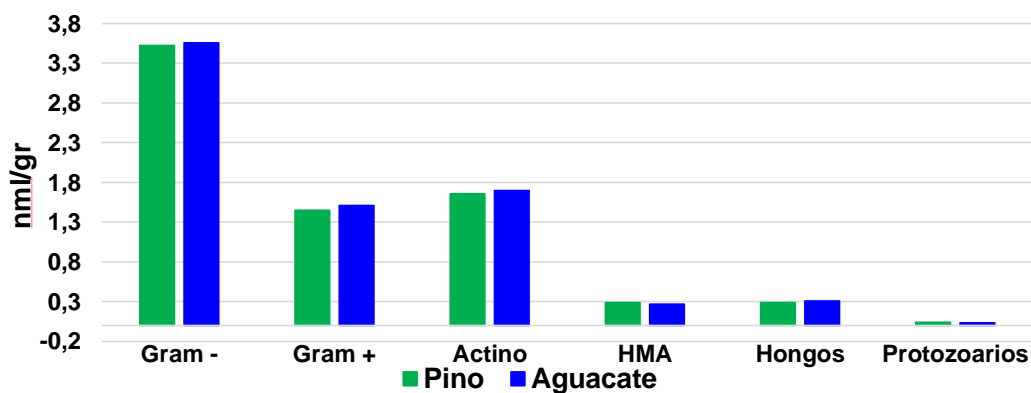


Figura 7. Contenido de ácidos grasos correspondientes a diferentes grupos de microorganismos (nml/gr), en suelo de pinos (10 árboles) y *Persea americana* (25 árboles) con presencia de *Armillaria spp.*

En *P. moctezuma* se observaron diferencias gráficas entre cada árbol muestreado; los pinos 1, 2 y 3 se localizaron intercalados con los árboles de aguacate y el grupo predominante en estos árboles muestreados fue Gram (-), con un contenido entre 3.5 y 5.2 nml/gr, seguido de las Gram (+), actinomicetos, hongos micorrízicos arbusculares, hongos y protozoarios.

En los siete pinos muestreados, ubicados en el área perimetral del huerto, gráficamente mostraron diferencias, sin embargo el número de muestras no permiten un análisis estadístico para precisar éstos datos. Visualmente, se distinguen dos grupos, el primero conformado por el pino 4, 5 y 10 y el segundo conformado por los árboles 6, 7, 8 y 9. Los resultados son similares a los del sitio tres, en donde las bacterias Gram - son las más abundantes y los protozoarios son menores. La cantidad de Gram (-) fue de 1.8 a 5.5 nml/gr, 0.4 a 2.8 de Gram (+), 1.2 a 1.8 en actinomicetos, 0.2 a 0.8 de hongos micorrízicos arbusculares, 0.1 a 0.5 en hongos y 0.1 a 0.3 en protozoarios. Es evidente que la estructura de la biomasa y abundancia y microorganismos del suelo está en función del tipo de sistema, en donde cada campo, bosque o pastizal tiene una red alimentaria de suelo única, con una proporción particular de bacterias, hongos y otros grupos y un nivel particular de complejidad dentro de cada grupo de organismos. Estas diferencias son el resultado del suelo, la vegetación y los factores climáticos, así como las prácticas de manejo de la tierra (Ingham, 2000).

En aguacate, se observa la tendencia (Cuadro 2) en donde la severidad 4 fue la que tuvo mayor contenido de todos los grupos de microorganismos, en comparación con el resto de los niveles de severidad, aunque estadísticamente fue diferente del resto. En ecosistemas forestales, como se observó en éste estudio, predominan las bacterias Gram (-) y en segundo lugar los actinomicetos y las bacterias Gram (+). Se obtuvo un contenido ligeramente mayor de hongos en comparación con los HMA y al final se localizaron los protozoarios. Esta tendencia se observa tanto en pinos como en árboles de aguacate. McKinley *et al.* (2005) mencionan que en praderas vírgenes sin alteraciones, el grupo más abundante es el de las Gram (+), a diferencia de los dos hospedantes de éste estudio donde las Gram (-) son los organismos más representativos. Independientemente del grupo, los resultados en severidad, probablemente se deban a que el nivel 4 es el precedente a la muerte del aguacate y, que considerando el papel saprófito de *Armillaria*, que se considera benéfico en ecosistemas naturales para favorecer el estatus del balance natural (Baumgartner *et al.* 2011; Shaw y Kile, 1991), sea la razón por la cual el contenido de microorganismos aumenta en ésta fase.

