

**MÁSTER PROPIO EN AGROECOLOGÍA,
SOBERANÍA ALIMENTARIA, ECOLOGÍA URBANA Y
COOPERACIÓN AL DESARROLLO RURAL**

**Las micorrizas en el cultivo de los cítricos. Experiencias de
micorrización en vivero.**

CURSO 2021-2022

Alumno: Alberto García Díaz

Tutor/a: Dra. M.^a Carmen Jaizme-Vega

Universidad de La Laguna, octubre 2022



**FUNDACIÓN
INSTITUTO DE
AGRICULTURA
ECOLÓGICA
Y SOSTENIBLE**



Dña. M^a del Carmen Jaizme-Vega, Catedrático/Titular/Profesor/a... del Máster Propio en Agroecología, Soberanía Alimentaria, Ecología Urbana y Cooperación al Desarrollo Rural de la Universidad de La Laguna

CERTIFICA/N:

Que la presente memoria, titulada “Las micorrizas en el cultivo de los cítricos. Experiencias de micorrización en vivero”, corresponde al trabajo realizado bajo su dirección por D. Alberto García Díaz, para su presentación como Trabajo Fin de Máster en el Máster Propio en Agroecología, Soberanía Alimentaria, Ecología Urbana y Cooperación al Desarrollo Rural de la Universidad de La Laguna.

Y para que conste firma/n el presente certificado en La Laguna, a 21 de octubre de 2022.



Fdo. María del Carmen Jaizme-Vega

Agradecimientos

Ciertamente me da pudor, aparecer como autor de este trabajo cuando hay tanta gente que ha trabajado para que se haya podido llevar a cabo. Considero este TFM como un verdadero regalo por parte de toda la gente que ha participado en el mismo.

Empezando por la Dra. Mery Jaizme-Vega y Jose Luis Porcuna, promotores y diseñadores de la experiencia, y que, desde el primer momento, me dieron la confianza y el apoyo necesarios para trabajar en un campo totalmente desconocido para mí cuando empezamos. Estoy muy agradecido a Mery por su generosidad al ofrecer todos los medios necesarios en la evaluación analítica de los resultados; por su paciencia y amabilidad a la hora de dirigir los trabajos y por su disponibilidad y paciencia ante mis dudas. El trato humano que tiene Mery ha ayudado a que la realización del trabajo haya resultado un placer.

También agradezco a Marta Garzón y Sandra Hernández, del equipo de Mery en el ICIA, sus trabajos en la evaluación analítica de los resultados.

Asimismo, el presente trabajo se ha podido llevar a cabo gracias a Ramón Marqués, gerente del vivero comercial donde se llevaron a cabo las inoculaciones y donde se completó la formación de los plantones. En todo momento, puso a nuestra disposición todos los recursos necesarios para la obtención de los plantones micorrizados. También Guillermo Bellés, técnico de Beniplant, estuvo siempre con excelente disposición para colaborar en los trabajos de seguimiento del proceso.

Quiero expresar también mi agradecimiento a todo el personal de la Estación Experimental Agraria de Vila-real que ha participado de una u otra manera en la ejecución de la experiencia: Ana Pardo, Vicente Herrero y Pascual Adsuara.

Una especial mención a Bego, que, con su paciencia y ayuda, ha hecho más llevaderos los momentos más difíciles.

Y para acabar, quiero dedicar este trabajo a Jose Luis Porcuna Coto, amigo y maestro de vida, quien con su palabra y trato nos hizo tocar lo invisible. Hasta siempre, amado Jose Luis.

ÍNDICE

1. RESUMEN EJECUTIVO.....	3
2. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS	4
2.1. Orígenes y tipos.....	4
2.2. La dependencia micorrícica de los cítricos.....	5
2.2.1. Diferencias de micotrofia en los portainjertos de cítricos	6
2.2.2. Las micorrizas autóctonas en los cítricos	7
2.3. Otros efectos de las micorrizas en los cítricos	8
2.3.1. Mayor resistencia a la sequía	10
2.3.2. Mayor resistencia a la salinidad	11
2.3.3. Potenciación del sistema inmunitario de los cítricos	11
3. OBJETIVOS	13
4. PARTE EXPERIMENTAL	14
4.1. Material y métodos	14
5. RESULTADOS	22
5.1. Valoraciones visuales	22
5.2. Valoración analítica	23
5.2.1. Primer levante, antes del trasplante	23
5.2.2. Segundo levante, antes del injerto	37
5.2.3. Tercer levante	40
6. CONCLUSIONES	43
7. BIBLIOGRAFÍA	45

1. RESUMEN EJECUTIVO

El funcionamiento de un ecosistema depende en gran medida de la actividad biológica del suelo. Los microorganismos, además de ser responsables de la fertilidad de un suelo, en sus asociaciones con las plantas, son capaces de transferirles mayor capacidad de captación de nutrientes, favorecer el enraizamiento, incrementar su tolerancia a la salinidad y al estrés hídrico y darles protección frente a agentes patógenos. Los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) son uno de los microorganismos clave para la sostenibilidad de los suelos de cultivo.

Una de las aplicaciones más frecuentes de las micorrizas arbusculares (MA) es la inoculación de hongos micorrícicos en la producción de plantas en vivero, optimizando su desarrollo y su nutrición en estas primeras fases de su vida. Estas plantas micorrizadas también pueden beneficiarse de las ventajas de la simbiosis micorrícica a lo largo del cultivo en campo.

Por otro lado, los cítricos es uno de los cultivos con mayor dependencia micorrícica, con lo que la inoculación de HMA en la fase de vivero puede resultar interesante y adecuada para sistemas sostenibles de producción de cítricos.

Con el objetivo de determinar la capacidad de micorrización de algunos de los patrones empleados en el cultivo de cítricos y los efectos en la planta se llevó a cabo un ensayo bajo la coordinación y supervisión de la Dra. en biología María del Carmen Jaizme-Vega del Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA).

Se pretende estudiar en condiciones de vivero el efecto de dos inóculos de hongos formadores de MA en dos tipos de sustrato y en tres patrones diferentes de cítricos. Se micorrizan en fase de semilla tres patrones: *Citrus macrophylla*, Forner Alcaide N.º 5 y citrange Carrizo. Se prueban dos sustratos y se ensaya con dos MA: Inóculo experimental multiplicado por el ICIA de eficacia reconocida y un inóculo comercial proporcionado por la empresa BIOERA de Tarragona.

2. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

2.1. Orígenes y tipos

Los hongos micorrícicos ocupan en el conjunto de la microbiota del suelo un papel esencial en la rizosfera. En sus asociaciones con las raíces forman una simbiosis mutualista a la que denominamos micorriza. Se sabe que hace 400 millones de años, las primeras plantas superiores colonizaron medios terrestres desde ambientes acuáticos, y que éstas poseían ya hongos asociados a sus raíces. Probablemente, esta colonización hubiera sido imposible sin esta asociación.

Las micorrizas fueron descubiertas en 1885 por el botánico alemán Albert B. Frank que describió por primera vez la estructura y funcionamiento de una asociación entre las raíces de un árbol y una especie de hongo de suelo (Jaizme-Vega, M.C., 2019 cita a Frank y Trappe, 2005). Aunque en un principio fueron consideradas una curiosidad, hoy se estima que el 97% de las especies vegetales terrestres se encuentran micorrizadas y no se descarta que, en condiciones naturales, la mayoría de las plantas sean micótrofas obligadas (capacidad de captar alimentos a través de las micorrizas). Solo algunas familias pueden desarrollarse óptimamente sin micorrizas; en otros casos, como en las leguminosas o los cítricos, la asociación micorrícica es fundamental para un normal desarrollo de las plantas (Universidad de Almería).

Se han reconocido al menos tres tipos básicos de micorrizas (Jaizme-Vega, M.C., 2019):

- Ectomicorrizas, que forman una cubierta o manto fúngico que cubre las raíces y cuyas hifas intercelulares no penetran en las células del cortex radicular. Se encuentran en un porcentaje muy bajo de las plantas superiores (3%).
- Endomicorrizas, en las que el hongo invade la corteza de la raíz de manera inter e intracelular. Dentro de este grupo encontramos tres tipos diferentes: ericoides, orquidioides y el tipo más abundante, que se conoce con el nombre de micorrizas arbusculares (MA) y que son las que tienen interés agronómico.

- Ectendomicorrizas, que son aquellas que forman un manto fúngico con hifas intercelulares pero que también tienen la capacidad de penetrar en las células radiculares.

Los cítricos presentan un tipo de endomicorrizas denominadas vesículo-arbusculares (MVA). Se denominan así porque en el interior de las células del cortex radicular forman dos tipos de estructuras especializadas: arbusculos y vesículas. A través de los arbusculos se lleva a cabo el intercambio de nutrientes entre los simbioses, mientras que las vesículas actúan como órganos de reserva (Universidad de Almería).

En 1935 fue descrita por primera vez la presencia de micorrizas arbusculares en cítricos (Reed y Fremont, 1935). Desde entonces se han llevado a cabo numerosos estudios que determinan la importancia que tienen las micorrizas para el correcto desarrollo de los cítricos, sobre todo en condiciones adversas.

Wu y col. (2017) señalan que se conocen 45 especies de hongos micorrícicos arbusculares que habitan en la rizosfera de los cítricos, las cuales se corresponden con siete géneros: *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Pacispora*, *Sclerocystis* y *Scutellospora*. Anteriormente, otros autores señalan que, si bien habían encontrado diferentes especies de los géneros *Gigaspora* y *Acaulospora* en cítricos (Nemec y col., 1981; de Souza y col., 2002; Vinayak y Bagyaraj, 1990), las especies más abundantes encontradas pertenecen al género *Glomus* (Davies y Albrigo, 1994; Bhattacharya, 1999; Fidelibus y col., 2000).

2.2. La dependencia micorrícica de los cítricos

Se denomina micotrofia a la capacidad de las plantas para captar alimentos a través de las micorrizas, siendo los cítricos uno de los cultivos con mayor dependencia micorrícica que se conoce. Esto se debe a las características de su sistema radicular: poco profundo, con pocas raíces secundarias y pocos pelos radiculares y cortos, lo que se traduce en una disminución de la superficie de contacto con el suelo. Al aumentar el volumen de suelo explorado y, por tanto, el potencial de captación de nutrientes, las MA pueden aumentar significativamente el crecimiento de las plantas y sus producciones (Wu y col., 2017). En estado

natural, de no cultivo, los cítricos necesitan de las micorrizas para la absorción de nutrientes como el P, el Zn, el Cu o el NH₄ y así poder tener un desarrollo óptimo (Graham y Syvertsen, 1985). Menge y col. (1977) determinaron la importancia de las micorrizas en el desarrollo vegetativo de los cítricos; anteriormente, ya se habían detectado deficiencias en el desarrollo de plántulas de cítricos en ausencia de hongos micorrícicos en suelos, como consecuencia de tratamientos plaguicidas (Hatting y Gerdeman, 1975). También Nemec y col. (1981) determinaron que en 78 de 79 campos y suelos de viveros estudiados en California aparecían hongos micorrícicos asociados a raíces de cítricos. En Florida, 64 de 66. Por su parte, Jaizme, M.C. y col. (2019) señalan que el óptimo desarrollo de los cítricos se obtiene con tempranos establecimientos de la asociación micorrícica arbuscular.

Por otro lado, se ha demostrado que el estrés provocado por la sequía en los cítricos aumenta su dependencia micorrícica (Wu y col., 2007). En condiciones de invernadero se estudiaron cinco especies de *Glomus* (*G. mosseae*, *G. geosporum*, *G. versiforme*, *G. etunicatum* y *G. diaphanum*), y todas ellas mejoraron las relaciones hídricas de *Citrus tangerine* en condiciones de estrés por sequía y riego abundante.

Por otro lado, si por algún motivo se produce una reducción de la infección de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) (la aplicación intensa de fungicidas y fertilizantes fosfatados mata las micorrizas), la planta puede mostrar deficiencia de nutrientes (Ortas, 2012).

2.2.1. Diferencias de micotrofia en los portainjertos de cítricos

Dentro de los cítricos, se ha demostrado experimentalmente que diferentes portainjertos muestran diferentes grados de dependencia de las micorrizas (Spiegel-Roy y Goldschmidt, 1996). Bevington, 2002, relata que los portainjertos de uso común en Australia, citrange Troyer, citrange Carrizo, limón rugoso (citronela) y naranja dulce son conocidos por ser más dependientes de las micorrizas. Poerwanto y col. (1989) demostraron que el naranjo trifoliado (*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.) tiene pelos radiculares relativamente cortos y depende en gran medida de las micorrizas (Wu y Xia, 2006).

Nemec (1979) buscó la respuesta de 6 portainjertos de cítricos con 3 especies de *Glomus* y encontró que existen diferencias significativas en la dependencia de los portainjertos a las micorrizas. Dutra y col. (1996) encontraron que los portainjertos naranja amargo (*Citrus aurantium* L.) y citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) inoculados con *G. intraradices* aumentaron el crecimiento de raíces y brotes. Dado que la absorción de nutrientes depende en gran medida del área de superficie de la raíz, es importante seleccionar los portainjertos que producen un sistema de raíces adecuado para cada suelo. Debido a esta diferencia, quizás cada suelo, portainjerto y variedad de cítricos deberían probarse individualmente (Marchal, 1987).

En otras experiencias Vinayak y Bagyaraj (1990) probaron dieciocho especies de hongos MA en citrange Troyer y concluyeron que *Glomus macrocarpum*, *G. caledonium*, *G. velum*, *G. monosporum* y *Gigaspora margarita* fueron las que mejor se comportaron. Las mejoras fueron muy significativas en el crecimiento de las plantas y su nutrición, lo que resultó en una mayor área foliar, altura de la planta, diámetro del tallo y biomasa de la planta, con mayores contenidos de fósforo, zinc y cobre en raíces y brotes.

En España, el desarrollo de un sistema de inoculación de hongos MA en viveros comerciales se inició con la selección de las especies más efectivas en algunos de los portainjertos utilizados en el cultivo de cítricos. Los mejores resultados en cuanto al crecimiento de los portainjertos se obtuvieron con *G. intraradices*. También se detectaron diferencias entre los patrones estudiados, siendo *Citrus aurantium* L. (naranja amargo) y *C. reshni* L. (mandarino Cleopatra) más dependientes que citrange Troyer o que citrumelo Swingle (Camprubí y Calvet, 1996).

2.2.2. Las micorrizas autóctonas en los cítricos

Por lo que respecta a las MA autóctonas, Nemec y col. (1981) relatan que, en suelos de huertos de cítricos, se encontraron comunidades de diferentes especies de hongos MA colonizando sus raíces y nunca una sola especie. Por otro lado, la misma especie de hongo MA puede variar su capacidad de colonizar raíces y mejorar el crecimiento de las plantas dependiendo del lugar geográfico

donde se de la asociación MA (Camprubi y Calvet, 1996); aunque la relevancia de la diversidad de especies para la función de los hongos MA en campo es poco conocida (Graham y col.,1996), algunos estudios señalan que la diversidad de las micorrizas autóctonas encontradas en huertos de cítricos son las que contribuyen de forma más importante a la captación de nutrientes y el crecimiento de las plantas (Ortas, I., 2012; Harma y col., 2009).

