

Comportamiento de los portainjertos de cítricos en un suelo infestado de *Armillaria mellea*

JUAN J. TUSET, C. HINAREJOS Y J. L. MIRA

Los patrones de cítricos son necesarios para el desarrollo de este cultivo. Las condiciones climáticas, edáficas, culturales y, especialmente las parasitarias han hecho obligatorio su uso en casi todo el mundo. *Armillaria mellea sensu stricto*, un típico hongo invasor con actividad parasitaria generalmente débil, afecta en el área mediterránea a los naranjos, clementinos y limoneros causándoles daños considerables en muchas plantaciones. La insuficiente e incompleta información que existe sobre la tolerancia o resistencia de los patrones de cítricos a este hongo, nos ha inducido a plantear una experiencia con inóculo natural del hongo, en la que en una misma parcela estuvieran ubicados los seis portainjertos ensayados, distribuidos en dos grupos: los injertados con «Washington navel» y los no injertados. Después de 20 años de experimentación, el análisis de la infección de los sistemas radicales de los árboles de ambos grupos nos ha indicado que el naranjo amargo RL-O es muy resistente, citrange Troyer muestra una sensibilidad media y que el mandarina Cleopatra, citrange Carrizo, citrumelo Sacaton y *C. macrophylla* son sensibles a *A. mellea*. El injertado de los portainjertos, les proporciona un mayor vigor y, como consecuencia, más resistencia al hongo. Después de tan largo período, los restos de raíces que sirvieron de inóculo inicial del hongo se han mantenido en buenas condiciones estructurales y de consistencia siendo portadores aún de un inóculo activo.

J. J. TUSET, C. HINAREJOS Y J. L. MIRA. Departamento de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). 46113-Moncada (Valencia).

Palabras clave: *Armillaria mellea sensu stricto*, infestación del suelo, infección radical, portainjertos de cítricos, naranjo amargo, mandarina Cleopatra, citrange Troyer, citrange Carrizo, citrumelo Sacaton, *Citrus macrophylla*, resistencia, tolerancia.

INTRODUCCIÓN

El uso de los patrones en los cítricos es muy antiguo y su inicio no resulta bien conocido (NEWCOMB, 1978). En el área mediterránea debido a la aparición de la *Phytophthora* spp., agente causante de la «gomosis» y de la «podredumbre del cuello», la utilización del naranjo amargo (*Citrus aurantium* L.) fue necesaria y ello contribuyó al desarrollo de la citricultura, en particular en España (ZARAGOZA, 1993). En otras áreas geográficas las condiciones climáticas, edáficas, de cultivo o por la producción de frutos sin semillas, han

influido en el empleo de diferentes portainjertos. A partir de los años 40, con la aparición en Brasil del virus de la «Tristeza» que no admite la combinación naranjo amargo-naranjo dulce, la utilización del patrón amargo se ha ido poco a poco eliminando en la casi totalidad de las áreas citricolas del planeta, lo que ha obligado a investigar nuevos portainjertos que lo sustituyan. Estos nuevos patrones presentan problemas de tolerancia a diversos patógenos del suelo que no eran observados, o muy poco, con el naranjo amargo. Entre ellos, en las condiciones del área mediterránea española, el hongo *Armillaria*

mellea sensu stricto (Vahl ex Fr.) Kummer causa—desde los años 70—daños importantes en muchas plantaciones de naranjo dulce, clementino y limonero situadas en áreas donde el naranjo amargo ha sido sustituido por la presencia de la «Tristeza» o en transformaciones donde el suelo anteriormente estaba poblado por otras especies leñosas, especialmente coníferas (*Pinus halepensis* Mill., etc.).