**Cuadro 1. Contenido de ácidos grasos provenientes de diferentes grupos de microorganismos, en huertos de aguacate afectados por diferentes niveles de severidad causada por *Armillaria*, y en relación con el contenido de materia orgánica.**

Huerto	Sitio	MO (%)	Sev	Ácidos grasos (nml/gr)					
				G(+)	G(-)	AC	HMA	HO	PR
La Cruz	1	3.06	↓ (1,5)	22.2	8.54	14.2	1.18	4.3	0.11
La Cruz	2	1.94	↑ (1,5)	27.73	11.68	13.02	1.79	1.82	0.42
La Cruz	3	1.66	↑ (1,5)	19.83	8.4	12.42	0.84	2.60	0
La Tepoja	3	5.98	↑ (1,5)	22.7	8.5	11.56	1.47	1.59	0.23
La Tepoja	4	6.56	↑ (1,5)	44.49	22.3	19.05	2.5	5.9	0.16
La Tepoja	5	8.42	↑ (1,5)	35.9	12.9	17.2	2.44	4.42	0.42
Marikita P	1	1.64	↓ (1,5)	17.9	5.16	10.25	0.49	0.74	0.03
Marikita P	2	3.8	↑ (1,5)	14.26	3.81	9.7	0.24	0.58	0

El ANOVA mostró diferencias entre huertos y en algunos grupos las diferencias se observaron en los niveles de severidad, los valores obtenidos fueron menores a 0.05 (0.0001

– 0.009). La prueba de medias señaló que el huerto con mayor abundancia de los seis grupos de microorganismos fue La Tepoja. Todos los grupos con excepción de los protozoarios, mostraron la misma tendencia, siendo la severidad 4 la que mostró mayor contenido. Para los huertos, se observó que en todos los grupos existe una ligera diferencia, el rango de p-value, entre 0.0001 - 0.009, reveló que existen diferencias significativas.

### 3.2.4. Evaluación del efecto de la enfermedad en la producción biológica y agronómica de la planta

#### 3.2.4.1. Producción

Estadísticamente no existen diferencias significativas de las variables entre los huertos y entre severidades. Gráficamente, se observaron diferencias entre severidades, siendo la más representativa la severidad 4 en el huerto La Tepoja, en donde, en promedio, los árboles, en éste nivel, produjeron más de 250 frutos de menor calidad, comparado con árboles sanos donde en promedio se obtuvo de 30 a 80 frutos por árbol con calibre ideal para el mercado de exportación (Figura 8).

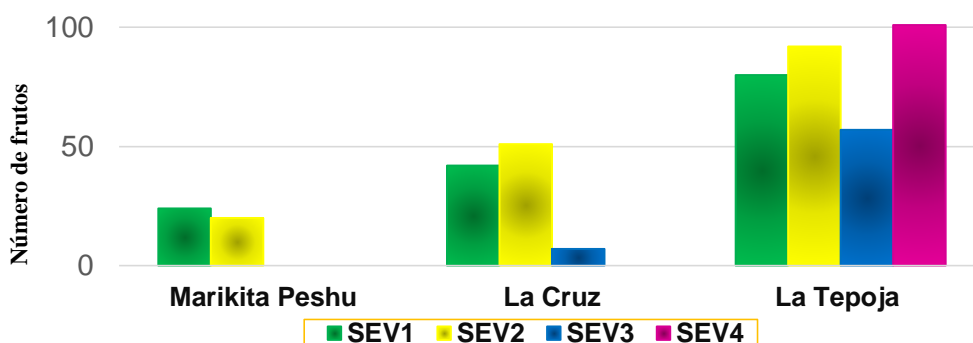


Figura 8. Número de frutos obtenidos en tres huertos comerciales de aguacate afectados por el hongo *Armillaria*.

El peso de frutos mostró una relación inversamente proporcional entre severidad y peso de frutos. A pesar de la producción excesiva de frutos en el nivel de severidad 4, el peso de estos frutos es menor a 150 gr, caso contrario a los huertos Marikita Peshu y La Cruz, donde los frutos de árboles sanos tuvieron un peso promedio superior a los 200 gr (Figura 9).