En España, las especies que mayormente se encontraron en suelos de cítricos, tanto en suelos de viveros, como en huertos comerciales, pertenecían a diferentes especies del género *Glomus*, siendo *G. intraradices* (Schenck y Smith) y *G. mosseae* (Nicol. y Gerd.) los HMA que se encontraron con más frecuencia (Camprubí y Calvet, 1996).

2.3. Otros efectos de las micorrizas en los cítricos

En 2012, Ortas, I. (2012) publica una revisión sobre los efectos de las MA en los cítricos. Entre estos se podría destacar el significativo aumento de crecimiento y captación de nutrientes de las plantas micorrizadas. La enorme red de hifas altamente ramificadas de los HMA son las responsables de la absorción y el transporte de iones de nutrientes y agua con lo que las MA puede mantener el rendimiento y la calidad de los cítricos con bajos aportes de nutrientes.

Se ha documentado ampliamente otros efectos que producen en los cítricos las MA generadas por estos hongos, y que se refieren a una mayor tolerancia a la salinidad, la sequía, las elevadas temperaturas, inundaciones o altas concentraciones de CO₂, así como a una mayor resistencia a plagas y enfermedades; también son capaces de mejorar la estructura del suelo gracias a la liberación de la glucoproteína denominada glomalina (Wu y col., 2017). Entre otros factores, las MA proporcionan una mayor resistencia de las plantas contra diferentes factores de estrés gracias al aumento de la actividad de enzimas de suelo como la deshidrogenasa, la fosfatasa y la ureasa provocado por los hongos MA (Ortas, I., 2012).

Frecuentemente se ha considerado impredecible la respuesta a la aplicación de MA en sistemas productivos de cítricos (Ortas, I., 2012). Ortas y col. (2002a y 2002b) probaron diferentes inóculos en plantones de naranjo amargo obteniendo una correlación positiva para *Glomus clarium* en su crecimiento y nutrición. *G.*

clarium proporcionó mayor peso seco de brotes y raíces de las plantas inoculadas (Cuadro 1). Del mismo modo, las plantas inoculadas obtuvieron mayor superficie foliar, altura de la planta, diámetro del tallo y biomasa de la planta, con incrementos en los contenidos de P, Zn y Cu de los brotes.

Tabla 1. El efecto de diferentes inóculos de MA sobre el peso en seco de brotes y raíces en naranjo amargo

Mycorrhizal Species	Shoot dry weight (g plant ⁻¹)	Root dry weight (g plant ⁻¹)	Shoot/root dry weight ratio
Control	2.53b	±0.75	3.51b ±0.99
<i>G. mosseae</i> (1)	2.03b	±0.81	1.84b ±1.11
<i>G. mosseae</i> (2)	2.70b	±0.69	3.26b ±0.56
<i>G. clarium</i>	24.15a	±2.65	19.49a ±6.37
<i>G. caledonium</i>	4.93b	±0.71	3.65b ±0.42
<i>G. etunicatum</i>	3.17b	±0.89	3.62b ±0.24
P	***		***

G. mosseae (1) collected from UK; *G. mosseae* (2) collected from Germany. Mean (three replicates) Bracket is SE (Standard error).

* ** *** significant at P < 0.05, 0.01 and 0.001 respectively

Extraído de Ortas, I., 2012

Por otra parte, se ha podido demostrar que la tasa de infección por micorrizas se correlacionó de forma negativa con el contenido de fósforo disponible en el suelo, lo que también indica que el menor contenido de fósforo disponible en el suelo podría acelerar la infección de micorrizas en las raíces de los cítricos (Wu y col, 2006).

También es de destacar que se ha observado un mayor crecimiento de brotes y raíces en plantones de cítricos en suelos de viveros donde se aplicaron hongos micorrícicos arbusculares (*Endogone spp.*), tanto en suelos desinfectados con Bromuro de Metilo o Dicloro propeno como en aquellos suelos no desinfectados (Schenck y Tucker, 1974).

Los hongos micorrícicos pueden aumentar la tasa de supervivencia de las plántulas en vivero y la tasa de crecimiento de estas, así como su calidad (Ortas, I., 2012). Wang y Xia (2009) demostraron que la colonización de *G. versiforme* aumentó significativamente la altura de la planta, el diámetro del tallo, el número de hojas y la masa seca de *Poncirus trifoliata*. También la inoculación de *G. mosseae* en patrones de naranja trifoliada injertados con la variedad Cara Cara aumentó significativamente la altura de la planta, el diámetro del tallo, el área

foliar y la longitud de los brotes respecto al testigo (Wu y Xia, 2004; Wu y Xia, 2005). De manera similar (Tong y col., 2006) investigaron el efecto de varios inóculos de micorrizas en el crecimiento de plántulas y encontraron que los hongos MA provocaron un mayor crecimiento de brotes y raíces en comparación con el testigo. Sin embargo, (Jifon y col., 2002) detectaron que la inoculación con *G. intraradices* deprimió el crecimiento de las plántulas de *Citrus aurantium* en suelos con un alto contenido de fósforo. Del mismo modo, se observó que las MA son más efectivas en suelos de baja fertilidad y textura más gruesa; los árboles de cítricos tratados con micorrizas tuvieron un mayor crecimiento y mejor absorción de nutrientes como P, Ca, Zn, Cu y Fe en comparación con los árboles sin micorrizas (Srivastava y col., 2002). Wang y col. (2009) informaron que los hongos micorrícicos arbusculares podrían afectar la activación de los elementos minerales y mejorar los contenidos de hierro disponible.

2.3.1. Mayor resistencia a la sequía

En cuanto a las condiciones hídricas de los cítricos, se ha demostrado que la inoculación de micorrizas alivia los síntomas del estrés por sequía (Wu y col., 2009; Wu y Xia, 2004; Levy y col., 1983). Otros trabajos confirmaron que las plantas inoculadas con micorrizas mejoraban la conductancia estomática, la traslación de agua y la capacidad de fotosíntesis (Srivastava y col., 2002). Por otra parte, se ha divulgado que la mayor resistencia a la sequía de las plantas micorrizadas era independiente de la absorción de nutrientes de la planta, especialmente fósforo (Auge y col., 1986; Bethlenfalvay y col., 1988); la colonización de hongos MA mejoró indirectamente el crecimiento de las plantas bajo estrés por sequía al aumentar la retención de humedad del suelo a través del efecto de la glomalina, la cuál es muy abundante en hifas y esporas de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) y favorece la formación de agregados. No obstante, Wu y Zou (2009) concluyeron que la absorción mejorada de nutrientes en las plántulas colonizadas demuestra el potencial de la simbiosis micorrícica para mejorar la resistencia a la sequía en los cítricos. Asimismo, Auge, R.M. (2001) informó que la inoculación de micorrizas puede mejorar la resistencia a la sequía de las plantas, posiblemente al mantener mayores tasas de crecimiento y absorción de nutrientes, incluidos P, Cu y Zn, durante condiciones de sequía.

2.3.2. Mayor resistencia a la salinidad

En condiciones ambientales salinas, pueden producirse micorrizas (Hildebrandt y col., 2001; Johnson-Green y col., 1995; Pond y col., 1984). Hildebrandt y col. (2001) reportaron la colonización de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) así como una alta densidad de esporas en marismas saladas de Europa central. No obstante, varios investigadores han informado que la colonización de la raíz por micorrizas se reduce en presencia de cloruro de sodio (NaCl), probablemente debido a un efecto directo del NaCl sobre los hongos micorrícicos (Dixon y col., 1993; Juniper y Abbott, 2006; McMillen y col., 1998).

En cualquier caso, la aplicación de HMA para mejorar la resistencia a la sal es bastante conocida (Wu y col., 2009). Syvertsen y Levy (2005) informaron que las micorrizas pueden mejorar la tolerancia a la sal de los cítricos y pueden aumentar la absorción de cloruro (Cl^-), aunque la concentración de Na^+ en la planta no se vio afectada por las micorrizas.

Wu y Zou (2009) encontraron que el estrés salino deprimía significativamente la colonización por *G. mosseae*, pero no la colonización de *Paraglomus occultum*. También indicaron que la asociación de micorrizas aumentó notablemente tanto el rendimiento de la planta (número de hojas, área foliar, peso seco de brotes y raíces) como el contenido relativo de agua de las plántulas de cítricos expuestas a estrés salino. En muchos estudios, se ha demostrado que la MA aumenta el rendimiento de las plantas en suelos salinos (Hirrel y Gerdemann, 1980), si bien en otros trabajos los resultados fueron controvertidos (Ortas, 2012). Los resultados de Wu y Zou (2009) mostraron que la inoculación de micorrizas promueve las concentraciones en raíces de K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} con diferentes niveles de salinidad. También observaron que la inoculación de micorrizas puede mejorar la tolerancia a la sal de los cítricos; como conclusiones más importantes de este trabajo, se puede destacar que en los suelos salinos se podían producir MA, que las altas concentraciones de sal podía dificultar la colonización de las raíces y que las micorrizas aliviaban el efecto de la sal.

2.3.3. Potenciación del sistema inmunitario de los cítricos

Por otra parte, hay numerosos trabajos sobre el efecto beneficioso en la sanidad de las plantas micorrizadas de cítricos, confiriéndole mayor resistencia a hongos

y nematodos patógenos (Graham, 1986; Sikora, 1992). Asimismo, la liberación en suelo de antibióticos por parte de las micorrizas puede ayudar a controlar a diferentes patógenos de suelo (Ortas, I., 2012). Calvet y col., 1995, observaron que, en presencia de nematodos, las plantas de cítricos micorrizadas alcanzaban mayores valores en todos los parámetros de crecimiento que se midieron. La salud de las plantas bien alimentadas gracias a las micorrizas hace que éstas muestren mayor resistencia a los patógenos en general. En este caso la inoculación de *Meloidogyne incognito* redujo los rendimientos de las plantas sin micorrizar un 45%, mientras que en las plantas micorrizadas esa reducción fue de un 25%. Asimismo, en estudios realizados por Michelini y col., 1993 se pudo comprobar que la salud de las plantas y el grado de infección por hongos MA estaban directamente relacionados; las plantas más sanas fueron las que presentaban mayor colonización de hongos MA. La inoculación hongos MA aumentó la resistencia de las plantas contra enfermedades y patógenos del suelo.

Manresa-Grao, M. y col., 2022 determinan que la micorrización de *C. aurantium* con *Rhizophagus irregularis* provocó una reducción del daño foliar y las puestas de *Tetranychus urticae*. Asimismo, los tratamientos exógenos con compuestos de “efecto priming” originados en las plantas micorrizadas también redujeron de forma acusada las tasas de daño en hojas. Estos autores consideran de gran interés extender la investigación a otros genotipos más susceptibles que se encuentran inexplorados.

Actualmente, la aplicación de los inóculos micorrícicos está bastante extendida entre productores y viveristas conscientes de las ventajas de esta práctica durante la fase de producción y en el trasplante, y de los consiguientes beneficios en términos de reducción de aplicación de fertilizantes y/o adaptación a suelos pobres o degradados (Foto 2). Sin embargo, la inoculación con hongos micorrícicos se lleva a cabo a veces bajo expectativas poco realistas, consecuencia de un escaso conocimiento de la simbiosis y su contexto. Estas situaciones, propias de un nuevo mercado y de las características biológicas de estos simbioses, pueden originar fracasos. Por lo tanto, es importante conocer bien la naturaleza de las MA, y sus posibilidades reales de aplicación en los sistemas de producción (Jaizme y col., 2019).

3. OBJETIVOS

Objetivo general

Se pretende estudiar el efecto de la “inoculación temprana” de semillas de cítricos sobre el desarrollo de las plantas durante la fase de vivero.

Objetivos específicos

- Evaluar la compatibilidad del sustrato con el inóculo micorrícico sobre 3 patrones de cítricos en fase de vivero.
- Valorar la eficacia de un inóculo comercial (Bioera) frente a la de un inóculo experimental (aislado local de *Glomus mosseae*) de eficacia reconocida.
- Comparar el sustrato comercial que utiliza el vivero con un sustrato experimental, con menor contenido en nutrientes.

4. PARTE EXPERIMENTAL

Se ensayan y comparan dos inóculos de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) frente a un control, en dos sustratos diferentes y en tres patrones que se utilizan normalmente en el cultivo de cítricos en el levante español.

El ensayo se lleva a cabo en las instalaciones del vivero comercial, Beniplant, especializado en cítricos y dirigido por Ramón Marqués. Se encuentra en el término municipal de Peñíscola, zona tradicional de viveristas especializados en la producción de plantones de cítricos.

4.1. Material y métodos

Se parte de semillas proporcionadas por el viverista. La siembra de los futuros portainjertos se lleva a cabo a primeros de junio. La inoculación de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) se realiza en el momento de la siembra mediante incorporación del inóculo en una capa o lecho en contacto con la semilla (ver figura 1). La inoculación se efectúa en fase de semilla, en tres patrones: *Citrus macrophylla* (CM), Forner Alcaide N.º 5 (FA5) y citrange Carrizo (CC).



Foto 1. Preparación del sustrato experimental

Se prueban dos sustratos: el sustrato comercial empleado en el vivero (70% turba comercial + 30% fibra de coco), más rico en nutrientes, y un sustrato

experimental con un menor contenido en nutrientes (1:1:1 vermiculita: turba rubia: arena de sílice). Se ensaya con dos HMAs: un inóculo experimental de eficacia reconocida en diferentes cultivos (*Glomus mosseae* aislado y multiplicado por el ICIA, 1 espora/g y 65 % de colonización) y un inóculo comercial compuesto por diferentes especies del género *Glomus* (*Glomus spp.*) y proporcionado por la empresa BIOERA de Tarragona.



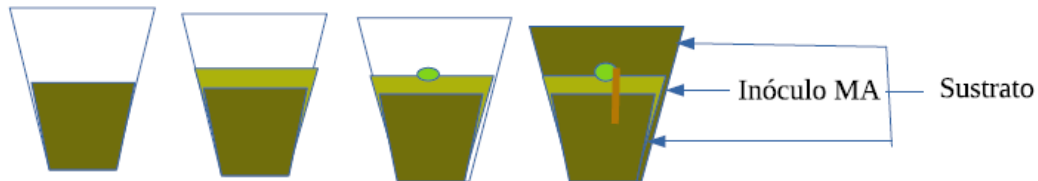
Foto 2. Siembra de portainjertos con aporte de inóculo



Foto 3. Detalle de siembra semilla portainjertos

La siembra se lleva a cabo en bandeja multipot de 113 alveolos (140 cc por alveolo) y la dosis de inóculo es de 10 cc por alveolo. Cada bandeja se divide en dos partes con los diferentes sustratos, con lo que tendríamos unas 56 plantas por tesis.

