

## Comunicación invitada

### ¿QUÉ PAPEL JUEGA EL HONGO *Phytophthora cinnamomi* EN EL DESARROLLO DE LA REGENERACIÓN NATURAL Y LAS REPOBLACIONES DE ENCINA Y ALCORNOQUE?

Torres-Álvarez, E<sup>1</sup>., Rodríguez-Molina, M. C<sup>2\*</sup>., Torres-Vila, L. M.<sup>3</sup> y Suárez de La Cámara, M. A.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciencias Agroforestales. Universidad de Huelva

<sup>2</sup>Departamento de Fitopatología. Servicio de Investigación y Desarrollo Tecnológico. Consejería de Agricultura y Medio Ambiente. Junta de Extremadura.

<sup>3</sup>Servicio de Sanidad Vegetal. Consejería de Agricultura y Medio Ambiente. Junta de Extremadura.

Autor para la correspondencia: [carmen.rodriguez@juntaextremadura.net](mailto:carmen.rodriguez@juntaextremadura.net)

Bol. Inf. CIDEU 1: 53-63 (2006)  
ISSN 1885-5237

#### Resumen

Se presentan los resultados resumidos de tres trabajos realizados para conocer el papel que juega el hongo *Phytophthora cinnamomi* en el desarrollo de plántulas de encina (*Quercus ilex*) y alcornoque (*Quercus suber*).

Se realizaron dos prospecciones para detectar la presencia de *P.cinnamomi* en focos de seca en dehesas de encina y alcornoque de Extremadura en 1991-1992 y 1999-2000. El porcentaje de focos en los que se detectó la presencia de *P. cinnamomi* ha permanecido relativamente estable entre las dos prospecciones. También se determinó la tasa de crecimiento relativo para nueve aislados de *P. cinnamomi* a diferentes temperaturas, observando una elevada variabilidad tanto en la temperatura óptima de crecimiento como en el valor de la propia tasa diaria de crecimiento máxima.

También se estudió la emergencia y supervivencia de plántulas de encina y alcornoque procedentes de dos dehesas ecológicamente diferentes, cultivadas en condiciones controladas en suelos de estas dehesas infectados naturalmente con *P. cinnamomi* y en estos mismos suelos previamente desinfectados en autoclave. Un factor limitante en los procesos de regeneración natural y en las repoblaciones por siembra directa de encinas y alcornoque puede ser su alta susceptibilidad a las infecciones por *P. cinnamomi*.

#### Summary

**WHAT IS THE ROLE OF *Phytophthora cinnamomi* IN THE DEVELOPMENT OF NATURAL REGENERATION AND REFORESTATIONS OF HOLM OAK AND CORK OAK?**

Three different studies were performed with the aim to determine the role of *Phytophthora cinnamomi* in the early development of seedlings of holm oak (*Quercus ilex*) and cork oak (*Quercus suber*).

Two surveys, for the presence of *Phytophthora cinnamomi* in declining holm oak and cork oak stands in Extremadura (SW Spain) were performed in 1991-1992 and 1999-2000. The percentage of decline foci where *P. cinnamomi* is involved has remained relatively stable in the lapse of time between the two surveys. Growth rates were determined for 9 *P. cinnamomi* isolates. Considerable variation in optimum growth temperatures and in daily growth rates occurred among isolates.

The emergence and survival of pregerminated holm oak and cork oak acorns from two ecologically different dehesas (Mediterranean open woodlands) were studied in two soils from these stands naturally infected with *P. cinnamomi*, and in the same soils previously sterilized in the autoclave. The demonstrated high susceptibility of holm and cork oak young seedlings to *P. cinnamomi* could be a limiting factor in mediterranean open woodlands (dehesas) not only in natural regeneration

Por último, se estudió durante dos años consecutivos, la supervivencia de las plantas de encina de una repoblación sobre un suelo naturalmente infectado con *P. cinnamomi* en la provincia de Badajoz (SO de España). Los resultados obtenidos se discuten teniendo en cuenta el déficit hídrico, los daños por *P. cinnamomi*, la competencia con otras especies y las posibles medidas sanitarias que amortigüen los daños en las repoblaciones con encinas.

## INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas fitosanitarios que afecta a las dehesas y bosques mediterráneos de la península Ibérica es la *seca*, o decaimiento y muerte de algunas especies de género *Quercus*. La *seca* consiste en un conjunto de síntomas, generalmente poco específicos, que puede llevar a la muerte fundamentalmente a encinas (*Quercus ilex*) y alcornoques (*Quercus suber*). Se pueden diferenciar dos tipos de síndromes de decaimiento de copa, según su evolución temporal. El primero de ellos es el decaimiento lento o progresivo, que se caracteriza por una defoliación progresiva, presencia de ramas secas y un deterioro generalizado que lleva a la muerte al árbol al cabo de unos años. El segundo tipo de síndrome es la muerte súbita, que se caracteriza por un rápido secado de las ramas, permaneciendo las hojas adheridas un tiempo con color amarillento o marrón y alcanzando la muerte en tan sólo unas semanas después de la aparición de los primeros síntomas. Los primeros focos de *seca* en España se detectaron a principios de la década de los ochenta del siglo XX, pero fue a finales de los ochenta y primeros noventa cuando se produjo una fuerte y alarmante expansión del síndrome (Cobos *et al.*, 1993; Brasier, 1996; Arias y Del Pozo, 1997).

