



# Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Dirección de Investigación

Subdirección de Programación y Evaluación



## Proyecto de Investigación 2018

Unidad:	Saltillo	División:	Agronomía	Departamento:	Parasitología Agrícola
Tema estratégico (ANA/PEP):	Doctorado en Parasitología Agrícola				
Línea de investigación:	Fitopatología				
Título del proyecto:	<b>Genes relacionados a la tolerancia y resistencia de dos variedades de Aguacate contra <i>Phytophthora cinnamomi</i>, <i>Phytophthora vexans</i> y <i>Pythium sp. amazonianum</i></b>				
Presupuesto solicitado (Máximo \$75,000)	\$75,000.00	El proyecto es:	Nuevo	Continuación	XX
Tipo de investigación:	Básica	Aplicada	X	Tecnológica	e-mail del responsable yisa8a@yahoo.com
Vinculación:	Si	No	Fondos concurrentes:		
Cooperante(s):					
Entidad (es):	Saltillo, Coahuila	Municipio (s):	Saltillo		
Localidades:	Saltillo, Coahuila				
A realizar durante el(los) año(s):	2017-2019				
Participantes		Adscripción (Clave Depto.)	Expediente No.	Firma	
Responsable	Yisa María Ochoa Fuentes	3611	3948		
Colaborador:	Ernesto Cerna Chávez	3611	3563		
Colaborador:	Juan Carlos Delgado Ortiz	Externo	CULTA		
Colaborador:	Mariana Beltran Beache	Externo	CULTA		
Colaborador:	Luis Mario Tapia Vargas	Externo	INIFAP-Uruapan		
Colaborador:					
		Grado por obtener	Matrícula	Firma	
Tesista:	Anselmo Hernández Pérez	Maestría	41071312		
Programa Docente:	Posgrado en Parasitología Agrícola				
Tesista:					
Programa Docente:					
Tesista:					
Programa Docente:					
	Vo. Bo.		Autoriza		
Firma y sello					
Nombre	Dr. Ernesto Cerna Chávez Jefe de Departamento		Dr. Armando Robledo Olivo Subdirector de Programación y Evaluación		

- Cada Jefe de Departamento deberá dejar copia para su archivo

## Protocolo para Proyecto de Investigación 2018

1.-Título del proyecto

Presupuesto solicitado:

**Genes relacionados a la tolerancia y resistencia de dos variedades de Aguacate contra *Phytophthora cinnamomi*, *Phytopythium vexans* y *Pythium sp. amazonianum***

\$ 75,000.00

2.- Introducción

El aguacate *Persea americana* Mill es el fruto de un árbol originario de México y Centroamérica. Partiendo de pruebas arqueológicas encontradas en Tehuacán en el Estado de Puebla, con una antigüedad aproximada de 10,000 años, se ha determinado concretamente que el árbol de aguacate se originó en México, Centro América hasta Colombia, Venezuela, Ecuador y Perú (Téliz, 2000). La producción mundial del cultivo del aguacate oscila entre las 4,700,000 toneladas, siendo el continente americano el principal productor con el 70.3% de la producción, seguido del continente Africano con una aportación del 15.2%, Asia con un 10.9%, Europa y Oceanía con aportaciones similares del 1.9% y 1.6% respectivamente (FAOSTAT, 2013). Sin embargo, México es el principal productor de aguacate en el mundo con una superficie que supera las 175,000 hectáreas, siendo Michoacán el principal estado en superficie con más de 127,000 hectáreas, con rendimientos que oscilan entre las 10 ton/ha, también es el cultivo más importante económica y socialmente generando un ingreso a nivel nacional de casi \$21,000 millones de pesos anuales (SIAP 2014) y superando los 300 mil empleos directos solo en el estado de Michoacán (APEAM, 2014).

La franja aguacatera de Michoacán ocupa 7, 752 Km<sup>2</sup>, equivalente al 13% de la superficie estatal, se encuentra establecida en el eje neovolcanico, en un ecosistema boscoso, se caracteriza por un clima templado, húmedo y sub-húmedo, con una temperatura de 8 a 21°C y una precipitación anual de 1,200 a 1,600 mm (Téliz y Marroquín, 2007; AALPAUM, 2016). Sin embargo, existen diferentes limitantes fitosanitarias, las cuales reducen significativamente el rendimiento, ocasionan malformaciones del fruto e incluso la muerte del árbol. Se tiene conocimiento de diferentes patógenos causantes de las enfermedades fungosas conocidas como roña (*Sphaeceloma perseae*), antracnosis (*Colletotrichum gloesporioides*) y el oomiceto *Phytophthora cinnamomi* causante de la pudrición del sistema radicular y en la parte aérea del árbol una marchitez conocida como tristeza del aguacatero, éste último el de mayor importancia económica (Zentmyer *et al.*, 1994; Pérez, 2008). Este patógeno ataca a todas las variedades de aguacate, dañando las raíces, y ocasiona la muerte del árbol (Cofey 1992, Whiley *et al.* 2007). En México, se ha detectado la presencia de la tristeza del aguacatero en todas las zonas productoras; destacando por la severidad de los daños, la región de Atlixco, Puebla, donde ha causado la muerte de miles de árboles; en la región productora de Michoacán, se considera que alrededor de 4 000 ha están afectadas por la enfermedad, y tiende a incrementarse (Téliz 2000).

