

## Estado actual de los estudios sobre el «mal secco» de los agrios de *Phoma tracheiphila* (Petri) Kanc. et Ghik.

I. GIMÉNEZ VERDÚ

El objeto de este trabajo es la necesidad de dar a conocer una enfermedad grave de los agrios denominada «mal secco», que causa enormes pérdidas en los cultivos de limonero en países de la cuenca Mediterránea. En Italia, tales daños han sido calculados en una reducción media de la producción de 20 q./ha., cuando en zonas no afectadas pueden llegarse a producir 600-800 q./ha., siendo la reducción anual de la producción unos 10.000 millones de pesetas.

Así pues, dado que en la actualidad solamente se consideran libres Marruecos, Portugal y España y ante la inminente posibilidad de su extensión en nuestro país, se aconseja la estrecha vigilancia de los cultivos citrícolas, en especial de limonero, de considerable valor en la economía nacional, ya que por otra parte, no existen medios de control fitosanitario de suficiente eficacia.

Ha sido efectuada una revisión bibliográfica de las investigaciones conocidas sobre el «mal secco» de los agrios (*Phoma tracheiphila* (Petri) Kanc. et Ghik.), traqueomicosis que interesa diversas especies del género *Citrus*, sobre todo el limonero (*C. limon* Burm.), y ésta presente aparte de la cuenca Mediterránea, sobre las costas orientales del Mar Negro.

Vienen analizados los resultados de actual interés reagrupados según las tres líneas siguientes:

1. Ensayos de resistencia, basados:
    - Sobre la acción de los compuestos fenólicos en la selección de variedades de cultivo resistentes.
    - Sobre el mejoramiento genético, incluyendo prácticas de cruce e hibridación, inducción de mutaciones y selección clonal.
    - Sobre la investigación de portainjertos más resistentes que el naranjo amargo y sobre la investigación de una resistencia más persistente en el huésped.
  2. Control químico. Para conseguir una mayor eficacia del control químico es indispensable profundizar en el estudio epidemiológico del parásito. De igual modo, se indica la necesidad de un mayor conocimiento del mecanismo de acción de los productos en el interior de la planta, del efecto de sustancias aditivas de acción vinculante y protectora y del estudio de los compuestos químicos con distinto mecanismo de acción, para evitar la aparición de fenómenos de resistencia en el patógeno.
  3. Puesta a punto de técnicas más idóneas en las diferentes líneas de investigación.
- I. GIMÉNEZ VERDÚ. Instituto de Edafología y Biología Vegetal. C.S.I.C. (Madrid).

### INTRODUCCION

El «mal secco», es una enfermedad de los cítricos causada por *Phoma tracheiphila* (Petri) Kanc. et Ghik., frecuente en la cuenca Mediterránea. Fue descubierta a fines del siglo pasado, al parecer originaria del Asia Menor y

se ha ido extendiendo de Este a Oeste de la cuenca, infestando en especial el limonero (*Citrus limon* Burm.).

En cuanto a su distribución geográfica, el «mal secco» está presente en las siguientes áreas del Mediterráneo y Mar Negro: Argelia, Chipre, Francia, Grecia (incluyendo Creta y las

Islas Egeas), Israel, Italia (incluyendo Sicilia y Cerdeña), Líbano, Siria, Túnez, Turquía y U.R.S.S. (Georgia y Caucaso). Existen indicaciones de la enfermedad en Colombia y Uganda, si bien, las relativas al primer país necesitan confirmación y las correspondientes al segundo, han sido anuladas (CMI MAP, 1966) (figura 1).

### CARACTERISTICAS GENERALES DEL «MAL SECCO»

El «mal secco» es una alteración vascular (traqueomicosis) de los agrios. Su gravedad es tal que si no se controla rápidamente, puede llegar a destruir plantaciones enteras de limonero (SALERNO, et al., 1976).

Presenta una sintomatología externa poco específica; los síntomas típicos consisten en la clorosis de las nerviaciones foliares y sucesiva caída de las hojas de los brotes, dando origen finalmente al desecamiento de los tallos y ramitas (fig. 2, a, b). Como síntoma inicial de la enfermedad se puede considerar la rápida clorosis y caída de las hojas.

Tales características sintomatológicas son comunes a las presentadas por alteraciones de varios orígenes, producidas por una inadecuada nutrición de los frondes: «gommosis» de *Phytophthora*, diversas podredumbres, descortezamientos varios y «antracnosis», sin contar las manifestaciones debidas a heladas, vientos, etc. Igualmente puede ser confundida con la sintomatología del «mal secco» en ciertos casos, la «fusariosis» originada por *Fusarium lateritium* Nees, citada en Italia por SALERNO (1959) sobre naranjo amargo y limonero injertado sobre naranjo amargo y sucesivamente en España por GIMÉNEZ VERDÚ (trabajo en curso de publicación), sobre naranjo dulce injertado en naranjo amargo, en la provincia de Castellón de la Plana.

El principal síntoma interno de la enfermedad consiste en una coloración del leño infectado, que aparece de color rosa salmón o amarillo anaranjado en el tejido vascular, cuando se secciona tangencialmente o a bisel la zona todavía verde de una rama infectada en vía de desecamiento, sucesivamente, tal coloración vira a castaño o castaño oscuro (fig. 3, a, b).

Diversas alteraciones producen coloraciones

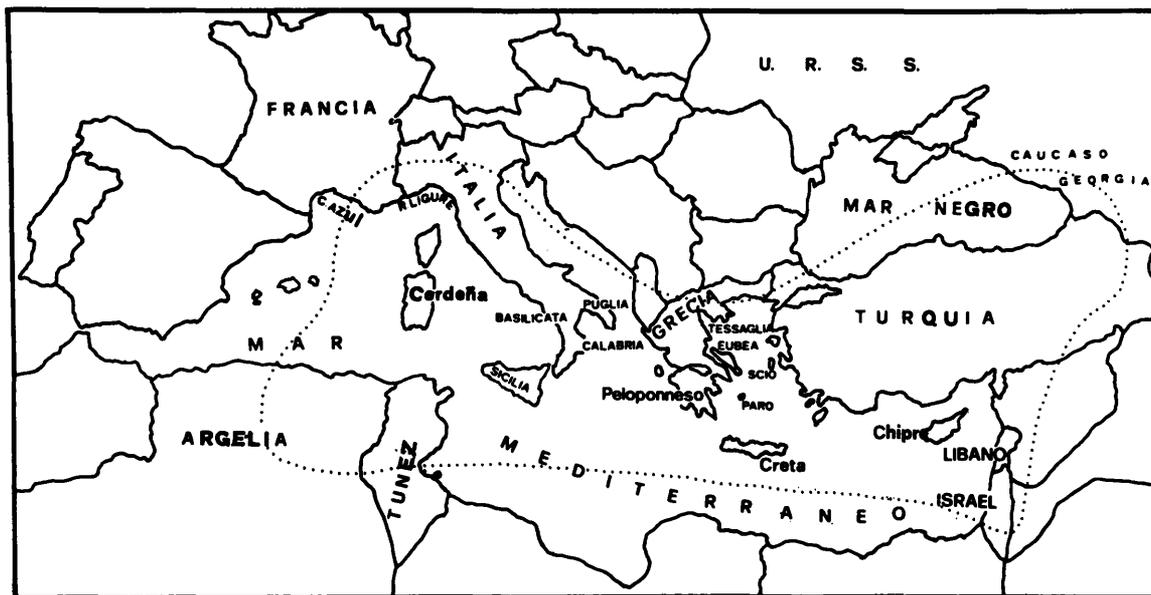


Fig. 1.—Distribución geográfica del «mal secco».

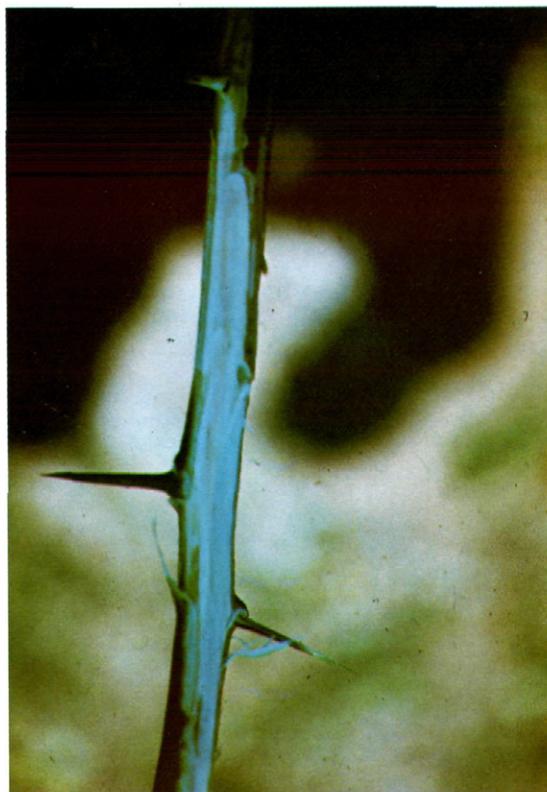
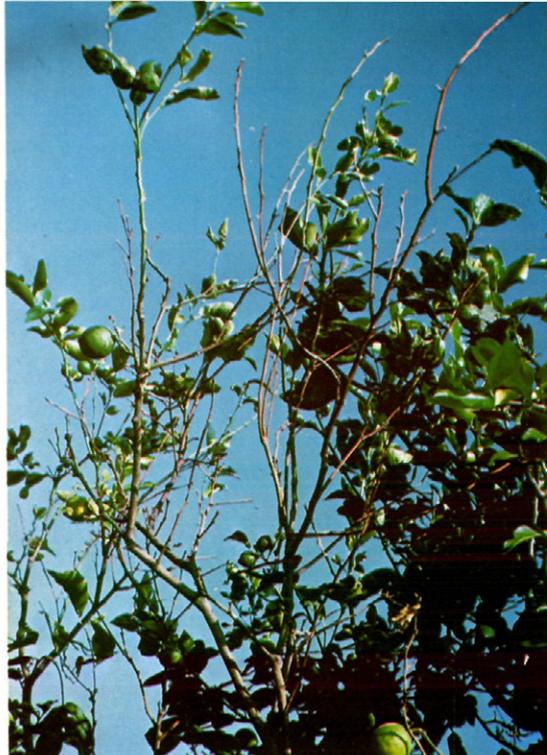


Fig. 2.—a) Planta de limonero «Femminello» con síntomas de «mal secco». b) Característica sintomatológica del proceso de desecamiento con progresión basipeta y comienzo en las hojas y ramitas apicales.

Fig. 3.—a) Coloración característica adquirida por los tejidos leñosos infectados. b) Coloración del leño de una rama de Limonero «Femminello» afectada de «mal secco».

similares en el leño; BITANCOURT, citado por FAWCETT (1936), las encontró sobre agrios afectados por rayos. En Italia SALERNO (1959) y en España GIMÉNEZ VERDÚ (en prensa), observaron una coloración anaranjada en el leño de cítricos infectados por la «fusariosis» anteriormente citada. Igualmente CHAPOT y DELUCCHI (1963) en CHAPOT (1963) y VANDERWEYEN (1963), señalan haberla encontrado en plantas jóvenes de naranjo amargo y *Poncirus trifoliata* atacadas de «sand burn», con la particularidad de que la coloración longitudinal del leño se presentaba especialmente en sutiles líneas paralelas (haces fibrovasculares muy similares a los encontrados en el «mal secco».

Sobre las ramitas desecadas por la enfermedad, la epidermis presenta un aspecto gris-plomo, cuando recubre cuerpos fructíferos característicos denominados picnidios, producidos por el patógeno, que constituyen la principal fuente de infección (fig. 4, a, b).