A. mellea, es un típico hongo invasor que se conserva en el suelo como micelio o rizomorfos en los restos de raíces y porciones basales de troncos (MUNNECKE *et al.*, 1981; TUSET e HINAREJOS, 1995). Esta conservación es casi tan prolongada como la de los restos leñosos parasitados (ONO, 1970). En nuestra climatología, por la escasez de lluvia y de vida microbiana en el suelo, esta permanencia es bastante dilatada, normalmente varias décadas. Durante este tiempo el hongo permanece activo y es un agente potencial de infección de las plantas leñosas. *A. mellea* está considerado como un agente secundario que afecta a árboles debilitados pero también como una causa primaria de daño (SHAW y ROTH, 1978). En los cítricos la actividad de este hongo se encuentra más próxima al segundo caso (BROADBENT, 1981).

La afectación de *A. mellea* a los cítricos esta condicionada principalmente a la existencia de restos leñosos infectados por el hongo, al tipo de suelo (especialmente si éste es de textura arenosa o limo-arenosa), a la humedad del suelo y, también, a las prácticas culturales agresivas que dañan los árboles (BROADBENT, 1981). Las considerables diferencias observadas en los daños en varias combinaciones patrón-injerto en condiciones de suelo y de cultivo muy similares podrían ser debidas a diversos grados de sensibilidad natural de los portainjertos a la actividad patógena de este hongo.

Lo indicado en la literatura sobre la tolerancia o resistencia de los portainjertos de cítricos a *A. mellea* es bastante escaso e incompleto y procedente de diversas fuentes que se han basado mayoritariamente en observaciones de campo en distintas condiciones am-

bientales y de cultivo. Esto que, en un principio, es de utilidad para conocer un generalizado comportamiento del portainjerto con relación al agente micótico, ha eludido estudiar de forma más detenida y singularizada la sensibilidad de cada uno de ellos en una actuación directa con este hongo, lo que implica un riesgo que debe ser determinado para cada plantación (NEWCOMB, 1978).

En este trabajo, seis portainjertos utilizados en cítricos fueron dispuestos en las mismas condiciones de inóculo de *A. mellea* y, también, de suelo. Después de un prolongado cultivo han sido estudiados minuciosamente y valorada su infección con el objeto de conocer en condiciones muy idénticas (una misma parcela), la gradación de sensibilidad de cada uno de ellos a este importante patógeno habitantedel suelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Portainjertos

Se utilizaron en la experiencia árboles jóvenes de 1 año de edad de citrange Troyer, citrange Carrizo (*C. sinensis* (L.) Osb. × *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.), mandarino Cleopatra (*C. reshni* Hort. ex Tan.), *C. macrophylla* Wester, citrumelo Sacaton (*C. paradisi* Macf. × *P. trifoliata*) y un naranjo amargo (*C. aurantium*) autoctono, conocido como RL-O (posiblemente híbrido con limonero aunque no confirmado). Todos ellos de un tamaño muy similar, procedentes de vivero y exentos de patógenos fúngicos y de nematodos.

Inóculo del hongo

Porciones de raíces recién extraídas del suelo, con un diámetro entre 3 y 6 cm., de naranjo dulce (*C. sinensis*) y citrange Troyer infectadas naturalmente de *A. mellea sensu stricto* se emplearon como fuente de inóculo. Micelio denso y rizomorfos estaban presentes en todos los trozos de raíces escogidos para el ensayo.

Tipo de suelo

El suelo de la parcela del ensayo era de textura franco-arenosa (textura ligera) y con un drenaje de medio a bueno. Las características físicas y químicas del mismo eran: 48-52% de arena gruesa, 9-12% de arena fina, 27-31% de limo, 9-11% de arcilla, 38,8% de carbonatos totales, 6,3 meq/l de Ca intercambiable, 1,3% de materia orgánica, pH 7,8 y una conductividad eléctrica (C.E.) en extracto de saturación de 630 μ S/cm. Suelo calizo típico de la zona central costera de la provincia de Valencia y apropiado para el cultivo de los cítricos.