Objetivos

**Objetivo general**

Identificar la expresión de genes relacionados a la tolerancia o resistencia en nuevas variedades de aguacate contra *Phytophthora cinnamomi*, *Phytopythium vexans* y *Pythium sp. amazonianum*.

**Específicos**

- 1.- Evaluar mediante pruebas de patogenicidad la susceptibilidad de las dos nuevas variedades de aguacate contra los oomicetos en mención.
- 2.- Evaluar mediante técnicas moleculares la variación genética de dos nuevas variedades de aguacate con calidad de exportación contra el monovarietal Hass.
- 3.- Determinación de la expresión de genes de resistencia a los oomicetos en mención.

Hipótesis

Las dos nuevas variedades de aguacate con características organolépticas para exportación, presentarán variabilidad genética, resistencia o tolerancia a oomicetos.

### 3.-Revisión de Literatura

Hasta hace algunos años solo se mencionaba a *P. cinnamomi* como el único patógeno responsable de esta sintomatología, sin embargo algunos autores del continente europeo reportan nuevas especies causando marchitez tales como: *Cylindrocladium parasiticum*, *Cylindrocarpon liriodendri*, *Nectria liriodendri*, *Ilyonectria macrodidyma* (Dann et al., 2011; Vitale et al., 2011) y *Phytophythium vexan* aislado de raíces de aguacate en las Islas canarias y mostrando una patogenicidad incluso más severa que *Phytophthora cinnamomi* (Rodríguez et al. 2014). Actualmente, la diversidad de hongos asociados a la tristeza del aguacate en el estado de Michoacán no ha sido determinada, por lo que se requieren realizar estudios que determinen la patogenicidad de nuevos hongos asociados a esta enfermedad y, de esta manera, hacer frente a la problemática fitosanitaria mediante estrategias de control (biológico, orgánico, químico y principalmente mejoramiento genético). Uno de los enfoques más significativo y potencialmente eficaces para el control de los patógenos del suelo es el uso de la resistencia genética. Esto es especialmente cierto, sobre todo en la búsqueda de resistencia para la obtención de portainjertos de aguacate (Zentmyer, 1980). La utilización y el origen de portainjertos de aguacate no tuvieron mayor importancia, ya que los viveristas buscaban cualquier tipo de semilla disponible. En Michoacán, los portainjertos se encuentran disponibles a partir de semilla de árboles fuertes y sanos Andrade, 2012). La tristeza del aguacatero puede ser controlada por el uso de un patrón resistente que produce frutos no comestibles (Zentmyer, 1980). Sin embargo, sus posibilidades son bajas actualmente, ya que por ser un cultivo perenne se requiere implantar un proyecto a largo plazo en busca de materiales resistentes, además de que entre las especies de *Persea* existe incompatibilidad lo cual hace aun difícil su establecimiento. A pesar de esto han existido intentos por encontrar patrones resistentes; Zentmyer y Schieber, (1987) pudieron obtener material aparentemente resistentes a *P. cinnamomi*, de un material recolectado en México. Estos investigadores aportaron que *P. cinnamomi* var. *drymifolia* se obtuvieron los cultivares Duke 6 y 7, muestran buena resistencia al hongo y que G22 y G/6 tienen un grado similar de resistencia y Duke 5 y Duke Grace son más susceptibles al patógeno, sin embargo es necesario la obtención de nuevos materiales de aguacate alternativos a Hass, con características de exportación y confirmar su resistencia o tolerancia a diferentes Oomicetos mediante confirmación molecular.

### 4.- Procedimiento Experimental

#### 1. Revisión de literatura.

Objetivo 1: Evaluar mediante pruebas de patogenicidad la susceptibilidad de las dos nuevas variedades de aguacate contra los oomicetos en mención.

2. Muestreo en campo.
3. Aislamiento e identificación morfológica y molecular.
4. Pruebas de patogenicidad.
5. Análisis de resultados.

Objetivo 2: Evaluar mediante técnicas moleculares la variación genética de dos nuevas variedades de aguacate con calidad de exportación contra el monovarietal Hass.

