

ARTÍCULO ORIGINAL

Variabilidad intraespecífica de cepas de *Phytophthora palmivora* Butler (Butler) aisladas de plantaciones de aguacatero (*Persea americana* Mill.) en Cuba

Maylen Machado^I, Mabel Peña-Marey^I, Alba Alvarez^{II}, Adriana Díaz^{II}, Victoria Zamora^I, Orlando Coto^{I*}

^IInstituto de Investigaciones de Fruticultura Tropical (IIFT). 7^{ma} e/ 30 y 32, Miramar, Playa, CP 11300, La Habana, Cuba.

^{II}Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear. 5^a y 30, # 502, Miramar, Playa, La Habana, Cuba.

RESUMEN: Se utilizaron en el estudio ocho cepas de *Phytophthora palmivora* Butler (Butler) obtenidas de jardines de aguacateros de la región occidental de Cuba, y se describieron los patrones de crecimientos de las colonias en medio agar papa dextrosa (PDA), agar zanahoria (AZ), agar jugo vegetal V8 (AV8) y agar malta (AM), así como los tipos de esporangios presentes. Se evaluó la variabilidad intraespecífica de los aislamientos en base a las dimensiones de los esporangios y de sus papilas. Las cepas mostraron un patrón de crecimiento de las colonias uniforme en cada uno de los cuatro medios de cultivo, aracnoide en los medios PDA y AM y estrellado en AV8 y AZ. Se observó una amplia diversidad en los tipos de esporangios, generalmente ovoides-elipsoides, obpiriformes, esféricos y distorsionados y con pedicelos cortos (2-5 μm), aspectos que se corresponden con la especie *P. palmivora*. Las dimensiones de los esporangios oscilaron entre 25 μm y 80 μm (promedio 48,8 $\mu\text{m} \pm 9,1 \mu\text{m}$) de largo y 17,5 μm a 52,5 μm de ancho (promedio 31,8 $\mu\text{m} \pm 5,5 \mu\text{m}$). Las papilas alcanzaron de 2,5 μm a 10 μm de largo (promedio 5,7 $\mu\text{m} \pm 1,7 \mu\text{m}$) y entre 2 μm y 10 μm de ancho (promedio 6,5 $\mu\text{m} \pm 1,6 \mu\text{m}$). El Análisis de Componentes Principales demostró la existencia de variabilidad en las dimensiones de los esporangios y las papilas, en base al largo y ancho de los esporangios, la relación largo/ancho de los mismos, el ancho de las papilas y la relación largo/ancho de las papilas.

Palabras clave: *Phytophthora*, esporangios, papilas.

Intraspecific variability of *Phytophthora palmivora* Butler (Butler) strains isolated from avocado (*Persea americana* Mill.) orchards on Cuba

ABSTRACT: The colony patterns were described for eight *P. palmivora* strains isolated from avocado orchards located in the western Cuban region, that were grown on potato dextrose agar (PDA), malt extract agar (AM), V8 agar (AV8) and carrot agar (AZ). The sporangia shapes observed in the *P. palmivora* strains were also described. The intraspecific variability was evaluated based on the size of sporangia and papillae. The strains showed a uniform colony pattern on each of the culture media used, arachnoid on PDA and AM media and stellate on AV8 and AZ media. A wide diversity of types of sporangia was observed, mostly ovoid-ellipsoid, obpyriform, spherical and distorted with short pedicels (2-5 μm). Sporangia shape ranged between 25 μm and 80 μm long (average 48,8 $\mu\text{m} \pm 9,1 \mu\text{m}$) and 17,5 μm to 52,5 μm in breadth (average 31,8 $\mu\text{m} \pm 5,5 \mu\text{m}$) with prominent papillae ranging from 2,5 μm to 10 μm long (average 5,7 $\mu\text{m} \pm 1,7 \mu\text{m}$) and between 2 μm to 10 μm in breadth (average 6,5 $\mu\text{m} \pm 1,6 \mu\text{m}$). The Principal Component Analysis showed a great variability considering both the sporangia and papillae sizes with the length and breadth of the sporangia and their ratio, the width and the length/breadth ratio of the papillae as the most variable characters.

Key words: *Phytophthora*, sporangia, papillae.