Metodología

Una parcela de 900 m² (15 m \times 60 m), situada en la finca para experimentaciones del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) en Moncada (Valencia), fue elegida para el ensayo en febrero de 1977. En toda su extensión, la capa de tierra superior en un espesor de 60-70 cm. fue primeramente retirada y situada en montones en los bordes de la parcela (Fig. 1). En el lecho excavado se depositaron repartidamente los trozos de raíces de una longitud variable entre 40 y 60 cm. infectados con *A. mellea* en una densidad de 5-8 trozos por metro cuadrado, cantidad suficiente para obtener un inóculo del hongo bastante uniforme en toda la parcela (Fig. 2). Posteriormente con la tierra extraída se cubrieron estos trozos de raíces hasta rehacer de nuevo la parcela. A continuación, ésta fue regada dos veces con una separación de 17 días y después de ello, con el suelo en tempero, se realizó la plantación de los árboles de los seis portainjertos (24 plantas por cada portainjerto) empleando un marco de 2 \times 3 m. (Fig. 3). A partir de aquí y durante todo el tiempo de la experiencia, en la parcela se realizaron las prácticas culturales (riego, abonado, poda, tratamientos antiparasitarios, etc.) normales del cultivo de los cítricos.

A los 10 años de la plantación, o sea, en la primavera de 1987, el 50% de los árboles de



Fig. 1. - Preparación de la parcela.



Fig. 2. - Disposición en subsuelo de la parcela de los trozos de raíces infectadas de *A. mellea*.



Fig. 3. - Parcela experimental recién plantada.



Fig. 4. - Arranque de los árboles a los 20 años de su plantación.



Fig. 5. - Desarrollo subcortical de *A. mellea* en raíz de citrumelo Sacaton.

los seis portainjertos se injertaron con naranjo dulce de la variedad «Washington navel» y el otro 50% de los árboles se mantuvieron sin injertar. A los 20 años de la plantación, en el mes de octubre de 1997, todos los árboles, tanto los injertados como los no injertados, se arrancaron finalizando la experiencia (Fig.4). Los árboles de los seis portainjertos y, especialmente, sus sistemas radicales se analizaron detenidamente para valorar los porcentajes de infección causados por *A. mellea*; estableciendo 5 niveles: 0, sin infección; 1, infectada la raíz principal únicamen-

te; 2, infectadas la raíz principal y alguna raíz primaria; 3, infectadas la raíz principal y más del 50% de las raíces primarias; 4, infectadas la raíz principal, todas las primarias y alguna secundaria. También se examinaron con meticulosidad los restos de las raíces enterradas que sirvieron de inóculo del hongo para comprobar su estado y la vitalidad del hongo después de tan largo periodo de tiempo.

RESULTADOS

Árboles afectados

A partir del sexto año de cultivo se observaron distintos efectos adversos en los árboles, tales como: defoliaciones, amarillos, ramas secas, menor desarrollo, pobreza foliar, descenso de la fructificación, etc., pero ningún árbol murió. Estos daños se han comprobado en los árboles afectados por *A. mellea* de forma generalizada en toda la parcela del ensayo. El sistema radical de los árboles fue dañado, siendo notorio tanto la podredumbre de las raíces como el desarrollo micelial subcortical (Fig. 5). El porcentaje de árboles afectados por el hongo ha sido elevado, más del 33% en los no injertados y un poco menor, por encima del 16% en los injertados con naranjo «Washington navel» (Cuadro 1). El naranjo amargo RL-O se ha mostrado muy resistente a *A. mellea* (0% de árboles infectados en los no injertados y 0,8% en los injertados). Los otros cinco portainjertos si que fueron atacados por el hongo. Mandarino Cleopatra (75% de árboles infectados en los no injertados y 50% en los injertados), citrange Carrizo (66% y 53% respectivamente), citrumelo Sacaton (58% y 41% respectivamente) y *c. macrophylla* (58% y 25% respectivamente) se han comportado como bastante sensibles, mientras que el citrange Troyer (33% y 16% respectivamente) ha ofrecido una resistencia media (Cuadro 1).

