

# TRAMPEO DE *Phytophthora cinnamomi* EN BOSQUE DE ENCINO CON DOS ESPECIES ORNAMENTALES E INDUCCIÓN DE SU ESPORULACIÓN

## TRAPPING OF *Phytophthora cinnamomi* IN OAK FORESTS WITH TWO ORNAMENTAL SPECIES AND INDUCTION OF SPORULATION

Alejandra Almaraz-Sánchez<sup>\*</sup>; Dionicio Alvarado-Rosales;  
Luz de L. Saavedra-Romero

Programa de Fitopatología, Colegio de Postgraduados. km 36.5, Carretera México-Texcoco.  
C. P. 56230. Montecillo, Texcoco, Estado de México.

Correo-e: alejandraas@colpos.mx (<sup>\*</sup> Autor para correspondencia).

### RESUMEN

La mortalidad del encino se ha acentuado recientemente en varios estados del país. La etiología en muchos casos se desconoce. Los bosques de encino están siendo afectados por la “enfermedad de la tinta” (*Phytophthora cinnamomi* Rands.) en los estados de Colima, Jalisco y Guerrero. La enfermedad causada por *P. cinnamomi* es de gran importancia; sin embargo, el aislamiento y la esporulación del patógeno representan una gran dificultad. Debido a lo anterior, los objetivos del presente estudio fueron a) evaluar la eficiencia de dos plantas trampa, *Camellia japonica* y *Rhododendron indicum* (L.) Sweet utilizando una suspensión de suelo y b) inducir la esporulación del patógeno. Para ello, discos de tejido foliar (6 mm) de las especies trampa fueron embebidos en una suspensión de suelo por 24 y 48 h para luego ser sembrados en medio selectivo PARPH. La especie *R. indicum* presentó una mayor efectividad de captura de 64.10 % comparada con 6.83 % de *C. japonica*. Los mejores resultados de esporulación se obtuvieron con una mezcla de agua-suelo (350 mL-200 g).

PALABRAS CLAVE: Suelo, encino, camelia, azalea, esporangios.

### ABSTRACT

Oak mortality has increased in recent years in several Mexican states. The etiology in many cases is unknown. In the states of Colima, Jalisco and Guerrero, where the cause is known, the oak forests are being affected by the “ink disease” (*Phytophthora cinnamomi* Rand). The presenting symptoms of diseased trees are: chlorosis, necrosis, wilting, cankers with dark exudates on the bark of the trunk and dieback. Given the impact of the disease and the difficulty of isolating the pathogen from cortical tissue and inducing sporulation in it, this study aimed to (i) evaluate the efficiency of two trap plants, *Camellia japonica* and *Rhododendron indicum* (L.) Sweet, using a soil suspension and (ii) induce sporulation of the pathogen. To this end, 6 mm discs containing leaf tissue of the trap species were embedded in a soil suspension for 24 and 48 h before being plated in PARPH selective medium. The species *R. indicum* showed higher capture effectiveness, 64.10 %, compared with 6.83 % for *C. japonica*. For sporulation, a water-soil mixture (350 mL-200 g) gave the best results.

KEYWORDS: Soil, oak, camellia, azalea, sporangia.



Recibido: 02 de septiembre de 2011  
Aceptado: 28 de agosto de 2012  
doi: 10.5154/r.rchscfa.2011.09.062  
<http://www.chapingo.mx/revistas>

## INTRODUCCIÓN

Los encinos son una de las especies forestales más abundantes en México. De acuerdo con Zavala (1989, 1998) existen 140 especies del género *Quercus* distribuidas en bosques templados, tropicales caducifolios y subcaducifolios. También las especies de *Quercus* son un componente vital y característico del bosque mesófilo de montaña (Rzedowski, 1981). El encino no sólo desempeña un papel importante en la estructura del bosque sino que también tiene un valor comercial por su madera, además, de su uso como planta ornamental y para la recreación humana (Rzedowski, 1981). La presencia de los encinares es necesaria para preservar el equilibrio ecológico de las cuencas, ya que contribuye principalmente en la recarga de mantos acuíferos, sirve como refugio para la fauna silvestre y evita la erosión.

