

## SELECCIÓN DE PORTAINJERTOS DE AGUACATE TOLERANTES A LA PODREDUMBRE BLANCA CAUSADA POR *ROSELLINIA NECATRIX*

Pérez Jiménez R. M.<sup>1</sup>, Zea Bonilla T.<sup>1</sup>, Imbroda Solano, I.<sup>1</sup>, Pliego-Alfaro, F.<sup>1</sup>, López Herrera C. J.<sup>2</sup> y Barceló Muñoz A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigación y Formación Agraria. Cortijo de la Cruz s/n. Churriana. 29140. Málaga. España. Correo electrónico: [patologia@olinet.es](mailto:patologia@olinet.es)

<sup>2</sup> Instituto de Agricultura Sostenible, C.S.I.C., Apdo. 4084, 14080, Córdoba. España.

### RESUMEN

La podredumbre blanca de raíz causada por *Rosellinia necatrix* es una de las enfermedades más importantes que afectan al cultivo del aguacate en España. Las enfermedades causadas por hongos de suelo son difíciles de controlar y, por tanto, su control ha de plantearse desde distintos campos de actuación. Sin embargo, al considerar que los suelos infestados de las plantaciones son la principal fuente de inóculo y que el árbol expresa los síntomas cuando su sistema radicular está totalmente invadido, las medidas de control han de ser básicamente preventivas y, en este sentido, la disponibilidad de portainjertos de aguacate tolerantes a *R. necatrix* es especialmente interesante para mejorar el cultivo en España. Con este objetivo se inició este programa de selección de material tolerante a *R. necatrix*, en el que la multiplicación del material está basada en técnicas de propagación *in vitro*. Para este estudio se han realizado inoculaciones artificiales con *R. necatrix* utilizando distintas fuentes de material de aguacate: i) semillas de árboles locales aclimatados a la zona y de otros con distinta procedencia, ii) portainjertos seleccionados por la Universidad de California (USA) y Hans Merensky Holdings PTY. LTD (Sudáfrica) como tolerantes a *P. cinnamomi* y iii) portainjertos procedentes de árboles seleccionados en campo por presentarse sanos en parcelas con un alto grado de infestación. Actualmente, se tienen seleccionados 51 clones de material juvenil que han sobrevivido a una primera inoculación con *R. necatrix*, de éstos, tras finalizar el proceso de multiplicación, se han evaluado de nuevo 5 clones mediante una segunda inoculación. Los resultados de estas segundas inoculaciones han confirmado la tolerancia observada en la primera inoculación en varios clones, los cuales han sido seleccionados para la fase de evaluación en parcela infestada artificialmente. Por otro lado, las inoculaciones realizadas con 55 clones de portainjertos tolerantes a *P. cinnamomi*, han puesto de manifiesto que este material es muy susceptible a *R. necatrix*. Finalmente, en campo se tienen seleccionados 16 árbo-

les que se presentan sanos en parcelas infestadas por *R. necatrix*, de éstos, 8 se encuentran en fase de multiplicación para su posterior evaluación.