Las diferencias con relación al porcentaje de árboles infectados son importantes al nivel de confianza del 95%, entre el naranjo amargo RLO y todos los demás portainjertos. También entre el citrange Troyer y el grupo

Cuadro 1. - Afectación de los árboles de seis portainjertos de cítricos a los 20 años de ser cultivados en un suelo inoculado con *A. mellea*²

Portainjerto	Arboles no injertados % de afectación	Arboles injertados ^y % de afectación
Citrange Troyer	33,3	16,6
<i>Citrus macrophylla</i>	58,3	25,5
Citrange Carrizo	66,6	33,3
Mandarino Cleopatra	75,0	50,0
Naranja amargo RL-O	0	0,8
Citrumelo «Sacaton»	58,3	41,6

²Suelo inoculado con trozos de raíces de diversos cítricos infectados de *A. mellea*.

^yA los 10 años de cultivo se injertaron de naranja «Washington navel».

formado por el mandarino Cleopatra, citrange Carrizo, citrumelo Sacaton y *C. macrophylla*. No existen diferencias entre los componentes de este grupo en el que todos han desarrollado una sensibilidad parecida a *A. mellea*, tanto los árboles no injertados como los injertados.

Infección radical

Los sistemas radicales de la mayoría de los árboles afectados mostraban podredumbre cortical y crecimiento de micelio denso y abundante en el leño que llegaba a alcanzar la zona del cuello. El desarrollo radical de los árboles dañados fue variable. La infección de *A. mellea* se situaba principalmente en la raíz principal, aunque las raíces primarias y muchas de las secundarias también fueron atacadas por el hongo. El grupo de portainjertos formado por: mandarino Cleopatra, *C. macrophylla*, citrumelo Sacaton y citrange Carrizo, tanto en los árboles no injertados como en los injertados, presentaban un ataque importante del hongo en sus sistemas radicales, los cuales eran más pequeños y débiles (Cua-

dro 2). Citrange Troyer tuvo una infección moderada y solo la raíz principal y alguna primaria fueron afectadas. En el tiempo que duró la experiencia, el naranja amargo (RL-O) mantuvo exento su sistema radical de la infección fúngica y, únicamente, en un árbol injertado de este portainjerto se detectó un pequeño desarrollo miceliar en la parte apical de la raíz principal (Cuadro 2).

Una evidente diferencia entre el naranja amargo (RL-O) y los otros cinco portainjertos ha sido obtenida en este ensayo. Los citranges han exhibido una infección variable entre moderada y alta, siendo el citrange Troyer el menos atacado. El mandarino Cleopatra, *C. macrophylla* y citrumelo Sacaton fueron los más dañados (Cuadro 2).

Persistencia del hongo en el suelo

En el suelo de la parcela y enterrados a una profundidad de 50-70 cm., los trozos de raíces portadoras del inóculo inicial de *A. mellea* se han mantenido en buenas condiciones

Cuadro 2.- Grado de infección radical de los árboles de seis portainjertos de cítricos a los 20 años de ser cultivados en suelo inoculado con *A. mellea*².

Portainjertos	Arboles no injertados	Arboles injertados ^y
Citrange Troyer	1-2 ^x	1-2 ^x
<i>Citrus macrophylla</i>	3-4	3-4
Citrange Carrizo	2-3	2-3
Mandarino Cleopatra	3-4	3-4
Naranja amargo RL-O	0	1
Citrumelo «Sacaton»	3-4	3-4

² Suelo inoculado con raíces de diversos cítricos infectados por *A. mellea*.

^y A los 10 años de cultivo se injertaron de naranja «Washington navel».

^x 0, no infectado; 1, infectada únicamente la raíz principal; 2, infectadas raíz principal y alguna raíz primaria; 3, infectadas raíz principal y más del 50% de las raíces primarias; 4, infectadas raíz principal, todas las raíces primarias y alguna secundaria.

y sin haberse descompuesto después de 20 años. Más del 85% de las raíces enterradas en 1977 han permanecido sin alterar considerablemente su consistencia y estructura hasta el fin de la experiencia. El grosor de las raíces no ha sido un factor determinante de la supervivencia del hongo. En muchas de las raíces extraídas, amplias áreas de la corteza se habían podrido, pero el leño permanecía en buen estado y, además, era portador de masas más o menos densas de micelio. La presencia de los rizomorfos era evidente en la corteza fisurada y alterada (semipodrida) de la mayoría de las raíces estudiadas.