A nivel mundial, el patógeno *Phytophthora cinnamomi* Rands tiene una gran capacidad destructiva y un rango amplio de hospedantes causando enormes daños en bosques naturales, plantas ornamentales y frutales (Domsch, 1980). Desafortunadamente, a partir de 1987, una muerte severa de encinos se comenzó a observar en el estado de Colima (ejido Arrayanal), la cual fue atribuida al patógeno *P. cinnamomi* 13 años después (Tainter, O'Brien, Hernández, Orozco, & Rebolledo, 2000) y más tarde confirmada en dicha localidad y en los estados de Jalisco y Guerrero (Alvarado-Rosales et al., 2007; Alvarado-Rosales, Saavedra-Romero, & Almaraz-Sánchez, 2008).

*P. cinnamomi* es un patógeno del suelo causante de pudriciones radicales que en el siglo pasado devastó 200,000 ha de vegetación natural en Australia destruyendo más de 400 especies hospedantes (Malajczuk, 1979). En México, dicho patógeno ha sido la causa de grandes daños en áreas productoras de aguacate como en Atlixco, Puebla, donde el cultivo ha desaparecido en grandes regiones (Téliz, 2000). El uso de productos químicos, variedades resistentes y prácticas culturales son algunos de los métodos de control que se han empleado para mitigar el efecto del hongo; sin embargo, éste se ha restringido por razones económicas y ecológicas (Agrios, 2005).

En varias partes del mundo las especies de *Phytophthora* no son reconocidas como agentes causales de muchas enfermedades, siendo atribuidas a otros microorganismos aislados fácilmente en medios de cultivo (Tsao, 1983). Existen técnicas para facilitar el aislamiento de *Phytophthora* a partir de tejido enfermo y del suelo, utilizando medios de cultivo adicionados con antibióticos y químicos como medio 3P (Eckert & Tsao, 1962) y rifampicina PCNB-himexazol PARPH (pimaricina, ampicilina, rifampicina, PCNB e himexazol) (Erwin & Ribeiro, 1996; Alvarado-Rosales et al., 2007). Algunas técnicas especiales de aislamiento, como el uso de cebos biológicos y medios selectivos han permitido aislar al patógeno (Tsao, 1983; Zentmeyer, 1980). Varias técnicas de trampeo se han empleado debido a la dificultad que repre-

## INTRODUCTION

Oaks are one of the most abundant forest species in Mexico. According to Zavala (1989, 1998), there are 140 species of the genus *Quercus* distributed in temperate, tropical deciduous and semi-deciduous forests. *Quercus* species are also a vital and characteristic component of cloud forest (Rzedowski, 1981). The oak not only plays an important role in forest structure but also has a commercial value for its timber, and is used as an ornamental plant and for human recreation (Rzedowski, 1981). The presence of oak forests is necessary to preserve the ecological balance of watersheds, since they contribute mainly to groundwater recharge, serve as a refuge for wildlife and prevent erosion.

Globally, the pathogen *Phytophthora cinnamomi* Rands has a great destructive ability and a wide range of hosts, causing enormous damage to natural forests, ornamental plants and fruit trees (Domsch, 1980). Unfortunately, from 1987 onwards, a severe death of oaks began to be seen in the state of Colima (ejido Arrayanal), which was attributed to the pathogen *P. cinnamomi* 13 years later (Tainter, O'Brien, Hernández, Orozco, & Rebolledo, 2000) and later confirmed at the site and in the states of Jalisco and Guerrero (Alvarado-Rosales et al., 2007; Alvarado-Rosales, et al., 2008).

*P. cinnamomi* is a soil pathogen causing root rot that in the last century devastated 200,000 ha of natural vegetation in Australia, destroying more than 400 host species (Malajczuk, 1979). In Mexico, this pathogen has caused major damage in avocado-producing areas such as Atlixco, Puebla, where the crop has disappeared in large regions (Téliz, 2000). The use of chemical products, resistant varieties and cultural practices are some of the control methods that have been used to mitigate the effect of the fungus, but their use is restricted due to economic and ecological reasons (Agrios, 2005).