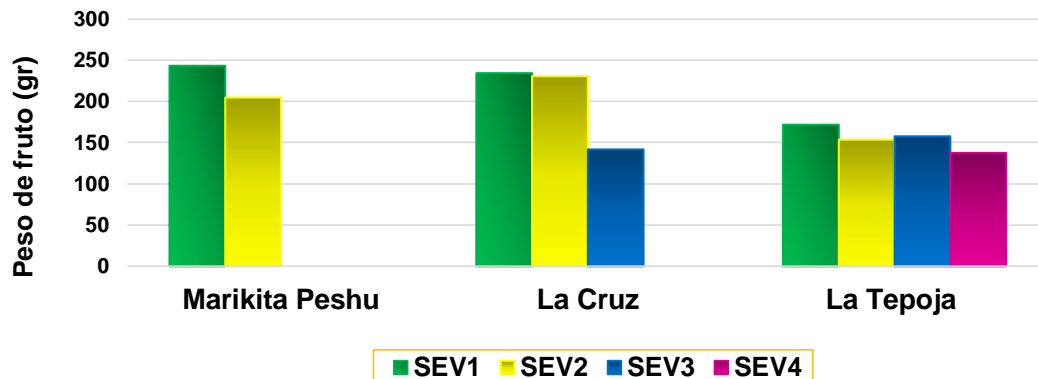


Figura 9. Peso de frutos evaluados en tres huertos comerciales de aguacate afectados por *Armillaria*, con diferentes niveles de severidad.

El diámetro de frutos tuvo el mismo comportamiento que el peso, los frutos de severidad 4 del huerto La Tepoja fueron los más pequeños. La severidad 3, de los huertos La Cruz y La Tepoja, coincidieron en el diámetro y, en ambas severidades, el diámetro fue menor a 60 mm contrario a severidades uno y 2, que mostraron diámetro mayor a 66 mm y 63 mm, respectivamente. En La Cruz y Mariquita Peshu no se observaron diferencias entre los dos niveles iniciales de severidad con frutos con 67 mm de diámetro (Figura 10).

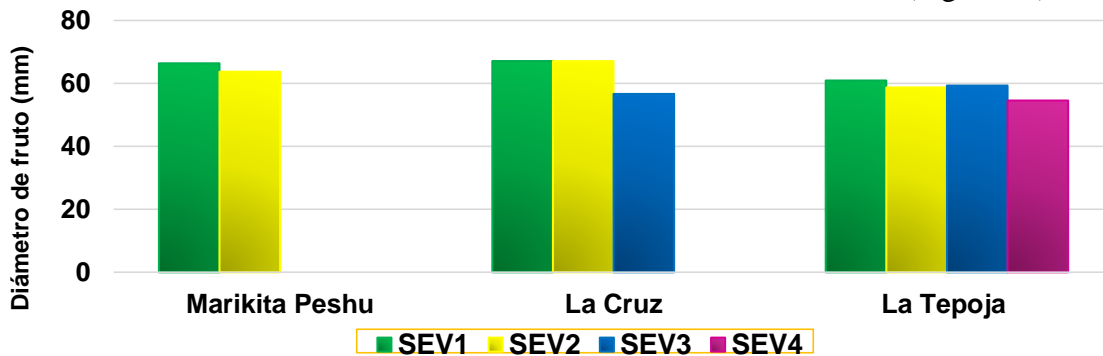


Figura 10. Diámetro de frutos evaluados en tres huertos comerciales de aguacate afectados por *Armillaria* con diferentes niveles de severidad.

En el nivel de severidad 4 en el huerto La Tepoja, los árboles producen frutos de baja calidad, con peso promedio menor a 150 gr, menor al que se demanda comercialmente. Existe la posibilidad de que la producción excesiva de frutos en árboles de severidad 4 es una forma de sobrevivencia del hospedante causando una mayor demanda de nutrimentos para abastecer las necesidades del árbol. Sin embargo, la absorción de nutrimentos no es suficiente debido a la colonización de las raíces. Otros hospedantes responden de la misma manera que en aguacate, un ejemplo son los cítricos y las coníferas, donde la reacción observada al daño causado por *Armillaria*, es la producción excesiva de semillas o frutos de menor tamaño que los normales (Barss, 1913; Buckland, 1953; Rhoads, 1948). Así, se puede asumir que la producción excesiva de frutos en severidad 4 en el huerto La Tepoja, es una respuesta a la infección de *Armillaria* en aguacate.