Las prospecciones de focos de *seca* realizadas entre los años 1991 y 1992 en España y Portugal por el fitopatólogo

processes but also when reforestation by direct sowing is implemented.

Finally, the viability of 1 year old holm oak seedlings in a soil naturally infected with *P. cinnamomi* was studied during two consecutive years in a plot located in SW Spain. Results obtained are discussed in the framework of seasonal water deficit, *P. cinnamomi* damage, weed competition and sanitation techniques to be used in declined holm oak stands in Spain.

británico C.M. Brasier condujeron al aislamiento del hongo oomiceto *Phytophthora cinnamomi* Rands a partir de muestras de raíces y rizosfera de encinas y alcornoques con síntoma de decaimiento (Brasier, 1992; Brasier *et al.*, 1993; Brasier, 1996). A partir de entonces, *P. cinnamomi* se ha considerado como uno de los principales agentes implicados en la *seca*, comprobándose su poder patógeno tanto sobre plántulas de encina y alcornoque (Rodríguez-Molina *et al.*, 2002), como en plantas jóvenes (Tuset *et al.*, 1996; Robin *et al.*, 1998; Gallego *et al.*, 1999; Luque *et al.*, 2000; Sánchez *et al.*, 2000) o en individuos adultos (Tuset *et al.*, 1996).

No obstante, además de *P. cinnamomi*, otros factores bióticos y abióticos pueden estar implicados en los procesos de decaimiento y *seca* de los *Quercus*. Entre los factores bióticos se han citado los hongos *Hypoxylon mediterraneum* (de Not.) Ces y de Not (Torres Juan, 1985; Luque y Álvarez, 1997) y *Botryosphaeria stevensii* Shoem (frecuentemente denominado por el nombre de su anamorfo *Diplodia mutila* Fr. y Mont) (Rupérez y Muñoz, 1980; Luque y Álvarez, 1997; Luque *et al.*, 2000), la bacteria *Brenneria quercina* (Hildebrand y Schroth) Hauben *et al* aislada en el melazo de las bellotas (López *et al.*, 1996, Soria *et al.*, 1997) o incluso insectos como diferentes especies de coleópteros cerambícidos xilófagos (Romanyk y Cadahía, 1992; Navarro *et al.*, 2004; López-

Pantoja *et al.*, 2004). Entre los factores abióticos es posible citar los factores macro y microclimáticos (SPV, 1990; Allué, 1995; SSV, 1998; Fernández Cancio, 1999) y los factores selvícolas (Montoya y Mesón, 1994; Leco Berrocal, 1994; Sánchez *et al.*, 2000).

Aunque desde principios del siglo XX ya hay registros escritos sobre una enfermedad que afecta al arbolado de las dehesas, cuyos síntomas coinciden con lo que se denomina seca, a raíz de la alarma provocada por la rápida expansión de la enfermedad en los años ochenta se iniciaron numerosos trabajos de investigación con la finalidad de determinar cuáles son los factores implicados en los procesos de seca (Rodríguez-Molina *et al.*, 2003). En este trabajo se presentan, resumidamente, los resultados de varios trabajos de investigación llevados a cabo por los autores, orientados a mejorar el conocimiento del papel que juega el hongo *P. cinnamomi* en el decaimiento y seca de los alcornoques y encinares ibéricos. Los objetivos particulares de los citados estudios son los siguientes:

- Determinar la asociación de *P. cinnamomi* con el síndrome de la seca de encinas y alcornoques.
- Determinar la influencia de los factores ambientales, en concreto la temperatura, sobre aislados de *P. cinnamomi*.
- Estudiar la viabilidad en laboratorio de las plántulas de encina y alcornoque desarrollándose sobre suelos infectados con *P. cinnamomi*, teniendo en cuenta la especie de las bellotas y el origen de la cepa del hongo.
- Investigar, en condiciones reales de campo, la viabilidad de repoblaciones con encinas de una

savia sobre suelo naturalmente infectados con *P. cinnamomi*.

- Determinar los patrones espaciales de mortalidad atribuible a este patógeno.

### **INCIDENCIA DE *Phytophthora cinnamomi* EN LOS FOCOS DE SECA (Rodríguez Molina *et al.*, 2003)**

Se realizaron dos prospecciones de focos de seca en distintas dehesas extremeñas, la primera de ellas entre el otoño de 1991 y la primavera de 1992, y la segunda, ocho años más tarde, entre la primavera de 1999 y la del año 2000. En la primera prospección se muestrearon un total de 30 focos, 21 de los cuales eran dehesas puras de encina y nueve dehesas mixtas de encina y alcornoque. En cada foco se derribaron tres árboles afectados y se tomó una muestra de suelo de la rizosfera de cada uno de ellos y raicillas de diámetro inferior a 5mm. En la prospección de 1999-2000 se muestrearon 27 focos, siendo 20 dehesas de encina, cuatro dehesas mixtas de encina y alcornoque y tres dehesas puras de alcornoque. En cada foco se tomaron muestras de tierra y raicillas al pie de tres a cinco árboles afectados por foco, a una distancia de un metro del tronco y a una profundidad variable entre 20 y 50 cm.