DISCUSIÓN

Estos resultados indican que, una rápida y extensa afección de las plantas jóvenes de las diversas especies e híbridos de cítricos utilizados como patrones, puede ocurrir cuando en el suelo permanecen enterrados restos de raíces infectadas de *A. mellea*. En el período de 20 años de cultivo de los portainjertos de cítricos en el suelo infestado por este hongo se han obtenido porcentajes bastante elevados de árboles infectados en el grupo de los no injertados, desde el 33% en citrange Troyer hasta el 75% en mandarino Cleopatra. Esto concuerda con observaciones efectuadas en Australia, donde la eliminación de mandarinos sobre limón rugoso (*C. jambhiri* Lush) por efecto de *Phytophthora* sp. y posterior replantación de naranjos «Valencia» injertados sobre *P. trifoliata*, produjo una rápida infección de *A. mellea* en los nuevos árboles debido al gran número de raíces contaminadas por este hongo que quedaron en el suelo procedentes de los viejos mandarinos, si bien éstos mostraban escasos síntomas de afectación (BROADBENT, 1981). Porcentajes un poco menores de infección, desde el 16% en citrange Troyer hasta el 50% en mandarino Cleopatra, se produjeron en los árboles injertados con naranjo «Washington navel», si bien en la misma proporción que en los no injertados. Este menor daño en los árboles injertados, que era patente en la parcela del en-

sayo, se debió posiblemente al mayor desarrollo vegetativo de los mismos. En Australia se recomienda mantener los árboles en un estado vigoroso para controlar a este hongo (BROADBENT, 1981). El naranjo amargo se ha comportado como muy resistente a la infección de *A. mellea*, consiguiendo un buen desarrollo vegetativo y, prácticamente, sin ninguna contaminación.

Los resultados obtenidos en nuestra experimentación coinciden, en general, con los indicados por NEWCOMB (1978) y COPELAND (1988). Ambos autores, se han basado fundamentalmente en numerosas observaciones de campo de lugares dispersos para poder calificar el comportamiento de los principales patrones de cítricos con respecto *A. mellea*. Aún así, el primero no caracteriza claramente la conducta de los citrangeros y del mandarino Cleopatra injertados de naranjo, aunque los atribuye como sensibles si están injertados de limonero. El segundo no califica al mandarino Cleopatra y, ninguno de los dos autores, precisan cual es la actuación del citrumelo frente a este problemático hongo del suelo. Por ello, nuestro estudio con infestación del suelo mediante raíces de cítricos infectados naturalmente con *A. mellea*, ha resultado ser un experimento de gran utilidad para conocer la respuesta de los árboles cítricos a la actividad patógena de este hongo de manera más concreta porque valora la conducta de los patrones en las mismas condiciones de cultivo y en el ambiente limitado de la parcela, reduce el tiempo de experimentación (aunque éste podría parecer un poco largo), se emplea inóculo natural del hongo de forma cuantificada y, lo que creemos más sugerente, posibilita la repetición de la experimentación en otras áreas. Bajo estas premisas, el ensayo efectuado ha demostrado la gran sensibilidad a *A. mellea sensu stricto* del mandarino Cleopatra, citrange Carrizo, *C. macrophylla* y citrumelo Sacaton. Una sensibilidad media del citrange Troyer y la muy pequeña o nula del naranjo amargo RL-O en las condiciones mediterráneas españolas.