Es frecuente observar como agente de ulterior decaimiento de plantas afectadas por «mal secco», el saprófito *Colletotricum gleosporoides*, que origina la denominada «antracnosis», apareciendo sus acérvulos oscuros dispuestos en series concéntricas sobre las ramitas secas, en las zonas libres de picnidios.

El agente causal de la enfermedad es un hongo Deuteromiceto Sphaeropsidal, descrito por PETRI (1929 a), como *Deuterophoma tracheiphila* Petri. Sucesivamente, CICCARONE (1971) estudió el parásito y propuso su pertenencia al género *Phoma*.

Los picnidios, se diferencian sobre las ramas no desecadas, dispuestas en el interior de áreas necróticas, tienen forma de globosa a lenticular, son negros y miden de 100-180  $\mu$  de diámetro (fig. 4 c); su pared esta constituida por células diversas: en el exterior, de células esclerotizadas y densamente pigmentadas y al interior, de células pseudoparenquimáticas, con pared sutil e hialina. Las células conidiógenas son enteroblásticas, fialídicas, hialinas, simples, ampuliformes, dispuestas alineadas revistiendo completamente la cavidad interna del picnidio. Los picnoconidios son hia-

linos, unicelulares derechos o curvados, con extremidad redondeada y miden 2-3  $\times$  1  $\mu$  (PUNITHALINGAM y HOLLIDAY, 1973) (fig. 4 d).

El hongo en cultivo presenta las siguientes características: los conidios son producidos libremente por las hifas. Los conidioforos pueden ser semi-macronematous, monomematous, simples y, a veces, ramificados. Las células conidiógenas pueden ser monofialídicas, no septadas, integradas y presentan forma de botella a lageniforme (de cuello largo) y están delimitadas por collarettes bien definidos. Los conidios se presentan en agregados formando cabezas mucosas, se originan semiendógicamente y son simples, unicelulares y derechos, con extremidad redondeada y miden 2-2,5  $\times$  1-1,5  $\mu$  y tienen una gota sobre cada extremidad (PUNITHALINGAM y HOLLIDAY, 1973).

Las colonias se obtienen fácilmente, aislando directamente el patógeno de tejidos de plantas infectadas de forma natural, sobre agar-zanahoria o agar-patata-sacarosa e incubando a temperaturas comprendidas entre 10 y 28° C. La temperatura óptima para el crecimiento del micelio es de 20-25° C (PETRI, 1930 a, 1930 b; STEPANOV, 1950; SALERNO, 1964). Las colonias típicas de la especie son de color gris más o menos oscuro superiormente, castaño oscuro intenso con irisaciones rosadas en la parte inferior (fig. 5 a).

Entre las múltiples variaciones que pueden surgir en el aspecto de una colonia típica en cultivo, las más frecuentes son: vegetación aérea y sumergida, fructificación picnidica, color o cromogenicidad de las hifas, todo ello en relación a la diversidad del substrato, a las condiciones térmicas y a la edad del cultivo mismo. Una prolongada permanencia en ambiente artificial, induce a una esterilización muchas veces irreversible; las altas temperaturas (29-30° C) conducen a un oscurecimiento del fondo de la colonia; los substratos como el agar-patata-sacarosa, determinan un abundante desarrollo del micelio aéreo, otros de base sintética, una reducción general del crecimiento y así sucesivamente.

Las modificaciones relativas a la cromogeni-

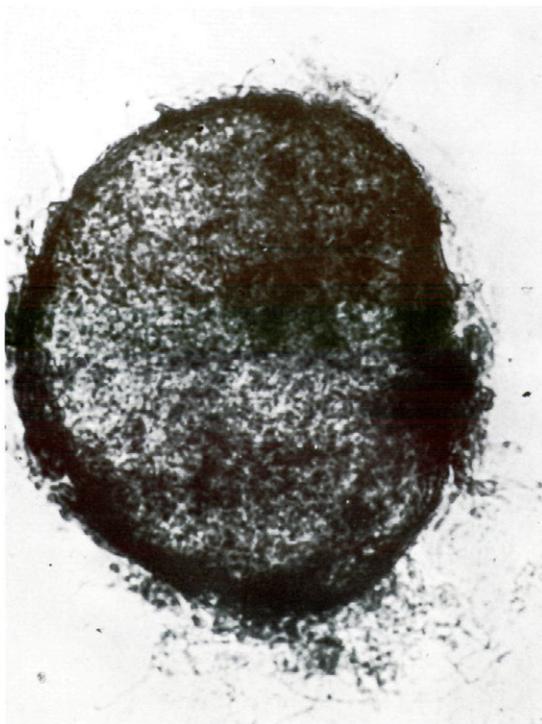


Fig. 4.—a) Ramita con fructificaciones picnídicas desarrolladas bajo la epidermis cortical, que le confieren un color gris-plomo. b) Rama de Naranja amargo, mostrando picnidios de *P. tracheiphila* sobre la epidermis lacerada. c) Fructificación picnídica de *P. tracheiphila*, aislada de la zona subepidérmica cortical de una rama de limonero afectada. d) Picnidio de *P. tracheiphila*, aislado de una rama de limonero infectada, mostrando una masa cirrosa de picnospores expulsados.

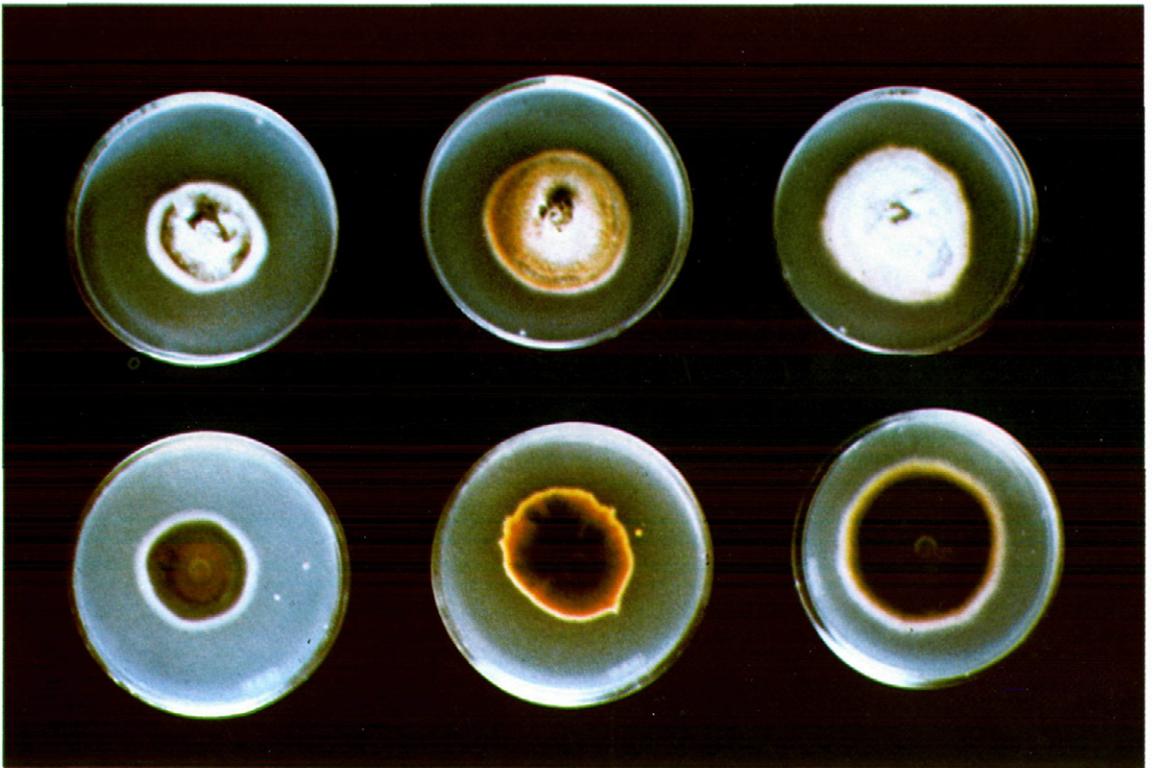


Fig. 5.—a) Colonia típica de la especie, de color gris más o menos oscuro en la parte superior y castaño oscuro intenso con irisaciones rosáceas en la parte inferior. b) Aspecto y coloración diferente de tres colonias del parásito, observadas superior e inferiormente.

idad, son muy evidentes: de colonias de un rojo apenas marcado se pasa a otras en las que tal color es tan intenso que domina netamente sobre los otros; excepcionalmente se obtienen colonias de micelio simplemente rojo vivo, que aparecen como sectores de las colonias normales; otras veces son las colonias no cromógenas que se transforman debido a una propiedad constante del hongo, que consiste en el diferenciar un pigmento rojo (fig. 5 b).

La cromogenicidad va normalmente acompañada de una disminución de la fertilidad, incluso es índice de tendencia a la esterilidad. Es igualmente, predominantemente irreversible, dado que el micelio rojo tiende a permanecer hasta el agotamiento de la vitalidad, no

obstante todo esto, se puede verificar un retorno a la normalidad cromática.

PETRI (1930 a 1930 c) fue el primero que indicó la existencia en la naturaleza de dos razas, que BALDACI (1950) señaló con las siglas «DPR» (colonias con micelio demacoide, que producen picnidios y pigmento rojo) y «DP» (idem, pero sin producción de pigmento rojo). Existe otra raza «R» (colonias sin micelio demacoide ni picnidios y muy pigmentadas en rojo, que se obtienen en cultivo por separación de sectores.

Aparte la producción de pigmento rojo, la raza «DPR» se diferencia de la «DP», por la menor capacidad de fluidificar la gelatina, siendo esta última menos patógena.

La naturaleza del substrato de cultivo, con-

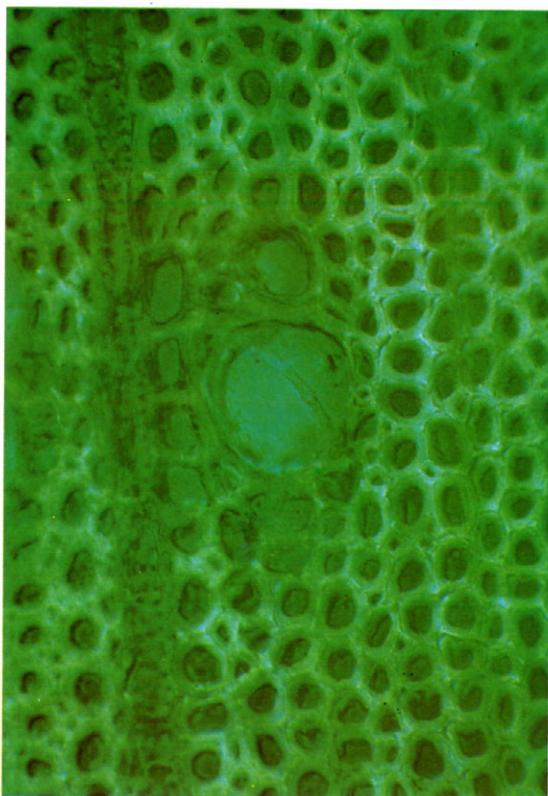


Fig. 6.—Presencia de una hifa del patógeno en los vasos leñosos de una planta de limonero infectada.



Fig. 7 a.—Planta de limonero afectada por «mal fulminante», que, no obstante, haber sido objeto de diversas podas, incluso de ramas gruesas, la infección reincide en sus nuevos brotes.

diciones ambientales, etc., influyen notablemente la producción de pigmentos, PETRI (1930 a 1930 b), ORSHANSKAYA (1952) y GOIDANICH y RUGIERI (1953). En cultivo, se producen pigmentos en el interior de las células de las hifas, siendo excretadas en la superficie externa como agregados cristalinos rojizo-castaños.