In several parts of the world, *Phytophthora* species are not recognized as causative agents of many diseases, being attributed instead to other microorganisms that are easily isolated in culture media (Tsao, 1983). Techniques exist to facilitate isolation of *Phytophthora* from diseased tissue and soil, using culture media with antibiotics and chemicals such as 3P medium (Eckert & Tsao, 1962) and rifampicin PCNB-hymexazol PARPH (pimaricin, ampicillin, rifampicin, PCNB and hymexazol) added in (Erwin & Ribeiro, 1996; Alvarado-Rosales et al., 2007). Some special isolation techniques, such as the use of biological baits and selective media, have allowed isolating the pathogen (Tsao, 1983; Zentmeyer, 1980). Various trapping techniques have been used because of the difficulty involved in directly isolating *Phytophthora*, which can be grouped into three general categories: a) insertion of infected soil or tissue in wounds made in fresh fruits (avocado and pear, among others); b) planting seeds, seedlings or root pieces and c) trapping by flotation, where incubation baths are used in different proportions of water and soil. This is perhaps the most widely

senta el aislamiento directo de *Phytophthora*, las cuales se pueden agrupar en tres categorías generales: a) inserción de suelo o tejido infectado en heridas realizadas en frutos frescos (aguacate y pera, entre otros); b) siembra de semillas, plántulas o trozos de raíz y c) trampeo por flotación, donde se utilizan baños de incubación en distintas proporciones de agua y suelo. Éste es quizás el método utilizado más ampliamente y el de mayor efectividad para aislar muchas especies de *Phytophthora*.

El éxito de la técnica de trampeo depende de la susceptibilidad de la especie utilizada como cebo y de las condiciones de incubación. En los viveros de México existen varias especies ornamentales, las cuales no se han evaluado para la captura de patógenos del suelo. Por ello, los objetivos del presente trabajo fueron evaluar la eficiencia de captura y aislamiento de *P. cinnamomi* del suelo por medio de dos ornamentales como *Camellia japonica* (camelia) y *Rhododendron indicum* (azalea) e implementar una forma sencilla para inducir la esporulación del patógeno. El trabajo se realizó considerando la falta de estudios de este tipo y con el fin de proporcionar una herramienta con mayor facilidad para determinar la presencia de *P. cinnamomi*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Colecta de muestras de suelo

La colecta se realizó en tres sitios: El Arrayanal, Colima; Reserva de la Biosfera, Jalisco; y Tecoaapa, Guerrero. En estos lugares, la enfermedad de la tinta ocasionada por *P. cinnamomi* se ha detectado recientemente. Las muestras se tomaron de árboles que mostraban diferentes niveles de muerte regresiva, marchitez, clorosis, defoliación prematura y presencia de canchales con exudado color oscuro en la corteza. En cada sitio se seleccionaron parcelas de muestreo de 0.1 ha y en cada una se tomaron cinco muestras compuestas de 1 kg de suelo que incluían algunas raíces. Las muestras se colectaron a una profundidad de 5 a 15 cm (Alvarado-Rosales et al., 2008) en bolsas de polietileno. El muestreo se realizó en agosto de 2004 a septiembre de 2005 colectándose 172 muestras en total; 134 en Colima, 11 en Jalisco y 27 en Guerrero.

### Plantas trampa

Las especies ornamentales utilizadas para la captura y aislamiento de *P. cinnamomi* fueron *C. japonica* y *R. indicum*. Las plantas se obtuvieron de los viveros circundantes a Texcoco y Xochimilco.

### Trampeo de *P. cinnamomi*

El trampeo de *P. cinnamomi* se hizo en contenedores plásticos (uno por cada muestra de suelo), en los cuales se agregaron 200 g de suelo + 350 mL de agua destilada. La mezcla resultante se homogeneizó con ayuda de una espátula. En cada contenedor se colocaron 30 discos de camelia (6 mm

used method and the most effective for isolating many species of *Phytophthora*.

The success of the trapping technique depends on the susceptibility of the species used as bait and the incubation conditions. In Mexican nurseries, there are several ornamental species which have not been assessed for capturing soil pathogens. Therefore, the objectives of this study were to evaluate the efficiency of capturing and isolating *P. cinnamomi* by two ornamentals, namely *Camellia japonica* (camellia) and *Rhododendron indicum* (azalea), and implement a simple way to induce sporulation of the pathogen. The work was performed in light of the lack of studies of this type and to provide a tool that can more easily determine the presence of *P. cinnamomi*.