Figura 1. Esquema de micorrización en fase de germinación de semilla



Tenemos, por tanto, seis tesis o tratamientos para cada patrón (CC, FA5 y CM):

- Sustrato comercial + *Glomus spp.* (comercial)
- Sustrato experimental + *Glomus spp.* (comercial)
- Sustrato comercial + *G. mosseae* (ICIA)
- Sustrato experimental + *G. mosseae* (ICIA)
- Sustrato comercial + Control
- Sustrato experimental + Control



Foto 4. Fase de nascencia de citrango Carrizo

Una vez germinada la semilla y emergida la planta, se llevan a cabo valoraciones visuales del desarrollo de las plantas una vez al mes. Las valoraciones se hacen en consenso con el técnico encargado del vivero, Guillermo Bellés.



Foto 5. Plántulas de los porta-injertos

En este primer paso, nos encontramos con un fallo de germinación en las semillas de CC y FA5 en las seis tesis. En el caso de CC, con un 75 % de fallos, procedemos al repicado de plántulas, si bien, no se puede completar el número de alveolos en ninguna de las tesis. Es más, en el caso del control con el sustrato experimental solo quedan tres plantas. Esta circunstancia, unido a que no se marcaron las plántulas repicadas, supone que perdemos para esta variedad la igualdad de condiciones necesaria para poder comparar las diferentes tesis. FA5 no se repica porque a pesar de que también hay un porcentaje muy alto de fallo (en torno al 50 %) se considera que, sin necesidad de repicar, hay planta suficiente para continuar el ensayo. *Citrus macrophylla* (CM) germina sin problemas.

Las plantas resultantes de los 3 portainjertos (x 6 tesis) se trasplantan a los 4 meses de la siembra en macetas de 15 cm de diámetro, continuando la diferenciación de sustratos: macetas con sustrato comercial y macetas con sustrato experimental.

Previo al trasplante, se lleva a cabo una evaluación analítica de las diferentes tesis en *C. macrophylla* y FA5. En esta primera evaluación nos vemos obligados a descartar citrange Carrizo al no haber diferenciado entre plantas repicadas y plantas “originales” por lo que resulta imposible comparar las diferentes tesis. Los parámetros que se evalúan son: longitud de la parte aérea, porcentaje de colonización, peso fresco de la parte aérea y radical, peso seco de la parte aérea y contenidos en NPK de la parte aérea.

Los tratamientos fitosanitarios en vivero han quedado limitados a los necesarios contra plagas (ácaros, pulgón, minador y cochinilla acanalada, principalmente) no habiendo sido preciso ningún tratamiento fungicida.

Por lo que respecta al riego y fertilización, en todo momento las plantas se han regado a demanda y a partir del tercer mes en maceta se aplica en el agua de riego un complejo 2:1:1 en riegos alternos, aplicando la mitad de la dosis comercial de NPK.



Foto 6. Plantas micorrizadas y control de *Citrus macrophylla* trasplantadas a maceta

Alcanzado el desarrollo necesario para injertar las plantas, se toma muestra de las raíces en *C. macrophylla* y FA5 para determinar el porcentaje de colonización y pesaje de plantas, si bien, solo se pueden tomar plantas para su pesaje en el caso de CM ya que no se cuenta con suficientes plantas de FA5; CC ya quedó descartado en el anterior levante.



Foto 7. 2º levante sustrato vivero (pre-injerto) *Citrus macrophylla*. De izda. a dcha.: Control, *G. mosseae*, *Glomus* spp.



Foto 8. Pesaje parte aérea (segundo levante)



Foto 9. Pesaje parte radical *Citrus macrophylla* (segundo levante).

Una vez las plantas han alcanzado el desarrollo suficiente para llevarlas a campo, se observa que los plántones de FA5, además de presentar una gran desigualdad, en varias de las tesis no se tiene el mínimo de plántones para poder hacer un estudio en campo. Se toman muestras de raíces de CM en los 6 tratamientos para analizar los porcentajes de colonización.

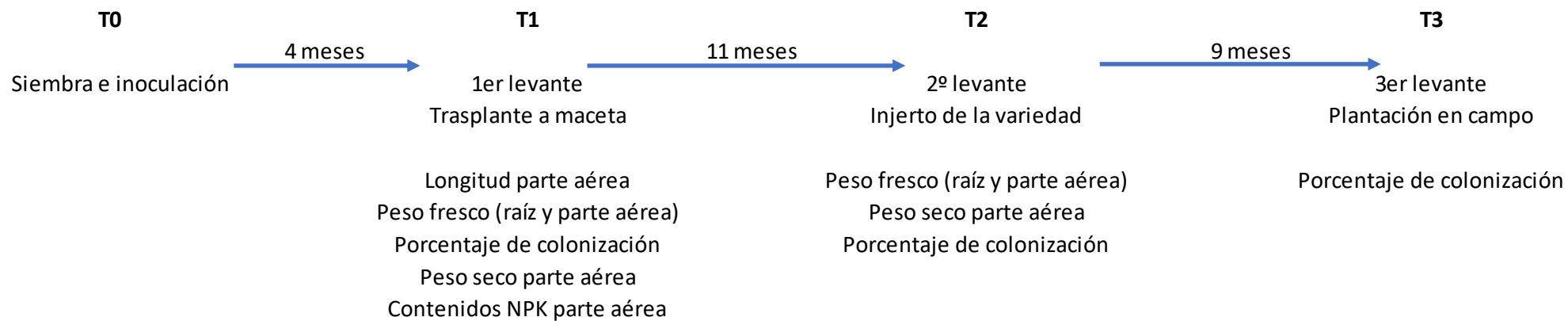


Figura 2. Esquema de micorrización en fase de germinación de semilla

5. RESULTADOS

5.1. Valoraciones visuales

Las valoraciones visuales se hacen en consenso con el técnico encargado del vivero, Guillermo Bellés, una vez al mes. En las diferentes evaluaciones se repite la siguiente valoración:

Citrus macrophylla (CM)

- *G. mosseae*: las plántulas presentan visiblemente mayor desarrollo en el sustrato experimental que en el sustrato vivero.
- *Glomus spp.*: se aprecia visiblemente un mayor desarrollo en el sustrato experimental que en el sustrato vivero.
- Control: se aprecia ligeramente un mayor desarrollo en el sustrato experimental que en el sustrato vivero.
- En el caso del sustrato experimental, *Glomus spp.* presenta similar desarrollo a *G. mosseae* y ambas visiblemente mayor desarrollo que el control.
- En el caso del sustrato vivero, ambas micorrizas presentan visiblemente mayor desarrollo que el control y similar desarrollo entre los diferentes inóculos.

Forner Alcaide 5 (FA5)

- En general, la planta obtenida presenta un desarrollo muy desigual.
- *G. mosseae*: visiblemente mayor desarrollo en el sustrato experimental que en el sustrato vivero.
- *Glomus spp.*: las plantas del sustrato experimental presentan, de forma ligera, un verde más intenso que las del sustrato vivero. El desarrollo es similar en ambas tesis.
- Control: las plantas tienen visiblemente mejor color en el sustrato experimental que en el sustrato vivero. Desarrollo, similar

- En sustrato experimental, *G. mosseae* presenta visiblemente mayor desarrollo que *Glomus spp.* y control. *Glomus spp.* similar al control.
- En sustrato vivero, *G. mosseae*, *Glomus spp.* y control aparecen con un desarrollo similar.

C. Carrizo (CC)

Evaluación realizada a pesar de la ya comentada falta de igualdad de condiciones.

- *G. mosseae*: de forma ligera, mayor desarrollo y color en sustrato experimental
- *Glomus spp.*: mejor color y algo más tamaño en sustrato experimental que en sustrato vivero.
- Control: mejor color en sustrato experimental que en sustrato vivero.
- En sustrato experimental: *G. mosseae* presenta similar desarrollo a *Glomus spp.* y ambos ligeramente más desarrollado que control.
- En sustrato vivero similar los tres tratamientos (control, *Glomus spp.* y *G. mosseae*)

5.2. Valoración analítica

5.2.1. Primer levante, antes del trasplante

Por lo que respecta a los resultados analíticos en el primer levante, antes del trasplante a maceta, citrange Carrizo queda descartado; al no haber diferenciado entre plantas repicadas y plantas “originales” en el repicado de los fallos, resulta imposible comparar las diferentes tesis. A continuación, se analizan los resultados obtenidos en los otros dos patrones, *Citrus macrophylla* y Forner Alcaide N° 5.

Citrus macrophylla (CM)

Como se puede ver en la Tabla 2, en general, se dio una correspondencia entre la longitud de la parte aérea, el peso seco de la parte aérea y el peso fresco, tanto de raíz como de la parte aérea. No obstante, llama la atención la excepción en esta correspondencia del inóculo comercial, *Glomus spp.*, en sustrato experimental, con el 2º valor más alto de longitud y el último obtenido en el peso

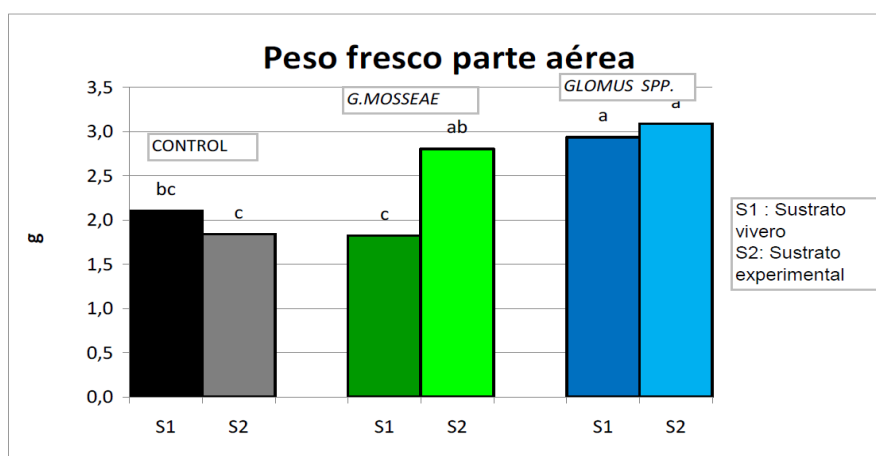
fresco de la raíz. El menor contenido en nutrientes del sustrato experimental junto con la mayor capacidad de colonización del inóculo comercial (Tabla 3) puede estar detrás de esta excepción: una mayor red de hifas del inóculo aumenta la capacidad de absorción de nutrientes y agua, pero no supone un incremento de la masa radicular.

Tratamientos	Long aérea (cm)	PFA (g)	PFR (g)	PSA (g)
Macrophyla sv control	18,1 c	2,1 bc	0,62 c	0,45 b
Macrophyla sv <i>G. spp</i>	21,8 b	2,9 a	0,90 ab	0,72 a
Macrophyla sv <i>G. mosseae</i>	17,9 c	1,8 c	0,70 bc	0,43 b
Macrophyla sexp control	19,9 bc	1,8 c	0,67 bc	0,50 b
Macrophyla sexp <i>G. spp</i>	25,9 a	3,1 a	0,61 c	0,81 a
Macrophyla sexp <i>G.mosseae</i>	27 a	2,8 ab	1,03 a	0,85 a
<i>n</i>	8	8	8	8
<i>p</i>	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabla 2. Efecto de la interacción de 2 inóculos micorrícicos (comercial: *Glomus spp.* y experimental: *Glomus mosseae*) y dos sustratos (vivero y experimental) sobre el desarrollo de plántulas de cítricos de CM. 4 meses después de la inoculación.

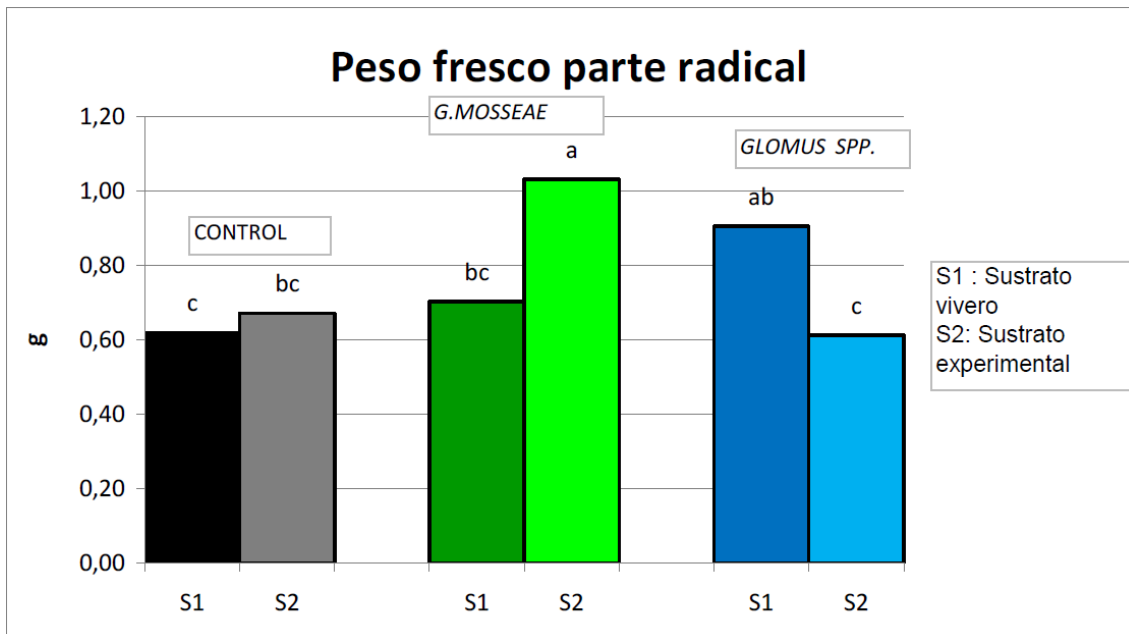
PFA: Peso fresco parte aérea. PFR: Peso fresco parte radicular. PSA: Peso seco parte aérea; sv: sustrato vivero; sexp: sustrato experimental

Por lo que respecta al peso fresco de la parte aérea (PFA), en el sustrato vivero, el inóculo micorrícico comercial (*Glomus spp.*), presenta unos valores significativamente mayores respecto al control y al inóculo experimental (*G. mosseae*). En el sustrato experimental, en cambio, los dos inóculos micorrícicos, experimental y comercial, marcan una clara diferencia positiva frente al control.