*Autor por correspondencia: O. Coto. Instituto de Investigaciones de Fruticultura Tropical (IIFT). 7^{ma} e/ 30 y 32, Miramar, Playa, C. Habana, Cuba, Código Postal 11300. Correo electrónico: orlando_coto@yahoo.com

INTRODUCCIÓN

Phytophthora spp. afecta varias especies de frutales y provoca en ellas pudrición de raíces, cuello, tronco, ramas laterales y frutos. Los representantes de este género, con pocas excepciones, presentan una amplia gama de hospedantes, hasta 1996 se conocían 54 especies de *Phytophthora* (1), once años después se informaron aproximadamente 50 especies adicionales, la mayoría asociadas con la mortalidad de los árboles en ecosistemas de bosques (2) y se conoce que varias especies de este género pueden coexistir en una misma planta (3, 4).

La pudrición de las raíces del aguacatero, constituye una de las enfermedades más comunes que afectan este frutal en Cuba (5), aunque poco se conoce de su incidencia y severidad, debido entre otras razones, a que no es un cultivo extensivo y no se priorizó en las investigaciones científicas.

El principal agente causal de la tristeza del aguacatero es *Phytophthora cinnamomi* Rands, no obstante, se informaron otras especies de *Phytophthora* (*Phytophthora heveae* Thompson, *Phytophthora citricola* Sawada y *Phytophthora palmivora*) como agentes causales del cancro del aguacate (6), enfermedad que afecta severamente el cultivo y cuya incidencia real en Cuba se desconoce, aunque se asoció a *P. cinnamomi*, *Phytophthora nicotianae* Van Breda de Hann (7) y a *P. palmivora* (8).

La información acerca de la diversidad genética de *Phytophthora* y variaciones en la patogenicidad entre poblaciones en diferentes regiones donde se explota comercialmente el aguacatero, resulta de utilidad para adoptar esquemas de manejo en esos agroecosistemas y para asistir al programa de mejoramiento genético como agente de selección.

El presente trabajo se propuso como objetivo evaluar la variabilidad intraespecífica a nivel morfológico de un grupo de cepas de *P. palmivora* obtenidas de plantaciones de aguacatero en Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colección de cepas de *P. palmivora* utilizadas en el estudio

Para el estudio se utilizaron ocho cepas de *P. palmivora* (Tabla 1) pertenecientes a la colección del Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical (Cuba), aisladas de plantaciones de aguacatero, que fueron previamente identificadas a nivel morfológico (8) y molecular (9).

TABLA 1. Información referente a las cepas de *P. palmivora* utilizadas en el estudio, localidad y método de aislamiento empleado./ *Strains obtained, localities and methods of isolation used.*

Aislado	Localidad/Provincia	Método de aislamiento
IIFT-127	Alquízar/ Artemisa	Directo de fruto con síntomas
IIFT-149	Jagüey Grande/ Matanzas	Método del cebo
IIFT-150		Método del cebo
IIFT-151		Método del cebo
IIFT-160		Método del cebo
IIFT-161		Método del cebo
IIFT-165	Playa/ La Habana	Directo del fruto
IIFT-166	Jagüey Grande/ Matanzas	Método del cebo

IIFT: Instituto de investigaciones en Fruticultura Tropical

Medios de cultivo utilizados

Las cepas fueron sembradas en placas Petri con cuatro medios de cultivo: medio agar-papa-dextrosa (Potato-Dextrose-Agar, PDA), agar zanahoria (AZ) (10), agar y jugo vegetal V8 (AV8) (1) y agar malta (AM). Se incubaron en la oscuridad, a la temperatura óptima para la mayoría de las especies de *Phytophthora* (24°C) durante 7 días, al cabo de los cuales se registró el tipo de colonia observado, de acuerdo con lo descrito (1).

Producción de esporangios

Para la producción de esporangios en medio líquido se usó el método basado en retirar discos de micelio de 5 mm de diámetro, de los márgenes del cultivo del hongo previamente crecido en medio AZ durante 4 días y transferirlos a placas Petri de cristal que contenían medio líquido de zanahoria (2 ml de jugo de zanahoria y 8 ml de agua destilada estéril) (10). Estas placas se incubaron a 24°C bajo luz fluorescente continua (a una distancia de 40 cm de la lámpara), durante 24 horas. Transcurrido ese tiempo, el medio líquido de zanahoria fue retirado asépticamente y sustituido por 10 ml de agua destilada estéril. Posteriormente las placas se mantuvieron por 24 horas a 24°C bajo condición de luz continua.