El hongo produce en cantidad abundante dos pigmentos antraquinónicos, helmintosporina y cynodontin, este último es la forma oxidada del precedente. Por otra parte, en las paredes del hongo se han encontrado los siguientes aminoácidos: isoleucina, leucina, valina, prolina, alanina y otros.

Las fuentes de inóculo de infección están constituidas principalmente por las fructificaciones picnídicas que se diferencian sobre ramitas, hojas y, a veces, sobre el pedúnculo de los frutos de las plantas infectadas. El parásito se transmite comúnmente mediante la combinación de los factores agua-viento (RUGIERI, 1949; SOLEL, 1976).

La infección natural se verifica en condiciones ambientales favorables, en el período de noviembre a febrero, en que la humedad relativa media del aire es del 65 por 100 y la temperatura ambiente media oscila entre 14 y 28° C.

La penetración del patógeno tiene lugar a través de las aperturas naturales y artificiales de la planta, tanto epigea como hipógea. Vías frecuentes de penetración son las lesiones provocadas sobre ramas y hojas por el frío, viento, técnicas de cultivo. Ocasionalmente, a través de los estomas, inserción del pedúnculo de los frutos, heridas producidas por la recolección, etc.

Según PETRI, podría suceder, que uno de los conidios que caen sobre una hoja, penetrara pasivamente a través de un estoma mediante una gota de agua, alcanzando los elementos vasculares y desarrollándose en las tráqueas, donde permanecería hasta la muerte del órgano.

En caso de infección por los frondes de la planta, a partir de la germinación de la picnidiospora, el proceso de invasión podría con

frecuencia ser el de una típica traqueomicosis con dirección basipeta.

El examen de los tejidos infectados evidencia que el patógeno vive en las tráqueas sin interesar los rayos medulares, las fibras, el parénquima leñoso u otros elementos del xilema, tratándose, por tanto, de una típica traqueomicosis tóxica. Las tráqueas se presentan invadidas por una o más hifas (fig. 6), más o menos ramificadas, que se extienden de un elemento a otro y pueden en algunos casos ocupar toda la luz celular, siendo numerosos incluso los taloconidios.

El patógeno consigue llegar del interior al exterior de la planta infectada, valiéndose de las discontinuidades de la corteza y leño producidas por lesiones en ramas, originando en ellas abundantes picnidios, así como bajo la corteza.

Según el modo de infección, el desecamiento puede iniciarse en un sector o en varias partes de la planta. De igual modo, la velocidad de desarrollo de la enfermedad esta ligada al origen de las infecciones. Por ello, se observa que en la naturaleza la enfermedad se puede presentar en tres formas diversas. En la forma común, la infección ataca las partes altas del árbol y mantiene un desarrollo lento y crónico, no siendo invadidas las raíces. Si la infección se verifica en el cuello de la planta o en las raíces, tienen origen las dos formas de «mal secco» denominadas «mal nero» y «mal fulminante». El «mal fulminante» se produce cuando la infección interesa los arcos leñosos externos (funcionantes), a través de heridas poco profundas, presentando un proceso de desecamiento violento, en el cual vienen infectadas ramas enteras o toda la planta de forma rápida e improvisada, debido al hecho de que la corriente ascendente difunde los productos tóxicos del metabolismo del parásito junto con sus órganos de multiplicación agámica (talocnidios); a este tipo de infección no resiste ninguna variedad de cítricos (fig. 7 a, b). En el caso «mal nero», la infección se origina a causa de heridas profundas que interesan el leño no funcionante. Después de la infección,



Fig. 7 b.—Aspecto sintomatológico de una planta de limonero afectada de «mal fulminante», mostrando un rápido e improvisado desecamiento, que se deduce del avanzado estado de maduración de los frutos.

el micelio se extiende lentamente en el leño del tronco y de las ramas, por lo que después de un largo período de tiempo (pueden ser años) se produce una coloración amarillo-salmón que sucesivamente vira a castaño, a grisáceo y al negruzco, punteando fuertes manchas muy oscuras en la periferia (fig. 8). Cuando por fin vienen interesados los arcos leñosos funcionantes, la planta puede secarse en algunos días por «mal fulminante» (RUGGIERI, 1940, 1948; CUTULI, 1972).

Así pues, debido a que las prácticas culturales pueden provocar heridas, especialmente a las raíces y al cuello de las plantas, facilitando la infección, conviene realizarlas hacia el verano, en que en el ambiente existe menos cantidad de inóculo, ya que la enfermedad es más severa en el otoño al inicio de la primavera y se detiene con las altas temperaturas estivales (RUGGIERI, 1953 b; CUTULI y SALERNO, 1976).

En cuanto a la reproducción experimental de la enfermedad, la eficacia depende de diversos factores: del órgano de aplicación, a las hojas, al tallo o a las raíces; del tipo de inóculo, miceliar, picnoconídico o fialoconídico; vi-

ruencia del patógeno, genética o consiguiente a diversos tratamientos; edad de las plantas, las jóvenes son más susceptibles a la enfermedad; influencia de otras infecciones precedentes o sucesivas, como sucede en el caso de las virósicas.

Los síntomas externos pueden ser observados después de un mínimo de dos o tres semanas de la infección por conidios.

Relativo a la interrelación huésped-parásito, en cuanto se refiere a la acción del hongo, según BUGGIANI et al. (1959), cuando el micelio invade los vasos, se produce una formación gomosa que reduce enormemente la corriente y simultáneamente se observa en los tejidos leñosos, una coloración que varía del rojo salmón al rojo zanahoria, así como una coloración castaña que según SAVASTANO y FAWCETT (1931) podría constituir un estado más avanzado de la manifestación previa.

Ha sido precedentemente citada la producción de pigmentos. Un argumento muy discutido ha sido la relación entre el leño infectado y las características cromógenas de las razas del hongo. PETRI (1926, 1926 a, 1927,

1929, 1930, 1930 a, 1930 b) indicó que tales pigmentos estaban difundidos en las paredes celulares y que eran incluso absorbidos por las gomas y resinas, abundantemente formadas en el xilema infectado, de modo que las paredes celulares podrían virar a rosáceo, mientras que las gomas y resinas podrían asumir un color amarillo o rojo castaño y amarillo, respectivamente. Estudios posteriores sobre esta base se deben a KANTSHAVELI e GIKACHVILI (1948), ORSHANKAYA (1952, 1953), BAZZI y SCRIVANI (1954), FEDORINCHICK (1953). Otros estudios se deben a BUGGIANI et al. (1959), QUILICO et al. (1952).

Según GOIDANICH y RUGGIERI (1948) no existe relación entre la coloración de los tejidos leñosos y una presumible cromogenicidad del micelio del patógeno. La tonalidad que asumen los complejos xilemáticos invadidos por el parásito esta determinada por las características cromáticas de los productos de reacción de naturaleza predominantemente gomosa, los cuales, según la época en que se han verificado las infecciones o a las condiciones en que se encuentra el órgano interesado, tienden al amarillo salmón, amarillo-zanahoria o bien al oscuro. Normalmente, las infecciones de fecha reciente, están caracterizadas por la primera coloración y las viejas de la segunda.

GRANITI, indica que el examen histopatológico de las ramitas infectadas, pone de manifiesto la oclusión de los vasos por efecto de sustancias de aspecto gomoso muy refringentes. Se forman posiblemente, después de que las hifas han invadido las tráqueas y podrían interesar las células adyacentes, a veces, podrían interesar también algunos elementos medulares. Dicho autor, señaló igualmente, que los pigmentos del hongo podrían ser absorbidos, por otra parte, por las gomas, originando productos como glucósidos, lacas u otros subproductos de diversa coloración.

En relación a la actividad enzimática del hongo, parece ser, que el parásito es capaz de producir enzimas que degradan las laminitas de las paredes celulares del huésped. GRANITI (1969) observó los siguientes enzimas pec-

tocelulosolíticas: poligalacturonasa (PG), polimetil-galacturonidasa (PMG) y pectin-lasa (poligalacturonato-transeliminasa) (PGTE). De igual modo, estudiaron la actividad celulosolítica del hongo EVOLA et al. (1973) ensayando la producción del patógeno de pectin-metil-esterasa (PME), PG, PGTE, enzimas macerantes (MA) y celulosolíticos (Cx) y  $\beta$ -glucosidásicos.

Referente a las actividades tóxicas del patógeno, PETRI (1930) ha sugerido que metabolitos tóxicos excretados por el hongo, estaban implicados en la patogénesis y sintomatología del «mal secco». Esto concuerda con el hecho de que el patógeno no puede ser aislado de las nerviaciones cloróticas de las hojas distantes del punto de infección de los cítricos inoculados en el leño. POLJAKOV Y SHUMAKOVA (1951) y ORSHANSKAYA (1952), determinaron fitotoxinas en los cultivos del parásito, con fitotoxicidad específica frente a especies del género *Citrus*, *Cyperus* y plantas de otros géneros. Igualmente, extractos miceliares de cultivos, se revelaron tóxicos a la especie *Citrus antartica* Vent.

SCHUMAKOVA (1964) observó que los compuestos tóxicos del hongo procedían de la lisis del micelio, indicando que tanto la lisis como la liberación de toxinas, aumentaban a 23° C y a temperaturas superiores, manifestándose a estas mismas temperaturas la intoxicación de la planta en la naturaleza.

Como aplicación práctica, las toxinas del patógeno han sido utilizadas para seleccionar semillas y Agrios resistentes (ORSHANSKAYA y ORDZHONIKIDZE, 1956; ORSHANSKAYA, 1960, y GOLIADZE, 1957).

Indagaciones «in vivo» para identificar vivotoxinas en líquidos traqueales y extractos de leño, han sido conducidas por KIYASHIKO (1951), SCHIVANI (1954). AKHVLEIANI (1958) extrajo del leño infectado una sustancia cristalina rojo-anaranjado.

METILISKI (1966) aisló la toxina «A» y determinó sus características. Indicó asimismo, que la causa directa de la marchitez se debe a la entrada de productos formadores de gel de las

células de las plantas en los vasos de xilema, bajo la influencia de la toxina. GOLIADZE (1970) verificó ensayos de resistencia en cítricos frente a la toxina, encontrando GOLIADZE *et al.* (1972) albinismo en algunos híbridos, por efecto de la toxina sobre el control genético de la síntesis clorofílica.

NACHMIAS *et al.* (1977 a) observaron en cultivos del hongo, un glucopéptido fitotóxico extracelular, capaz de incitar síntomas similares a los del «mal secco» en limonero, determinando sus características.

En lo que concierne a la reacción del huésped, PETRI (1930 b) señaló la existencia de cierta sustancia enzimática o de otra naturaleza, negado por GOIDANICH y RUGGIERI (1947) quienes indican que después de la infección

por heridas, se originan modificaciones anatómicas de carácter defensivo.

BEN AZIZ *et al.* (1962) citan dos sustancias inhibitoras del crecimiento micelial:  $C_1$  y  $CS_2$ , presentes en alguna variedad resistente de cítricos, indicando la posibilidad de ser  $CS_2$  'naringerin' y  $C_1$  un inhibidor más fuerte no identificado.

DEMETRADZE *et al.* (1970) estudiaron la circulación del agua, la transpiración y la capacidad de retención en cítricos infectados, señalando respecto a su metabolismo, que la descomposición era superior a la síntesis de sustancias orgánicas.

Las variaciones relativas al contenido fenólico vienen expresadas posteriormente.



Fig. 8.—Naranja amarga, sección del tronco a la altura de 10 cm. del suelo. Oscurecimiento del cilindro leñoso, de margen más o menos irregular y color negro sepia intenso, que vira hacia la parte externa a marrón claro.