El buen estado de los trozos de raíces que sirvieron de inóculo del hongo después de 20

años de estar enterrados en el suelo, es un hecho que indica la importancia que tiene la permanencia de los restos radicales sin ser descompuestos para la supervivencia de *A. mellea*. Mientras estos restos se mantengan con una estructura y consistencia que pueda soportar al hongo, tanto en forma de micelio como de rizomorfo, la conservación de éste se encuentra asegurada. BROADBENT (1981) indica distintas observaciones de árboles ci-

tricos infectados por *A. mellea* en suelos donde desde más de 100 años antes no había existido ninguna planta arbórea. En las condiciones del área mediterránea española, la falta de lluvia se manifiesta como un factor agravante, pues aún teniendo en cuenta los recursos hídricos que aportan la práctica cultural del riego, la vida microbiana del suelo es pequeña y, por ello la descomposición de los tejidos leñosos se alarga en el tiempo.

ABSTRACT

Tuset, J. J., Hinarejos, C. y Mira, J. L. 1999: Behaviour of the citrus rootstocks in an infested soil by *Armillaria mellea*. *Bol. San. Veg. Plagas*, 25 (4): 491-497.

Citrus rootstocks are necessary for the development of this culture. Climatic, cultural, edaphic, and particularly, parasitic conditions have made its use imperative in nearly all the world. *Armillaria mellea sensu stricto*, a typical invador fungus usually with wear parasitic activity, affects in the Mediterranean area the orange, clementines and lemons, trees causing severe damages in many plantings. The insufficient of incomplete information existent on the tolerance or resistance to the citrus rootstocks to this fungus, has lead to set up an experiment with natural inoculum of the fungus in which in a same plot would be planted the trees of the six rootstocks tested and distributed into two groups, one grafted on «Washington navel» orange, and the other, not grafted. After 20 years' experimentation, the analysis of the infection of the radical systems of the trees of both groups, have shown that sour orange RL-O is highly resistant, Troyer citrange shows a medium sensitiveness, and the Cleopatra mandarin, Carrizo citrange, Sacaton citrumelo and *C. macrophylla* are sensitive to *A. mellea*. Grafting on rootstocks provide them a greater vigour and, as a consequence, more resistance to the fungus. After such a long period, the remains of roots that were used as initial inoculum of the fungus, have been maintained in good structural conditions and consistency, being carriers of an important live inoculum of it.

Key words: *Armillaria mellea sensu stricto*, soil infestation, radical infection, citrus rootstocks, sour orange, Cleopatra mandarin, Troyer citrange, Carrizo citrange, Sacaton citrumelo, *Citrus macrophylla*, resistance, tolerance.

REFERENCIAS

- BROADBENT, P., 1981: *Armillaria* root rot of citrus in New South Wales, Australia. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, vol 1: 351-353.
- COPERLAND, R., 1988: Picking rootstocks for citrus yields. *California Grower*, January, 9-11.
- MUNNECKE, D. E., KOLBEZEN, M. J., WILBUR, W. D., CHIR, H. D., 1981: Interactions involved in controlling *Armillaria mellea*. *Plant Diseases* 65: 384-389.
- NEWCOMB, D. A., 1978: Selection of rootstocks for salinity and disease resistance. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 117-120.
- ONO, K., 1970: Effect of soil conditions on the occurrence of *Armillaria* root rot of the Japanese Larch. *Bull. Govt Forest Exp. Stn Meguro*, 229: 219 pp.
- SHAW, C. G. y ROTH, L. F., 1978: Control of *Armillaria* root rot in managed coniferous forests. A literature review. *Eur. J. For. Path.* 8 (3): 163-174.
- TUSET, J. J., HINAREJOS, C., 1995. *Enfermedades del cípres*. Ministerio de Agricultura, Pesca y alimentación-Ediciones Mundi-Prensa, 1 tomo, pp. 29-34.
- ZARAGOZA, S., 1993: *Pasado y presente de la citricultura española*. Consejería de Agricultura y Pesca, Generalitat Valenciana, 1 tomo, 82 pp.

(Recepción: 8 julio 1999)
(Aceptación: 15 octubre 1999)