Variables evaluadas

Las estructuras del hongo se localizaron y se prepararon para su observación al microscopio. Se realizaron las descripciones del tipo de esporangio y sus mediciones de largo, ancho y la relación largo/ancho

(1), así como el largo y ancho de las papilas (10) y la relación largo/ancho de las mismas, estas mediciones se expresaron en μm . Se midieron 50 esporangios de cada aislado.

Las observaciones y mediciones se realizaron bajo un microscopio óptico Carl Zeiss de contraste de fase, modelo Axioskop 40 y utilizando un aumento de 400X. Se utilizó una cámara Cannon de 7.1 Mega Pixels con zoom óptico de 4X para fotografiar las estructuras evaluadas.

En las evaluaciones se incluyó, con fines comparativos, una cepa de *P. palmivora* (LRS75/01) aislada de papaya y gentilmente donada por el Dr. Eduardo Feichtenberger, del Instituto Biológico de Sorocaba, Brasil.

Procesamiento estadístico

Se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) considerando las mediciones realizadas a las ocho cepas de *P. palmivora* e incluyendo la cepa adicional utilizada con fines comparativos. El ACP se realizó a partir de la matriz de correlaciones, utilizando el paquete de programas PAST versión 2.17 (11).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Descripción de los patrones de crecimiento de las colonias, tipos de esporangios y sus dimensiones en los aislados de *P. palmivora* de aguacatero

Las cepas provenientes de aguacatero, mostraron un comportamiento uniforme en cuanto al patrón de crecimiento de las colonias de *P. palmivora* en cada

uno de los cuatro medios de cultivo utilizados; aracnoide en los medios PDA y AM y estrellado en los medios AV8 y AZ, coincidiendo con lo informado previamente para esta especie (1,12).

El patrón cultural estrellado de las colonias fue el más común en un estudio de 89 aislados procedentes de 10 países diferentes, donde 49 de esos aislamientos de *P. palmivora* procedentes de cacao, crecieron en medio agar V8 en forma de estrella. No obstante, también se evidenció una alta variabilidad en cuanto al patrón de crecimiento de las colonias, tanto de los aislados que pertenecían a un mismo país como entre los que pertenecían a diferentes regiones geográficas (13). Similares resultados, en cuanto a la prevalencia de este patrón de crecimiento de las colonias, fueron informados para aislados de *P. palmivora* de cocotero (14).

La longitud y ancho de los esporangios de los aislamientos estudiados se presentan en la Tabla 2. Los esporangios fueron variables en su forma, desde ovoides y elipsoides, obpiriformes, esféricos y distorsionados con bases redondeadas (Fig. 1), con papilas prominentes y pedicelos cortos (2-5 μm). Estos valores fueron similares a los informados para aislados de *P. palmivora* obtenidos de cacao (13) y palma de aceite (15,16). Los valores de las dimensiones de los esporangios se corresponden con el rango informado inicialmente para *P. palmivora* (1) y confirman la identificación inicial de los mismos, basado en marcadores morfológicos (12).

Estos elementos resultan de importancia para futuros trabajos de diagnóstico de aislamientos de este patógeno en Cuba, al constituirse en una colección de

TABLA 2. Dimensiones de los esporangios de la colección de cepas de *P. palmivora* aisladas de plantaciones de aguacatero. (Valores promedios de 50 mediciones por aislamientos)./ *Sporangia sizes of the collection of P. palmivora strains obtained from avocado orchards. (Average values from 50 measurements for each strain)*

Parámetros	Largo esporangios (μm)	Ancho esporangios (μm)	L/A esporangios	Largo papilas (μm)	Ancho papilas (μm)	L/A papilas
Cepas						
IIFT-127	47,4	33,3	1,4	5,5	6,2	0,9
IIFT-149	47,4	32,6	1,5	4,9	6,0	0,8
IIFT-150	50,5	28,3	1,8	6,1	6,0	1,0
IIFT-151	53,7	29,2	1,8	5,1	7,0	0,7
IIFT-160	48,3	31,5	1,5	5,6	6,1	0,9
IIFT-161	48,8	38,8	1,3	5,1	7,0	0,7
IIFT-165	45,1	33,8	1,3	6,0	7,3	0,8
IIFT-166	49,3	33,1	1,5	5,4	6,4	0,8
Media	48,4	31,5	1,5	5,6	6,4	0,9
DS	9,1	5,5	0,3	1,7	1,7	0,3
LRS75/01	51,4	31,8	1,6	5,5	7,8	0,7