## MATERIALS AND METHODS

### Collection of soil samples

The collection was carried out at three sites: El Arrayanal, Colima; Biosphere Reserve, Jalisco; and Tecoaapa, Guerrero. In these places, ink disease caused by *P. cinnamomi* was recently reported. Samples were taken from trees showing different levels of dieback, wilting, chlorosis, premature defoliation and presence of cankers with dark exudates on the bark. At each site, 0.1 ha sample plots were selected and five composite samples of 1 kg of soil, including some roots, were taken. Samples were collected at a depth of 5 to 15 cm (Alvarado-Rosales et al., 2008) in polythene bags. Sampling was conducted from August 2004 to September 2005, with 172 samples collected in total: 134 in Colima, 11 in Jalisco and 27 in Guerrero.

### Trap plants

The ornamental species used to capture and isolate *P. cinnamomi* were *C. japonica* and *R. indicum*. The plants were obtained from nurseries around Texcoco, state of Mexico, and Xochimilco.

### Trapping of *P. cinnamomi*

Trapping of *P. cinnamomi* was done in plastic containers (one for each soil sample), in which 200 g of soil + 350 mL of distilled water were added. The resulting mixture was homogenized using a spatula. In each container, 30 camellia discs (6 mm in diameter) and 30 azalea triangles (5 mm per side) were placed, totaling 60 units, which were kept at room temperature (20-25 °C) (Figure 1A). After 24 h, 10 camellia discs and 10 azalea triangles were extracted and then rinsed with sterile distilled water and dried in sterile paper towels. Finally, the 20 units were planted in each Petri dish with PARPH selective medium (Figure 1B). This process was repeated 24 hours later. The dishes were placed in darkness at room temperature to promote the growth of the pathogen. Once growth was observed in the discs and triangles, they were reviewed microscopically and the final count of those



de diámetro) y 30 triángulos de azalea (5 mm por lado), sumando un total de 60 unidades, las cuales se mantuvieron a temperatura ambiente (20-25 °C) (Figura 1A). Después de 24 h se extrajeron 10 discos de camelia y 10 triángulos de azalea, los cuales se enjuagaron con agua destilada estéril y se secaron en sanitas estériles. Finalmente, se sembraron las 20 unidades en cada caja Petri con medio selectivo PARPH (Figura 1B). Este proceso se repitió 24 horas después. Las

containing mycelium of *P. cinnamomi* was made. The units with the pathogen of interest were transferred to PARPH culture medium and subsequently to PDA to purify the colony.

#### Identification of *P. cinnamomi*

Permanent mounts were made of the purified colonies with 50 % glycerol, acidified with HCl (12 N), for observa-