**Palabras Clave:** *Persea americana*, Susceptibilidad, Germoplasma, *Phytophthora cinnamomi*, *Dematophora necatrix*

## INTRODUCCIÓN

La podredumbre blanca de raíz de aguacate causada por *Rosellinia necatrix* Prill. (anamorfo *Dematophora necatrix* Hartig) es una enfermedad muy destructiva en numerosos cultivos (Khan, 1959; Szejnberg y Madar, 1980). En España, se detectó por primera vez en aguacate en 1987 (López Herrera, 1989) y actualmente, la incidencia de *R. necatrix* en fincas con árboles sintomáticos es aproximadamente del 40%. Los síntomas aéreos se suelen presentar cuando el sistema radicular está totalmente invadido por el hongo, momento en el que los árboles infectados se secan en pocos días. El control de esta enfermedad se basa en prácticas culturales tales como, reducción del riego, zanjas de aislamiento, eliminación de malas hierbas y descalce de la base de los troncos. La solarización del suelo, aunque presenta ciertas limitaciones prácticas, también resulta muy efectiva pues este hongo es muy sensible a temperaturas altas (López Herrera y col., 1998). Hasta la fecha, el control químico en campo y el control biológico no son totalmente efectivos. Por tanto, el control de esta enfermedad se ha de realizar integrando distintos métodos de lucha; en este sentido resulta de gran interés disponer de portainjertos tolerantes a *R. necatrix* para la reposición de árboles enfermos y realización de nuevas plantaciones. Con este objetivo se está evaluando la respuesta ante la infección causada por *R. necatrix* de diverso germoplasma de aguacate. Este trabajo se presenta como continuación del ya publicado con anterioridad (López Herrera y col., 1999) y se resume el trabajo realizado hasta la fecha.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Inóculo.** Se seleccionó un aislado de *R. necatrix* de alta virulencia, CH53-RN400, entre 8 aislados masales procedentes de raíces de aguacates infectados de forma natural y localizados en distintas fincas de las provincias de Málaga y Granada (Pérez Jiménez, 1997). El inóculo de *R. necatrix* consistió en trigo estéril colonizado por el hongo y la dosis de inóculo fue de 4 g de trigo colonizado /l sustrato (López Herrera y col., 1999); el trigo se incorporó en hoyos realizados en el sustrato que seguidamente eran tapados.

**Evaluación de tolerancia de distintos genotipos de *Persea americana* a *R. necatrix*.** Se inocularon plantas de semilla procedentes de la colección de portainjertos localizada en la Estación Experimental de La Mayora (Málaga), formada por diverso material recolectado de plantaciones de la zona. Adicionalmente se han realizado recolectas puntuales de otros árboles localizados en otras plantaciones que destacaron por distintos motivos. Entre 1998 y 2003 se recolectaron 4.256 semillas de un total de 61 árboles, inoculándose entre 1 y 267 plantas por árbol. Antes de la siembra, que se realizó en otoño, las semillas se desinfestaron superficialmente mediante lavado en agua a 50°C durante 30 minutos, seguidamente se sembraron en macetas de 3,5 l con un sustrato mezcla de arena:turba:tierra (1:2:1) previamente esterilizado con bromuro de metilo.

Del mismo modo, se sembraron semillas de 16 árboles madre localizados en los bancos de germoplasma de Coatepec Harinas e Ixtapán de la Sal (México), de los que se inocularon entre 10 y 156 plantas por árbol, y semillas de 13 árboles madre de Australia de los que se inocularon entre 10 y 33 plantas por árbol.

En el umbráculo, las semillas iniciaron la germinación a la salida del invierno y se inocularon cuando alcanzaron un porte superior a los 60 cm. Durante el experimento se realizaron lecturas de síntomas aéreos (planta sana, marchita y muerta) y los resultados se expresaron como porcentaje de plantas supervivientes tras seis meses desde la inoculación. Después de determinar la viabilidad del hongo en suelo y raíces, las plantas supervivientes se transplantaron a bolsas de mayor tamaño donde se mantuvieron otros 6 meses antes de iniciar su multiplicación.

**Multiplicación del material de semilla pre-seleccionado.** Para confirmar la tolerancia observada tras una primera inoculación con *R. necatrix*, se procedió a la multiplicación del material superviviente siguiendo dos técnicas distintas: micropropagación (Barceló y col.1990) o estaquillado semileñoso convencional (Hartmann y col. 1997): estaquillas de 12 cm., con 3-4 hojas, se ponían a enraizar bajo túnel de plástico en invernadero climatizado, tras sumergir la base durante 10 s en una solución de ácido indol-butírico (5000 ppm).

Una vez obtenidas las copias deseadas de cada preselección, 6 micropropagadas y 6 estaquilladas, se dejaron crecer hasta alcanzar un porte mínimo de 125 cm, y se volvieron a inocular. La dosis de inóculo no varió, sin embargo, en este caso las plantas se dispusieron en invernadero con condiciones de temperatura controlada, donde se realizaron lecturas de síntomas aéreos y, al finalizar el experimento, peso seco de raíces.