Para la detección de *Phytophthora* spp. En las muestras de tierra se emplearon pétalos inmaduros de clavel como trampas o cebos vegetales, que se colocaron sobre submuestras de suelo y agua destilada en placas Petri colocadas en oscuridad a 20 °C durante un tiempo variable entre dos y quince días. Posteriormente los pétalos se secaron sobre papel de filtro y se sembraron sobre medios Ponchet (Ponchet *et al.*, 1972) o PARPH (Jeffers y Martin, 1986), selectivos para *Phytophthora* spp. La identificación específica de los aislados se realizó a partir de las características de los esporangios observados en los bordes de los

pétalos de clavel, la morfología de las colonias en los medios de patata-dextrosa-agar (PDA) y zanahoria-agar, así como a las características de los hinchamientos hifales formados en estos medios.

*P. cinnamomi* se detectó en 12 de los 30 (40 %) focos prospectados en 1991-1992, de los cuales 9 correspondían a dehesas de encina y 3 a dehesas mixtas de encina y alcornoque. En la prospección de 1999-2000 se detectó *P. cinnamomi* en 8 de los 27 (30 %) focos analizados, de los cuales 5 correspondían a dehesas de encina y los otros 3 a dehesas mixtas de encina y alcornoque. Todos los aislados de *Phytophthora* spp procedentes de las muestras de suelo se identificaron como *P. cinnamomi*.

#### **EFFECTO DE LA TEMPERATURA EN LOS AISLADOS DE *Phytophthora cinnamomi* (Rodríguez Molina *et al.*, 2003)**

En 9 aislados de *P. cinnamomi* procedentes de las prospecciones de focos de seca de 1999-2000 descritas en el apartado anterior, se realizó una determinación del crecimiento de las colonias a diferentes temperaturas. Siete de las muestras estudiadas procedían de suelos de encinar y las dos restantes de suelo de alcornocal. Para cada aislado se determinó la tasa de crecimiento diario a 10, 15, 20, 25, 30 y 35 °C. Para ello se extrajeron, mediante un troquel cilíndrico previamente esterilizado, discos de inóculo de 10 mm de diámetro de placas conteniendo patata-dextrosa-agar (PDA) en las que se había desarrollado el aislado a estudiar. Por cada aislado se prepararon cuatro placas (repeticiones) que se mantuvieron en la oscuridad en un incubador a cada una de las temperaturas

deseadas. Las mediciones de las colonias se realizaron a intervalos de 24 h, empezando a las 48 horas de la siembra y concluyendo, en función de la tasa de crecimiento de los aislados, entre los 11 y 29 días desde la fecha de la siembra. En cada placa se midieron dos diámetros perpendiculares de la colonia desarrollada. Para cada aislado y temperatura se calculó la tasa media de crecimiento en mm/día.

Las tasas medias de crecimiento a diferentes temperaturas de los aislados procedentes de suelo de encinar y alcornocal se muestran en la figura 1. La tasa de crecimiento se vio significativamente afectada por la temperatura y por el propio aislado, así como la interacción entre ambos factores. Los incrementos de crecimiento diario de los aislados fueron aproximadamente lineales para las temperaturas entre 10 y 30 °C y ninguno de los aislados se desarrolló a 35 °C, ni fue capaz de crecer a 25 °C tras diez días de exposición a 35 °C.

Las tasas de crecimiento a 25 y 30 °C de los aislados de alcornocal fueron más elevadas que las de los aislados de encinar. Por este motivo, las curvas de los aislados en alcornocal resultan, al compararlas con las de los aislados de encinar, “desplazadas” hacia el rango de temperaturas elevadas. Los aislados de encinar no difirieron sustancialmente entre sí cuando se consideraron las tasas de crecimiento a 10, 15 y 30 °C. Sin embargo, al considerar los crecimientos a temperaturas intermedias, 20 y 25 °C, se pudieron diferenciar dos grupos de aislados. La mayoría de los aislados de encina presentaron un crecimiento óptimo, más o menos variable, en torno a 25 °C.