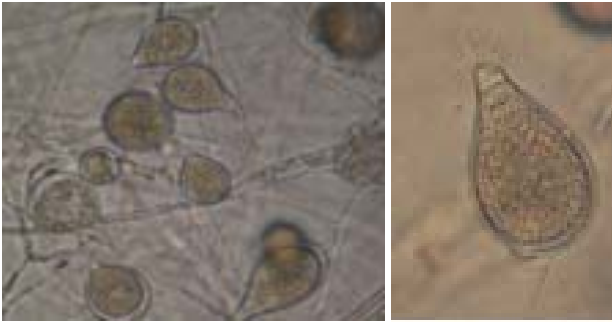


FIGURA 1. Diferentes tipos de esporangios observados en las cepas de *P. palmivora* provenientes de aguacatero de diversas zonas de la región occidental de Cuba./ *Different types of the sporangia observed.*

Izquierda: esporangios obpiriformes y ovoides en el aislamiento IIFT-165./ *Left: obpyriform and ovoid sporangia observed in the strain IIFT-165.*

Derecha: esporangio obpiriforme en el aislamiento IIFT-165 con un pedicelo lateral./ *Right: obpyriform sporangia showing a lateral pedicel in the strain IIFT-165 (x400).*

referencia para el trabajo con este fitopatógeno. Hoy se acepta que, a pesar del desarrollo alcanzado por las herramientas moleculares, las que pueden responder a muchas interrogantes taxonómicas, el muestreo de los suelos para el aislamiento de patógenos y el mantenimiento de colecciones de referencia de cultivos vivos continúa siendo una tarea crucial (17).

De igual modo, el estudio representa la base para el desarrollo de ulteriores estudios de caracterización patogénica y de la posible correlación de estas variables con los resultados de la caracterización molecular efectuada a los mismos (9).

Evaluación de la variabilidad de aislados de *P. palmivora*

El ACP realizado a partir de las dimensiones de los esporangios y de las papilas mostró que las tres primeras componentes principales explicaron el 96,52% de la variabilidad total. La primera componente principal explicó el 44,42% de la variabilidad con la mayor contribución de las variables ancho de los esporangios (Aesp), relación largo/ancho de los esporangios (L/Aesp), relación largo y ancho de las papilas (L/Apap); mientras que, la segunda componente principal, explicó el 34,9% de la variabilidad total, a partir de la mayor contribución de las variables largo de los esporangios (Lesp), nuevamente la relación largo y ancho de las papilas (L/Apap) y el ancho de las papilas (Apap) (Tabla 3).

Un primer resultado que se observa a partir de la representación gráfica del biplot es que las dos primeras componentes principales muestran una amplia dispersión de las cepas cubanas estudiadas, incluido el aislado LRS75/01 que se utilizó con fines comparativos. Esta distribución indica la existencia de variabilidad en las dimensiones de los esporangios y las papilas entre las cepas de *P. palmivora* colectados en plantaciones de aguacatero. En este sentido a lo largo de la primera componente se localizan las cepas: IIFT-161 a la extrema izquierda caracterizada por presentar los mayores valores de la variable ancho de los esporangios (Aesp) y los menores en cuanto a la relación largo/ancho de los esporangios (L/Aesp); mientras que, de manera contraria se ubicó el aislado IIFT-150 el cual presenta el mayor valor en la relación largo/ancho de los esporangios (L/Aesp) los esporangios mas estrechos (Aesp) (Fig. 2).