**Portainjertos clonales tolerantes a la podredumbre de raíz causada por *Phytophthora cinnamomi*.** Se importaron los siguientes portainjertos seleccionados por la Universidad de California y Hans Merensky Holdings PTY. LTD de Sudáfrica como tolerantes a *P. cinnamomi*; Aguacate de anís HI-72, Barr Duke, CRI-80-UC 2025, Duke 6, Duke 9, Dusa-UC 2016, Eustro-UC 2036, Gordon-UC 2013, Golden-UC 2078, G 810-UC 2010, G 1033, Jovo-UC 2009, Kidd Duke-UC 2015, Latas-UC 2012, Loomis-UC 2005, Lulu, Mico-UC 2076, Rollie-UC 2018, Talat-UC 2037, Spencer-UC 2079, UCR 1, UCR 2-UC 2002, UCR 3-UC 2003, UCR 4-UC 2004, G755B, G755C, PP4, PP5, PP15, PP19, PP24, UC 2011 F 201, UC 2019, UC 2023, PP14, Leo, Starns, P Parent, P1 (Parida), Halma, Vanoni Zut, Aguacate de Mico, Duke Parent, G874-UC2008, G875-UC2007, Poly N, Velvick, W14-UC2014, UC2020 y Bailey, además de material control susceptible (cv.Topa Topa).

Este material se mantuvo en umbráculo y cuando alcanzó un tamaño adecuado se procedió a eliminar la planta nodriza y se trasplantó a macetas de 5 l con el sustrato arena:turba:tierra (1:2:1) y tras 12 meses se inocularon, 12 copias por clon, con *R. necatrix* a la dosis referida anteriormente. Durante el experimento se realizaron lecturas de síntomas aéreos para evaluar el material inoculado.

**Material seleccionado en campo como escape.** Se han seleccionados 16 árboles asintomáticos en distintas plantaciones de la costa sur de España que presentaban un alto grado de infestación por *R. necatrix*

**Multiplicación del material adulto seleccionado.** Brotes basales de estos árboles se están multiplicando *in vitro* siguiendo la metodología de Barceló-Muñoz y col. (1999).

## RESULTADOS

**Evaluación de tolerancia de distintos genotipos de *Persea americana* a *R. necatrix*.** En el material de semilla se encontraron unos altos niveles de desarrollo de la enfermedad. En la parcela de La Mayora, entre las 56 familias (grupos de plantas procedentes de semilla de un mismo árbol madre) de plantas inoculadas, se encontraron 18 con al menos una plántula superviviente, y, entre éstas, 7 presentaron porcentajes de supervivencia superiores al 5% (los porcentajes de supervivencia de las distintas familias oscilaron entre el 0,6 y 10,3 %). Por otro lado, en las ino-

culaciones realizadas en distintos años, se detectaron tres árboles madre de los que de forma repetida se seleccionaron plantas supervivientes (La Piscina, C. A. Bueno y Cónsula 9) aunque sus descendencias no presentaron los mayores porcentajes de supervivencia. Hasta la fecha se han seleccionado 40 genotipos supervivientes a una primera inoculación procedentes de esta parcela y cuatro genotipos procedentes de las recolectas realizadas en otras parcelas de la zona.

En el material de semilla de Australia se han encontrado dos genotipos cuyas descendencias muestran algunas plantas supervivientes (Atkinson 16, dos plantas y Smith 2, una planta) y en el de México tres genotipos (Mex 28 y Mex 80, con una planta y Mex 42, con dos plantas).

Los primeros resultados de la segunda inoculación han confirmado los resultados obtenidos en la primera en dos de estos clones; BG42 (C. A. Bueno-16) y BG55 (Mex 80-40), puesto que, de nuevo, se han encontrado supervivientes entre este material.

**Portainjertos clonales tolerantes a la podredumbre de raíz causada por *Phytophthora cinnamomi*.** Los patrones clonales tolerantes a *P. cinnamomi* inoculados con *R. necatrix* resultaron susceptibles a la infección por *R. necatrix* y todas las plantas murieron entre los 28 y 69 días desde la inoculación, al igual que el control Topa Topa.

**Material seleccionado en campo como escape.** En el momento actual, se está evaluando su respuesta al cultivo *in vitro*.