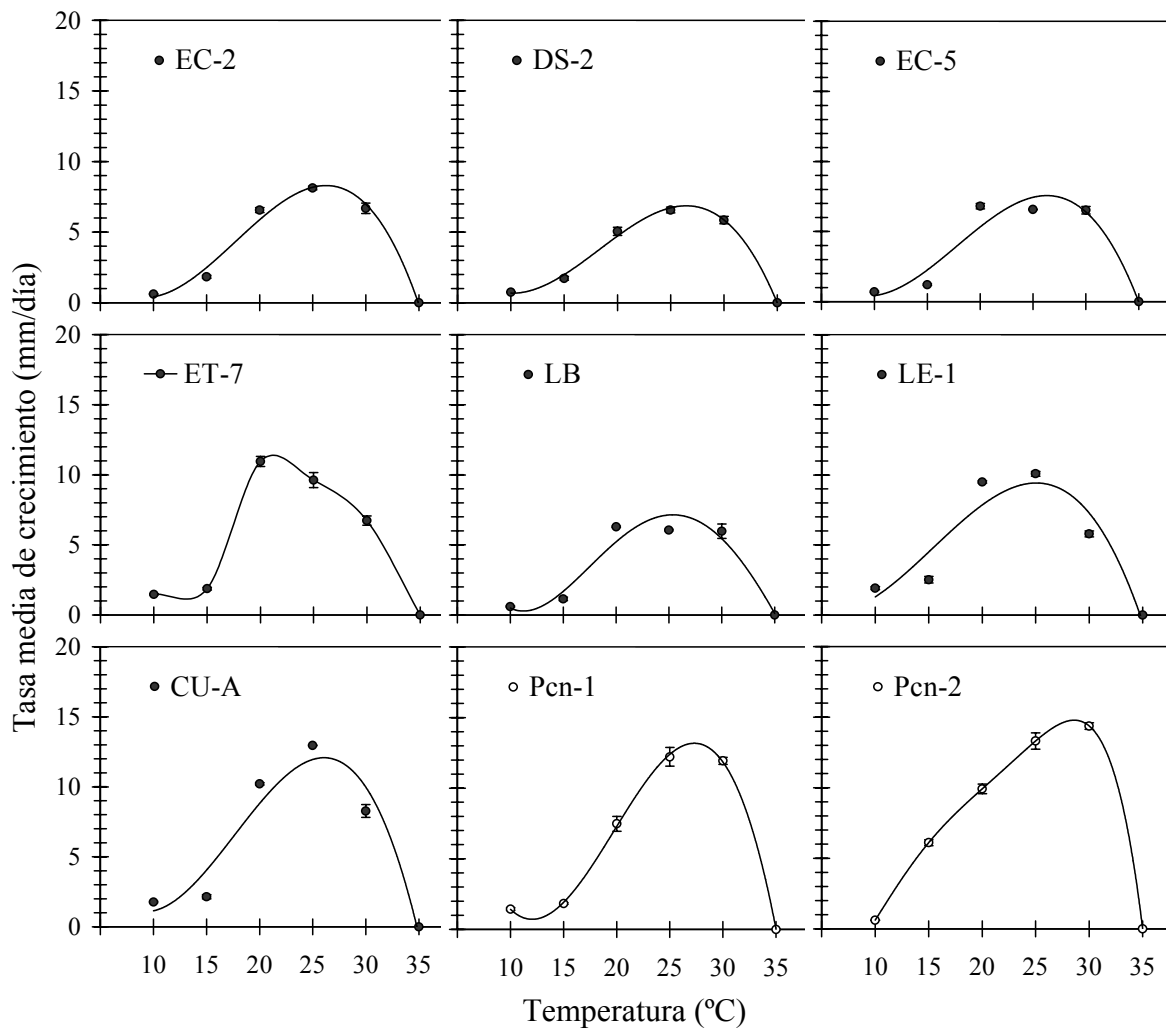


Figura 1. Tasa media de crecimiento (mm/día) en función de la temperatura de 9 aislados de *Phytophthora cinnamomi* procedentes de suelos de encinar (EC-2, DS-2, EC-5, ET-7, LB, LE-1 y CU-A) y alcornoque (Pcn-1 y Pcn-2). Las líneas verticales indican el error estándar de la media.

### VIABILIDAD DE PLÁNTULAS DE ENCINA Y ALCORNOQUE DESARROLLÁNDOSE EN SUELOS NATURALMENTE INFECTADOS CON *Phytophthora cinnamomi* (Rodríguez Molina *et al.*, 2002)

Se ha estudiado la emergencia y supervivencia de plántulas de encina y alcornoque procedentes de bellotas pregerminadas recolectadas en dos dehesas ecológicamente diferentes, cultivándose en dos suelos con infección natural de *P. cinnamomi*, así como en estos dos mismos suelos pero previamente esterilizados. Se tomaron muestras de suelo en dos dehesas mixtas de encina y alcornoque de la

provincia de Badajoz. El primer sitio se localiza en el término municipal de Carmonita, en las estribaciones meridionales de la Sierra de San Pedro en la zona central de Extremadura, y se trata de una dehesa mixta en la que predomina el alcornoque. El segundo sitio es una dehesa mixta con predominio de la encina en el término municipal de Cheles, al sudoeste de Badajoz, en la zona adeshada próxima al río Guadiana. En ambos sitios de ensayo, había focos de seca en los que previamente se había aislado *P. cinnamomi* (Rodríguez Molina *et al.*, 2000).

En cada sitio se tomó una muestra de unos 8 l de suelo bajo un árbol con síntomas de

seca, un alcornoque en el sitio 1 y una encina en el sitio 2. Se mezcló suelo extraído en cuatro puntos a una distancia de un metro del tronco y a una profundidad de 30-40 cm. La presencia de *P. cinnamomi* en las muestras de suelo se confirmó usando cebos de pétalos inmaduros de clavel. La mitad del volumen de las muestras de suelo se esterilizó en autoclave a 120 °C durante una hora. Cada submuestra, esterilizada y no esterilizada, fue mezclada por separado con arena lavada y vermiculita previamente esterilizadas en autoclave, en proporción 1/1/1,5 en volumen. Las bellotas fueron recolectadas de árboles sanos de ambas dehesas. Las bellotas fueron pregerminadas en bandejas de plástico con arena esterilizada en la oscuridad a 25 °C. Las bellotas sanas, con una radícula de aproximadamente 1 cm de longitud, se sembraron en los sustratos preparados como se ha indicado previamente, en contenedores forestales de 300 cm<sup>3</sup> de capacidad. Los tratamientos considerados son resultantes de la combinación sustrato-especie: suelo1 sin esterilizar-alcornoque, suelo 1 esterilizado-alcornoque, suelo 2 sin esterilizar-alcornoque, suelo 2 esterilizado-alcornoque, suelo1 sin esterilizar-encina, suelo 1 esterilizado-encina, suelo 2 sin esterilizar-encina, suelo 2 esterilizado-encina. Se trata, por tanto, de ocho *tratamientos* que corresponden a la