Estudios sobre la correlación hongo-virus, hacen presuponer que el parásito en el huésped origina un ralentizamiento en el curso de la enfermedad, debido a una modificación en la fisiología de las células inicialmente infectadas por el virus, con el fin de prevenir la sucesiva réplica de este (GRASSO *et al.*, 1970). SALERNO *et al.* (1970, 1971) y CATARA *et al.* (1971), estudiaron el efecto de algunas virosis en el desarrollo del «mal secco» observando en los plantones infectados de algunas virosis, una menor susceptibilidad, correlacionando el efecto inhibitorio sobre el hongo con el cambio en el metabolismo fenólico expresado por el incremento de algunos fenoles.

KANCHAVELI y KALICHAVA (1971) indicaron que la reducción de la actividad en las hojas infectadas, era debida a una destrucción del enzima portador del Mn, extremadamente inestable, que constituye un sistema directamente responsable de la liberación de oxígeno durante la fotosíntesis.

## ESTADO ACTUAL DE LAS INVESTIGACIONES

En cuanto se refiere a la panorámica que ofrece el problema general del «mal secco», a causa de la insuficiente eficacia del control químico y de las prácticas agronómicas, por el coste, la escasa generalización u otros factores (SALERNO y CUTULI, 1977), se estudian otras vías de solución, basadas fundamentalmente, sobre la mejora genética, con prácticas de cruce e hibridación, inducción de mutaciones, selección clonal y substitución del naranjo amargo como portainjerto con otras especies e híbridos del género. Igualmente se experimentan nuevas técnicas de ensayo de resistencia (LUISI *et al.*, 1978; SOMMA *et al.*, 1979) y estudios de patogenidad de poblaciones de *P. tracheiphila* (LUISI *et al.*, 1979), indispensables para conseguir una resistencia persistente en el huésped.

Los citados estudios de patogenidad, están basados sobre el análisis de los aislamientos provenientes de diversas áreas del Mediterráneo

y de numerosos huéspedes naturales, sobre algunas especies y variedades de cultivo de cítricos, no mostrando variaciones indicativa alguna de especialización.

Referencias bibliográficas sobre el fenómeno de resistencia en alteraciones vasculares se deben a INGHAM, 1973; BECKMAN, 1966; BECKMAN *et al.*, 1972, 1976; MACE, 1978, figurando entre otras, las basadas sobre reacciones de tipo hiperplásico e hipertrófico, debidas a BECKMAN, 1964; DIMOND, 1970; PENNYPACKER y NELSON, 1972; COOPER *et al.*, 1978; VANDERMOLLEN *et al.*, 1977; MOLLENHAUER y HOPKINS, 1976.

Relativo a la sensibilidad de los cítricos a la traqueomicosis de *P. tracheiphila*, se deben estudios sobre alteraciones estructurales a BASSI *et al.* (1979), PACETTO e DAVINO (1976), PERROTTA *et al.* (1978), PERROTTA *et al.* (l.c.), REED y DUFRENOY (1942), PERROTTA *et al.* (1979).

En relación al proceso infeccioso que se verifica en el «mal secco», MAGNANO DI SAN LIO y PERROTTA (1979), realizaron estudios al microscopio óptico y electrónico, con la finalidad de evidenciar eventuales mecanismos morfofuncionales de resistencia en el Naranja amargo (susceptibles) y en las variedades de cultivo «Monachello» (resistente) y «Femminello» (susceptible), observando que en las combinaciones resistentes, las infecciones permanecen localizadas en sectores del xilema (del haz conductor) incluso en los estados más avanzados del proceso de infección, viniendo circunscritos de tejido de cicatrización, que se forma también en las combinaciones susceptibles, pero que luego en estas degenera. Añaden, que entre las alteraciones estructurales asociadas a la infección, algunas tienen carácter degenerativo, mientras que otras, se pueden interpretar como fenómeno de cicatrización y/o de reparación.

Los mismos autores señalan que de las modificaciones observadas, solamente las reacciones de tipo gomoso a nivel del tejido conductor invadido por el parásito, pueden ser consideradas como un mecanismo primario de resistencia, dado que pueden tener la función de retardar la difusión del patógeno en los

tejidos, consintiendo a la planta de poner en función otros mecanismos de resistencia.

Otros ensayos sobre fenómenos de resistencia, revelan la importancia de la síntesis de compuestos fungistáticos (fitoalexinas) por parte de muchas plantas, como respuesta a infecciones por agentes bióticos (KUC, 1972; INGHAM, 1972).

Trabajos sobre este argumento se deben a MUSUMECI y OLIVEIRA (1976, 1976 a), referidos a diversas combinaciones de plantas huéspedes y hongos parásitos fungales, entre las que figuran algunas especies del género *Citrus*.

Estudios sobre «mal secco» referidos a esta temática, han permitido observar una relación entre contenido fenólico e infecciones del patógeno, en efecto, los extractos de las plantas

de Cítricos, contienen diferentes flavonas como tangeritina y nobiletina (BEN AZIZ *et al.*, 1962; BEN AZIZ, 1967; PINKAS *et al.*, 1968; PIATELLI e IMPELLIZZERI, 1971), y algunas de estas inhiben de forma apreciable el desarrollo del hongo en cultivo agarizado (BEN AZIZ *et al.*, l.c.; CATARA *et al.*, 1972 a, 1973; PINKAS *et al.*, l.c.).

De igual modo, diversas investigaciones, confirman la actividad fungística de los compuestos fenólicos. Ha sido, en efecto, observado, que la esperitina, ácido m-cumárico, gentísico, ferúlico, 4-hidroxifenilpirúvico y o-cumárico, inhiben el desarrollo de *P. tracheiphila*. Así, la introducción continúa de una solución de nobiletina en plantones de limonero rugoso, inoculados, obstaculiza hasta tres meses la aparición de los síntomas.



Fig. 9.—Cultivo de limonero infectado de «mal secco», en el que se observan algunas plantas podadas a nivel del portainjerto, en ciertos casos incluso a nivel del cuello del árbol y reinjertadas con la variedad de cultivo resistente «Monachello», pudiéndose apreciar varios injertos bastante crecidos.

Investigaciones sobre el metabolismo fenólico postinfeccional en Naranja amargo y Limonero de la variedad de cultivo «Femminello», han evidenciado que el parásito provoca un acúmulo de fenoles libres (DAVINO *et al.*, 1974) y que este acúmulo es mayor en la planta con injerto intermedio de Naranja dulce, considerado más tolerante.

DAVINO *et al.* (1979) examinaron las variaciones de diversos fenoles durante el desarrollo de la enfermedad, mediante la técnica de «scheening» (CACCAMESE y DAVINO, 1979) en el Limonero «Femminello», apreciando solamente variaciones porcentuales. En otras experiencias, los mismos autores compararon los extractos de hoja de «Limonero «Femminello» (susceptible) y «Monachello» (resistente), observando diferencias significativas.

Concerniente al limonero, dada su sensibilidad al «mal secco», se están efectuando amplios estudios para controlar los ataques del parásito. Sus variedades de cultivo presentan diversa susceptibilidad: algunas son poco o nada sensibles y tienen una limitada difusión, otras exigen determinadas características edafoclimáticas, o tienen escasa compatibilidad de injerto con el Naranja amargo o peculiaridad de fructificación.

Por el contrario, la variedad de cultivo «Monachello», ha tenido buena difusión (RUGGIERI, 1953) que continúa a tener todavía por su resistencia (fig. 9). De la variedad de cultivo «Femminello», casi todos los clones son susceptibles, incluso la variedad de cultivo «Femminello S. Teresa» es menos susceptible (RUGGIERI, 1956) y ha sido un tanto difusa. SOMMA *et al.*, (1979), verificaron ensayos de resistencia sobre las variedades de cultivo «Monachello» y «Femminello» en pleno campo, con el intento de encontrar la combinación de factores que mejor las diversificara. Esta la obtuvieron inoculando en invierno con una concentración de 200.000 conidios/ml. y efectuaron una sola incisión sobre cada una de dos ramitas por planta.

REFORGIATO RECUPERO (1979) observó la susceptibilidad a las infecciones naturales de espe-

cies o híbridos del género *Citrus* y de algunos géneros afines, evidenciando una menor susceptibilidad en el Tangelo «Orlando» y en el Siamelo, así como en el Mandarin «Cleopatra», si bien de este último no se tiene una suficiente valoración.

En cuanto al mejoramiento de la resistencia del limonero al parásito, esto ha sido realizado tanto a través de selecciones clonales de campo, como a través de cruces entre variedades de cultivo de limonero (observándose un comportamiento variable), o de especies afines (RUSO, 1979).

Estudios sobre clones, han permitido evidenciar que los nucelares son más susceptibles que las plantas madres. Trabajos sobre selecciones clonales se deben a DAMIGELLA y CONTINELLA (1970, 1971, 1971 a). CONTINELLA y TRIBULATO (1979), intentaron individualizar cuales presentaban buenas características bioagronómicas y de tolerancia a la enfermedad, evidenciando esta última en ciertos clones de «Monachello» y una modesta susceptibilidad en algunos de «Femminello».

Investigaciones con base biológica, han permitido individualizar algunos clones que en condiciones de pleno campo, han mostrado una discreta y, a veces, buena resistencia a la enfermedad. BARATTA *et al.* (1979) efectuaron ensayos sobre la resistencia en viveros, revelando la menor intensidad de síntomas en el clon señalado LCNR 31 («Femminello favazzina») y satisfactoria resistencia en LCNR 31 («Famularo di Roccalumera») y LCNR 2 («Famularo Brolo»).

Experiencias sobre el comportamiento de selecciones clonales de limonero frente a infecciones naturales del patógeno, son referidas por GRANATA *et al.* (1977). Estudios posteriores (GRANATA *et al.*, 1979), evidenciaron una buena resistencia de la variedad de cultivo «Monachello», tanto en relación con su sensibilidad a la infección, como en referencia al relanzamiento del desarrollo de la enfermedad en infecciones ya instauradas. Igualmente, de la variedad de cultivo «Femminello» apreciaron la buena resistencia de las siguientes líneas, en

el orden: «S. Teresa OL», «Comune OL», «Continella OL», «Incappucciato OL» y «Fior d'Arancio OL». PERROTTA y TRIBULATO, 1977, observaron una mayor susceptibilidad al «mal secco» en clones nucelares de limonero, respecto a los correspondientes clones de proveniencia.

Algunas investigaciones indican que la selección clonal es menos eficaz que el cruce, que ha permitido obtener híbridos dotados de elevada resistencia y suficiente productividad, si bien de calidad muy inferior a la standard del limonero, por lo que ha sido necesario intervenir con sucesivos recruces (CARRANTE y BOTTARI, 1952; RUSSO y TORRISI, 1953; RUSSO, 1976-77).

La búsqueda de híbridos resistentes al hongo y de buena calidad comercial ha sido efectuada mediante cruces de limonero entre ellos y con otras especies resistentes, obteniendo un cierto número de híbridos con escaso vigor y gran número de plantitas nucelares más vigorosas.

El carácter de «resistencia» venía transmitido parcialmente y en medida diversa en los híbridos, junto a una baja productividad y una media cualidad del fruto. Una buena posibilidad de resolver el problema es la de obtener variedades de cultivo de limonero, capaces de producir triploides espontáneos para ser sucesivamente recruzados con variedades resistentes. Así, se podrían obtener plantas triploides con un tercio del genoma original de la variedad resistente y en consecuencia híbridos resistentes con fruto apireno y buena calidad (GERACI, 1977, comunicación personal a RUSSO, 1976-77).