## DISCUSIÓN

Los estudios de resistencia/tolerancia a *R. necatrix* de distintas especies vegetales son escasos, aunque se están realizando trabajos similares al nuestro para seleccionar portainjertos tolerantes a *R. necatrix* en manzano (Lee y col., 2000), estos autores encuentran, en general, una alta susceptibilidad en las plántulas de semilla de la mayoría de los clones de la colección estudiada, sin embargo, al igual que nosotros, detectan clones de los cuales se obtienen plantas de semilla con una tolerancia consistente. En aguacate, la supervivencia detectada en determinadas descendencias de plantas madre localizadas en la parcela de la E.E. La Mayora y otras con distinto origen geográfico, parece indicar que estos clones son fuentes potenciales de material para ser utilizado en el desarrollo de portainjertos tolerantes a *R. necatrix*; estos clones serán cruzados de forma dirigida en el futuro para incrementar esta respuesta de tolerancia en sus semillas.

Los genotipos seleccionados en otros programas por su tolerancia a *P. cinnamomi* y que se han inoculado con *R. necatrix* no han manifestado tolerancia a este hongo, por lo que en principio se descartan como fuentes de doble tolerancia y parecen indicar que los mecanismos de defensa que se activan en el aguacate ante cada una de estas enfermedades deben ser distintos.

## Agradecimientos

Nuestro agradecimiento a todos los que han colaborado en la realización de este trabajo: propietarios y encargados de fincas y personal técnico e investigador de La Mayora (C.S.I.C.), O.C.A. de Estepona, S.A.T. Trops, Procarn y Micoma, del I.C.I.A de Canarias, Univ. de California, CICTAMEX de México, Hans Merensky de Sudáfrica y Viveros Brokaw. Esta investigación está financiada por el Ministerio de Agricultura y Pesca, Proyectos INIA SC-98-042 y RTA-02-023.

## BIBLIOGRAFÍA

BARCELÓ-MUÑOZ, A., PLIEGO-ALFARO, F. Y BAREA, J.M. 1990. Micropropagación de aguacate (*Persea americana*) en fase juvenil. Actas de Horticultura, Vol. 1: 503-506.

BARCELÓ-MUÑOZ, A., LÓPEZ-ENCINA, C., SIMÓN-PÉREZ, E. Y PLIEGO-ALFARO, F. 1999. Micropropagation of adult avocado. Plant Cell, Tissue and Organ Culture Vol: 58: 11-17.

HARTMANN, H.T., KESTER, D.E., DAVIES, F.T. Y GENEVE, R.L. 1997. Plant Propagation. Principles and Practices. Prentice-Hall, New Jersey.

KHAN, A.H. 1955. Biology and pathogenicity of *Rosellinia necatrix* (Hart.) Bel. Biologia 5: 199-425.

LEE, S-M, KO, K., ALDWINCKLE, H., 2000. Resistance of selected *Malus* germplasm to *Rosellinia necatrix*. Fruit Varieties Journal, 54 (4):219-228.

LÓPEZ-HERRERA CJ (1989). Podredumbres radiculares del aguacate en la Costa del Sol. Años 1987-88. En: Estudios de Fitopatología (J. del Moral, ed.): 172-176. SEF/DGIEA, Badajoz.

LÓPEZ H., C.J.; PÉREZ J., R.M.; ZEA B., T.; BASALLOTE U., M.J.; Y MELERO V., J.M. 1998. Soil solarization in established avocado trees for control of *Dematophora necatrix*. Plant Disease 82: 1088-1092.

LÓPEZ HERRERA, C.J., PÉREZ JIMÉNEZ, R.M., BARCELÓ MUÑOZ, A., ZEA BONILLA, T. 1999. Evaluación de patrones de aguacate por su tolerancia a la podredumbre blanca. Revista Chapingo. Serie Horticultura 5 Núm. Especial:267-270.

PÉREZ JIMÉNEZ, R. M. 1997. Podredumbres radiculares del aguacate (*Persea americana* Mill.) en el sur de Andalucía. Tesis Doctoral. Universidad de Málaga. 370 pp.

SZTEJNBERG, A.; Y MADAR, Z. 1980. Host range of *Dematophora necatrix* the cause of white root rot disease in fruit trees. Plant Dis. 64: 662-664.