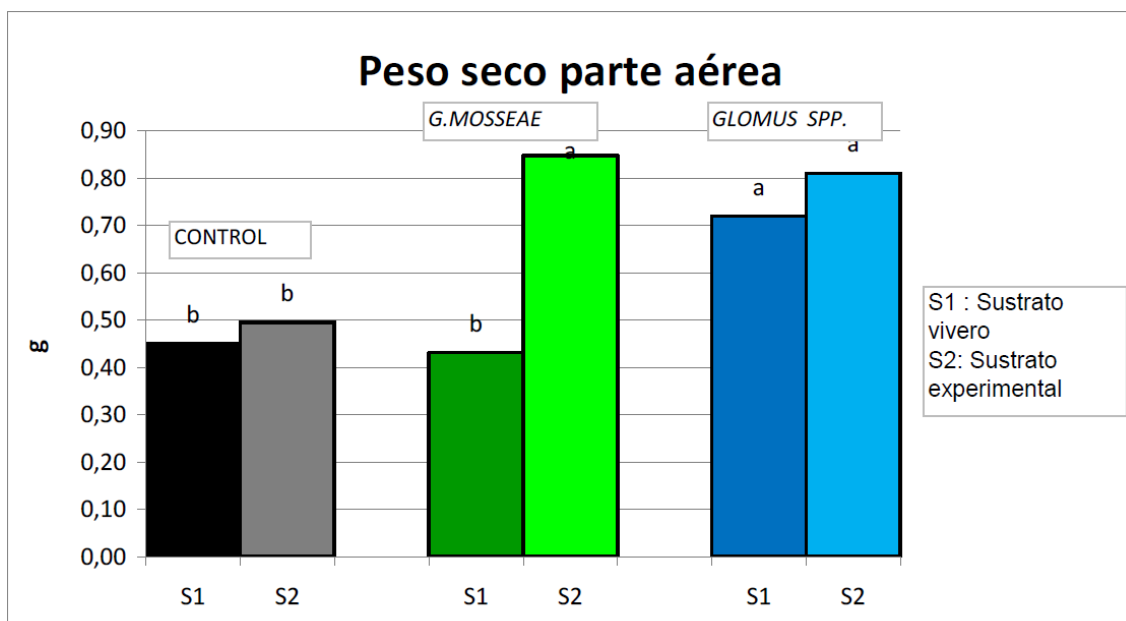


Gráfica 1. Efecto de dos inóculos micorrícicos (comercial: *Glomus spp.* y experimental: *Glomus mosseae*) y dos sustratos (vivero y experimental) sobre el peso fresco de la parte aérea en plántulas de *Citrus macrophylla*. 4 meses después de la inoculación.

Según estos resultados, podríamos decir que el inóculo experimental no fue efectivo en sustratos ricos (sustrato vivero), mientras que el inóculo comercial provocó efectos positivos en ambos sustratos.



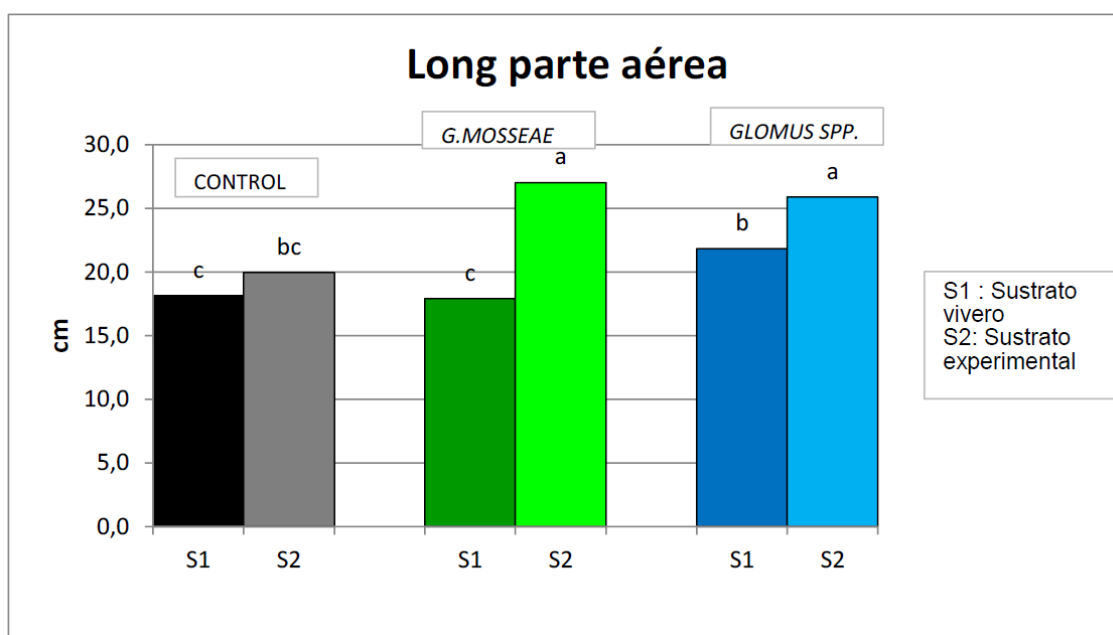
Gráfica 2. Efecto de dos inóculos micorrícicos (comercial: *Glomus spp.* y experimental: *Glomus mosseae*) y dos sustratos (vivero y experimental) sobre el peso fresco de la parte radical en plántulas de *Citrus macrophylla*. 4 meses después de la inoculación.



Gráfica 3. Efecto de dos inóculos micorrícicos (comercial: *Glomus spp.* y experimental: *Glomus mosseae*) y dos sustratos (vivero y experimental) sobre el peso seco de la parte aérea en plántulas de *Citrus macrophylla*. 4 meses después de la inoculación.

En el peso fresco de la parte radical, lo más destacable son los mayores valores obtenidos con *G. mosseae* en el sustrato experimental, más pobre en nutrientes. En cambio, el inóculo comercial, *Glomus spp.*, se comportó mejor en el sustrato vivero

Las mayores longitudes de la parte aérea, con diferencias significativas, se dieron en sustrato experimental y planta micorrizada, con ambos inóculos igualados, seguidos por *Glomus spp.* en sustrato vivero. *G. mosseae* en sustrato vivero tuvo longitudes igualadas a los controles (gráfica 4). Una vez más, *G. mosseae* resultó ineficaz en el sustrato con mayor contenido en nutrientes (sustrato vivero), donde *Glomus spp.* resultó más eficiente que *G. mosseae* (gráfica 4).

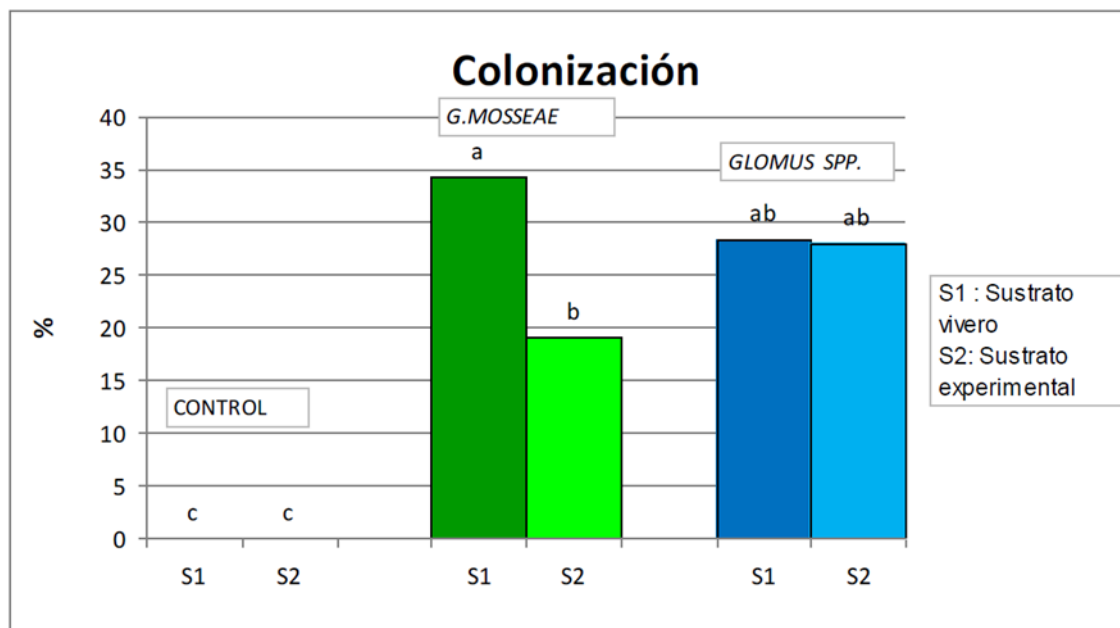


Gráfica 4. Efecto de dos inóculos micorrícicos (comercial: *Glomus spp.* y experimental: *Glomus mosseae*) y dos sustratos (vivero y experimental) sobre la longitud de la parte aérea en plántulas de *Citrus macrophylla*. 4 meses después de la inoculación.

En lo que se refiere a los porcentajes de colonización, si lo comparamos con los resultados obtenidos en la longitud de la parte aérea, se comprueba que no se dio una correspondencia entre ambos parámetros (Tabla 3).

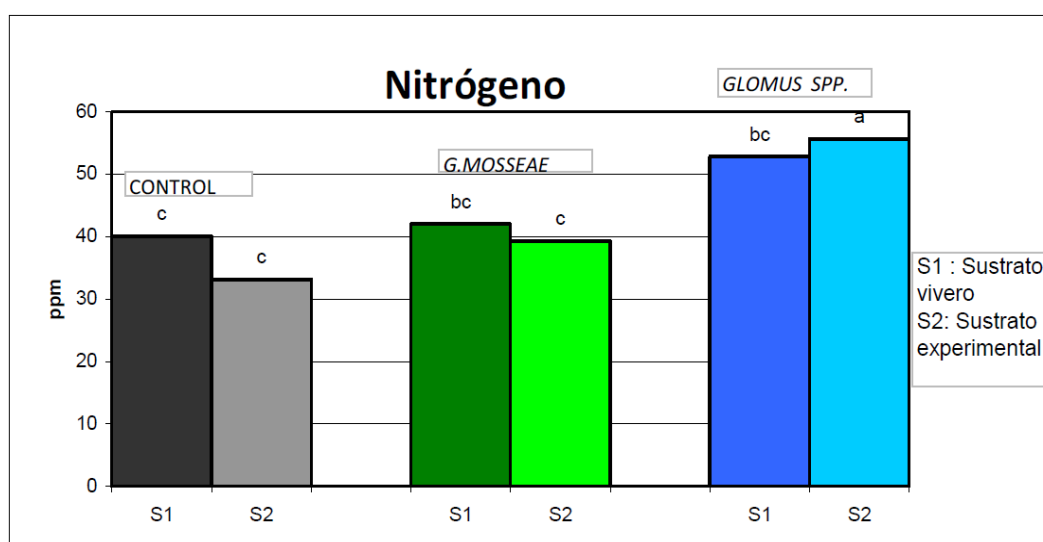
Tratamientos	Colonización (%)	N (ppm)	P (ppm)	K (ppm)
Macrophyla sv control	0 c	40,02 c	6,53 a	65,29 bc
Macrophyla sv <i>G. spp</i>	28,3 ab	52,81 ab	7,92 a	88,01 a
Macrophyla sv <i>G. mosseae</i>	34,2 a	42 bc	3,65 b	65,75 bc
Macrophyla sexp control	0 c	33,12 c	4,05 b	44,16 d
Macrophyla sexp <i>G. spp</i>	28 ab	55,60 a	6,80 a	67,95 b
Macrophyla sexp <i>G.mosseae</i>	19 b	39,25 c	6,73 a	47,66 cd
<i>n</i>	8	8	8	8
<i>p</i>	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabla 3. Efecto de dos inóculos micorrícicos (comercial: *Glomus spp.* y experimental: *Glomus mosseae*) y dos sustratos (vivero y experimental) sobre el porcentaje de colonización (%) y contenido en nutrientes en plántulas de *Citrus macrophylla*. 4 meses después de la inoculación.



Gráfica 5. Porcentaje de inoculación de dos inóculos micorrícicos (comercial: *Glomus spp.* y experimental: *Glomus mosseae*) en dos sustratos (vivero y experimental) en plántulas de *Citrus macrophylla*. 4 meses después de la inoculación.

Los mayores porcentajes de colonización se dieron en las plantas micorrizadas con *G. mosseae* en el sustrato de vivero (34%), tratamiento en el que se dieron los valores más bajos en los parámetros de LPA, PFA, PFR y PSA. Por el contrario, los valores más bajos de colonización (*G. mosseae* en sustrato experimental con un 19%) se correspondieron con los valores más altos de los parámetros mencionados. Es decir, que el inóculo experimental *G. mosseae* se comportó poco infectivo pero muy efectivo con el sustrato más “pobre” y muy infectivo pero poco efectivo en el sustrato vivero. *Glomus spp.*, inóculo comercial, se mostró también con alta capacidad infectiva relativa (28%) y una buena eficacia en ambos sustratos (gráficas 1, 2, 3, 4 y 5).

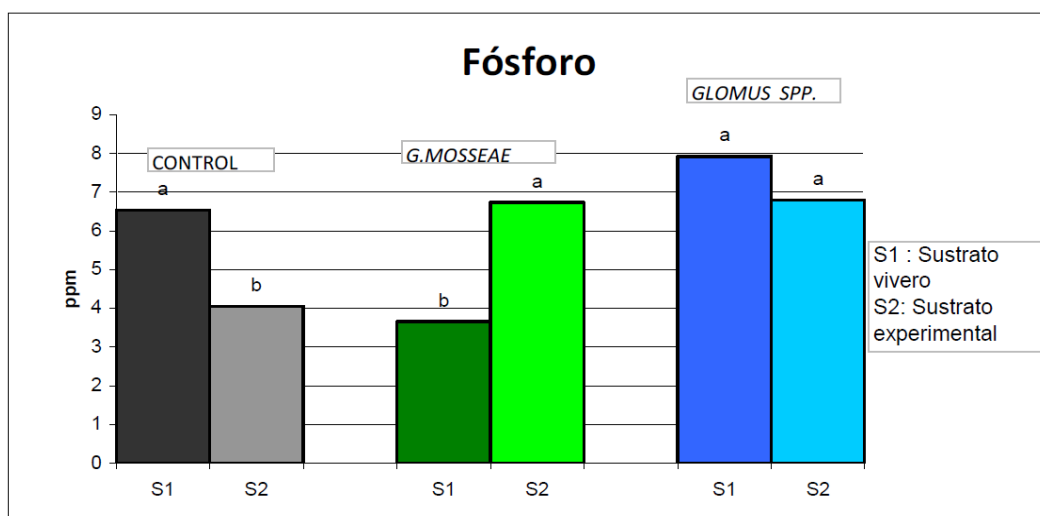


Gráfica 6. Contenido en N de la parte aérea en plántulas de cítricos de *Citrus macrophylla* micorrizadas con dos inóculos micorrícicos (comercial: *Glomus spp.* y experimental: *Glomus mosseae*) en dos sustratos (vivero y experimental). 4 meses después de la inoculación.

Por lo que se refiere a los contenidos en N, tan solo se dio un aumento significativo en las plantas micorrizadas con *Glomus spp.* en sustrato experimental. En cualquier caso, se obtiene también una tendencia aumentativa de las plantas micorrizadas respecto al control en ambos sustratos; las diferencias entre sustratos solo fueron significativas en el tratamiento con *Glomus spp.* a favor del sustrato experimental (gráfica 6).