TABLA 3. Contribución de las variables morfológicas medidas en los aislados de *P. palmivora* estudiados a las dos primeras componentes principales./ *Contribution of the morphological variables measured in the *P. palmivora* isolates studied to the two principal components.*

Variables	Componentes Principales		
	CP 1	CP 2	CP3
Lesp	0,5292	0,7878	-0,1057
Aesp	-0,9479	-0,1168	-0,038
L/Aesp	0,8975	0,4377	-0,0232
Lpap	0,4117	-0,4772	0,7688
Apap	-0,3861	0,6502	0,6516
L/Apap	0,602	-0,7856	-0,0408
Valor propio	2,665	2,093	1,03
Varianza explicada (%)	44,42	34,9	17,2
Varianza acumulada (%)	44,42	79,32	96,52

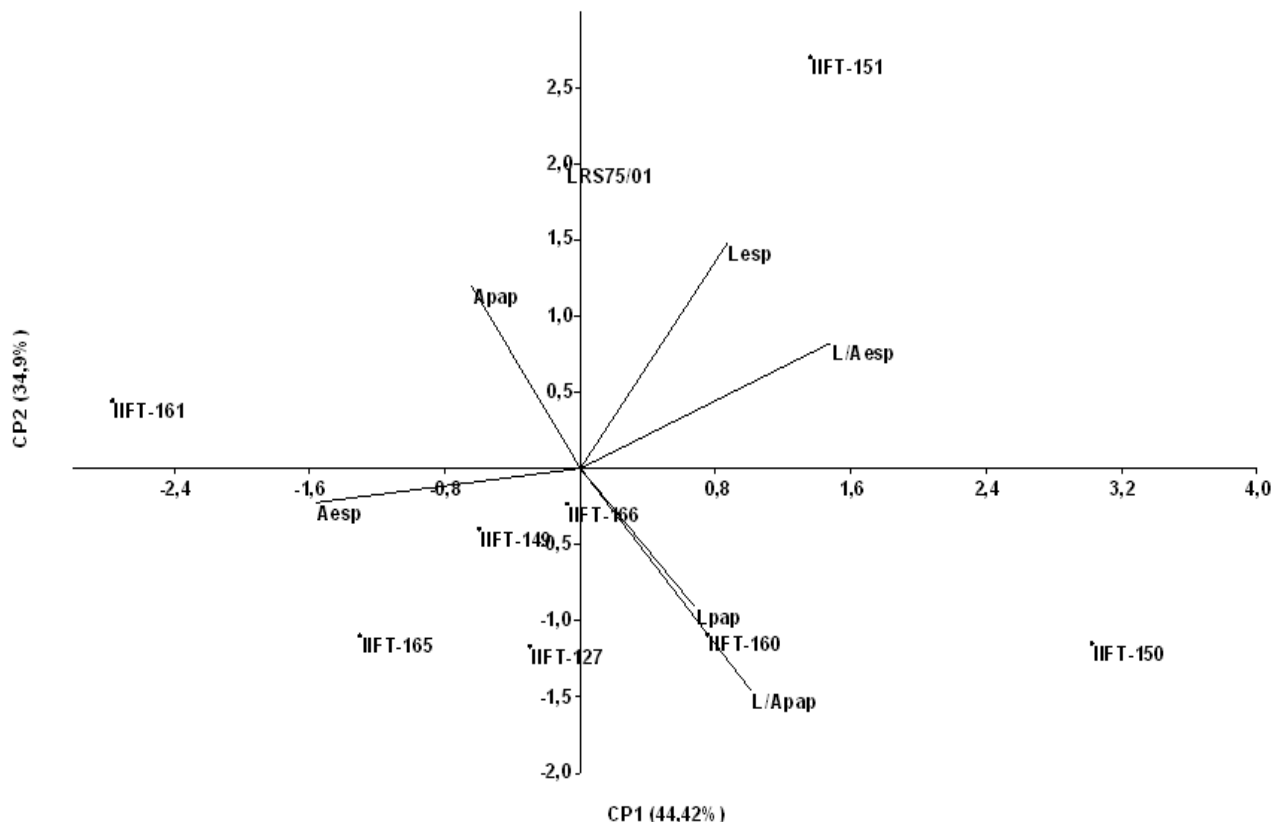


FIGURE 2. Representación biplot de las dos primeras componentes principales del ACP realizado en base a las variables morfológicas evaluadas en los aislados de *P. palmivora* estudiados. / *Biplot illustration of the two first principal components based on the morphological variables evaluated in the *P. palmivora* isolates studied.*