combinación de cuatro factores diferentes: especie. Para cada combinación o tratamiento, los envases se dispusieron en cuatro filas (réplicas) con cinco alvéolos cada una. La asignación de los tratamientos a cada fila de cinco envases se realizó al azar. Después del semillado, las bandejas se llevaron a una cámara de cultivo en ambiente controlado. Se realizó el seguimiento de la emergencia de las plántulas cada dos días. Siete semanas después del semillado, se realizaron cultivos selectivos para detectar la presencia de *Phytophthora* a partir de radículas de plantas no emergidas, o emergidas pero muertas, sobre sustratos sin esterilizar. También se realizaron cultivos a partir del suelo sin esterilizar de las plántulas que llegaron al final del periodo de observación, para confirmar la presencia de *Phytophthora*. La variable observada en el análisis fue el porcentaje medio de mortalidad correspondiente a cada una de las ocho combinaciones especie-sustrato o tratamientos. Para detectar la existencia de diferencias significativas entre tratamientos se realizó un análisis de la varianza, realizando el cambio de variable arco seno para normalizar los datos, al ser la variable original una variable de conteo.

La tabla 1 muestra los porcentajes medios de mortalidad en cada una de las combinaciones especie-sustrato.

Origen de las bellotas y el suelo <sup>1</sup>	Encina		Alcornoque	
	Sustrato esterilizado	Sustrato sin esterilizar	Sustrato esterilizado	Sustrato sin esterilizar
A1S1	5±5	100±0	45±5	90±6
A1S2	10±6	100±0	25±5	90±6
A2S1	5±5	100±0	5±5	35±13
A2S2	15±10	100±0	0±0	75±10

1 A1: bellotas del sitio 1 (Carmonita); A2: Bellotas del sitio 2 (Cheles); S1: suelo del sitio 1 (Carmonita); S2: suelo del sitio 2 (Cheles)

Tabla 1. Porcentaje medio de mortalidad (± error típico) de plántulas de encina y alcornoque en función del origen de las bellotas y el suelo.

Aunque todas las plántulas de encina sobre sustrato sin esterilizar murieron independientemente del origen de las bellotas o del suelo, el porcentaje de mortalidad de las plántulas de alcornoque varió dependiendo del origen de las bellotas o del suelo. El hongo *P. cinnamomi* fue aislado de todas las radículas de todas las plántulas que no llegaron a emerger, o que emergieron y después murieron, en los sustratos sin esterilizar. También se confirmó la presencia de *P. cinnamomi* en todos los sustratos de los contenedores de plántulas supervivientes sobre sustrato sin esterilizar. Sin embargo, no se aisló *P. cinnamomi* ni a partir de las radículas de las plántulas muertas en sustratos esterilizados ni en el correspondiente sustrato.

El análisis de la varianza indicó que la mortalidad de plántulas resultó significativamente diferente ( $p < 0,05$ ) dependiendo de la especie ( $F = 27,97$ ), el origen de la bellotas ( $F = 17,90$ ) y el tratamiento del suelo ( $F = 485,45$ ), pero no resultó significativamente diferente dependiendo del origen del suelo ( $F = 0,82$  n.s.). Además, resultaron significativamente diferentes las interacciones especie  $\times$  origen de la bellota ( $F = 22,08$ ), especie  $\times$  origen del suelo ( $F = 46,91$ ) y especie  $\times$  tratamiento del suelo  $\times$  origen de la bellota ( $F = 6,01$ ). Teniendo en cuenta estos resultados, se realizaron sendos análisis de la varianza para cada especie, teniendo en cuenta los factores origen del suelo, origen de la bellota y tratamiento del suelo. Para la encina sólo el tratamiento del suelo resultó significativo ( $F = 1841,79$ ). Sin embargo, para el alcornoque, resultaron significativas las diferencias dependiendo del origen de las bellotas ( $F = 22,30$ ) y del tratamiento del suelo ( $F = 65,00$ ), así como de las interacciones origen del suelo  $\times$  origen de la bellota y origen del suelo  $\times$  tratamiento del suelo.

## **PATRONES ESPACIALES Y TEMPORALES DE LA MORTALIDAD DE PLÁNTAS DE ENCINA EN UNA REPOBLACIÓN SOBRE UN SUELO INFECTADO CON *Phytophthora cinnamomi* (Rodríguez Molina et al., 2005).**

El estudio se realizó en una dehesa de encinas de Cheles (Badajoz), donde se localiza un importante foco de mortalidad por seca. La repoblación se realizó, en diciembre de 1999, por plantación con plantas de una savia de encina con un espaciamiento de  $5 \times 5$  m, lo que supone una densidad de 400 pies/ha. La repoblación fue cartografiada, obteniéndose las coordenadas (x,y) de cada planta respecto a un sistema de coordenadas cartesiano. Se realizaron inventarios de supervivencia, al menos una vez por estación, durante los dos años siguientes (2000 y 2001). La mortalidad estacional se calculó como el porcentaje de plantas muertas al final de cada estación respecto al total de plantas vivas al principio de esa estación.