Por otra parte, la inducción de mutaciones a través de agentes físicos se ha realizado aplicando rayos X y campos electromagnéticos a polen de limonero «Monachello», «Femminello» y otras variedades de cultivo resistentes. Actualmente, se intenta inducir mutaciones resistentes en plantitas de origen nucelar, pertenecientes a clones seleccionados. Con esta finalidad, frutos jóvenes, derivados de flores expuestas a libre polinización, han sido expuestos a radiaciones de  $Co^{60}$ . De estos frutos, se aísla

el tejido de la nucela y se cultiva «in vitro». Así, partiendo de la presuposición de que los embriones nucelares se forman de una sola célula y de que la mutación es evento unicelular, se intenta aumentar la frecuencia de mutabilidad natural, obteniendo mutantes estables y resistentes al patógeno. Con este procedimiento se obtienen plantitas con variabilidad más elevada, respecto a las que se obtienen de plantas no tratadas, derivadas de semillas provenientes de libre polinización (RUSSO, 1976-77).

Igualmente, se sabe, que de semillas de limonero, se pueden obtener plantas nucelares y zigóticas, de las que es un tanto difícil distinguir el origen, basándose sobre caracteres morfológicos, al menos en los primeros estados de desarrollo.

Entre los métodos de distinción, figura el tradicional de hibridación con el naranjo trifoliado (*Poncirus trifoliata* Raf.), por el carácter de hoja trifoliada. Algunos métodos actuales utilizan diversos «test» bioquímicos (ESSEN *et al.*, 1975, 1977; GERACI *et al.*, 1976; TOTUM *et al.*, 1977; SPIEGEL-ROY *et al.*, 1977).

STARRANTINO y RUSSO (1976) pusieron a punto una técnica, consistente en cultivar «in vitro» sobre substrato nutritivo agarizado MS (MURASHIGE y SKOOG, 1962), óvulos abortados extraídos de frutos maduros, obteniendo plantitas similares entre ellas, originadas del mismo fruto.

STARRANTINO (1979) obtuvo plantas nucelares de limonero cultivadas «in vitro», a partir de óvulos abortados derivados de hibridación controlada, entre la variedad de cultivo limonero «Femminello Siracusano» ♀ y el naranjo trifoliado ♂ dando origen a numerosas plantitas nucelares y raramente a callos embriogénicos.

Igual resultado obtuvo el mismo autor, a partir de numerosos óvulos abortados provenientes de frutos apirenos derivados del cruce de limonero: «Femminello Siracusano» ♀ con la variedad de cultivo «Monachello» ♂ y viceversa, es decir, cruzando la variedad de cultivo «Zagara bianca» o «Flor d'Arancio» ♀ con

la variedad de cultivo «Femminello Siracusano» ♂, la variedad de cultivo «Zagara bianca» ♀ con «Monachello» ♂ o, «Monachello» ♀ con el naranjo trifoliato ♂ y de libre polinización.

Por otra parte, según RANGAN *et al.*, 1969 y BITTERS *et al.*, 1969, el cultivo «in vitro», permite el desarrollo del cigote, sin la interferencia de la embriónia nucelar y ello es de notable importancia en los cruces en los que es necesario el uso de plantas madres poliembriónicas.

REFORGIATO RECUPERO y STARRANTINO (1979) mediante cultivo «in vitro», efectuaron cruces intraespecíficos con selecciones clonales de limonero, para desarrollar embriones de semillas inmaduras, con el fin de obtener el mayor número posible en híbridos, los cuales como es sabido, frecuentemente sucumbe en la competición con nucleares más vigorosos.

Como resultado, dichos autores, observaron que el porcentaje de frutos apirenos fue siempre elevado, particularmente con «Monachello», tanto cuando era utilizado como planta madre como cuando era usado como impoladora.

El substrato MS procuro en todos los cruces el mayor número de plantas por semilla en absoluto, si bien el cruce «Femminello Siracusano» × *Poncirus trifoliata*, puso en evidencia que el mayor aumento se debió a plantas nucleares, observándose un aumento menor de híbridos por semilla. Por otra parte, el cruce «Monachello» × *Poncirus trifoliata*, proporcionó una elevada apirenia, por lo que no se dispone de datos relativos a este cruce. En la prueba en Hoagland, se obtuvieron en casi todos los cruces, un número de plantas superior al obtenido en la prueba en el terreno a excepción del cruce «Femminello Siracusano» × *Poncirus trifoliata*, que originó un número de híbridos casi igual en las dos pruebas.

Sobre la susceptibilidad del Pompelmo (*C. paradisi* Macf.), existe divergencia de ideas. RUGGIERI lo consideró inicialmente después susceptible (RUGGIERI, 1931) y finalmente de elevada resistencia (RUGGIERI, 1940). CUTULI (1972) indica que en apariencia, esta

especie es poco susceptible a las infecciones a través de los frondes; pero pierde este carácter cuando se realizan a través del tronco o del portainjerto.

Del Naranja dulce (*C. sinensis* L. Osbeck), todas las variedades de cultivo presentan una baja susceptibilidad (RUGGIERI, 1948).

El mandarino (*C. reticulata* Blanco) se considera generalmente resistente al «mal secco» (RUGGIERI, 1931; GASSNER, 1940).

RUGGIERI (1953) señaló que la variedad de cultivo «Cleopatra», parece muy poco susceptible, diferenciándose netamente del Naranja amargo, añadiendo no haber observado nunca plantas muertas por «mal secco», comparando su comportamiento al presentado por el Naranja dulce.

El Bergamote (*C. bergamia* Risso y Poit) considerado muy resistente (RUGGIERI, 1948; KLOTZ, 1953). CATARA y CUTULI (1972) lo encontraron extremadamente susceptible, indicando graves daños sobre las variedades de cultivo «Femminello», «Fantástico», «Torulosa» y «Castagnaro».

El cedro (*C. medica* L.), representado en Italia especialmente por la variedad de cultivo «Diamante», resulta muy susceptible (PETRI, 1930 b). Del mismo modo, han sido observadas infecciones sobre la variedad de cultivo «Etrog» (REICHERT y FAWCETT, 1930; CATARA y CUTULI, 1972).

El Naranjillo Chino (*C. mirtifolia* Raf.) es muy susceptible a *P. tracheiphila*.

Del Naranja amargo (*C. aurantium* L.), las plantas jóvenes muestran una susceptibilidad similar al limonero (que disminuye con la edad, atenuándose considerablemente en la planta adulta), por lo que son particularmente graves las infecciones por vía radical (CUTULI, 1972). En pruebas de inoculación artificial de plantones de esta especie, el desarrollo de la enfermedad resultó generalmente más lento en los plantones que habían sido previamente inoculados con el virus de la «variedad infecciosa» o de la «psorosis concava» (SALERNO *et al.*, 1970; CATARA *et al.*, 1971).

En Italia y en las áreas cítricas de los



Fig. 10.—Ejemplo de control mediante poda, realizado a un limonero infectado de *P. tracheiphila*. Algunas plantas han sido taladas a nivel del cuello del árbol.

otros países, el Naranja amargo es el portainjerto más utilizado entre los usuales, tanto por su plasticidad de adaptación edafoclimática, como por su afinidad de injerto con las especies comunes y variedades de cultivo.

TUSA *et al.*, 1979, efectuaron selecciones clonales, valiéndose particularmente de las características morfológicas de los frutos, indicando como característica de importancia, su poliembrionía poco elevada (causa de su gran variabilidad genética en la naturaleza), especialmente en relación con otros portainjertos como *Citrangue*, *Troyer* y *Poncirus trifoliata*.

Por otra parte, la posibilidad de encontrar soluciones alternativas al uso del Naranja amargo como portainjerto del Limonero, ha sido estudiada por RUGGIERI (1948 y 1953), CATARA y CUTULI (1972), RUSSO (1976-77), CRESCIMANO *et al.* (1973), con objeto de identificar entre las especies e híbridos del género *Citrus* y de algunos géneros afines, todos aquellos tipos que frente a infecciones naturales o artificiales del parásito, presentan alguna resistencia.

LUISI *et al.* (1978) atribuyen al Naranja

amargo una intensidad mínima de enfermedad (tipo R-S).

Otros trabajos sobre este argumento se deben a GRANATA *et al.* (1979). Dichos autores pusieron en evidencia el comportamiento diferente frente a infecciones naturales de *P. tracheiphila* de diversos clones de limonero, injertados sobre dos portainjertos: Naranja amargo y *Citrus volkameriana*. Confirmando, por otro lado, la elevada resistencia de la variedad de cultivo «Monachello», debido tanto a una menor sensibilidad a la infección, como a un ralentizamiento de la enfermedad a infecciones ya instauradas. Asimismo señalaron la mayor susceptibilidad de las plantas injertadas sobre *C. volkameriana* respecto aquellas sobre Naranja amargo en el ámbito del mismo clon, entre clones nucelares y los respectivos clones de proveniencia.

Todavía, en cuanto se refiere al limonero, se ha observado que ningún portainjerto induzca en la variedad de cultivo injertada, una resistencia fácilmente apreciable.

Aparte las especies citadas del género *Citrus*,

muchas otras utilizadas como portainjerto son susceptibles a las infecciones naturales y artificiales del parásito (RUGGIERI, 1948; CRESCIMANNO *et al.*, 1973).

Para el control de la enfermedad, como método preventivo (RUGGIERI, 1953 a, b) sugiere el realizar las labores de arado profundas y los abonados, al inicio del verano, para evitar la contaminación radical.

En terapéutica quirúrgica, CUTULI y SALERNO (1976) indican que es conveniente practicar dos intervenciones de poda: una que debe efectuarse en el período de mayo a junio, con finalidad terapéutica, con el fin de contener el avance del patógeno en las partes infectadas de la planta, la otra intervención debe ser efectuada en el período de septiembre a octubre, de carácter epidemiológico, con objeto de disminuir la masa de inóculo en el ambiente (fig. 10).

Para conseguir un control químico, SALERNO y CUTULI (1976) consideran básico un estudio epidemiológico profundo del «mal secco».

En terapéutica externa, según RUGGIERI (1956), es necesario conocer el período de infección ordinario del «mal secco», como factor necesario para establecer un calendario de tratamientos. Este mismo autor señala la eficacia del caldo bordelés, que utilizó en pruebas de control, efectuando 4 tratamientos a distancia de un mes, durante el período comprendido entre el final de octubre a febrero. Otros productos que han mostrado eficacia son: oxiclورو de cobre, «ziram» y «phaltan», utilizados entre otros por SALERNO y CARTIA (1965, 1967) en pruebas «in vitro» y en cámara climatizada, con plantones de Naranja amargo y en campo sobre plantas adultas infectadas de forma natural. Dichos autores observaron una mayor eficacia del oxiclورو de cobre y «ziram», pero aconsejaron más conveniente el tratamiento foliar con «ziram», dada la toxicidad de los compuestos de cobre.

En terapéutica interna, se obtienen los mejores resultados con fungicidas sistémicos, distinguiéndose entre estos el Benomyl. SALERNO y SOMMA (1971), efectuaron pruebas en cámara

climatizada y en campo, acompañados de ensayos biológicos de sistemicidad, evidenciando que el tratamiento más válido se conseguía aplicando el producto al terreno antes de inocular el patógeno. SOMMA *et al.* (1974), continuaron en el estudio de la acción del Benomyl, realizando tratamientos foliares polianuales sobre limonero infestado naturalmente, obteniendo una efectividad tal, que ha permitido fijar un calendario de tratamientos con la finalidad de obtener la máxima eficacia del fungicida, lo que ha sido obtenido anticipando el inicio de los tratamientos a la primera mitad de septiembre, con el fin de tener una elevada concentración de producto en la planta, exactamente en el período de la infección.