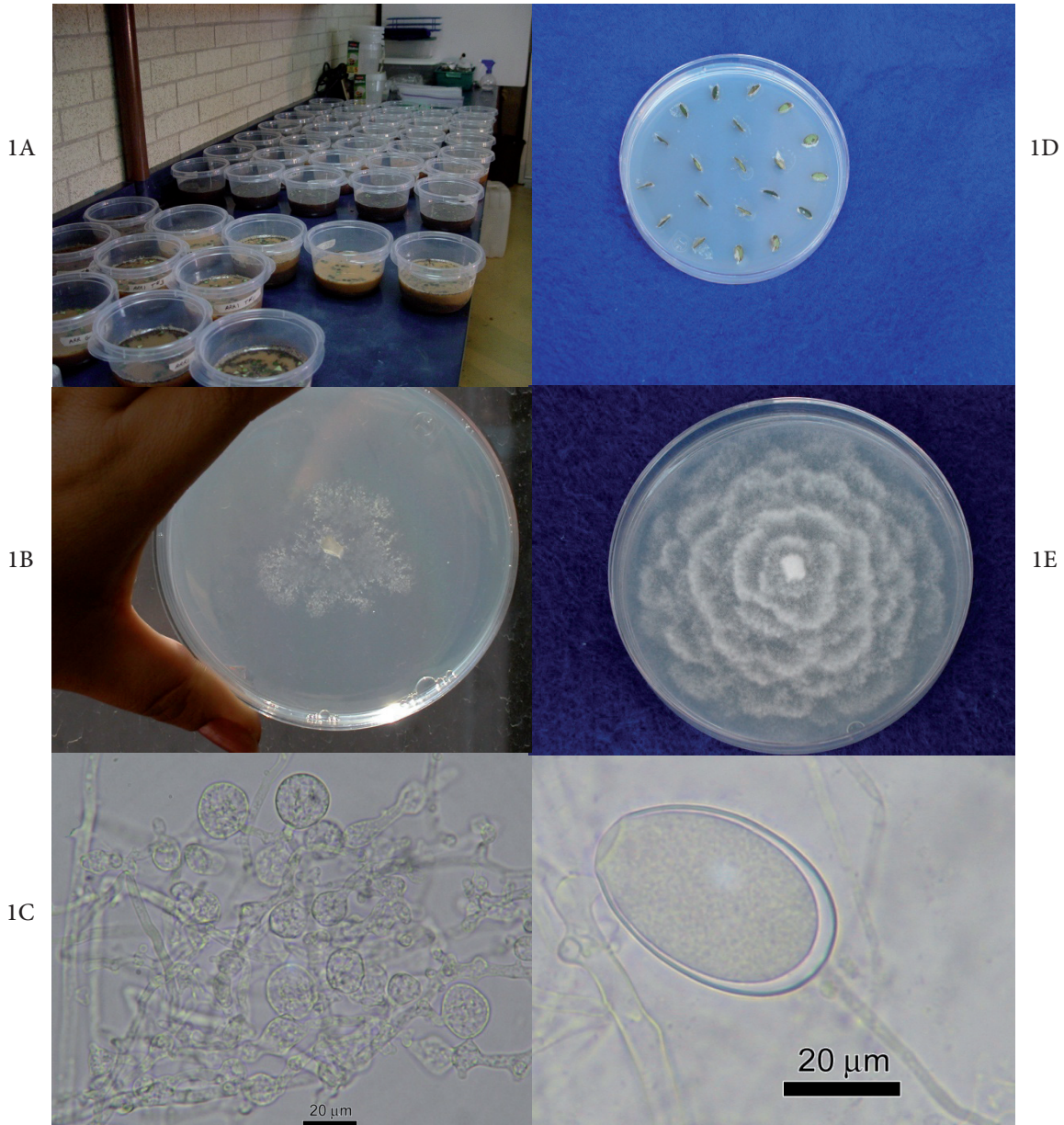


FIGURA 1. A) Trampeo de *Phytophthora cinnamomi* en suspensión de agua-suelo. B) Siembra de discos de azalea y triángulos de camelia en medio PARPH. C) Crecimiento del micelio de *P. cinnamomi* tipo coraloide en medio PARPH. D) Crecimiento de *P. cinnamomi* en forma de rosa a los siete días de edad en medio PDA. E) Vista al microscopio de micelio *P. cinnamomi* (20X). F) Esporangios no papilados de *P. cinnamomi* (20X).

FIGURE 1. A) Trapping of *Phytophthora cinnamomi* in soil-water suspension. B) Seeding of azalea discs and camellia triangles in PARPH medium. C) Growth of coraloide-type mycelium in PARPH medium. D) Growth of *P. cinnamomi* in the shape of a rose at seven days of age in PDA medium. E) Microscopic view of *P. cinnamomi* mycelium (20X). F) Non-papillate sporangia of *P. cinnamomi* (20X).

cajas se colocaron en oscuridad y a temperatura ambiente para promover el crecimiento del patógeno. Una vez que en los discos y triángulos se observó el crecimiento, se revisaron al microscopio y se realizó el conteo final de aquéllos que contenían micelio de *P. cinnamomi*. Las unidades con el patógeno de interés se transfirieron a medio de cultivo PARPH y posteriormente a PDA para purificar la colonia.

#### Identificación de *P. cinnamomi*

De las colonias purificadas se hicieron montajes permanentes con glicerol al 50 %, acidificado con HCl (12 N), para su observación al microscopio compuesto (Figura 1D). La identificación morfológica se hizo con base en las claves de Waterhouse (1963) y Erwin y Ribeiro (1996).

#### Producción de esporangios

La esporulación de las colonias purificadas se indujo con una mezcla de agua estéril-suelo no esterilizado en una proporción 1000 mL:100 g. La mezcla fue centrifugada durante 20 min a 5,000 rpm y la solución obtenida se filtró con una manta de cielo. En cajas Petri se agregaron 10 mL de la solución, posteriormente, se colocaron 20 discos de 0.5 cm del cultivo de la colonia pura de *P. cinnamomi*. Por cada muestra se tuvieron cinco repeticiones. Las cajas fueron incubadas a temperatura ambiente por siete días durante los cuales se formaron los esporangios. La identificación de los esporangios se hizo con las claves de Waterhouse (1963) y Erwin y Ribeiro (1996).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