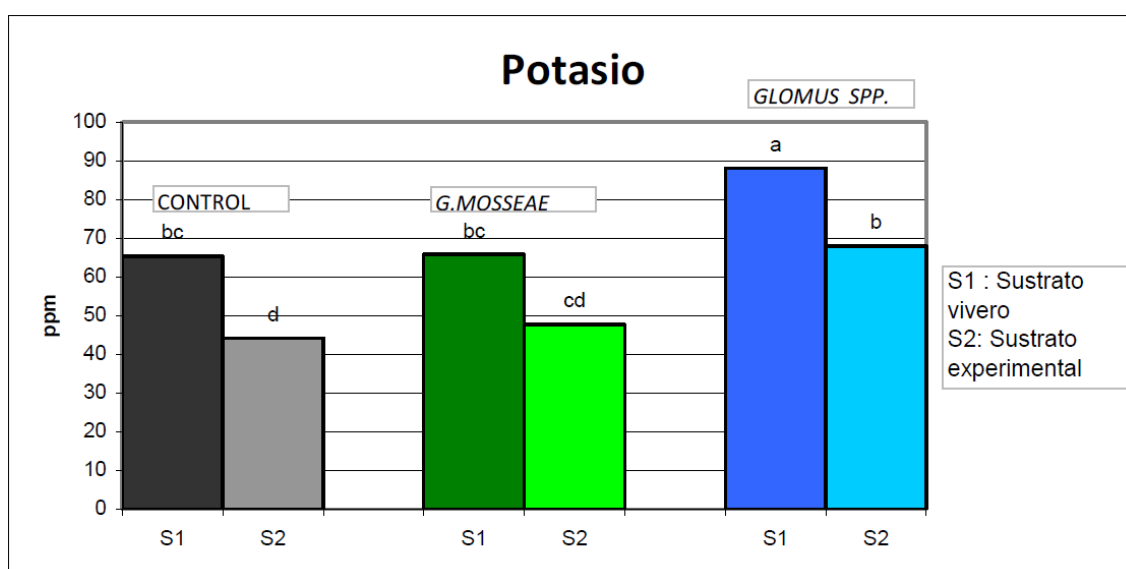
En el contenido de fósforo (P), en las plantas con sustrato experimental, hay una clara diferencia del control con respecto al mayor contenido en las plantas micorrizadas por ambos inóculos. Sin embargo, en el sustrato vivero, los mayores contenidos de P se dan con *Glomus* spp y en el control, mientras que *G. mosseae* vuelve a tener un efecto negativo.

Sobre la comparativa de sustratos en el contenido en fósforo (P) de las plántulas, lo más destacable sería el comportamiento neutro de *Glomus spp.* o incluso desfavorable de *G. mosseae* en el sustrato vivero. En cambio, en el sustrato experimental, ambos inóculos se mostraron eficaces respecto al control (gráfica 7). El inóculo comercial, *Glomus spp.* se mostró más eficaz que *G. mosseae* en el sustrato vivero, pero sin diferencias respecto al sustrato experimental.



Gráfica 7 Contenido en P de la parte aérea en plántulas de cítricos de *Citrus macrophylla* micorrizadas con dos inóculos micorrícicos (comercial: *Glomus spp.* y experimental: *Glomus mosseae*) en dos sustratos (vivero y experimental). 4 meses después de la inoculación.

Y para finalizar con *Citrus macrophylla*, en el contenido de K, la diferencia más importante, tanto en el sustrato vivero como en el experimental, se refiere al mayor contenido en potasio en las plantas inoculadas con *Glomus spp.* respecto al control y *G. mosseae*; estos dos últimos tratamientos estuvieron muy igualados tanto en sustrato vivero como experimental. En base a estos resultados, respecto al contenido en K, se podría concluir que el inóculo comercial, *Glomus spp.*, fue el tratamiento más efectivo en ambos sustratos.



Gráfica 8 Contenido en K de la parte aérea en plántulas de *Citrus macrophylla* micorrizadas con dos inóculos micorrícicos (comercial: *Glomus spp.* y experimental: *Glomus mosseae*) en dos sustratos (vivero y experimental). 4 meses después de la inoculación.

Forner Alcaide Nº 5 (FA5)

Cuatro meses después de la siembra, previo al trasplante a maceta, se lleva a cabo la valoración analítica también en FA5.

En un primer grupo de parámetros (Tabla 4), los resultados obtenidos para la longitud de la parte aérea tienen una correspondencia directa con los pesos frescos de parte aérea y raíz y el peso seco de la parte aérea. En estos parámetros, la única diferencia importante entre tratamientos es la de *Glomus mosseae* en sustrato experimental, donde se obtienen valores mucho más altos que en el resto de los tratamientos. Asimismo, es reseñable los mejores resultados obtenidos para todos los parámetros y en todas las tesis con el

sustrato experimental; también se podría destacar el gradiente aumentativo según las secuencias:

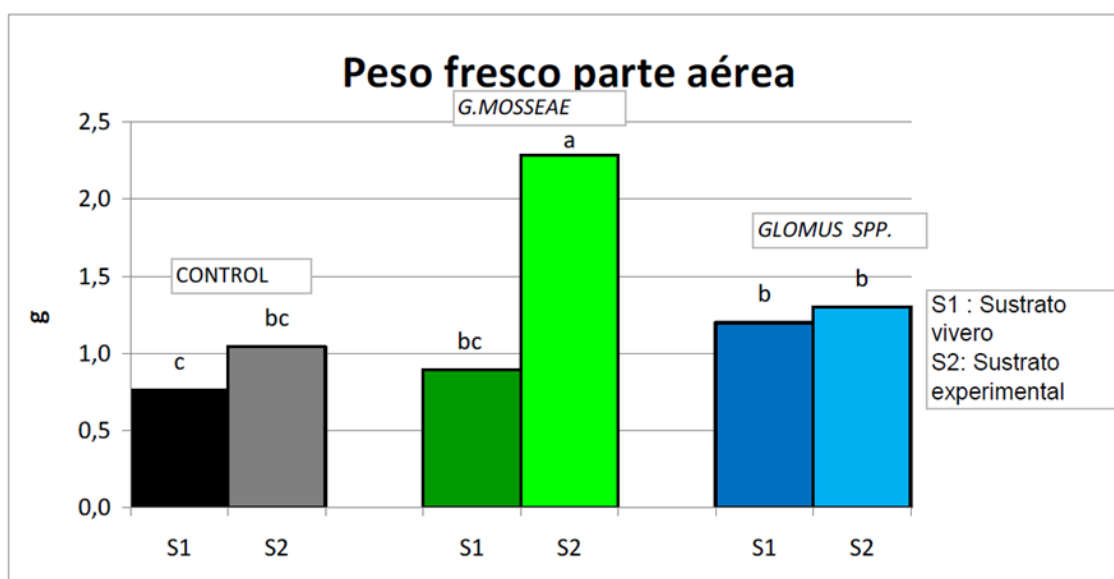
- Control, *G. mosseae* y *Glomus spp.* para el sustrato vivero
- Control, *Glomus spp.* y *Glomus mosseae* para el sustrato experimental.

Tratamientos	Long aérea (cm)	PFA (g)	PFR (g)	PSA (g)
Fa5 sv control	11,3 c	0,8 c	0,36 d	0,219 d
Fa5 sv <i>G. spp</i>	14,1 bc	1,2 b	0,60 bc	0,310 bcd
Fa5 sv <i>G. mosseae</i>	12,9 bc	0,9 bc	0,40 cd	0,258 cd
Fa5 sexp control	14,1 bc	1,0 bc	0,62 b	0,360 bc
Fa5 sexp <i>G. spp</i>	14,9 b	1,3 b	0,68 b	0,400 b
Fa5 sexp <i>G. mosseae</i>	21,1 a	2,3 a	0,90 a	0,679 a
<i>n</i>	8	8	8	8
<i>p</i>	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabla 4. Efecto de la interacción de 2 inóculos micorrícicos (comercial: *Glomus spp.* y experimental: *Glomus mosseae*) y dos sustratos (vivero y experimental) sobre el desarrollo en plántulas de cítricos de Forner Alcaide N° 5, 4 meses después de la inoculación.

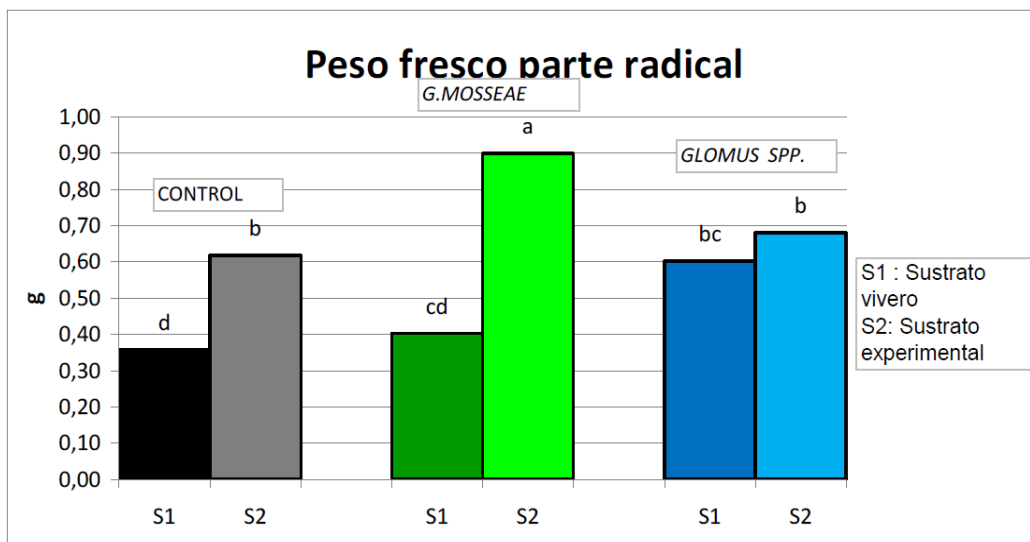
PFA: Peso fresco parte aérea. PFR: Peso fresco parte radicular. PSA: Peso seco parte aérea; sv: sustrato vivero; sexp: sustrato experimental

Efectivamente, para FA5, en cada uno de los parámetros de este primer grupo, se repite el mismo resultado: el inóculo experimental, *Glomus mosseae*, se muestra muy efectivo en el sustrato experimental, con diferencias significativas respecto al resto de tratamientos (gráficas 9, 10, 11 y 12).



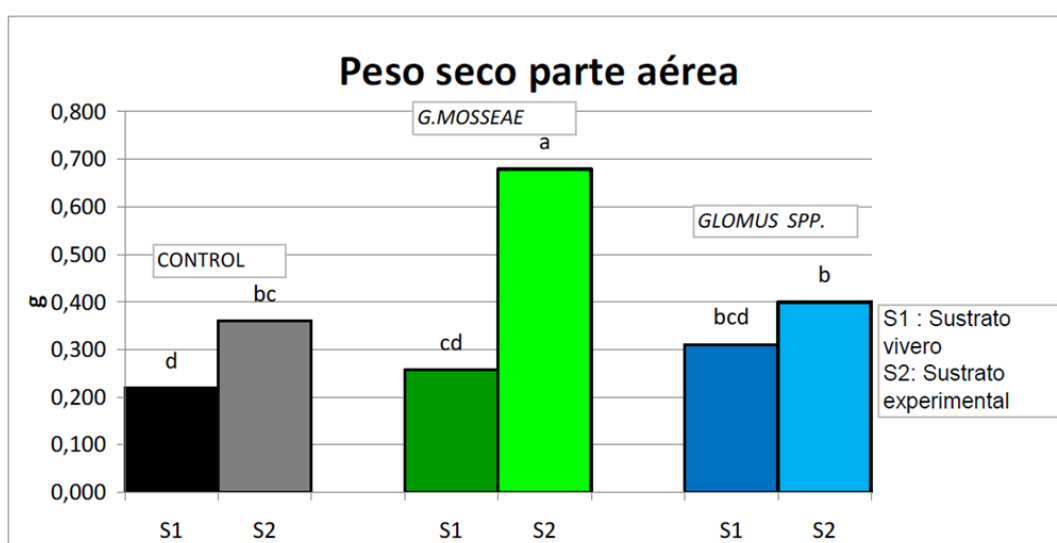
Gráfica 9. Efecto de dos inóculos micorrícicos (comercial: *Glomus spp.* y experimental: *Glomus mosseae*) y dos sustratos (vivero y experimental) sobre el peso fresco de la parte aérea en plántulas del patrón FA5. Cuatro meses después de la inoculación.

Por lo que se refiere al peso fresco, tanto de la parte aérea (PFA) como de la parte radical (PFR), se podría señalar que, en el sustrato vivero, las plántulas se vieron favorecidas por *Glomus spp.* respecto a *G. mosseae* y el control (gráficas 9 y 10).

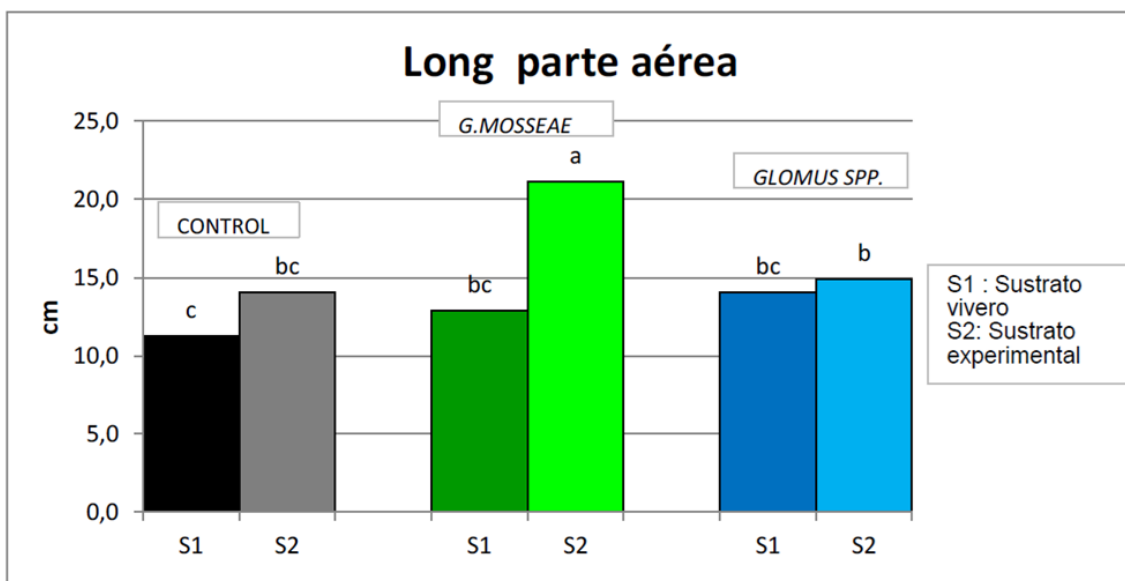


Gráfica 10. Efecto de dos inóculos micorrícicos (comercial: *Glomus spp.* y experimental: *Glomus mosseae*) y dos sustratos (vivero y experimental) sobre el peso fresco de la parte radical en plántulas del patrón FA5. Cuatro meses después de la inoculación.

En cambio, también en el sustrato vivero, no hubo diferencias significativas entre los dos inóculos ni el control sobre el peso seco de la parte aérea (PSA) y la longitud de la parte aérea (LPA) (gráficas 11 y 12).



Gráfica 11. Efecto de dos inóculos micorrícicos (comercial: *Glomus spp.* y experimental: *Glomus mosseae*) y dos sustratos (vivero y experimental) sobre el peso seco de la parte aérea en plántulas del patrón FA5. Cuatro meses después de la inoculación.



Gráfica 12. Efecto de dos inóculos micorrícicos (comercial: *Glomus spp.* y experimental: *Glomus mosseae*) y dos sustratos (vivero y experimental) sobre la longitud de la parte aérea en plántulas del patrón FA5. Cuatro meses después de la inoculación.