DE CICCIO y LUISI (1975) realizaron ensayos sobre la influencia de dos aceites minerales blancos de diversa viscosidad sobre el Benomyl, Metiltiofanato y algunos derivados bencimidazólicos en el control del «mal secco» en cámara climatizada. Observaron, que los aceites aumentaban el acúmulo de los productos y su eficacia, especialmente el aceite de menor viscosidad (20° C), resaltando contemporáneamente la eficacia del Benomyl y del Metiltiofanato. LUISI *et al.* (1976 a) prosiguieron estudios sobre fungicidas bencimidazólicos en el control de la enfermedad en cámara climatizada, suministrándoles en tratamiento foliar y al terreno, observando una mayor eficacia del Benomy.

No obstante, los resultados obtenidos con compuestos bencimidazólicos, SALERNO y PERROTTA (1978) refieren que son poco eficaces, especialmente cuando las infecciones se verifican a partir de lesiones profundas del leño, de forma que, se podría conseguir una mayor eficacia, conociendo con mayor exactitud el comportamiento en estos productos en el interior de la planta, el efecto de sustancias aditivas dotadas de mayor acción vinculante y protectora y el conseguimiento de técnicas de suministro que permitan una mayor y más uniforme distribución del fungicida en los diversos órganos de la planta.

Igualmente, dichos autores consideran oportuno

tuno el estudio de compuestos químicos con distinto mecanismo de acción contra la enfermedad, señalando el caso de productos antiesporulantes (LUISI *et al.*, 1976).

## CONCLUSIONES

De un sumario examen de la literatura relativa al «mal secco» de los agríos, resultan las siguientes puntualizaciones:

— Los ensayos de patogenicidad no han mostrado variaciones indicativas de ninguna especialización, en los diversos aislamientos ensayados.

— Como mecanismo primario de resistencia, han sido consideradas únicamente las reacciones de tipo gomoso a nivel del tejido conductor invadido por el patógeno.

— En las combinaciones resistentes se ha podido apreciar, que las infecciones permanecen localizadas en los sectores del xilema, viniendo circunscritas de tejido de cicatrización, que degenera en las susceptibles.

— Han sido observadas relaciones entre el contenido y su variación en compuestos fungitáticos (fitoalexinas, especialmente de tipo fenólico) en la planta y el proceso de infección. Así, inhiben el desarrollo del patógeno «in vitro», algunas flavonas y otros compuestos fenólicos e «in vivo», nobiletina. Por otra parte, el parásito provoca un acúmulo de fenoles libres, observando particularmente, en las plantas con injerto intermedio de Naranja dulce, fenómeno relacionado con su mayor tolerancia.

— La mayor resistencia ha sido observada en el Tangelo «Orlando», Siamelo y mandarino «Cleopatra», seguidos del limonero «Monachello» y «Femminello S. Teresa».

— Los clones nucelares de limonero son más susceptibles que la planta madre, en particular las selecciones clonales de «Monachello», seguidas de algunas líneas de «Femminello».

— Para distinguir el origen de las plantas nucelares y zigóticas obtenidas de semillas, se considera eficaz la técnica de cultivo «in vitro». De este modo, han sido obtenidas planti-

tas similares entre sí, originadas del mismo fruto, cultivando óvulos abortados, provenientes de frutos maduros en substrato nutritivo agarizado MS.

Igualmente, el cultivo «in vitro», ha permitido obtener plantas nucelares de limonero, de óvulos abortados, derivados de hibridación controlada. Los mismos resultados han sido obtenidos con óvulos procedentes de frutos apirenos provenientes de diversos cruces. Similarmente, esta técnica permite el desarrollo del cigoto sin interferencia de embrionía nucelar, de particular interés cuando vienen usadas plantas madres poliembriónicas.

En los cruces intraespecíficos, con selecciones clonales de limonero cultivados en substrato MS, ha sido posible desarrollar embriones de semillas inmaduras, con objeto de obtener el mayor número posible de híbridos. Estos han producido un gran porcentaje de frutos apirenos, especialmente con limonero «Monachello», utilizado tanto como planta madre como impoladora.

— El cruce es más eficaz de la selección clonal, en cuanto que permite obtener híbridos de elevada resistencia y productividad satisfactoria.

— El naranjo amargo, de susceptibilidad media al «mal secco», continúa siendo el portainjerto más difundido por su plasticidad de adaptación a diversos ambientes edafoclimáticos, de esta forma, como por una buena afinidad de injerto con las comunes especies y variedades de cultivo y el poco elevado grado de poliembriónia.

— En el control químico, se considera fundamentalmente el estudio epidemiológico y se evidencia la eficacia de los compuestos sistémicos, particularmente del Benomyl, suministrado con precedencia a la época de infección. Igualmente, viene indicada una mayor eficacia por parte de estos compuestos en tratamiento foliar, sobre todo con adicción de aceites minerales blancos.

— De la misma manera, se señala la necesidad de conocer mejor el comportamiento de los compuestos sistémicos en el interior de la

planta, así como el efecto protector o vinculante de sustancias aditivas y de la puesta a punto de técnicas de suministro que permitan una distribución más eficaz del compuesto en los diversos órganos de la planta.

Como consideración conclusiva de los estudios conducidos sobre el «mal secco» de los agríos, relativo a compuestos fenólicos y basados en la significativa relación existente entre la cantidad de estos producida por la planta —inducida por el patógeno en las variedades de cultivo resistentes— y el proceso de infección, quizás podrían constituir un dato de interés en la búsqueda de resistencia.

Asimismo, la obtención de híbridos resistentes con fruto apireno y otras calidades comerciales, quizás se podría conseguir intentando encontrar triploides espontáneos, cruzándolos sucesivamente con variedades de cultivo resistentes.

De la misma forma, la inducción de mutaciones resistentes —basadas en el hecho de que los embriones nucelares se forman a partir de una sola célula y de que la mutación es un

evento unicelular— podría ser posible aumentar la frecuencia de la mutabilidad natural, obteniéndose así, mutantes estables y resistentes al hongo.

En el control químico, son necesario ensayos de patogenicidad para individuar eventuales especializaciones en las poblaciones del parásito.

Por otra parte, los productos sistémicos en aplicación reiterada, inducen la aparición de estos fenómenos, por lo que se aconseja el suministro alternado de estos compuestos, con otros de distinto principio activo o mecanismo de acción.

## AGRADECIMIENTOS

Mi sincero agradecimiento al profesor N. LUISI, por su efectiva y desinteresada colaboración.

Asimismo quiero expresar mi especial gratitud, al Técnico Fotográfico M. FANELLI por su eficaz contribución y a la Tec. R. MININNI, por su hábil intervención en múltiples aspectos.

## ABSTRACT

GIMÉNEZ VERDU, I., 1982. Estado actual de los estadios sobre «mal secco» de los agríos de *Phoma tracheiphila* (Petri) Kanc. et Ghik. *Bol. Serv. Plagas*, 8: 103-126.

A bibliographical review of the papers on «mal secco» of citrus (*Phoma tracheiphila* (Petri) Kanc. et Ghik.), tracheomycosis which affected several species of citrus, specially *C. lemon* Burm., and which is present in the Mediterranean basin and oriental coast of Black Sea.

The results area analyzed according the following points: I. Resistance papers on the basis of the action of phenolic compounds in selection of resistant varieties; the genetic improvement, plant breeding and host resistance. II. Chemical control and III the improvement of work techniques in every work line.

## REFERENCIAS

- AKHVLEDIANI, K. S., 1958: Aislamiento de una sustancia tóxica del leño del limonero infestado de «mal secco» (en ruso). *Soobshch. Akad. Nauk. Gruzín. S.S.R.*, Tbilisi, 21: 89-90.
- BALDAOCCI, E., 1950: Caratteri culturali delle razze di *Bakerophoma tracheiphila*. *Notiz. Mal Piante*, 9: 27-32.
- BASSI, M.; G. MAGNANO DI SAN LIO y G. PERROTTA, 1980: Morphological observation on the host-parasite relations in Sour orange leaves infected with *Phoma tracheiphila*. *Phytopath. Z.*, 98: 320-330.
- BAZZI, B. y P. SCRIVANI, 1954: Un método diagnóstico per il riconoscimento del decorso del «mal secco» degli agrumi. *Phytopath. Zeits*, Berlin, 21: 333-334.
- BARATTA, B.; F. DE PASQUALE y V. SOMMA, 1979: Prove orientative sulla resistenza al «mal secco» in vivaio di cloni di limone. *atti 2° Seminario sul miglioramento*