6. Por biología molecular Identificar genes que interfieren en la resistencia con Primers específicos para identificar presencia o ausencia de estos genes
7. Análisis de datos

Objetivo 3: Determinación de la expresión de genes de resistencia a los oomicetos en mención.

8. Se realizará la extracción de ARN QRT-PCR, la metodología se utilizarán 112 plantas por variedad y el muestreo será destructivo a las 0 h, 3h, 6h, 12h, 24h, 48h y 72 h.

Análisis de datos

#### Cronograma de Actividades para el 2018.

Actividad por realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Evaluar mediante técnicas moleculares la variación genética de dos nuevas variedades de aguacate con calidad de exportación contra el monovarietal Hass.	X	X	X	X	X	X			X	X	X	X
1. Por biología molecular Identificar genes que interfieren en la resistencia con Primers	X	X	X	X	X	X			X	X	X	X

específicos para identificar presencia o ausencia de estos genes													
Determinación de la expresión de genes de resistencia a los oomicetos en mención.					X	X	X	X	X	X	X	X	X

Cronograma de distribución de presupuesto para el 2018.

Actividad por realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Reactivos para laboratorio	X	X					X	X				
Muestreo	X	X	X			X	X			X		
Viáticos	X	X	X			X	X			X		
Gasolina	X	X	X			X	X			X		

Duración total del proyecto

Año de Inicio	Agosto 2016	Año estimado de conclusión	Agosto 2019
---------------	-------------	----------------------------	-------------

5.-Productos Esperados

Publicación de al menos 2 artículos científicos, Participación en Congresos Nacionales e Internacionales, Tesis y obtención de grado de Doctor en Ciencias en Parasitología Agrícola.

6.-Literatura Citada

1. AALPAUM. (2016). Asociación Agrícola Local de Productores de Aguacate de Uruapan, Michoacán. Disponible en <http://www.aalpaum.com/>, consulta realizada en enero 2016.
2. Andrade, H. (2012). Selección de porta-injertos de aguacate para tolerancia-resistencia a *Phytophthora cinnamomi* Rands usando temperaturas controladas. *Spanish Journal of Rural Development Span. J. Rural Dev.*, 23-30. doi:10.5261/2012.gen4.03
3. APEAM. (2014). Asociación de Productores y Empacadores Exportadores de Aguacate de Michoacán. Disponible en <http://www.apeamac.mx>
4. Coffey MD. (1992). *Phytophthora* root rot of avocado. In Plant 22: 423-444.
5. Dann, E., Forsberg, L., kooke, A., Pegg, K., Shivas, R., Tan, Y. (2011). The "Cylindro" complex of avocado root pathogens. En *Memorias del VII Congreso Mundial del Aguacate*. Cairns Australia. P 1-12.
6. FAOSTAT. (2013). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Database consulted on January 2016: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/S>
7. Pérez, J.R.M. 2008. Significant Avocado Diseases Caused by Fungi and Oomycetes. *The European Journal of Plant Science and Biotechnology*. 2, (1), 1-24pp.
8. Rodríguez, C; Rodríguez, A. y De la Rosa F.S. (2014). Patogenicidad en aguacate de

Aislados Locales de Especies de *Phytophthora* y *Phytophythium*. Primera descripción de *Phytophthora niederhauserii* como Patógeno del Aguacate. XVII Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología.

9. SIAP. (2014). Sistema de Agroalimentaria y Pesquera. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. <http://www.siap.gob.mx> Fecha de consulta 20 de enero del 2016.
10. Téliz Ortiz D, J F Marroquín Pimentel. (2007). Importancia histórica y socioeconómica del aguacate. *In: El aguacate y su Manejo Integral Parcial*. Segunda Edición. Téliz O D, A Mora (Cords). Editorial Mundi-Prensa. México, D. F. pp: 3-28.
11. Téliz, D. (2000). El Aguacate y su manejo integrado. Primera edición, Mundi- Prensa, México, D. F. 219 p.
12. Vitale, A., Aiello, D., Guarnaccia, V., Perrone, G., Stea, G., & Polizzi, G. (2011). First Report of Root Rot Caused by *Ilyonectria* (= *Neonectria*) *macrodidyma* on Avocado (*Persea americana*) in Italy. *Journal of Phytopathology*, 160(3), 156-159. doi:10.1111/j.1439-0434.2011.01869.x
13. Whiley AW, Scha\_er B y Wosltenholme BN. (2007). El Palto, botánica producción y usos. Ediciones Universitarias de Valparaíso. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso Chile. 364 p.
14. Zentmyer G, Ohr H, Menge J. (1994). Compendium of tropical fruit diseases. The American Phytopathological Society; 76 p.

Zentmyer, G. A. (1980). *Phytophthora cinnamomi* and the diseases it causes. St. Paul, MN: American Phytopathological Society.