En cada inventario, se arrancaban las plantas muertas extrayendo parte del sistema radical y tomando también muestras de la rizosfera. El sistema radical de cada planta y su rizosfera fueron analizados separadamente en laboratorio. La detección de *P. cinnamomi* se realizó mediante trampas de pétalos inmaduros de clavel y cultivo en medio PARPH.

Para valorar si la mortalidad causada por *P. cinnamomi* u otras causas sigue una distribución aleatoria o agregada espacialmente en la repoblación se realizaron ajustes a las distribuciones  $\beta$ -binomial y binomial mediante los tests de adherencia de ajuste  $\chi^2$ . Para analizar la influencia de la cercanía a árboles adultos sobre la mortalidad de las plantas por *P.*

*cinnamomi*, se llevó a cabo una regresión logística.

Al final del otoño de 2001, dos años después de la repoblación, la mortalidad total resultó del 43,4 % y la mortalidad atribuible a *P. cinnamomi* fue del 9,6 % (22,1 % de la mortalidad total). La mortalidad total durante la primavera del primer año resultó de 8,3 %, principalmente debida a causas indeterminadas, aunque descendió la segunda primavera al valor de 4,6 %, con una menor incidencia de la mortalidad por causas indeterminadas aunque aumentó la mortalidad por *P. cinnamomi*. La mortalidad estival fue alta el primer verano (11,3 %) y especialmente el segundo (24,1 %). El incremento de la mortalidad estival el segundo año se debió tanto por un aumento de la mortalidad por *Phytophthora cinnamomi* como por el aumento de la mortalidad por otras causas. Además, la mortalidad atribuible a *P. cinnamomi* fue del 16,8 % de la mortalidad total el primer verano y el 31,5 % de la mortalidad total el segundo verano. Las mortalidades en otoño e invierno resultaron bajas durante el periodo considerado y las mortalidades invernales fueron debidas sólo a causas indeterminadas.

En cuanto a la distribución espacial de la mortalidad causada por *P. cinnamomi*, se obtuvo un ajuste muy pobre a la distribución binomial ( $\chi^2 = 5,63$ ; g. de l. = 1; p = 0,008) mientras que se el ajuste a la distribución  $\beta$ -binomial fue muy bueno ( $\chi^2 = 0,002$ ; g. de l. = 1; p = 0,895) lo que indica la existencia de patrones de agregación en la mortalidad causada por el hongo. Sin embargo, los patrones de mortalidad debida a otras causas resultaron menos claros, tanto por su ajuste a la distribución binomial ( $\chi^2 = 6,94$ ; g. de l. = 3; p = 0,073) como a la  $\beta$ -binomial ( $\chi^2 = 1,96$ ; g. de l. = 2; p = 0,087). Estos resultados sugieren que, aunque la

mortalidad por causas indeterminadas tiende a ser agregada, el agrupamiento no es tan claro como en la mortalidad causada por el hongo.

El resultado de la regresión logística indica que probabilidad de muerte de las plantas causada por *P.cinnamomi* aumenta al disminuir la distancia a un árbol adulto afectado. El modelo obtenido fue el siguiente  $\log (p/1-p) = -1,81 - 0,04 \times d$  siendo p la probabilidad de muerte y d la distancia en metros al árbol adulto infectado (G = 4,75; g. de l.: 1; p =0,029). Sin embargo, el análisis de regresión logística indica que la probabilidad de muerte asociada a otras causas indeterminadas no está relacionada significativamente con la distancia al árbol adulto infectado (G = 1,83; g. de l.: 1; p =0,176).

## CONCLUSIONES

La implicación de *P. cinnamomi* en los procesos de seca, aunque compleja, está actualmente fuera de duda, como lo corroboran también los resultados mostrados. La temperatura juega un importante efecto regulador sobre el desarrollo del hongo *P. cinnamomi*, aunque se evidencia una importante variabilidad tanto fenotípica como en la plasticidad fenotípica. Esto se traduce en diversas respuestas de modulación de la tasa de desarrollo por la temperatura.

Diversos son los factores que afectan a la regeneración natural de especies del género *Quercus* en Europa (Lorimer *et al.*, 1994; Torres-Álvarez, 1995). La disponibilidad de agua y nutrientes, la competencia y la prelación son algunos de los principales factores que explican las dificultades de regeneración. Los resultados expuestos muestran que la infección por el hongo patógeno *P. cinnamomi* puede añadirse como uno de los principales factores limitantes a la regeneración, tanto natural



como artificial. En general, los bancos de regenerado de encina (*Q. ilex*) resultan más susceptibles a la presencia de *P. cinnamomi* que el regenerado de alcornoque (*Q. suber*).