- genetico del limone, Giovinazzo (Bari) 5-6 aprile, 1979, 135-142.
- BUGIANI, A.; P. SCRIVANI y N. LOPRIENO, 1959: Indagini sul parasitismo da *Deuterophoma tracheiphila* Petri. *Società Montecatini*, Milano 24 p.
- CACCAMESE, S. y M. DAVINO, 1979: Separation of cis and trans isomers of natural occurring hydroxycinnamic acids by high pressure liquid chromatography (in stampa).
- CARRANTE, V. y V. BOTTARI, 1952: Miglioramento genetico del limone e ricerca di varietà resistenti al «mal secco». *Annali Sper. Agr. Roma*, 4 (2), 232-246.
- CATARA, A. y G. CUTULI, 1972: Osservazioni sulla suscettibilità di alcune rutacee alle infezioni epigee di *Phoma tracheiphila*. *Estr. Annali Ist. Sper. Agrumicoltura*, Acireale, 5: 29-43.
- CATARA, A.; M. LONGO y G. CARTIA, 1972: Growth of *Phoma tracheiphila* on culture media in relation to fungistatic phenolic compounds in exocortis infected sour orange seedlings. *Proc. 6th Conf. Int. Org. Citrus Virol.*, Swaziland (South Africa) 21-28, august, 1972, 110-113.
- CATARA, A.; M. LONGO, B. GINOPRELLI y G. SCARAMUZZI, 1973: Ricerche sull'attività fungistatica di strati Arancio amaro e di *Citrus volkameriana* nei confronti di *P. tracheiphila*. *Riv. Pat. Veg.*, Ser. IV, 9, 139-152.
- CATARA, A.; M. TODARO y G. SCARAMUZZI, 1971: Decorso del «mal secco» e comportamento di *P. tracheiphila* su strati agarizzati in rapporto alle variazioni del contenuto fenolico in semenzali d'arancio amaro affetti da «variegatura infettiva». *Riv. Pat. Veg.*, Pavia, Ser. IV, 7 (3-4): 227-238.
- CHAPOT, H., 1963: Le «mal secco». *Al Awamia*, 9: 89-125.
- CHAPOT, H. y V. L. DELUCCHI, 1963: Les ennemis des agrumes au Maroc. *Rabat*.
- CICCARONE, A., 1971: Il fungo del «mal secco» degli Agrumi. *Phytopath. medit.*, 10: 68-75.
- DE CICCO, V. y N. LUISI, 1975: Influenza degli oli sull'attività del Benomyl, del Metiltiofanato e di alcuni derivati contro il «mal secco» degli Agrumi. *Atti Giornate Fitopatologiche*, Torino (Italia), 12-14 novembre, 1975, 803-809.
- CONTINELLA, G. y E. TRIBULATO, 1979: Preliminari osservazioni comparative su 22 selezioni clonali di limone. *Atti 2° Seminario sul miglioramento genetico del Limone*, Giovinazzo (Bari), 5-6 aprile, 1979, 87-99.
- COOPER, R. M.; B. RANKIN y R. K. S. WOOD, 1978: Cell wall-degrading enzymes of vascular wilt fungi. II. Properties and modes of action of polysaccharidases of *Verticillium albo-atrum* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Physiol. Pl. Path.*, 13: 101-134.
- CRESCIMANO, F. G.; V. SOMMA y F. CALABRESE, 1973: Preliminary research on resistance of some root-stocks to «mal secco». *Atti: I Congr. Mundial de Citricultura*, Murcia-Valencia (España), 29 aprile-10 maggio, 1974, (2): 119-120.
- CUTULI, G., 1972: Il «mal secco»: Una particolare forma di «mal secco» *Phoma (Deuterophoma) tracheiphila* (Petri) Kanc. et Ghik., osservata su specie diverse di Agrumi. *Annali Ist. Sper. Agrum. Acireale* (Catania), 5: 281-290.
- CUTULI, G. y M. SALERNO, 1976: Il «mal secco» degli Agrumi. *Terra viva*, 8: 3-13.
- DAMIGELLA, P. y G. CONTINELLA, 1970: Il miglioramento genetico del limone. Osservazioni comparative su alcune selezioni (parte prima). *Tec. agric.* 22 (6), 553-569.
- 1971: Il miglioramento genetico del limone. Osservazioni comparative su alcune selezioni (parte seconda). *Tec. agric.*, 23 (1): 28-41.
- 1971 a: Il miglioramento genetico del limone. Osservazioni comparative su alcune selezioni clonali (parte terza). *Tec. agric.*, 23 (3): 684-744.
- DAVINO, M.; A. CATARA, S. CACCAMESE y G. CARTIA, 1979: Analysis of post-infectional phenolics acids in lemon inoculated with *Phoma tracheiphila* by high-pressure liquid chromatography. *Riv. Pat. Veg. Ser. IV*, 15 (1-2), 35-41.
- DAVINO, M.; A. CATARA, G. PERROTTA y S. GRASSO, 1974: Variazioni del contenuto in fenoli liberi in piante di Agrumi inoculate con *Phoma tracheiphila*. *Riv. Pat. Veg. Ser.*, 4, 10: 123-136.
- DEMETRADZE, R. YA, SH. K. GOLIADZE y N. I. ADEISHVILI, 1970: Water circulation in plants with «mal secco» disease. *Subtrop. Kulit*, 2: 90-95.
- DIMOND, A. E., 1970: Biophysics and biochemistry of the vascular wilt syndrome. *A. Rev. Phytopath.*, 8: 301-322.
- ESEN, A.; R. W. SCORA y R. K. SOOST, 1975: A simple and rapid screening procedure for identification of zygotic citrus seedlings among crosses of certain taxa. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 100: 558-561.
- ESSEN, A. y R. K. SOOST, 1977: Separation of cellular and zygotic Citrus seedlings by use of polyphenol oxidase-catalyzed brownin. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 2: 616-618.
- 1977 a: Adventive embryogenesis in Citrus and its relation to pollination and fertilization. *Am. J. Bot.*, 64 (6): 607-614.
- EVOLA, C.; B. ROSCIGLIONE y M. SALERNO, 1973: Attività pectinolitica, cellulolitica e  $\beta$ -glucosidasi di *Phoma (Deut.) tracheiphila* (Petri) Kanc. et Ghik. *Phytopath. medit.*, 12: 36-42.
- FAWCETT, H. S., 1936: «Mal secco». Citrus diseases and their control. Mc. Graw W-Hill Book Company. New York, 308-314.
- FEDORINTCHIK, N. S., 1953: Las particularidades de los síntomas y la evolución de la enfermedad en cítricos infectados de *Deuterophoma tracheiphila* Petri (en ruso). *Comptes-rendus Acad. Lenine Sci. Agric.*, 18, Moscú, 6: 23-26.
- GASSNER, G., 1940: Untersuchungen über das «mal secco» o der «kurutan» der Limonbäume. *Phytopath. Z. Berlin*, 13: 1-90.
- GERACI G. y N. TUSA, 1976: Distinzioni tra semenzali nucellari e zigotici di Arancio amaro per mezzo di tests biochimici. *Riv. Ortoflorofruttic. it.*, 60: 27-32.
- GIODANICH, G. y R. RUGGIERI, 1947: Il carattere della resistenza dei Citrus al parasitismo della *Deuterophoma tracheiphila* Petri. *Ann. sperim. Agrar.*, Roma, 1: 473-484.
- 1948: Aspetti e problemi del «mal secco» degli Agrumi in Sicilia. *Humus*, 22-26.
- 1953: Il «mal secco» degli Agrumi. *Giorn. Agric.*, Roma, 3: 14.
- GOLIADZE, S. K., 1957: Métodos para la determinación de resistencia en cítricos al «mal seco» (en ruso). *Byull. uses. nauchno-is-sled. Inst. Chaya. Subtrop. Cult.* 1: 158-179.
- 1972: The genetic relationship of the Lemon tree with the «mal secco» casual fungus. *Part. L. Subtrop. Kultury* 2: 97-100.

- GRANATA, G.; G. PERROTTA, A. TIRRO' y S. GRASSO, 1977: Comportamento di selezioni clonali di Limone nei confronti di infezioni di *Phoma tracheiphila*. *Tec. Agric.*, 24: 337-334.
- GRANATA, G.; A. TIRRO' e G. PERROTTA, 1979: Risultati sul comportamento di selezioni clonali di Limone nei confronti di infezioni naturali di *Phoma tracheiphila*. Nota II. *Atti 2° Seminario sul miglioramento genetico del Limone*, Giovinazzo (Bari) 5-6 aprile, 1979, 101-109.
- GRANITI, A., 1969: Host-parasite relations in citrus diseases as exemplified by *Phytophthora gommosis* and *Deuterophoma* «mal secco». *Proceeding first international citrus symposium*, 3: 1187-1200.
- GRASSO, S.; M. PACETTO y G. PERROTTA, 1970: Effetto inibitorio del filtrato di coltura di *D. tracheiphila* Petri sul virus della «variegatura infettiva» degli agrumi. *Riv. Patol. Veg.*, Pavia Serv., 6: 219-230.
- INGHAM, J. L., 1972: Phytoalexins and others natural products as factors in plant diseases resistance. *Bot. Rev.*, 38: 343-424.
- 1973: Disease resistance in higher plants. The concept of preinfectious and post-infectious resistance. *Phytopath Z.*, 78: 314-335.
- KANCHAVELI, L. A. y K. G. GIKACHVILI, 1948: Materiali per lo studio del «mal secco» o disseccamento dei limoni in Georgia S.S.R. *Trudy Inst. Zashch. Rast.*, Tbilisi 5.
- KANCHAVELI, L. A. y G. S. KALICHAVA, 1971: Interrelation between photosynthetic activity and plant cell disease. *Soobshch. Akad. Nauk, gruz S.S.R.*, 64: 469-472.
- KIYASHIKO, P. I., 1951: On the toxic fungus *Deuterophoma tracheiphila* Petri the causal agent of infections desiccation of lemon trees («mal secco»). *Trudy ves, Int. Zashch. Rast.*, 3: 176-177.
- KLOTZ, L. J., 1953: «Mal secco» and other diseases of Citrus in Italy. *Calif. Citrog.* Los Angeles, 39: 3, 20, 22-23.
- KUC, J., 1972: Phytoalexins. *Annali Rev. Phytopath.* 10: 207-232.
- LUISI, N.; V. DE CICCIO, G. CUTULI y M. SALERNO, 1978: Factors in early testing for Citrus Mal secco Resistance. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 1978, 3: 197-200.
- 1979: Ricerche sul metodo di studio della patogenicità del fungo del «mal secco» degli Agrumi. *Annali Ist. Sper. Agrum. Acireale* (Catania), 9-10: 3-9.
- LUISI, NO; V. DE CICCIO y M. SALERNO, 1976: Di-p-Fluorophenyl alanine activity against Citrus «mal secco» in vitro and green-house tests. *Poljopr. zanast. Smotra*, n. 39 (49): 321-326.
- 1976: Attività di fungicidi benzimidazolici contro H «mal secco» degli Agrumi. *Inf. tore Fitopatol.*, 6: 19-24.
- MACE, M. E., 1978: Contribution of tyloses and terpenoid aldehyde phytoalexins to *Verticillium* wilt resistance in Cotton. *Physiol. Pl. Path.*, 12: 1-11.
- METLITSKII, L. V., 1966: Biochemical principles of plant protection. Biochemistry of the immunity of plants and crop storage. *Moscow. Izdatel'stvo Nauka Ir*, 323 pp.
- MAGNANO DI SANLIO y G. PERROTTA, 1979: Osservazioni morfologiche sul processo di infezione di *Phoma tracheiphila* in piante di Agrumi, con particolare riferimento a possibili meccanismi di resistenza. *Atti 2° Seminario sul miglioramento genetico del Limone*. Giovinazzo (Bari) 5-6 aprile, 1979, 111-119.
- MOLLENHAUER, H. H. y D. L. HOPKINS, 1976: Xylem morphology of Pierce's disease-infected Grapevines with different levels of tolerance. *Physiol. Pl. Path.*, 9: 95-100.
- MURASHIGE, T. y F. SKOOG, 1962: A revised medium for rapid growth and bioassay with Tobacco tissue cultures. *Physiologia Pl.*, 15: 473-497.
- MUSUMECI, R. y A. R. OLIVEIRA, 1976: Accumulation of phenols and phytoalexins in Citrus tissues inoculated with *P. citrophthora* (Sm eSm) Leonian. *Summa Phytopat.*, 1: 275-282.
- 1976: II. Accumulation of phenols and phytoalexins in Citrus tissues following inoculation with *P. citrophthora*. *Summa Phytopat.*, 2: 27-31.
- NACHMIAS, A.; I. BARASH, Z. SOLEL y STROBEL, G. A., 1977 a: Purification and characterization of a phytoalexin produced by *P. tracheiphila*, the causal agent of «mal secco» disease of citrus. *Physiological Plant Pathology*, 10: 147-157.
- 1977 b: Traslocation of «mal secco» toxin in lemons and its effect on electrolyte leakage, transpiration, and citrus callus growth. *Phytoparasitica*, 5: 104-108.
- ORCHANSKAYA, V. N., 1952: Algunos resultados de un estudio de cultivos de *D. tracheiphila* Petri y algunos aspectos de su aplicación al tratamiento del «mal secco» de los agrios (en ruso). *Bull. Acad. Scien. URSS Moscou* 1: 89-100.
- 1960: Tratamiento de semillas con toxinas de hongos fitopatógenos, como método para seleccionar plantas resistentes a la enfermedad causadas por hongos (en ruso). *Agrobiologia*, 4: 573-578.
- ORCHANSKAYA, V. N. y N. P. ORJONIKIDZI, 1956: Método acelerado de laboratorio para probar la resistencia de agrios al «mal secco» (en ruso). *Agrobiol.*, 5: 35-44.
- PACETTO, M. y M. DAVINO, 1976: Attività pectinmetilesterasica e cellulolitica in piante di Agrumi con infezioni di *Phoma tracheiphila*. *Riv. Pat. Veg. Serv. IV*, 12: 137-144.
- PENNYPACKER, B. A. y P. E. NELSON, 1972: Histopathology of carnation on infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *Phytopathology*, 61: 1318-1326.
- PERROTTA, G.; G. MAGNANO DI SAN LIO y M. BASSI, 1979: Some anatomical and morphological-functional aspects of the resistance to *Phoma tracheiphila* in Citrus Plant. *Phytopath. Z.*, 1980, 98: 346-358.
- PERROTTA, G. y E. TRIBULATO, 1977: Observations on the susceptibility of nucellar lines of Lemon to «mal secco» disease in Sicily. *Abstr. Int. Citrus Congr.*, Orlando (Florida), may 1-8, 1977, 60.
- PETRIL, 1926: Ricerche sulle cause del disseccamento dei limoni in provincia di Messina. *Boll. Real Staz. Pat. Veg. Firenze*, 6: 108-117.
- 1926 a: Ulteriori osservazioni sul disseccamento dei limoni in provincia di Messina. *Boll. Real Staz. Pat. Veg. Firenze*, 6: 200-202.
- 1927: Effetti del solfato di manganese sulle piante di limone attaccate dal *Colletotrichum gloeosporoides* Penz. *Boll. Real Staz. Pat. Veg.*, Firenze, 7: 213-214.
- 1929: Batteriosi dei rametti e «mal secco» dei limoni in Sicilia. *Boll. Real Staz. Pat. Veg. Firenze*, 9: 282-290.
- 1929 a: Sulla posizione sistematica del fungo parassita delle piante di limone affette da «mal secco». *Boll. Real Staz. Pat. Veg.*, Firenze, 9: 393-396.
- 1930: Note pratiche per ostacolare il diffondersi del «mal secco» degli agrumi. *Giorn. Agr. Medit.*, Messina, 208.
- 1930 a: Ulteriori ricerche sulla morfologia, biologia e parassitismo della *D. tracheiphila*. *Boll. Real Staz. Pat. Veg.*, Firenze, 10: 191-221.