Con relación a la segunda componente principal, el aislado IIFT-151 se ubicó en el extremo superior de la misma, cerca del aislado incluido con fines comparativos LRS75/01, por presentar ambos los mayores valores para el largo de las esporangios (Lesp) y los menores para la relación largo/ancho de las papilas (L/Apap). De manera opuesta se ubicaron los aislados IIFT-127, IIFT-165 e IIFT-160 que de forma general presentaron los menores valores para el largo de los esporangios (Lesp). Por último, cerca del centro de coordenadas se encuentra el aislado IIFT-166 y muy cerca la cepa IIFT-149, los cuales presentaron valores promedio para las variables evaluadas (Fig. 2, Tabla 2).

Los resultados alcanzados en este estudio demostraron la existencia de variación significativa en la envergadura de los esporangios y sus papilas entre cepas de *P. palmivora*, los que resultan similares a los obtenidos en aislados de cacao y demuestran nuevamente las dificultades que existen en la identificación certera sobre la base solamente de datos morfológicos (13).

Los estudios de diversidad en microorganismos patógenos resultan de gran importancia para el mejoramiento genético vegetal. La alta diversidad de aislamientos de *P. infestans* puede provocar la ruptura de la resistencia en cultivares de papa (18), por lo que las estrategias en la búsqueda de genes de resistencia en interacciones específicas han cobrado actualidad con ejemplos concretos en papa - *P. infestans* (19, 20), que incluyó la creación de la bases de datos para explorar genes de resistencia (21); así como, en la interacción tomate - *P. infestans*, en fresa-*P. fragariae* Hickman y en la interacción soya-*P. sojae* (20, 22).

Estos enfoques relacionados con la búsqueda de genes de resistencia comenzaron a utilizarse recientemente en aguacatero criollo mexicano (*P. americana* var. *drymifolia*) aunque en este caso para el control de *P. cinnamomi* (23).

La información derivada de este trabajo sirve de base para la realización de estudios similares a los mencionados anteriormente relacionados con la detección de

posibles genes de resistencia en la interacción *P. palmivora* y patrones de aguacatero en Cuba, así como en estudios epidemiológicos, teniendo en cuenta el amplio rango de hospedantes que posee esta especie de *Phytophthora* y los peligros que representa la actual tendencia de los productores hacia la diversificación de las plantaciones.

La alta variabilidad morfológica detectada indica la necesidad de profundizar en los estudios futuros de caracterización taxonómica mediante herramientas moleculares. De igual forma, resultará imprescindible la conservación de estos aislados para posteriores investigaciones de interacción planta-patógeno y la asistencia al programa de mejoramiento biotecnológico de patrones de aguacatero que ejecuta el IIFT en colaboración con el CEADEN.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado parcialmente por los proyectos CITMA 00300260 y 00300339 y por los proyectos internacionales del Organismo Internacional de la Energía Atómica (OIEA): Contrato de Investigación No. 11671 y ARCAL 056.