Los resultados del estudio muestran, que al menos para el alcornoque, tanto el genotipo del árbol como la variación en el potencial patógeno del inóculo de *P. cinnamomi*, así como su interacción, están implicados en la mortalidad de las plántulas. Esta circunstancia suministra una circunstancial evidencia de coevolución del hospedante y el patógeno. Por tanto, es necesario considerar estos factores en posibles programas de selección de genotipos de *Quercus* en función de su resistencia o su tolerancia a *P. cinnamomi*, en proyectos de repoblación por siembra directa y en la aplicación de métodos de regeneración natural de encinares y alcornocales.

La mortalidad de las plantas de una repoblación artificial muestra unos patrones temporales muy claros. Las mortalidades en otoño y en invierno son, generalmente, bajas y debidas, principalmente, a causas indeterminadas. Las mayores tasas de mortalidad se alcanzan en primavera y, principalmente, en verano. La mortalidad en el primer año es alta, debida principalmente a causas indeterminadas, entre las que puede destacar el estrés después de la plantación. La mortalidad debida a *P. cinnamomi* en la segunda primavera fue importante, alcanzando el 32 % de la mortalidad en dicho periodo. La sequía estival parece ser el factor clave que afecta a la mortalidad de las plantas de la repoblación y la mortalidad imputable a *P. cinnamomi* probablemente se deba a una interacción de los daños del hongo con el déficit hídrico estacional.

En todo caso siempre hay que tener en cuenta la capacidad de rebrote, tanto de la encina como del alcornoque, después de la muerte de la parte aérea. De hecho, el

rebrote es una de las principales estrategias de regeneración de los *Quercus* mediterráneos sometidos a perturbaciones naturales o antrópicas.

La agregación espacial de la mortalidad debida a *P. cinnamomi* de plantas de encina repobladas sugiere una distribución agrupada del inóculo del hongo en el suelo. La asociación positiva entre árboles adultos afectados con *P. cinnamomi* y la presencia de plantas repobladas infectadas con el hongo próximas al árbol adulto, sugiere también que éstos son una de las principales fuentes de infección en la repoblación.

De estos resultados se deduce que una posible estrategia de reducción del inóculo del hongo patógeno en las repoblaciones podría ser la eliminación de los árboles adultos infectados antes de realizar la plantación. Sin embargo, los beneficios de esta práctica pueden ser cuestionables, tanto por cuestiones prácticas como por su efectividad en el control de la enfermedad. La operación de arranque de los árboles adultos infectados puede suponer un riesgo añadido de dispersión del inóculo. Además, la eliminación de material vegetal infectado puede ser un método muy efectivo de control de enfermedades de ciclo sencillo, pero puede ser ineficaz como control de las enfermedades policíclicas, como es el caso de la provocada por *P. cinnamomi*. En todo caso, en las repoblaciones con encina y alcornoque con indicios de presencia de *P. cinnamomi* el tratamiento del suelo no deberá realizarse nunca a hecho o por tratamientos lineales, por el peligro de dispersar el inóculo del hongo patógeno por toda la superficie a repoblar. Deberían utilizarse métodos puntuales de tratamiento del suelo, con desinfección de las herramientas y aperos entre punto y punto, para asegurarse de la no dispersión del inóculo.

## Referencias Bibliográficas

- Arias, A. y Del Pozo, J. D. 1997. Informe del Servicio de Sanidad Vegetal sobre la “seca” de la encina y el alcornoque en Extremadura. Reunión de coordinación sobre el decaimiento de las quercíneas. Informe INIA. Badajoz, 5 y 6 de noviembre de 1997 (sin publicar)
- Brasier, C. M. 1992. Oak tree mortality in Iberia. *Nature*, 360: 539.
- Brasier, C. M. 1996. *Phytophthora cinnamomi* and oak decline in Southern Europe. Environmental constraints including climate change. *Ann. Sci. For.*, 53: 347-358.
- Brasier, C. M.; Robredo, F. y Ferraz, J. F. P. 1993. Evidence for *Phytophthora cinnamomi* involvement in Iberian oak decline. *Plant Pathol.* 42:140-145.
- Cobos, J. M.; Montoya, R. y Tuset, J. J. 1993. New damage to *Quercus* woodlands in Spain. Preliminary evaluation of the possible implication of *Phytophthora cinnamomi*. En: Luisi N., Lerario, P. y Vannini, A. (Eds), *Recent Advances in Studies on Oak Decline*, pp. 163-170. Putignano, Tipolitografia Radio, Brindisi.
- Gallego, F. J.; Pérez de Algaba, A.; Fernández-Escobar, R. 1999. Etiology of oak decline in Spain. *Eur. J. For. Path.*, 29: 17-27.
- Jeffers, N. S.; Martin, J. B. 1986. Comparison of two media selective for *Phytophthora* and *Pythium* species. *Plant. Dis.*, 70:1038-1043.
- Leco Berrocal, F. 1994. La seca de los encinares y alcornocales de Extremadura ¿Cuestión física o humana? *Aegyptus*, 12:23-30.
- López, M. M.; García, M.; Roselló, M.; Morente, C.; Orellana, N.; Ferrer, A.; López, F.; Soria, S.; López, M. J. 1996. Primera identificación en España de *Erwinia chrysanthemi* en patata, *E. quercina* en encina y rebollo, *E. rubrifaciens* en nogal y *Rhodococcus fascians* en Coliflor. En: *Resúmenes del VIII Congreso de la SEF*, pp. 122. SEF. Córdoba.
- López-Pantoja, G.; Domínguez, L.; Sánchez-Osorio, I.; Tapias, R.; Cremades, D.; Paramio A.; Alesso, P. 2004. Population ecology of xylophagous beetles (Coleoptera: Cerambycidae) in Mediterranean *Quercus* forest (Southwest of Iberian Peninsula). Incidence on oak trees health (*Quercus ilex* L. ssp *ballota* and *Quercus suber* L.). En: *Medecos 2004*. Grecia.
- Lorimer, C. G.; Chapman, J. W.; Lambert, W. D. 1994. Tall understorey vegetation as a factor in the poor development of oak seedlings beneath mature stands. *J. Ecol.*, 82: 227-237.
- Luque, J.; Álvarez, I. 1997. Patogenicidad de los hongos aislados del alcornoque en Cataluña. En: *II Congreso Forestal Español – I Congreso Forestal Hispano-Luso*, Tomo V, pp. 423-430. SECF. Madrid.
- Luque, J.; Parladé, J.; Pera, J. 2000. Pathogenicity of fungi isolated from *Quercus suber* in Catalonia (NE Spain). *For. Path.*, 30: 247-263.
- Luque, J.; Parladé, J.; Pera, J. 2000. Pathogenicity of fungi isolated from *Quercus suber* in Catalonia (NE Spain). *For. Path.*, 30:247-263.
- Montoya, J. M.; Mesón, M. 1994. Los factores catalizadores de la “seca de los *Quercus*”. *Ecología*, 8:185-191.