#### 3.2.4.2. Área foliar y biomasa

En los tres huertos se observó una relación inversa entre severidad y área foliar. Sin embargo, en el huerto La Tepoja gráfica y estadísticamente se observa una marcada diferencia entre la severidad uno y cuatro, siendo en ésta última donde el área foliar disminuyó drásticamente entre los dos niveles (Figura 11).

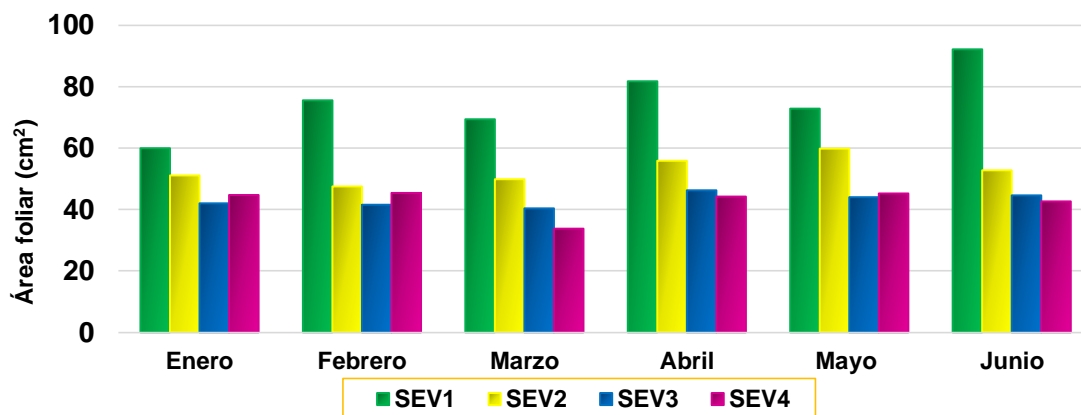


Figura 11. Área foliar evaluada en árboles de aguacate con diferentes niveles de severidad causados por *Armillaria* en el huerto La Tepoja, de Enero a Junio de 2017, en el municipio de Charapan, Michoacán.

Respecto al peso fresco de frutos, también se presentó una relación inversamente proporcional entre severidad y peso fresco (Figura 12). En los tres huertos, se presentó la misma tendencia, durante enero y febrero la severidad 4 tuvo mayor peso que la severidad 3 pero menos que el nivel uno y dos.

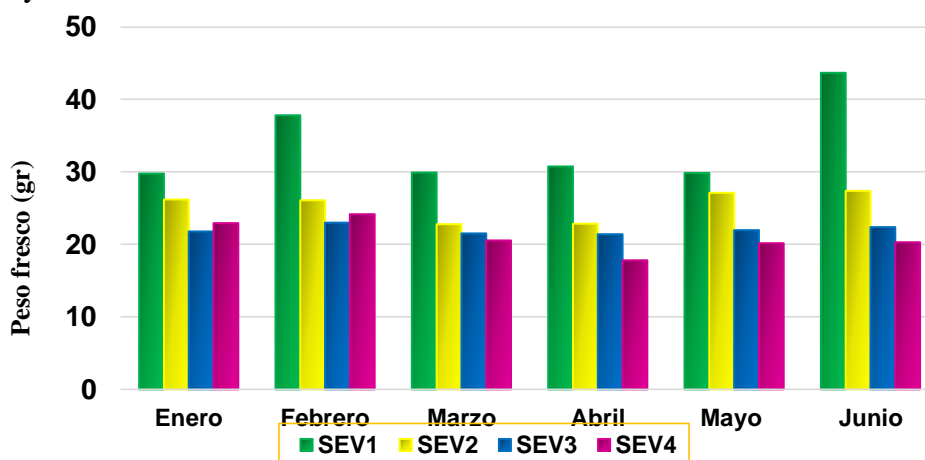


Figura 12. Peso fresco de biomasa evaluado en árboles con diferentes niveles de severidad de la enfermedad causada por *Armillaria* en el huerto La Tepoja, Municipio de Charapan, Michoacán.