83 aislamientos del hongo *P. cinnamomi* se obtuvieron de las 172 muestras procesadas de suelo-raíz. Los discos y triángulos foliares de las dos ornamentales atraparón a *P. cinnamomi*, 24 y 48 h después de estar embebidas en la suspensión de suelo (Cuadro 1). Los resultados de la captura de *P. cinnamomi* en las muestras compuestas de suelo (agosto 2004 a septiembre 2005) manifiestan que 64.10 % de los triángulos de *Rhododendron* y 6.83 % de los discos de *Camellia* tuvieron crecimiento típico del patógeno. Esto indica que *R. indicum* es más eficaz que *C. japonica*.

La presencia de *P. cinnamomi* en medio de cultivo PDA se confirmó por el micelio cenocítico toruloso, esporangios no papilados y crecimiento de la colonia tipo cameliforme. El uso de medio selectivo PARPH contribuyó con un porcentaje mayor de captura de *P. cinnamomi*, aunque existen otros medios selectivos que se emplean en el aislamiento de hongo como Agar Corn Meal, PDA y Agar V-8 (Tsao, 1983; Zentmyer, 1980). Las colonias desarrolladas en PARPH fueron blancas y el micelio presentó un crecimiento coraloide (Figura 1C). En medio PDA, las colonias presentaron micelio con crecimiento en forma de camelia, el cual es típico de la especie (Figura 1D). Con ayuda del microscopio se observó un micelio cenocítico con protuberancias tipo coraloide,

tion under a compound microscope (Figure 1D). Morphological identification was made using the keys described by Waterhouse (1963) and Erwin and Ribeiro (1996).

#### Production of sporangia

Sporulation of purified colonies was induced with a mixture of sterile water and unsterilized soil at a ratio of 1000 mL:100 g. The mixture was centrifuged for 20 min at 5,000 rpm and the solution obtained was filtered through cheesecloth. Then 10 mL of solution were added to Petri dishes, after which 20 dishes containing 0.5 cm of the culture of the pure colony of *P. cinnamomi* were placed in them. There were five replications for each sample. The dishes were incubated at room temperature for seven days during which sporangia formed. The sporangia were identified with the keys described by Waterhouse (1963) and Erwin and Ribeiro (1996).

### RESULTS AND DISCUSSION

In total, 83 isolates of the fungus *P. cinnamomi* were obtained from the 172 soil-root samples processed. Leaf discs and triangles of the two ornamentals trapped *P. cinnamomi*, 24 and 48 h after being embedded in the soil suspension (Table 1). The results of the capture of *P. cinnamomi* in the composite soil samples (August 2004 to September 2005) show that 64.10 % of the *Rhododendron* triangles and 6.83 % of the *Camellia* discs had typical pathogen growth. This indicates that *R. indicum* is more effective than *C. japonica*.

The presence of *P. cinnamomi* in PDA culture medium was confirmed by torulose coenocytic mycelium, non-papillate sporangia and growth of the camellia-shaped colony. The use of PARPH selective medium contributed to a higher capture rate of *P. cinnamomi*, although there are other selective media used in fungus isolation such as Agar Corn Meal, PDA and Agar V-8 (Tsao, 1983; Zentmyer, 1980). The colonies developed in PARPH were white and the mycelium presented coralloid growth (Figure 1C). In PDA medium, the colonies presented mycelium in the form of camellia, which is typical of the species (Figure 1D). Using a microscope, a coenocytic mycelium with branched, coralloid-type protuberances and abundant terminal chlamydo spores was observed (Figure 1E), which is consistent with that reported by Erwin and Ribeiro (1996).

The presence of *P. cinnamomi* sporangia is only manifested in liquid medium with soil extract solutions obtained from fungal cultures in PDA. In this study, sporangia formed on the seventh day. They were observed under a stereoscopic microscope and found to belong to *P. cinnamomi*. To do this, the length and width of 100 sporangia obtained from each sampling site were measured. The average size of the sporangia from the Guerrero samples was 48.24 x 31.47  $\mu\text{m}$ , while that of the Colima and Jalisco samples was 50.10 x 33.61  $\mu\text{m}$ , agreeing with the values reported by Erwin and Ribeiro (1996) for this species.

CUADRO 1. Cuantificación de unidades de *Camellia japonica* y *Rhododendron indicum* sembradas en medio PARPH e infectadas por *Phytophthora cinnamomi*.