- Navarro, R. M.; Fernández, P.; Trapero, A.; Caetano, P.; Romero, M. A.; Sánchez, M. E.; Fernández, A.; Sánchez, I.; López, G. 2004. Los procesos de decaimiento de encinas y alcornoques. Dirección Gral. De Gestión del Medio Natural. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía, Sevilla. 32 pp.
- Ponchet, J.; Ricci, P.; Anreoli, C.; Augé, G. 1972. Méthodes selectives d'isolement du *Phytophthora nicotianae* f. sp. Parasitica (Dastur) Watherh. A partir du sol. Ann. Phytopathol, 4:97-108.
- Robin, C., Desprez-Loustau, M.L., Capron, G., Delatour, C., 1998. First record of *Phytophthora cinnamomi* on cork and holm oaks in France and evidence of pathogenicity. Ann. Sci. For., 55: 869-883.
- Rodríguez Molina, M. C.; Blanco, A.; Palo, E.; Torres-Vila, L.M. 2000. Distribución de *Phytophthora cinnamomi* en dehesas extremeñas. In: Programas y Resúmenes del X Congreso Español de Fitopatología. Valencia. Sociedad Española de Fitopatología, p. 199.
- Rodríguez- Molina, M. C.; Tello Marquina, J. C.; Torres-Vila, L. M. 2003. El *Phytophthora cinnamomi*, implicado en la seca. Trofeo, Abril 2003, p 42.
- Rodríguez-Molina, M. C.; Santiago, R.; Blanco, A.; Pozo, J. D.; Colino, M. I.; Palo, E.; Torres Vila, L. M. 2003. Detección de *Phytophthora cinnamomi* en dehesas de Extremadura afectadas por seca y su comportamiento in vitro. . Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas. 29(4):627-640
- Rodríguez-Molina, M. C.; Torres-Vila, L. M.; Blanco, A.; Palo, E. J.; Torres-Álvarez, E. 2002. Viability of holm and cork oak seedlings from acorns sown in soils naturally infected with *Phytophthora cinnamomi*. For. Path. 32: 365-372.
- Romanyk, N., Cadahía, D. (Eds.), 1992. Plagas de insectos de las masas forestales españolas. Organismo Autónomo de Parques Nacionales. Ministerio de Medio Ambiente. Madrid.
- Rupérez, A.; Muñoz, M. C., 1980. Grave enfermedad de las encinas. Bol. San. Veg. Plagas, 6:108
- Sánchez, M. E.; Caetano, P.; Ferraz, J.; Trapero, A. 2000. El decaimiento y muerte de encinas en tres dehesas de la provincia de Huelva. Bol. San. Veg. Plagas, 26: 447-464.
- SPV, 1990. Dehesa: muerte de encinas. Boletín Fitosanitario de Avisos e Informaciones. Servicio de Protección de los Vegetales. Junta de Extremadura, nº 26 (1990).
- SSV, 1998. Dehesa: un nuevo episodio de la “seca de encinas y alcornoques”. Boletín Fitosanitario de Avisos e Informaciones. Servicio de Protección de los Vegetales. Junta de Extremadura, nº 23 (1998).
- Torres Álvarez, E., 1995. Estudio de los principales problemas selvícolas de los alcornoques del macizo del Aljibe (Cádiz y Málaga). Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. Madrid. (Inédita).
- Torres Juan, J. 1985. El *Hyposylon mediterraneum* (De Not) Mill y su comportamiento en los encinares y alcornoques andaluces. Bol. San. Veg. Plagas, 11:185-191.
- Tuset, J. J.; Hinarejos, C.; Mira, J. L.; Cobos, J. M. 1996. Implicación de *Phytophthora cinnamomi* Rands en la enfermedad de la seca en encinas y alcornoques. Bol. San. Veg. Plagas, 22: 491-499.