- 1930 b: Risultati di alcune ricerche sperimentale sopra il «mal secco» degli agrumi. *Boll. Real. Staz. Pat. Veg.*, Firenze, 10: 353-359.
- 1930 c: Lo stato attuale delle ricerche sul «mal secco» dei limoni. *Boll. Real. Staz. Pat. Veg.*, Firenze, 10-11: 63-107.
- PIATELLI, M. y G. IMPELLIZZERI, 1971: Fungistatic flavones in the leaves of Citrus species resistant and susceptible to *Deuterophoma tracheiphila*. *Phytochemistry*, 10: 2657-2659.
- PINKAS, J.; D. LAVIE y M. CHORIN, 1968: Fungistatic constituents in Citrus varieties resistant to the «mal secco» disease. *Phytochemistry*, 7: 169-174.
- POLIÁKOV, I. M. y A. A. SHUMAKOVA, 1951: Una ricerca sulle proprietà tossiche del fungo *D. tracheiphila* Petri (in russo). *Trudy ves. Inst. Zashch. Rast.*, 3: 165-171.
- PUNITHALINGAM, E. y P. HOLIDAY, 1973: *D. tracheiphila*. «*CMI Descr. Path. Fungi Bact.*», n.
- QUILICO, C. CARDINI, F. PIOZZI y P. SCRIVANI, 1952: I pigmenti del *D. tracheiphila*. *Atti Accad. Naz. dei Lincei*, Roma ser. VIII, 12: 650-657.
- RANGAN, T. S.; T. MURASHIGE y W. P. BITTERS, 1969: In vitro studies of zygotic and nuclear embryogenesis in Citrus. *Proc. First Int. Citrus Symp.* Riverside, California, U.S.A., 16-26 march, 1968, 1: 225-229.
- REED, H. S. y J. DUFRENOY, 1942: Purocatechol aggregates in vacuoles of cells of zincdeficient plants. *Am. Jour. Bot.*, 29: 544-551.
- REFORGIATO RECUPERO, G., 1979: Osservazioni sulla suscettibilità al «mal secco» di semenzali di alcuni Citrus e generi affini. *Atti 2° Seminario sul miglioramento genetico del limone*, Giovinazzo (Bari) 5-6 aprile, 1979, 81-86.
- REFORGIATO RECUPERO, G., 1979: Osservazioni sulla suscettibilità al «mal secco» di semenzali di alcuni Citrus e generi affini. *Atti 2° Seminario sul miglioramento genetico del limone*, Giovinazzo (Bari) 5-6 aprile, 1979, 81-86.
- REFORGIATO RECUPERO, G. y A. STARRANTINO, 1979: Incrocio e coltura «in vitro» in un programma di miglioramento genetico del limone. *Atti 2° Seminario sul miglioramento genetico del limone*, Giovinazzo (Bari) 5-6 aprile, 1979, 157-165.
- REICHERT, I. y H. S. FAWCETT, 1930: Citrus diseases new to Palestine. *Phytopathology*, 20: 1003-1005.
- RUGGIERI, G., 1931: Note tecniche sul «mal secco» degli Agrumi. *Citrus*, Messina, 17: 91-95.
- 1940: Relazione sull'attività del «Posto di osservazione sul mal secco» degli Agrumi nel 1940». *Boll. R. Staz. Pat. Veg.*, Firenze, 20: 303-329.
- 1948: Fattori che condizionano e contribuiscono allo sviluppo del «mal secco» degli Agrumi e metodi di lotta contro il medesimo. *Annali Sper. Agr.*, Roma, 2: 255-305.
- 1949: L'attuale problema del «mal secco» degli Agrumi nelle sue immediate finalità pratiche. *Annali Sper. Agr.*, Roma, 3: 25-32.
- 1953: Portinnesto resistente al «mal secco». *g. Agric.*, 44: 7.
- 1953 a: Il «mal secco» degli Agrumi. *Terra e Sole*, 134.
- 1953 b: Periodicità nelle infezioni di «mal secco» e fondamentali orientamenti di lotta. *Giorn. Agric.*, Roma, 34, 8.
- 1956: «Mal secco» degli Agrumi e attuali mezzi di lotta. *Riv. Agrumic*, Acireale, 1: 201-206.
- RUSSO, F., 1976-77: Il miglioramento genetico per la resistenza al «mal secco» del Limone in Italia. *Annali Ist. Sper. Agrumic.*, Acireale, 9-10: 231-234.
- 1979: Il miglioramento genetico per la resistenza al «mal secco» del Limone in Italia.
- RUSSO, F. y M. TORRISI, 1953: Roblemi e obiettivi di genetica agrumaria. Parte I. Selezione degli ibridi, degli embrioni nucellari, dei triploidi e provocazione artificiale di mutazioni. *Annali Sper. Agr.*, Roma, 7, 883-906.
- SALERNO M., 1959: Su alcuni gravi danni in piante di limone con l'intervento di *Fudarium lateritium* Nees (*Gibberella baccata* (Wall.) Sacc.). *Tec. Agric.*, Catania, 11: 464-475.
- 1964: Ricerche sul «mal secco» degli Agrumi (*D. tracheiphila*). I. Influenza della temperatura sulla crescita del fungo, sulla produzione dei picnidi e sulla germinazione dei picnoconidi. *Riv. Pat. Veg.*, Pavia, Ser. III, 4, 282-299.
- SALERNO, M. y G. CARTIA, 1965: Ricerche sul «mal secco» degli Agrumi (*D. tracheiphila* Petri). Prove «in vivo» e «in vitro» sull'efficacia di alcuni anticrittogamici. *Riv. Pat. Veg.*, Pavia, Ser. IV, 1: 71-82.
- 1967: Ricerche sul «mal secco» degli Agrumi (*D. tracheiphila* Petri) VII. Prove di campo sull'efficacia di alcuni anticrittogamici. *Tec. Agric.*, 19, 168-175.
- SALERNO, M. y G. CUTULI, 1977: Control of Citrus «mal secco» in Italy today. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 3: 1001-1003.
- SALERNO, M.; C. EVOLA, y V. SOMMA, 1971: Modificazioni del metabolismo fenolico e «mal secco» degli Agrumi in semenzali d'Arancio amaro' con precedenti infezioni da virus. *Phytopathol. medit.*, 10: 195-201.
- SALERNO, M.; V. SOMMA y C. EVOLA, 1975: Influenza di alcune virosi sul decorso del «mal secco» degli Agrumi e primi risultati relativi al contenuto fenolico delle tedi a confronto. *Phytopath. medit.*, 9: 22-28.
- SALERNO, M.; M. PACETTO y A. CATARA, 1976: «Mal secco» degli Agrumi in Italia. Brevi richiami al passato, l'attuale attività di ricerca, orientamenti per il futuro. *Italia agric.*, 113: 96-103.
- SALERNO, M. y G. PERROTTA, 1978: Lo stato della chimica contro il «mal secco» degli Agrumi. *Tec. Agric.*, 30 (4-5): 307-316.
- SALERNO, M. y V. SOMMA, 1971: Osservazioni sulla sistematicità del Benomyl in semenzali d'Arancio amaro e risultati di lotta contro il «mal secco» degli Agrumi. *Phytopath. medit.*, 9: 22-28.
- SAVASTANO, G. y FAWCETT, H. S., 1931: Ricerche sperimentali sul decorso patologico del «mal secco» del limone. *Ann. Real. Staz. sperim. Frutt. Agrum.* Acireale, 11: 1-37.
- SCHUMAKOVA, A. A., 1964: Characteristics of the appearance of «mal secco» with the ring of lemon and their causes. *Trudy ves. Inst. Zashch. Raat.*, 21: 25-40.
- SCRIVANI, P., 1954: Patogenesi e riproduzione sperimentale del «mal secco» da *D. tracheiphila* Petri e ricerche sulla formazione di metaboliti tossici in coltura. *Phytopath. Zeits. chrift.* Berlin, 22: 83-108.
- SOLEL, Z., 1976: Epidemiology of «mal secco» disease of Lemons. *Phytopath. Z.*, 2, 85: 90-92.
- SOMMA, V.; G. CUTULI, y M. SALERNO, 1979: Ricerche sul saggio della resistenza al «mal secco» di giovani Limoni innestati. *Atti 2° Seminario sul miglioramento*

- genetico del Limone*. Giovinazzo (Bari), 5-6 aprile, 1979, 71-80.
- SOMMA, V.; M. SALERNO y G. SAMMARCO, 1974: Prove di campo sull'efficacia del Benomyl contro il «mal secco» degli Agrumi. *Phytopath. medit.*, 13: 143-146.
- SPIEGEL-ROY, P.; A. VARDI y A. SHANI, 1977: Peroxidase isozymes ad a tool for early separation of nuclear and zygotic Citrus seedlings. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 2: 619-624.
- STARRANTINO, A., 1979: Piante nucellari di Limone ottenute da coltura «in vitro» di ovuli abortiti. *Atti 2° Seminario sul miglioramento genetico del Limone*. Giovinazzo (Bari) 5-6 aprile, 1979, 143-148.
- STARRANTINO, A. y F. RUSSO, 1976-77: Piante «in vitro» da ovuli abortiti di frutti maturi di Arance del gruppo Navel (*C. Osbeck*) e di Limone (*C. Limon* Burm.). *Annali Ist. Sperim. per l'Agrumicoltura*, Acireale (Catania), 9-10: 155-163.
- STEPANOV, K. M.: 1950: Disseccamento infettivo del Limone (in russo). *Comp. Rend. Acad. Lenine Sci. Agric.*, Moscou, 8: 39-44.
- TOTUM, J. H.; R. E. BERRY y C. J. HEARN, 1977: Separation of nucellar and zygotic Citrus seedlings by their flavonoids and other non-volatile components. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 2: 614-616.
- TUSAN, N.; F. DE PASQUALE y L. RADOONA, 1979: Selezione clonale dell'Arancio amaro. *Atti 2° Seminario sul miglioramento genetico del Limone*, Giovinazzo (Bari) 5-6 aprile, 1979, 149-155.
- VANDERMOLEN, G. E.; C. H. BECKMAN y E. RODEHORST, 1977: Vacular gelation: a general reponse phenomenon following infection. *Physiol. Pl. Path.*, 11: 95-100.
- VANDERWEYEN, A., 1963: La brulure de sable («sand burn») des Agrumes. *Al Awamia*, Rabat, 6: 127-133.