En cuanto al porcentaje de colonización en FA5, *Glomus mosseae*, en el sustrato experimental, se muestra mucho menos infectivo que el inóculo comercial, *Glomus spp.*, pero más efectivo al conseguir mayores contenidos de N, P y K (Tabla 5 y gráficas 13, 14 y 15); recordemos que también con este tratamiento se obtuvieron mejores resultados en la longitud de la parte aérea, peso fresco y peso seco obtenidos sobre las plántulas de FA5 (gráficas 9, 10, 11 y 12).

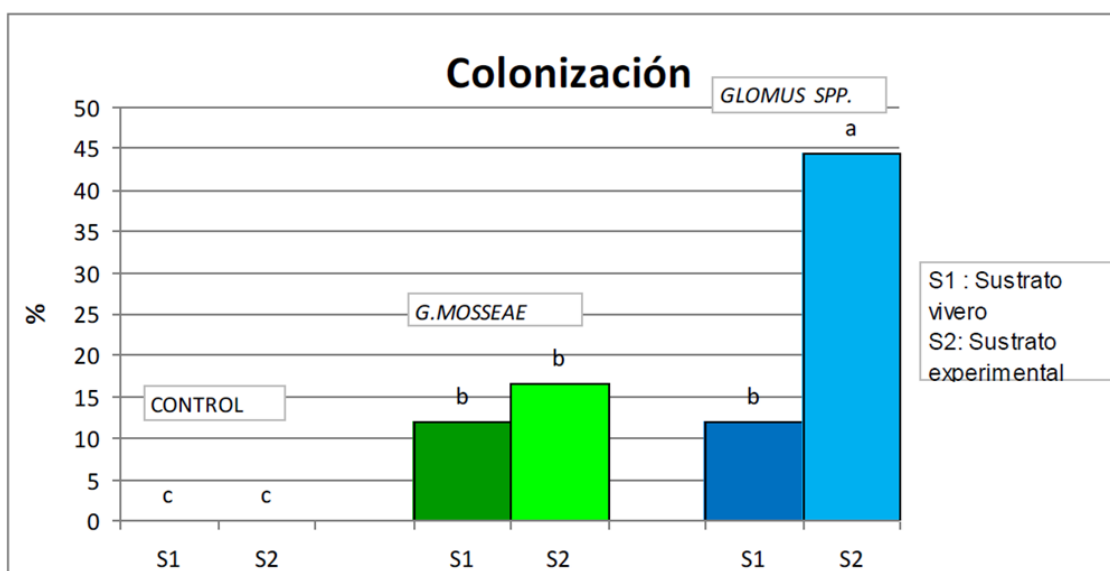
Lo contrario sucede con el inóculo comercial, *Glomus spp.*, es decir, se muestra muy infectivo sobre FA5 en sustrato experimental, pero nada efectivo en la mayoría de parámetros tomados.

Tratamientos	Colonización (%)	N (ppm)	P(ppm)	K (ppm)
Fa5 sv control	0 c	16,75 c	1,47 c	26,64 b
Fa5 sv G. spp	12 b	33,53 b	2,63 b	35,93 a
Fa5 sv G. mosseae	12 b	16,96 c	1,96 bc	24,99 bc
Fa5 sexp control	0 c	25,02 bc	1,46 c	15,64 d
Fa5 sexp G. spp	44,4 a	31,17 b	2,34 b	16,88 cd
Fa5 sexp G. mosseae	16,5 b	47,88 a	4,56 a	31,92 ab
<i>n</i>	8	8	8	8
<i>p</i>	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabla 5. Efecto de dos inóculos micorrícicos (comercial: *Glomus spp.* y experimental: *Glomus mosseae*) y dos sustratos (vivero y experimental) sobre el porcentaje de colonización (%) y contenido en nutrientes en plántulas de Forner Alcaide N° 5. 4 meses después de la inoculación.

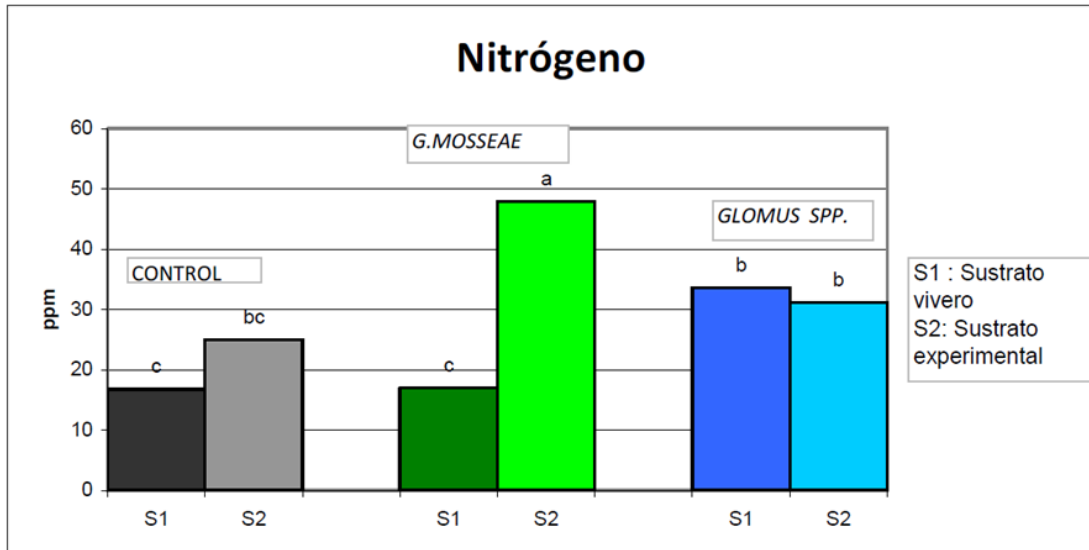
En sustrato vivero, cambian totalmente estos resultados, ya que tanto *G. mosseae* como *Glomus spp.* tienen poca capacidad de infección, pero el único que muestra cierta eficacia es *Glomus spp.*, el inóculo comercial.

En cualquier caso, se podría destacar la facilidad de colonización de *Glomus spp.* en sustrato experimental, ya que triplica al resto de tratamientos con micorrizas (44% frente al 17, 12 y 12%) (gráfica 13). Según estos resultados, se trataría, pues, de un inóculo no deseable en sustratos pobres ya que siendo muy infectivo resulta muy poco efectivo (gráficas 14, 15 y 16). En cambio, este mismo inóculo, con bajos niveles de colonización, fue el único que se mostró eficiente en el sustrato comercial (vivero).

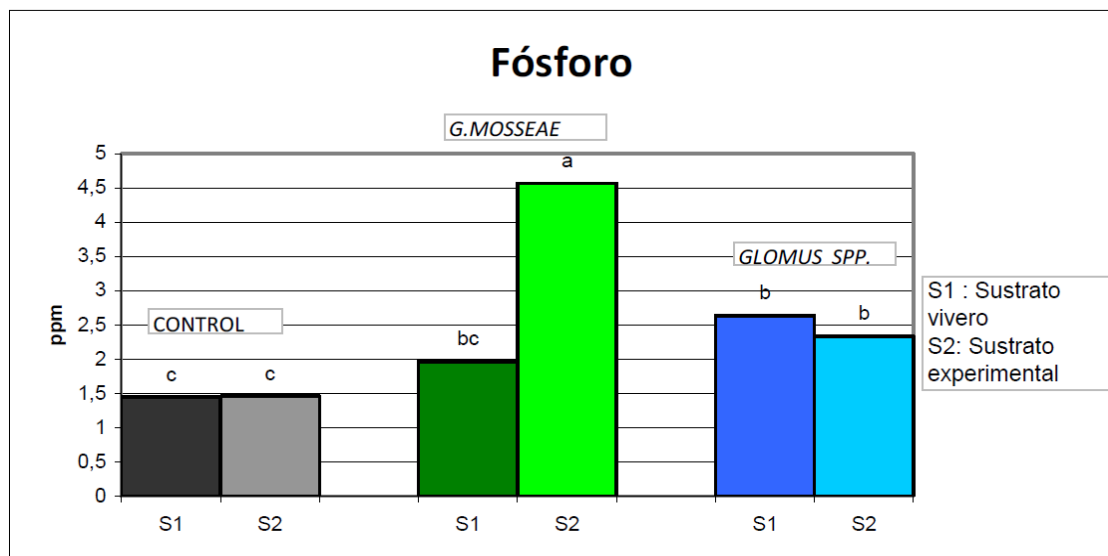


Gráfica 13. Porcentaje de inoculación de dos inóculos micorrícicos (comercial: *Glomus spp.* y experimental: *Glomus mosseae*) en dos sustratos (vivero y experimental) en plántulas del patrón Forner Alcaide N° 5. 4 meses después de la

En lo que respecta al contenido en N y P, se puede observar en las gráficas 14 y 15, la diferencia muy marcada y favorable de *G. mosseae* en sustrato experimental respecto al resto de tratamientos. Asimismo, es reseñable en estos dos parámetros, las eficacias obtenidas en las plantas micorrizadas, salvo en el tratamiento de *G. mosseae* en sustrato vivero, con un valor similar a los controles. Es decir, este inóculo no se mostró efectivo en el sustrato más rico en nutrientes.

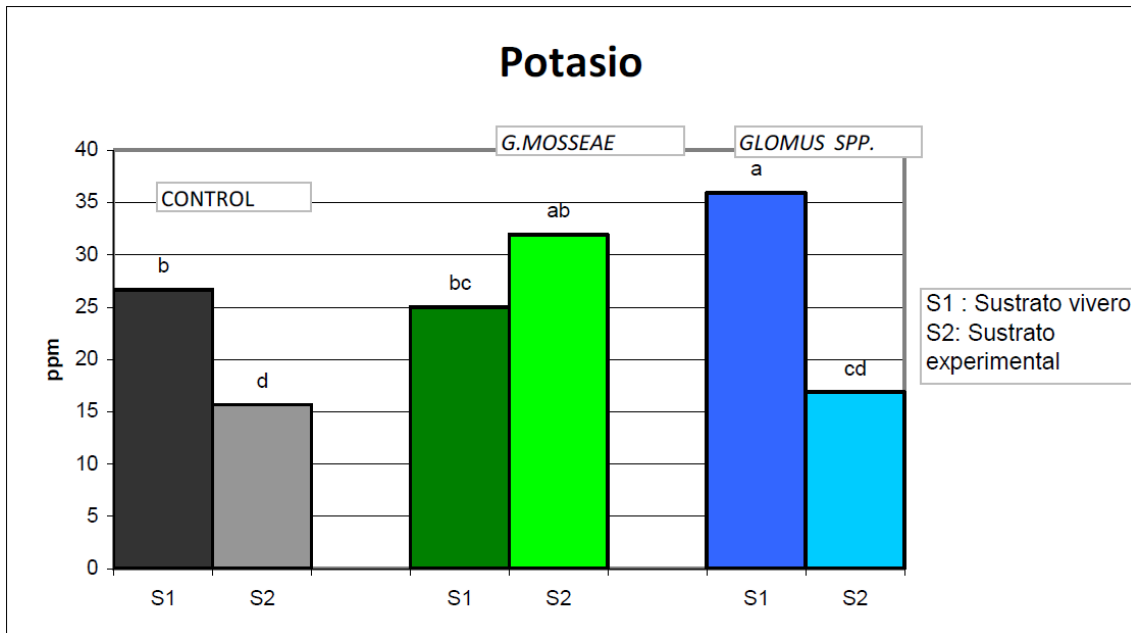


Gráfica 14. Contenido en N de la parte aérea en plántulas del patrón Forner Alcaide Nº 5 micorrizadas con dos inóculos micorrícicos (comercial: *Glomus spp.* y experimental: *Glomus mosseae*) en dos sustratos (vivero y experimental). Cuatro meses después de la inoculación.



Gráfica 15. Contenido en P de la parte aérea en plántulas del patrón Forner Alcaide Nº 5 micorrizadas con dos inóculos micorrícicos (comercial: *Glomus spp.* y experimental: *Glomus mosseae*) en dos sustratos (vivero y experimental). Cuatro meses después de la inoculación.

Sin embargo, para el contenido en K (gráfica 16), el inóculo comercial, *Glomus spp.*, se comportó eficaz solo en el sustrato vivero, más rico en nutrientes. En cambio, una vez más, *G. mosseae* solo se mostró eficaz en el sustrato con menor contenido en nutrientes, el sustrato experimental.



Gráfica 16. Contenido en K de la parte aérea en plántulas de FA5 micorrizadas con dos inóculos micorrícicos (comercial: *Glomus spp.* y experimental: *Glomus mosseae*) en dos sustratos (vivero y experimental) en plántulas del patrón Forner Alcaide N° 5. Cuatro meses después de la inoculación.

5.2.2. Segundo levante, antes del injerto

Antes de proceder al injerto se analizan las raíces de *C. macrophylla* (CM) y Forner Alcaide N° 5 (FA5). Como se comentó anteriormente, en el primer levante citrange Carrizo (CC) ya quedó descartado por un fallo en la germinación. En este segundo levante, los parámetros que se toman son el porcentaje de colonización y peso fresco de las plantas, raíces y parte aérea. Respecto al peso de plantas, solo se pudo tomar en muestras de CM ya que no se contaban con suficientes plantas de FA5 (también por un fallo de germinación).

Si comparamos la colonización entre FA5 y CM, aunque el porcentaje de colonización máximo se dio en CM con el inóculo comercial (35%) en el sustrato experimental, FA5 obtuvo valores superiores a CM en el resto de los tratamientos.

Porcentaje de colonización

TRATAMIENTO	% COLONIZACIÓN
CM sv control	0,12
CM sv gspp	7,62
CM sv mosseae	2,00
CM se control	1,12
CM se gspp	35,75
CM se mosseae	1,85
FA5 sv control	2,00
FA5 sv gspp	9,75
FA5 sv mosseae	8,00
FA5 se control	2,00
FA5 se gspp	12,87
FA5 se mosseae	20,62

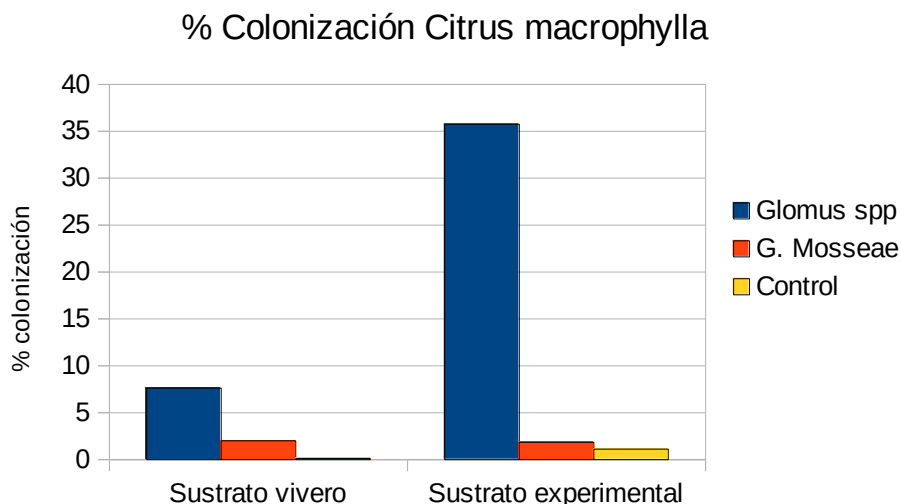
CM: *Citrus macrophylla*

FA5: Forner Alcaide N.º 5

Tabla 6. Capacidad de colonización de diferentes inóculos sobre dos patrones de cítricos en dos sustratos diferentes.