A diferencia de los cambios del follaje en pinos, donde se observa coloración rojiza a café oscuro acompañada por resinosis en el tronco y ramas (Morrison *et. al.*, 1991), en aguacate solo se presenta reducción del área fotosintética y amarillamiento. La coincidencia de síntomas causados por *Armillaria* sp. en dos hospedantes diferentes (*Persea americana* y coníferas), radica en que los entrenudos son cortos y se presenta amarillamiento, marchitez y defoliación gradual (Marsh, 1952). En el caso de manzano, el síntoma inicial de infección es la defoliación, a comparación de aguacate donde el síntoma inicial es marchitez seguida de amarillamiento. La productividad del aguacate se ve afectada por el patógeno directamente en la calidad del fruto. Los resultados reportados muestran que cuando *Armillaria* está presente, independientemente del nivel de severidad, existe una disminución en peso y diámetro, contrario al número de frutos, demostrando que el aguacate probablemente utiliza la producción excesiva de frutos en la penúltima fase de la enfermedad, como mecanismo de

sobrevivencia. Sin embargo, a pesar de la producción atípica de frutos, estos no poseen calidad comercial.

#### 4. LITERATURA CITADA

- Agilent. 2018. 7890B GC System. Disponible en <https://www.agilent.com/en/products/gas-chromatography/gc-systems/7890b-gc-system>. Consultado el 31 de Mayo de 2018.
- Aguín, O., Abuín, M., Lozano F., Ferreiroa, V., Corral M., Mansilla, J.P. 2015. Incidencia y distribución del género *Armillaria* en viñedos de las cinco denominaciones de origen de vino de Galicia (noroeste de España). Revista Iberoamericana de Micología. 32:13-19.
- Baumgartner, K., Coetzee, M. P.A., Hoffmeister D. 2011. Secrets of the subterranean pathosystem of *Armillaria*. Molecular Plant Pathol. 12:515-534.
- Bruhn, J. N., Mihail, J. D., and Meyer, T. R. 1996. Using spatial and temporal patterns of *Armillaria* root disease to formulate management recommendations for Ontario's black spruce (*Picea mariana*) seed orchards. Can. J. For. Res. 26:298-305.
- Buckland D.C.1953. Observations on *Armillaria mellea* in mature Douglas fir. Forestry Chronicle. 29: 344-347.
- Campbell C. L., Madden L.V. 1990. Introduction to Plant Disease Epidemiology. New york: John Wiley & Sons, 532 p.
- Coria A., V.M. 2008. Tecnología para la producción de aguacate en México. INIFAP, Libro Técnico No. 8, Uruapan, Michoacán, 145-146 p.
- Dempster R.W. 2017. Impact of climate on juvenile mortality and *Armillaria* root disease in lodgepole pine. The Forestry Chronicle 93: 148-160.
- Hood, I. A., Redfern, D. B., and Kile, G. A. 1991. *Armillaria* in planted hosts. Pages 122-149 in: *Armillaria* Root Disease. C. G. Shaw and G. A. Kile, eds. U.S. Dep. Agric. Agric. Handb. For. Ser. 691.
- Horsley, S.B., Long, R.P., Bailey, S.W., Hallett, R.A., Wargo, P.M., 2002. Health of eastern North American sugar maple forests and factors affecting decline. North. J. Appl. For. 19: 34-44.
- Ingham E.R. 2000. Soil Biology Primer. Disponible: [soils.usda.gov/sqi/concepts/soil\\_biology/biology.html](https://soils.usda.gov/sqi/concepts/soil_biology/biology.html). Consultado el 12 de junio de 2018.
- Kile GA, McDonald GI & Byler WJ 1991. Ecology and disease in natural forests. In: *Armillaria* Root Disease. USDA For Serv Agric Handbook No. 691. Shaw CG III & Kile GA (eds). Washington, D.C. pp. 102-121.
- Keça N., Solheim H. 2006. Hosts and distribution of *Armillaria* species in Serbia. Forest pathology research in the Nordic and Baltic countries. 28-31.
- La Porta, N., P. Capretti, I.M Thomsen, R. Kasanan, A.M. Hietala and K. Von Weissenberg. 2008. Forest pathogens with higher damage potential due to climate change in Europe. Can. J. Plant Pathol. 30: 177-195
- Lundquist, J. E. 1993. Spatial and temporal characteristics of canopy gaps caused by *Armillaria* root disease and their management implications in lowveld forests of South Africa. Eur. J. For. Pathol. 23:362-371.
- Lung-Escarmant, B., Maugard, F., Giraud, A., Escrivant, M. A., Molinier, F., Merilleau, F., and Vida, G. 2002. Infectious cycle of *Armillaria ostoyae* on maritime pine stands of different ages. Pages 428-431 in: Proc. 10th Int. Conf. on Root and Butt Rot. G.