REFERENCIAS

1. Erwin DC, Ribeiro OL. *Phytophthora* Disease Worldwide. APS Press, The American Phytopathological Society, St. Paul, Minn. 562 pp. 1996.
2. Schena L, Duncan JM, Cooke DE. Development and application of a PCR- based molecular tool Publishing box for the identification of damaging forests and natural ecosystem. Plant Pathology. Compilation 2007, pp 12.
3. Vettrains AM, Barzanti GP, Bianco MC. Occurrence of *Phytophthora* species in oak stands in Italy and their association with declining oak trees. Forest Pathology. 2002;32:19-28.
4. Vettrains AM, Morel O, Perlerou C, Robin C, Diamandis S, Vannini A. Occurrence and distribution of *Phytophthora* species in European chestnut stands and their association with ink disease and crown decline. European Jour. Plant Pathology. 2005;111:169-180.
5. Sánchez HM. Plagas y enfermedades de los frutales. Editorial Pueblo y Educación, La Habana, Cuba, 195 pp. 1983.
6. Téliz D, Mora A. El aguacatero y su manejo integrado. Ediciones Mundo Prensa. México DF. Madrid. Barcelona. 321 pp. 2007.
7. Zamora V, Casín JC. Caracterización de dos cepas de *Phytophthora* aisladas de aguacatero. Instituto de Investigaciones de Fruticultura Tropical. Ministerio de la Agricultura. Cuba. Reporte de Investigación RI-72. 1989.
8. Machado M, Peña M, Coto O, López MO, Zamora V, Cabrera RI, *et al.* Caracterización morfológica y fisiológica de *Phytophthora* spp. aisladas de plantas de aguacatero con síntomas de marchitez. Revista CitriFrut. 2008;25(2):49-55.
9. Machado M, Collazo C, Peña M, Renaud M-A, López MO, Coto O, *et al.* First report of *Phytophthora palmivora* Butler causing root rot on avocado (*Persea americana* Mill.) in Cuba. Canadian Jour. Plant Pathology. 2012;34(2):323-348.
10. Feichtenberger E, Zentmyer GA, Menge JA. Identity of *Phytophthora* isolated from milkweed vine. Phytopathology. 1983;74(1):50-55.
11. Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Palaeontologia Electrónica. 2001;4(1):9. http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm.
12. Machado M. Aislamiento y caracterización de *Phytophthora* spp. asociadas a los cultivos de aguacatero y cítricos. [Tesis presentada en opción al Título Académico de Maestro en Microbiología Mención Ecología Microbiana]. Universidad de La Habana, Cuba. 79 pág. 2008.
13. Appiah AA, Flood J, Bridge PD, Archer SA. Inter- and intraspecific morphometric variation and characterization of *Phytophthora* isolates from cocoa. Plant Pathology. 2003; 52:168-180.
14. Rasmi AR, Rohini I. Characterization of *Phytophthora palmivora* isolates inciting bud rot and nut rot in coconut. Jour Plantation Crops. 2010;38(3):188-193.
15. Sarria GA, Torres GA, Aya HA, Ariza JG, Rodríguez J, Vélez DC, *et al.* Caracterización morfológica y molecular de *Phytophthora palmivora* agente

- causal de las lesiones iniciales de la pudrición de cogollo (PC) de la palma de aceite en Colombia. *Fitopatología Colombiana*. 2008;32(2): 43.
16. Torres GA, Sarria GA, Varon F. First Report of Bud Rot Caused by *Phytophthora palmivora* on African Oil Palm in Colombia. *Plant Disease*. 2010;94(9):1163.
 17. Lévesque CA. Molecular Diagnostics of Soilborne Fungal Pathogen. En: *Biotechnology and Plant Disease Management*. Z.K. Punja, S.H. De Boer y H. Safaon (Eds). 2007. CAB International ISBN-13: 978 1 84593 288 6.
 18. Cooke DEL, Young V, Birch PRJ, Toht R, Gourlay F, Day JP, *et al.* Phenotypic and genotypic diversity of *Phytophthora infestans* populations in Scotland (1995-97). *Plant Pathol*. 2003;52(2):181-192.
 19. Ambarwatia AD, Purwitob A, Hermana M, Sumaraowc SM, Aswidinnoor H. Integration and segregation analysis of late blight resistance gene in F1 progenies of transgenic and nontransgenic potato crosses. *Indonesian Journal of Agriculture*. 2011;(1): 1-7
 20. Zhu S, Li Y, Vossen JH, Visser RGF, Jacobse E. Functional stacking of three resistance genes against *Phytophthora infestans* in potato. *Transgenic Res*. 2011; DOI 10.1007/s11248-011-9510-1.
 21. Vleeshouwers VGAA, Finkers R, Budding D, Visser M, Jacobs MMJ, van Berloo R, *et al.* SolRgene: an online database to explore disease resistance genes in tuber-bearing *Solanum* species. *BMC Plant Biology*. 2011;11:116.
 22. Gao H, Bhattacharyya MK. The soybean-*Phytophthora* resistance locus Rps1-k encompasses coiled coil-nucleotide binding-leucine rich repeat-like genes and repetitive sequences. *BioMed Central Plant Biology*. 2008;8:29-42.
 23. Cortés MA, Hernández A, López R, Salgado R. La búsqueda de genes de resistencia como una alternativa para la selección de portainjertos de aguacate con tolerancia a *Phytophthora cinnamomi*. *Revista de la DES Ciencias Biológico Agropecuarias, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Biológicas*. 2010;12(2):143-150.

Recibido: 16-7-2012.
Aceptado: 10-12-2012.