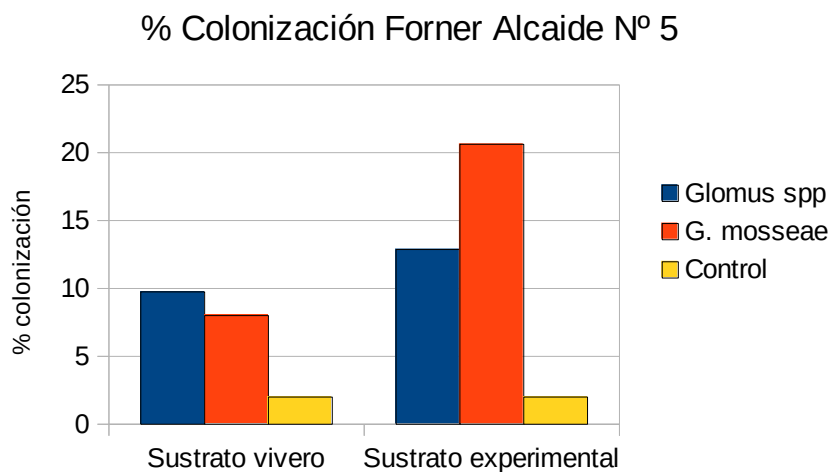
Gspp: *Glomus spp.* inóculo comercial; mosseae: *G. mosseae* inóculo experimental-ICIA; sv: sustrato vivero; se: sustrato

Del porcentaje de colonización en CM en este segundo levante, llama la atención la gran diferencia entre *Glomus spp.* en sustrato experimental respecto a los otros tratamientos (35% frente a valores en torno al 5%) (gráfica 17).



Gráfica 17. Porcentaje de colonización, previo al injerto, de dos inóculos micorrícicos en *Citrus macrophylla* en dos sustratos diferentes. *Glomus spp.*: inóculo comercial; *G. mosseae*: inóculo experimental ICIA.

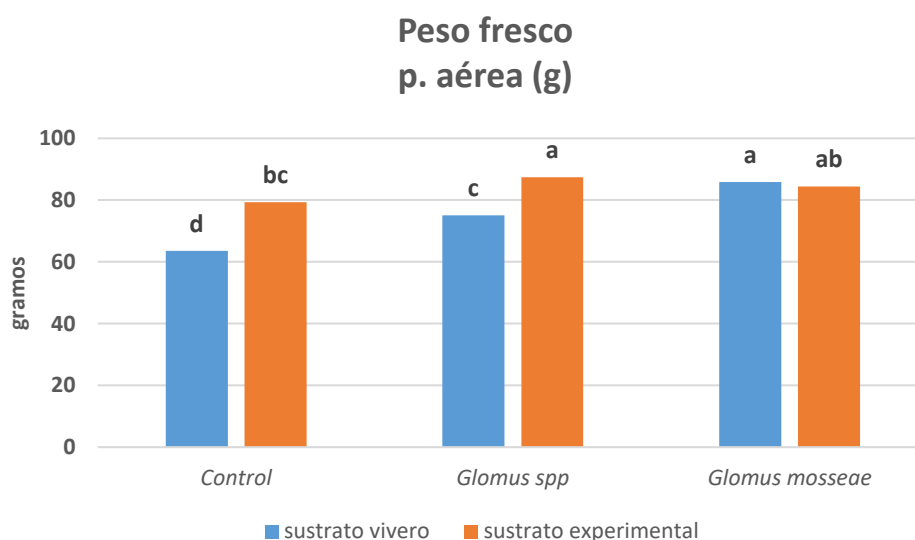
En FA5, el valor máximo obtenido (21%) se dio también en sustrato experimental, pero con *G. mosseae* (inóculo experimental), seguido por *Glomus spp.* en ese mismo sustrato. Por otra parte, se podría considerar que las colonizaciones detectadas en los controles se debieron a una posible contaminación u otros hongos micorrícicos autóctonos.



Gráfica 18. Porcentaje de colonización, previo al injerto, de dos inóculos micorrícicos en FA5 en dos sustratos diferentes. *Glomus spp.*: inóculo comercial; *G. mosseae*: inóculo experimental ICIA.

Citrus macrophylla

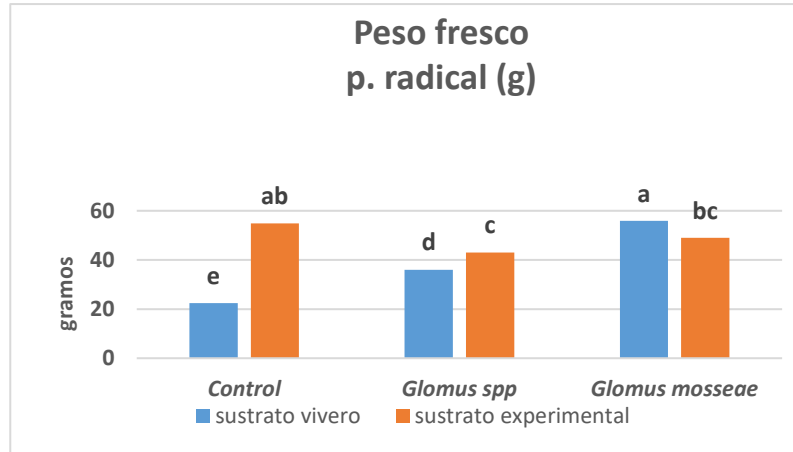
Por lo que se refiere al peso fresco de la parte aérea (gráfica 18), cabe señalar que en el sustrato vivero se dio un gradiente ascendente con diferencias significativas con el siguiente orden: control, *Glomus spp* y *G. mosseae*. Es decir, en el sustrato vivero, *G. mosseae* fue el tratamiento más efectivo. En el sustrato experimental, solo hubo diferencias significativas entre *Glomus spp*. y el control. En cuanto a los diferentes inóculos, *Glomus spp* fue más eficaz en el sustrato experimental mientras que *G. mosseae* no presentó diferencias de eficacia entre sustratos. En el control se mostró más favorable el sustrato experimental.



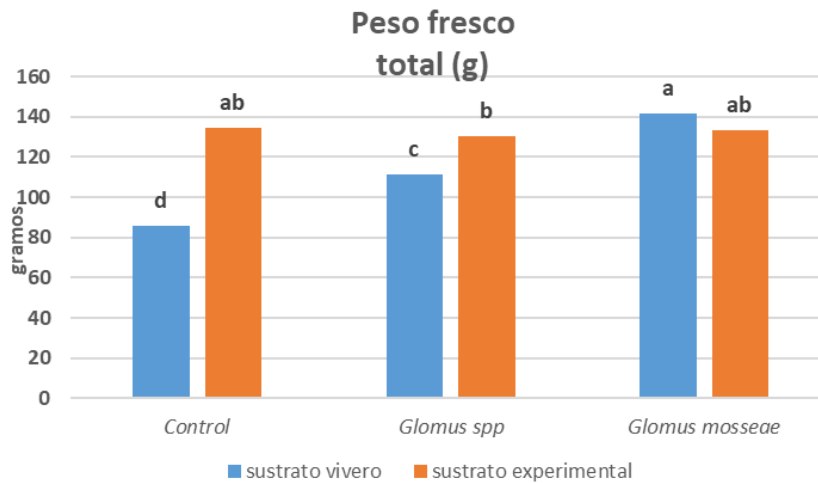
Gráfica 19. Peso fresco de la parte aérea en plantas de *Citrus macrophylla* sin micorrizar y micorrizadas con diferentes inóculos, en dos sustratos.

Respecto al peso fresco de las raíces (PFR), en el sustrato vivero se dieron diferencias significativas con el mismo gradiente ascendente que en la parte aérea, es decir: control, *Glomus spp*. y *G. mosseae* (gráfica 20); de nuevo, en el sustrato vivero, *G. mosseae* fue el más efectivo, y lo mismo sucedió con el peso fresco total (PFT) (gráfica 21). En cambio, en el sustrato experimental, la única diferencia significativa que se dio en el PFR fue entre el control y *G. mosseae*, pero a favor del control. En lo que se refiere a los inóculos, en el PFR, *G. mosseae* y el control se comportaron mejor en el sustrato experimental mientras que *Glomus spp* fue más efectivo con el sustrato vivero; también en el PFT, *Glomus spp* y el

control obtuvieron mejores resultados en el sustrato experimental, pero no hubo diferencias entre sustratos para *G. mosseae*.



Gráfica 20. Peso fresco de la parte radical en plantas de *Citrus macrophylla* sin micorrizar y micorrizadas con diferentes inóculos, en dos sustratos.

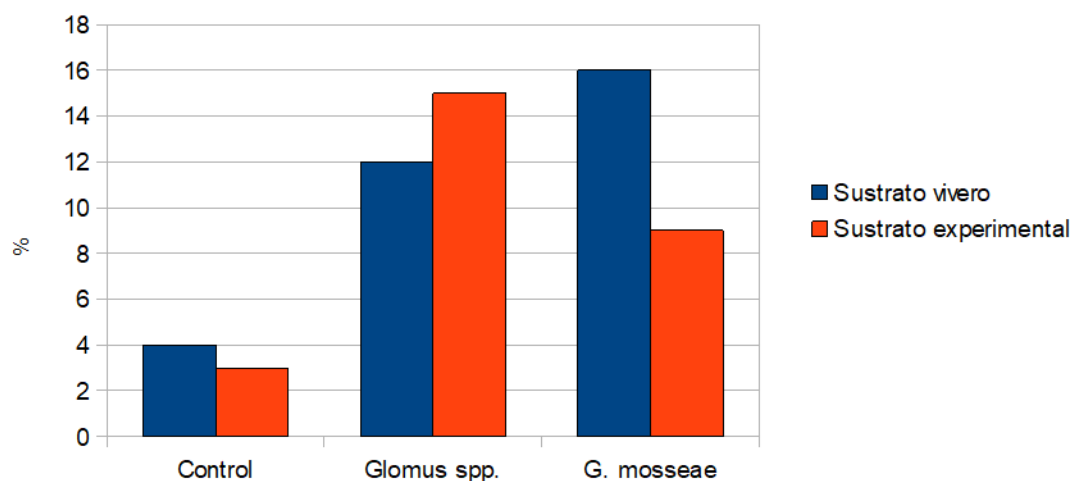


Gráfica 21. Peso fresco total en plantas de *Citrus macrophylla* sin micorrizar y micorrizadas con diferentes inóculos, en dos

5.2.3. Tercer levante

Se analizan las raíces del plantón se determina el porcentaje de colonización de las raíces. En general, se obtienen unos niveles que se pueden catalogar como medio-bajo (gráfica 22).

% Colonización en raíces de *C. macropylla* (pre-plantación)



Gráfica 22. Porcentaje de colonización, previo a la plantación, de dos inóculos micorrícicos en plantones de *Citrus macropylla* en dos sustratos diferentes. *Glomus spp.*: inóculo comercial; *G. mosseae*: inóculo experimental ICIA.

Como es lógico, se aprecian diferencias importantes entre plantas micorrizadas y control. Dentro del sustrato vivero, los mayores porcentajes se dan con *G. mosseae* (16%), mientras que, en sustrato experimental, las mejores colonizaciones se dan con *Glomus spp* (15%).

Por otra parte, cabe reseñar la falta de continuidad en los resultados obtenidos en las colonizaciones a lo largo del proceso de formación de los plantones: en pretrasplante, las mayores colonizaciones se obtuvieron con *G. mosseae* en sustrato vivero (34%), mientras que en preinjerto fue *Glomus spp.* en sustrato experimental el que obtuvo mayores colonizaciones (36%). La explicación podría estar en las diferentes respuestas de los diferentes patrones y de los hongos micorrícicos a la aplicación de abonos a partir de que se trasplantaron las plántulas a maceta.

En cualquier caso, en la evaluación visual preplantación de los plantones sí que se ha apreciado diferencias notables en el desarrollo de las plantas entre los diferentes tratamientos (fotografía 11).



Fotografía 11. Aspecto de plantones de variedad comercial sobre *C. Macrophylla*, con diferentes tratamientos de hongos micorrícicos, en dos sustratos distintos. De izda. a dcha.: sustrato experimental (control, *G. mosseae*, *Glomus spp.*) y sustrato vivero (control, *G. mosseae*, *Glomus spp.*).

Efectivamente, se han mantenido en los plantones injertados obtenidos, las diferencias ya observadas en el desarrollo de las plantas portainjertos:

- Las plantas obtenidas con ambos tratamientos de MA (ICIA-*G. Mosseae* y comercial-*Glomus spp.*) tuvieron un desarrollo vegetativo visiblemente mayor que el control en ambos sustratos.
- Los plantones obtenidos tuvieron mayor desarrollo en el sustrato experimental que en el sustrato vivero. Esta diferencia resultó mucho más patente en las tesis con MA.
- Los plantones con el tratamiento de *G. mosseae* (ICIA) presentaron un desarrollo algo mayor que el tratamiento con *Glomus spp.* (comercial).

6. CONCLUSIONES

1.- En las condiciones de los ensayos realizados, todos los patrones de cítricos estudiados presentan dependencia micorrícica, si bien en diferentes grados, lo que significa que estos patrones pueden beneficiarse durante su desarrollo de la simbiosis.

2.- En general e independientemente del tipo de inóculo empleado, el sustrato experimental (menos rico en nutrientes), se mostró más compatible con la inoculación micorrícica que el sustrato utilizado rutinariamente en el vivero.

3.- Los dos tipos de inóculos micorrícicos ensayados (*Glomus mosseae* del ICIA e Inóculo comercial de BIOERA), son capaces de incrementar significativamente el desarrollo de los plántones de cítricos con respecto a las plantas control en las tres variedades de cítricos estudiadas.

4.- En lo relativo a desarrollo y nutrición, las plantas de *Citrus macrophylla* rentabilizaron los efectos de la inoculación micorrícica mejor que Forner Alcaide N.º 5. Citrange Carrizo no se pudo estudiar por falta de germinación de la semilla.

5.- Esta biotecnología puede ser muy útil para condiciones de cultivo en las que las plantas tengan posibilidades de sufrir estreses, tanto de tipo abiótico (sequía, salinidad...) como biótico (patógenos de raíz...) y bajo manejos de cultivos donde la fertilización y las prácticas culturales tengan criterios agroecológicos.

6.- Para garantizar el éxito de la aplicación de inoculantes micorrícicos en viveros comerciales, la relación entre viveristas y técnicos e investigadores debe ser directa y el seguimiento tiene que prolongarse durante toda la fase de vivero y la posterior de campo, con el fin de solventar las diferentes situaciones que pueden surgir y crear una dinámica de trabajo conjunto que sirva de base para la utilización de este recurso de modo rutinario en la producción de plantas.