- Laflamme, J. A. Bérubé, and G. Bussi eres, eds. Nat. Resour. Can., Can. For. Ser., Laurentian For. Cen., IUFRO.
- Lung-Escarmant B., Guyon D. 2003. Temporal and spatial dynamics of primary and secondary infection by *Armillaria ostoyae* in a *Pinus pinaster* plantation. *Phytopathology* 94:125-131.
- Lung-Escarmant, B., and Taris, B. 1985. L'Armillaire, parasite du *Pinus maritime* dans les Landes de Gascogne. *Eur. J. For. Pathol.* 15:371-372.
- MacKenzie, M. 1987. Infection changes and volume loss in a 19-year-old *Pinus radiata* stand affected by *Armillaria* root rot. *N.Z. J. For. Sci.* 17:100-108.
- Mckinley V.L., Peacock A.D. and White D.C. 2005. Microbial community PLFA and PHB responses to ecosystem restoration in tallgrass prairie soils. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 1946-1958.
- Mallet K.I., Maynard D.G. 1998. *Armillaria* root disease, stand characteristics, and soil properties in Young lodgepole pine. 105: 37-44.
- Marsh R.W.1952. Fiel observatios on spread of *Armillaria mellea* in Apple orchards and in a blackcurrant plantation. *Transactions of the British Mycological Society* 35: 201-207
- Michua C. J. 2014. Identificaci on, Dispersi on, Histopatolog a e Impacto económico de *Armillaria* en aguacate en Charapan, Michoacán. Tesis de Maestría, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, 121 p.
- Morrison, D. J., Williams, R. E., and Whitney, R. D. 1991. Infection, disease development, diagnosis and detection. Pages 62-75 in: *Armillaria* Root Disease. C. G. Shaw and G. A. Kile, eds. U.S. Dep. Agric. Agric. Handb. For. Ser. 691.
- Ochoa A., S. 2011. Enfermedades del aguacate de importancia económica en México. *In*. Memoria del XXIV Curso de Actualización Frutícola. 12-14 de octubre. Coatepec Harinas, México. Fundación Salvador Sánchez Col n CICTAMEX, p. 9-11.
- Redfern, D. B., and Filip, G. M. 1991. Inoculum and infection. Pages 48-61 in: *Armillaria* Root Disease. C. G. Shaw and G. A. Kile, eds. U.S. Dep. Agric. Agric. Handb. For. Ser. 691.
- Rhoads A.S.1948. Clitocybe root rot of citrus tres in Florida. *Phytopathology* 38: 44-61.
- Sasser M. 1990. Identification of Bacteria by Gas Chromatography of Cellular Fatty Acids. Newark, DE: MIDI. Nota técnica No. 101.
- Self, N. M., Hood, I. A., Kimberley, M., Shu, Q. L., and Gardner, J. F. 1988. Distribution and incidence of *Armillaria* root disease in *Pinus radiata* plantations throughout New Zealand. Pages 137-147 in: Proc. 9th Int. Conf. on Root and Butt Rot. C. Delatour, J. J. Guillaumin, B. Lung-Escarmant, and B. Mar ais, eds. Colloq. INRA, IUFRO working party S2.06.01.28. Swift, M. J.
- Shaw G. C., Kile G. A. 1991. *Armillaria* Root Rot. Landscape Notes. Agriculture Handbook No. 691.USA. 233 p.
- Shields W.J. and Hobbs S.D. 1979. Soil nutrient levels and pH associated with *Armillariella mellea* on conifers in northern Idaho. *Canadian Journal of Forest Research* 9: 45-48.
- Silverborg S.B. and Gilbertson R.L. 1961.*Armillaria mellea* root rot in a Northern withe pine plantation. *Plant Disease Reporter* 45: 389.
- Swift, M. J. 1972. The ecology of *Armillaria mellea* (Vahl ex Fries) in the indigenous and exotic woodlands of Rhodesia. *Forestry* 45:67-86.
- Weinhold AR, Garraway MO. 1966. Nitrogen and carbon nutrition of *Armillaria mellea* in relation to growth-promoting effects of ethanol. *Phytopathology* 56:108-112.