Muestreos	Localidad	Fecha de colecta	Muestras compuestas de suelo	Discos en la suspensión agua-suelo	Tiempo de extracción		Cajas sembradas	Unidades infectadas por <i>P. cinnamomi</i> en cada caja	
					24 h	48 h		<i>C. japonica</i>	<i>R. indicum</i>
M1	Reserva de la Biosfera, Manantlán, Jalisco	01 al 11 de agosto, 2004	11	240		√	12	2	0
						√		1	0
					√			1	0
					√	√		2	0
						√		2	0
M2	Arrayanal, Colima	01 de octubre, 2004	15	300		√	15	0	2
						√		0	2
						√		0	2
					√			0	2
						√		0	2
M3	Arrayanal, Colima	27 de noviembre, 2004	21	460	√	√	23	0	2
					√	√		0	6
						√		0	2
					√			0	2
M4	Arrayanal, Colima	26 de febrero, 2005	48	1,000		√	50	0	2
					√	√		0	2
					√	√		0	2
						√		0	8
						√		0	3
	√	0	2						
M5	Arrayanal, Colima	23 de julio, 2005	50	1,000	√		50	0	4
M6	Tecoanapa, Guerrero	24 al 28 de septiembre, 2005	27	540		√	27	0	2
						√		0	5
						√		0	10
					√			0	1
<b>TOTAL</b>			172	3,540			177	8	75

\*Cada caja contenía 10 discos de *C. japonica* y 10 triángulos de *R. indicum*.

TABLE 1. Quantification of *Camellia japonica* and *Rhododendron indicum* units seeded in PARPH medium and infected by *Phytophthora cinnamomi*.

Samples	Location	Collection date	Composite soil samples	Discs in water-soil suspension	Extraction time		Dishes sown	Units infected by <i>P. cinnamomi</i> in each dish		
					24 h	48 h		<i>C. japonica</i>	<i>R. indicum</i>	
M1	Biosphere Reserve, Manantlán, Jalisco	August 1-11, 2004	11	240		√	12	2	0	
								√	1	0
					√			√	1	0
					√	√		√	2	0
						√		√	2	0
M2	Arrayanal, Colima	October 1, 2004	15	300		√	15	0	2	
								√	0	2
								√	0	2
					√			√	0	2
						√		√	0	2
M3	Arrayanal, Colima	November 27, 2004	21	460		√	23	0	2	
								√	0	6
								√	0	2
					√			√	0	2
								√	0	2
M4	Arrayanal, Colima	February 26, 2005	48	1,000		√	50	0	2	
								√	0	2
								√	0	2
								√	0	8
								√	0	3
M5	Arrayanal, Colima	July 23, 2005	50	1,000		√	50	0	4	
								√	0	2
								√	0	2
								√	0	8
								√	0	3
M6	Tecoanapa, Guerrero	September 24-28, 2005	27	540		√	27	0	2	
								√	0	5
								√	0	10
								√	0	1
								√	0	1
<b>TOTAL</b>			172	3,540			177	8	75	

\*Each dish contained 10 discs of *C. japonica* and 10 triangles of *R. indicum*.

ramificado y con la presencia de abundantes clamidosporas terminales (Figura 1E), lo cual concuerda con lo reportado por Erwin y Ribeiro (1996).

La presencia de esporangios de *P. cinnamomi* sólo se manifestó en medio líquido con soluciones de extracto de suelo partiendo de cultivos del hongo en PDA. En este trabajo, los esporangios se formaron a los siete días, los cuales se observa-

### CONCLUSIONS

The results of this study indicate that *R. indicum* was more effective than *C. japonica* as the former obtained a greater number of isolates in the capture of *P. cinnamomi* from the soil. Sporulation was achieved at seven days, which is an important indicator for identifying and comparing species of *Phytophthora*. The fungus *P. cinnamomi* has been identified as a caus-



ron al microscopio estereoscópico y se verificó que pertenecieran a *P. cinnamomi*. Para ello, se midió el largo y ancho de 100 esporangios de cada sitio de muestreo. El tamaño promedio de los esporangios provenientes de las muestras de Guerrero fue de 48.24 x 31.47 µm, y de las muestras de Colima y Jalisco fue de 50.10 x 33.61 µm concordando con los valores reportados por Erwin y Ribeiro (1996) para esta especie.

## CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio indican que *R. indicum* fue más eficiente debido a que con ésta se obtuvo un mayor número de aislamientos en la captura de *P. cinnamomi* del suelo que con *C. japonica*. La obtención de esporangios se logró a los siete días, el cual es un indicador importante para la identificación y comparación de las especies de *Phytophthora*. El hongo *P. cinnamomi* se ha identificado como agente causal de la muerte de árboles de encino. La metodología empleada en este trabajo facilita el aislamiento de *P. cinnamomi* utilizando las especies ornamentales que están disponibles en los viveros de México.

## REFERENCIAS

- Agrios, N. G. (2005). Plant pathology (5th Ed.). USA: Elsevier Academic Press.
- Alvarado-Rosales, D., Saavedra-Romero, L. L., Almaraz-Sánchez, A., Tlapal-Bolaños, B., Trejo-Ramírez, O., Davidson, J. M.,... Quiroz-Reygadas, R. D. (2007). Agentes asociados y su papel en la declinación y muerte de encinos (*Quercus*, Fagaceae) en el centro-oeste de México. *Polibotanica*, 23, 1–21. Obtenido de <http://www.herbario.encb.ipn.mx/pb/pdf/pb23/1Encino.pdf>
- Alvarado-Rosales, D., Saavedra-Romero, L. L., & Almaraz-Sánchez, A. (2008). Primer reporte de *Phytophthora cinnamomi* Rands. asociado al encino (*Quercus* sp.) en Tecoanapa, Guerrero, México. *Agrociencia*, 42, 565–572. <http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v42n5/v42n5a8.pdf>
- Domsch, H. K. (1980). *Compendium of soil fungi*. London, UK: Academic Press.
- Erwin, D. C., & Ribeiro, O. K. (1996). *Phytophthora diseases worldwide*. USA: APS Press.
- Eckert, J. W., & Tsao, P. H. (1962). A selective antibiotic medium for isolation of *Phytophthora* and *Pythium* from plant roots. *Phytopathology*, 52, 771–777. Obtenido de <http://www.cabdirect.org/abstracts/19631101067.html>
- Kannwischer, M. E., & Mitchell, D. G. (1978). The influence of a fungicide on the epidemiology of black sink of tobacco. *Ecology and Epidemiology*, 68, 1760–1765. Obtenido de [http://www.apsnet.org/publications/phytopathology/bac-kissues/Documents/1978Articles/Phyto68n12\\_1760.pdf](http://www.apsnet.org/publications/phytopathology/bac-kissues/Documents/1978Articles/Phyto68n12_1760.pdf)
- Malajczuk, N. (1979). Biological suppression of *Phytophthora cinnamomi* in *Eucalyptus* and avocados in Australia. In B. Schippers & W. Gams (Eds.), *Soil-borne plant pathogens* (pp. 635–652). USA: Academic Press.
- Rzedowski, J. (1981). *Vegetación de México*. México: Limusa.
- Tainter, F. H., O'Brien, J. G., Hernández, A., Orozco, F., & Rebolledo, O. (2000). *Phytophthora cinnamomi* as a cause of oak mortality in the state of Colima, México. *Plant Disease*, 84(4), 394–398. doi: 10.1094/PDIS.2000.84.4.394
- Téliz, D. (2000). *El aguacate y su manejo integrado*. México, D.F.: Ediciones Mundi-Prensa.
- Tsao, P. H. (1983). Factors affecting isolation and quantitation of *Phytophthora* from soil. In D. C. Erwin, S. Bartnicki-García, & P. H. Tsao (Eds.), *Phytophthora, its biology, taxonomy, ecology, and pathology* (pp. 219–236). USA: APS Press.
- Waterhouse, G. M. (1963). Key to the species of *Phytophthora* de Bary. UK: Commonwealth Mycological Institute.
- Zavala, C. F. (1989). *Identificación de encinos de México*. México: Universidad Autónoma Chapingo.
- Zavala, C. F. (1998). Observaciones sobre la distribución de los encinos en México. *Polibotánica*, 8, 47–64. Obtenido de <http://www.herbario.encb.ipn.mx/pb/pdf/pb8/Distribuci%C3%B3n%20encinos1.pdf>
- Zentmyer, G. A. (1980). *Phytophthora cinnamomi and the diseases it causes*. USA: The American Phytopathological Society.

End of English Version