7.- En cuanto a la aplicación comercial de hongos micorrícicos arbusculares en la fase de vivero, en cítricos, se debe seguir explorando en las técnicas que la hagan viable económicamente.

8.- Para conocer si los efectos observados en vivero conllevan mejores resultados también en el cultivo (mayores producciones, resistencias a

situaciones de estrés o mayor sanidad vegetal), resulta imprescindible nuevos estudios en campo a medio y largo plazo.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Auge, R.M., 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 11(1): 3-42. <https://link.springer.com/article/10.1007/s005720100097>
- Auge, R.M., Schekel, K.A. y Wample, R.L., 1986. Osmotic adjustment in leaves of VA mycorrhizal and non mycorrhizal rose plants in response to drought stress. *Plant Physiology*, 82(3): 765-770. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16665108/>
- Bethlenfalvai, G.J., Brown, M.S., Ames, R.N. y Thomas, R.S., 1988. Effects of drought on host and endophyte development in mycorrhizal soybeans in relation to water-use and phosphate-uptake. *Physiologia Plantarum*, 72(3): 565-571. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1399-3054.1988.tb09166.x>
- Bevington, K., 2002. Know your rootstocks, National Citrus Nursery Workshop Mildura (Australian Citrus Propagation Association Inc.) http://www.auscitrus.com.au/files/Auscitrus_Nursery_Workshop_Proceedings.pdf
- Bhattacharya, P., 1999. Use of biofertilizers in citrus. In: S. Singh (Editor), *Citriculture*. National Research Centre for Citrus, Nagpur, Maharashtra, India, pp. 194-204.
- Calvet, C., Pinochet, J., Camprubi, A. y Fernyez, C., 1995. Increased tolerance to the root-lesion nematode *pratylenchus-vulnus* in mycorrhizal micropropagated ba-29 quince rootstock. *Mycorrhiza*, 5(4): 253-258. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00204958>
- Camprubi, A. y Calvet, C. 1996. Isolation and screening of mycorrhizal fungi from citrus nurseries and orchards and inoculation studies. *Hort. Science* 31(3):366-369. <https://journals.ashs.org/hortsci/view/journals/hortsci/31/3/article-p366.xml>
- Davies, F.S. and Albrigo, L.G. (Editors), 1994. *Citrus. Crop Production Science in Horticulture*, 2. CAB International, Wallingford, UK. [https://www.scirp.org/\(S\(lz5mqp453edsnp55rrgjt55\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferencelD=1950736](https://www.scirp.org/(S(lz5mqp453edsnp55rrgjt55))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferencelD=1950736)
- Dixon, R.K., Garg, V.K. and Rao, M.V., 1993. Inoculation of leucaena and prosopis seedlings with glomus and rhizobium species in saline soil - rhizosphere relations and seedling growth. *Arid Soil Research and Rehabilitation*, 7(2): 133-144. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15324989309381343>
- Dutra, P.V., Abad, M., Almela, V. and Agusti, M., 1996. Auxin interaction with the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* Schenck&Smith improves vegetative growth of two citrus rootstocks. *Scientia Horticulturae*, 66(1-2): 77-83. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0304423896008874>
- De Souza, P.V.D., Schmitz, J.A.K., de Freitas, R.S., Carniel, E. y Carrenho, R., 2002. Identification and quantification of native arbuscular mycorrhizae fungi of citrus in the State of Rio Grye do Sul, Brazil. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 37(4): 553-558.
- Fidelibus, M.W., Martin, C.A., Wright, G.C. y Stutz, J.C., 2000. Effect of arbuscular mycorrhizal (AM) fungal communities on growth of 'Volkamer' lemon in continually moist or periodically dry soil. *Scientia Horticulturae*, 84(1-2): 127-140. https://www.researchgate.net/publication/248477458_Effect_of_arbuscular_mycorrhizal_AM_fungal_communities_on_growth_of_'Volkamer'_lemon_in_continually_moist_or_periodically_dry_soil
- Frank, A.B. Y Trappe, J.M. 2005. On the nutritional dependence o certain trees on root symbiosis with below ground fungi (an English translation of A.B. Frank's classic paper of 1885). *Mycorrhiza* 15: 267-275.

- Graham, J. y Syvertsen, J. 1985. Host determinants of mycorrhizal dependency of citrus rootstock seedlings. *New Phytologist*, 101 (4): 667-676.
- Graham, J.H., 1986. Citrus mycorrhizae - potential benefits and interactions with pathogens. *Hortscience*, 21(6): 1302-1306.
- Graham, J.H., Drouillard, D.L. y Hodge, N.C., 1996. Carbon economy of sour orange in response to different *Glomus* spp. *Tree Physiology*, 16(11-12): 1023-1029.
<https://academic.oup.com/treephys/article/16/11-12/1023/1663666>
- Harma, S.D., Kumar, P., Singh, S.K. y Patel, V.B., 2009. Indigenous AM fungi and *Azotobacter* isolates, and their screening from citrus seedlings at different levels of inorganic fertilizers application. *Indian Journal of Horticulture*, 66(2): 183-189.
- Hattingh, M. y Gerdemann, J. 1975. Inoculation of Brazilian sour orange seed with an endomycorrhizal fungus. *Phytopathology* 65:1013-1016.
- Hildebrandt, U. y col., 2001. Arbuscular mycorrhizal colonization of halophytes in Central European salt marshes. *Mycorrhiza*, 10(4): 175-183.
<https://link.springer.com/article/10.1007/s005720000074>
- Jaizme-Vega, M.C. 2019. Las micorrizas, una estrategia agroecológica para optimizar la calidad de los cultivos. M.V. *Phytoma-España – ICIA*, Instituto Canario de Investigaciones Agrarias.
- Jaizme-Vega, MC, Garzón, M., García, Alberto, Marqués, R. y Porcuna, J.L. 2019. Consideraciones sobre la inoculación micorrícica en viveros de cítricos. *Phytoma España*, Nº 308, 2019, págs. 40-46.
- Jifon, J.L., Graham, J.H., Drouillard, D.L. y Syvertsen, J.P., 2002. Growth depression of mycorrhizal Citrus seedlings grown at high phosphorus supply is mitigated by elevated CO₂. *New Phytologist*, 153(1): 133-142. <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.0028-646X.2001.00294.x>
- Johnson-Green, P., Kenkel, N. and Booth, T., 1995. The distribution and phenology of arbuscular mycorrhizae along an inland salinity gradient. *Can J Bot* 73: 1318-1327.
<http://home.cc.umanitoba.ca/~kenkel/pubs/1995a.pdf>
- Juniper, S. and Abbott, L.K., 2006. Soil salinity delays germination and limits growth of hyphae from propagules of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 16(5): 371-379.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16525784/>
- Levy, Y., Syvertsen, J.P. y Nemeček, S., 1983. Effect of drought stress and vesicular arbuscular mycorrhiza on citrus transpiration and hydraulic conductivity of roots. *New Phytologist*, 93(1): 61-66. <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1469-8137.1983.tb02692.x>
- Manresa-Grao M., Pastor-Fernández J., Sanchez-Bel P., Jaques J.A., Pastor, V. y Flors, V. (2022). Mycorrhizal symbiosis triggers local resistance in citrus plants against spider mites. *Front. Plant Sci.* 13:867778. doi: 10.3389/fpls.2022.867778.
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2022.867778/full>
- Marchal, J., 1987. Citrus. In: Eds by Plant Analysis. Lavoisier Publishing Inc
- McMillen, B.G., Juniper, S. and Abbott, L.K., 1998. Inhibition of hyphal growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal containing sodium chloride of infection from fungus in soil limits the spread spores. *Soil Biology & Biochemistry*, 30(13): 1639-1646.
- Menge, J., Nemeček, S., Davis, R., Minassian, V. 1977. Mycorrhizal fungi associated with citrus and their possible interactions with pathogens. *Proc. Int. Soc. Citriculture*. 3:872-876.
- Michelini, S., Nemeček, S. y Chinnery, L.E., 1993. Relationships between environmental-factors and levels of mycorrhizal infection of citrus on 4 islys in the eastern caribbean. *Tropical Agriculture*, 70(2): 135-140.

- Nemeč, S., 1979. Response of 6 citrus rootstocks to 3 species of glomus, a mycorrhizal fungus. *Citrus Industry*, 60(5): 5-&.
- Nemeč, S., Menge, J. A., Platt, R. G., Johnson, E. L. V 1981. Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi Associated with Citrus in Florida and California and Notes on Their Distribution and Ecology. *Mycologia*, Vol. 73, No. 1 (Jan. - Feb., 1981), pp. 112-127. <https://www.jstor.org/stable/3759628>
- Ortas, I., Ortakci, D. y Kaya, Z., 2002a. Various mycorrhizal fungi propagated on different hosts have different effect on citrus growth and nutrient uptake. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 33(1-2): 259-272.
- Ortas, I., Ortakci, D., Kaya, Z., Cinar, A. y Onelge, N., 2002b. Mycorrhizal dependency of sour orange in relation to phosphorus and zinc nutrition. *Journal of Plant Nutrition*, 25(6): 1263-1279.
- Ortas, I. 2012. Mycorrhiza in citrus: growth y nutrition. En Kumar, A. (eds.) *Advances in Citrus Nutrition*. Springer-Verlag, Netherlys. https://www.researchgate.net/publication/285944054_Mycorrhiza_in_Citrus_Growth_and_Nutrition
- Pond, E., Menge, J. and Jarrell, W., 1984. Improved growth of tomato in salinized soil by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi collected from saline soils. *Mycologia*, 76: 74-84. <https://www.jstor.org/stable/3792838>
- Poerwanto, R., Inoue, H. y Kataoka, I., 1989. Effects of temperature on the morphology and physiology of the roots of trifoliolate orange budded with satsuma mandarin. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 58(2): 267-274.
- Reed HS y Fremont T 1935 Factors that influence the formation and development of mycorrhizal associations in citrus roots. *Phytopathol.* 25, 645.
- Schenck, N. y Tucker, D. 1974. Endomycorrhizal fungi and the development of citrus seedlings in Florida fumigated soils. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 99:284-287. <https://journals.ashs.org/jashs/view/journals/jashs/99/3/article-p284.xml>
- Syvertsen, J. and Levy, Y., 2005. Salinity interactions with other abiotic and biotic stresses in citrus. *Horttechnology*, 15(1): 100-103. https://www.researchgate.net/publication/237758962_Salinity_Interactions_with_Other_Abiotic_and_Biotic_Stresses_in_Citrus
- Sikora, R.A., 1992. Management of the antagonistic potential in agricultural ecosystems for the biological-control of plant parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology*, 30: 245-270. <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.py.30.090192.001333?journalCode=phyto>
- Spiegel-Roy, P. y Goldschmidt, E.E., 1996. *Biology of Citrus*. Cambridge University Press, Cambridge. <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1046/j.1469-8137.1997.00745-4>.
- Srivastava, A.K., Singh, S. y Marathe, R.A., 2002. Organic citrus: Soil fertility and plant nutrition. *Journal of Sustainable Agriculture*, 19(3): 5-29 https://www.researchgate.net/publication/232852531_Organic_Citrus_Soil_Fertility_and_Plant_Nutrition
- Tong, R., Yang, X. y Li, D., 2006. Effects of interspecies difference of arbuscular mycorrhizal fungi on Citrus grys cv. Changshou Shatian You seedlings vegetative growth and mineral contents. *Yingyong Shengtai Xuebao*, 17(7): 1229-1233. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17044497/>
- Universidad de Almería: <https://w3.ual.es/GruposInv/myco-ual/micorr.htm#:~:text=Las%20micorrizas%20son%20asociaciones%20simbi%C3%B3ticas,esp ecies%20vegetales%20terrestres%20est%C3%A1n%20micorrizadas.>

- Vinayak, K. y Bagyaraj, D.J., 1990. Vesicular-arbuscular mycorrhizae screened for troyer citrange. *Biology and Fertility of Soils*, 9(4): 311-314.
<https://link.springer.com/article/10.1007/BF00634107>
- Wang, M., Xia, R. y Wang, P., 2009. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on different iron species in *Poncirus trifoliata* rhizospheric soil. *Weishengwu Xuebao*, 49(10): 1347-1352.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20069881/>
- Wang, M. y Xia, R., 2009. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and iron uptake of *Poncirus trifoliata* under different pH. *Weishengwu Xuebao*, 49(10): 1374-1379.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20069885/>
- Wu, Q., Kumar, A., Zou, Y., Malhotra, S. 2017. Mycorrhizas in citrus: Beyond soil fertility and plant nutrition. *Indian Journal of Agricultural Sciences*. 87 (4):427-43.
- Wu, Q.-s. y Xia, R., 2005. Effects of AM fungi on drought tolerance of citrus grafting seedling trifoliolate orange/cara cara. *Yingyong Shengtai Xuebao*, 16(5): 865-869.
[https://www.unboundmedicine.com/medline/citation/16110660/\[Effects_of_AM_fungi_on_drought_tolerance_of_citrus_grafting_seedling_trifoliolate_orange/cara_cara\]](https://www.unboundmedicine.com/medline/citation/16110660/[Effects_of_AM_fungi_on_drought_tolerance_of_citrus_grafting_seedling_trifoliolate_orange/cara_cara])
- Wu, Q.S. y Xia, R.X., 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. *Journal of Plant Physiology*, 163(4): 417-425. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16455355/>
- Wu, Q.S., Xia, R. y Zou, Y., 2006. Arbuscular mycorrhizal fungal growth on citrus roots and its correlations with soil available phosphorus content and phosphatase activity. *Yingyong Shengtai Xuebao*, 17(4): 685-689.
https://www.researchgate.net/publication/6949686_Arbuscular_mycorrhizal_fungal_growth_on_citrus_roots_and_its_correlations_with_soil_available_phosphorus_content_and_phosphatase_activity
- Wu, Q.S., Zou, Y.N., Xia, R.X. y Wang, M.Y., 2007. Five *Glomus* species affect water relations of *Citrus tangerine* during drought stress. *Botanical Studies*, 48(2): 147-154.
<https://ejournal.sinica.edu.tw/bbas/content/2007/2/Bot482-03.pdf>
- Wu, Q.S., Levy, Y. y Zou, Y.N. (Editors), 2009. *Arbuscular Mycorrhizae and Water Relations in citrus*. *Tree and Forestry Science and Biotechnology*. Global Science Books, 105-112 pp.
https://www.researchgate.net/publication/291872654_Arbuscular_mycorrhizae_and_water_relations_in_citrus
- Wu, Q.-S. y Xia, R.-x., 2004. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth and osmotic adjustment matter content of trifoliolate orange seedling under water stress. *Zhiwu Shengli yu Fenzi Shengwuxue Xuebao*, 30(5): 583-588. <https://eurekamaq.com/research/048/903/048903768.php>
- Wu, Q.S. y Zou, Y.N., 2009. Mycorrhizal Influence on Nutrient Uptake of Citrus Exposed to Drought Stress. *Philippine Agricultural Scientist*, 92(1): 33-38.
<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20093103693>