

Implicación de *Phytophthora cinnamomi* Rands en la enfermedad de la «seca» de encinas y alcornoques

J. J. TUSET, C. HINAREJOS, J. L. MIRA y J. M. COBOS

La encina [*Quercus ilex* L. subsp. *ballota* (Desf.) Samp. (= *Q. rotundifolia* Lam.)] y el alcornoque (*Q. suber* L.) son los principales *Quercus* de la Península Ibérica y ambos cubren, aproximadamente, el 10% de la superficie española. La «seca», es la principal enfermedad que los afecta desde el comienzo de los años 80. Los síntomas más llamativos de la «seca» son: a) decaimiento lento, caracterizado por una caída gradual de las hojas y presencia de ramas parcial o totalmente defoliadas. b) muerte súbita, caracterizada por el secado de ramas, hojas muertas adheridas un tiempo a las ramas y árboles muertos. Estos síntomas son observados siempre, tanto en árboles aislados como en grupo.

A esta enfermedad se le han imputado diversas causas, como: sequedad, inundaciones, hongos e insectos, cambios en el uso del encinar, otros factores bióticos y abióticos. El aislamiento en 1991 y 1995, a partir del suelo y raíces absorbentes, de encinas y alcornoques con síntomas de «seca» de Extremadura, Andalucía Occidental y Castilla-La Mancha del hongo *Phytophthora cinnamomi* Rands, nos ha motivado a investigar si éste es responsable en las condiciones españolas de la «seca», o sea, del oak decline de los *Quercus* spp. Diferentes ensayos de inoculación en plantas jóvenes en el invernadero y en plantas adultas en el campo con *P. cinnamomi* se han desarrollado para conocer mejor la relación patógena entre este hongo y ambas especies de *Quercus*.

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

J. M. COBOS. Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria, c/ Velázquez, 147. 28002 - Madrid.

Palabras clave: *Phytophthora cinnamomi*, «seca», oak decline, *Quercus ilex* subsp. *ballota*, *Q. rotundifolia*, *Q. suber*.

INTRODUCCIÓN

La encina [*Quercus ilex* L. subsp. *ballota* (Desf.) Samp. (= *Q. rotundifolia* Lam.)] y el alcornoque (*Q. suber* L.) son los principales *Quercus* de la Península Ibérica. En Portugal, el *Q. suber* es predominante en áreas forestales y plantaciones de todo el país, especialmente en el Alentejo y Algarve, y en España, ambas especies de *Quercus* cubren aproximadamente el 10% de la superficie total del país y son comunes en Andalucía, Extremadura, Castilla y León

y Castilla-La Mancha, donde domina claramente *Q. ilex* subsp. *ballota*.

En estas áreas, la enfermedad de la «seca» (oak decline) es la principal preocupación a partir de los años 80, tanto en árboles aislados como en grupo (COBOS *et al.*, 1993). No obstante, la amplia distribución de estos dos *Quercus* hace que la «seca» sea un problema de etiología difícil. La «seca» ha sido atribuida principalmente a complicadas asociaciones en la que intervienen factores abióticos debido a la gran variedad de situaciones geográficas, climáticas y culturales que estos árboles toleran, con episodios de llu-

vias (aunque últimamente estas han sido muy escasas) y severas sequías, junto con una utilización excesiva del monte y de la dehesa, así como a la presencia de ataques secundarios de insectos y hongos (BRASIER *et al.*, 1993, COBOS *et al.*, 1993). Sin embargo, el aislamiento a partir del año 1991 del hongo *Phytophthora cinnamomi* Rands en las áreas españolas y portuguesas de encinas y alcornoques afectados por la "seca", tanto del suelo como de raíces absorbentes de árboles enfermos, puede alterar este usual diagnóstico. La presencia y diseminación de este patógeno primario de las raíces de multitud de plantas leñosas puede ser uno de los principales factores que contribuyan a la "seca" de los *Quercus* mediterráneos.

MANIFESTACIÓN DE LA ENFERMEDAD

Las encinas y alcornoques muestran síntomas de decaimiento de la copa que pueden ser clasificados (COBOS *et al.*, 1993) en:

- a) "decaimiento lento" (slow decline), con una caída gradual de las hojas y la presencia de ramas parcial o totalmente defoliadas.
- b) "muerte súbita" (quick decline), con un rápido secado de las ramas, donde las hojas permanecen un tiempo adheridas y árboles completamente muertos. Las hojas muestran un color amarillento o marrón en las primeras etapas de la desecación (Fig. 1 y 2).

Estos síntomas, generalmente, son variables de un área a otra y, algunas veces, hay también exudados gomosos negruzcos en el tronco, pero lo que no se observan, son lesiones corticales en la base del tronco y raíces principales.

Los árboles afectados pueden producir, aunque no siempre, rebrotes a lo largo de las ramas gruesas y del tronco. Generalmente, éstos son de pequeño tamaño y sobreviven durante varios años.

La gravedad de la "seca" varía según los lugares geográficos, así como de la orografía de

la propia área. Es, generalmente, en los suelos con escaso o insuficiente drenaje, situados en los valles, vaguadas y laderas de las colinas, donde el impacto de la enfermedad es más elevado. Por el contrario, en los suelos más profundos, más fértiles, con mayor proporción de materia orgánica, el efecto de la "seca" es escaso y puede ser desestimado. En las partes altas de las colinas y montes bajos, con poco suelo, también esta alteración resulta preocupante.

Aunque no está confirmado, la vegetación del maquis asociada a las encinas y alcornoques, podría tener una relación con la presencia de la "seca" y, también, con su mayor o menor efecto en un área considerada. La observación de plantas de *Cistus* spp., *Lavandula* spp., *Genista* spp., *Erica* spp., etc., desecadas y muertas en los alrededores de árboles afectados por la "seca", ha potenciado esta idea (BRASIER *et al.*, 1993; Cobos *et al.*, 1993).

El efecto de la "seca" depende de las condiciones climáticas. Estas interesan a la incidencia de la enfermedad, a los síntomas mostrados por los árboles alterados, así como a la distribución de la misma. La lluvia anual y, especialmente, la caída durante el verano y el otoño, junto con la sequía condicionan notoriamente la manifestación de la "seca" de nuestros encinares y alcornoques.

ASOCIACIÓN DE *P. CINNAMOMI* CON LA ENFERMEDAD

Las prospecciones realizadas en Andalucía, Extremadura y Castilla-La Mancha en 1991 y 1992 en encinares y alcornoques, detectaron la presencia de *P. cinnamomi*, tanto en el suelo como en raíces absorbentes de árboles afectados por la "seca" (BRASIER, 1992; Brasier *et al.*, 1993; Cobos *et al.*, 1993). Los resultados de los aislamientos fueron bajos (alrededor del 12%) en relación con el número de muestras estudiadas (247) (Cuadro 1) (COBOS *et al.*, 1993). En la prospección efectuada en la primavera y otoño de 1995 en las provincias de Cádiz (alcornoques) y en Toledo, Ciudad Real, Madrid y Ávila (encinas), el número de aislados de *P. cinnamomi* ha sido aún mucho menor (4 únicamente).



Fig. 1.—Encina gravemente afectada por *Phytophthora cinnamomi* en Oropesa (Toledo), mostrando la típica «seca» (oak decline)

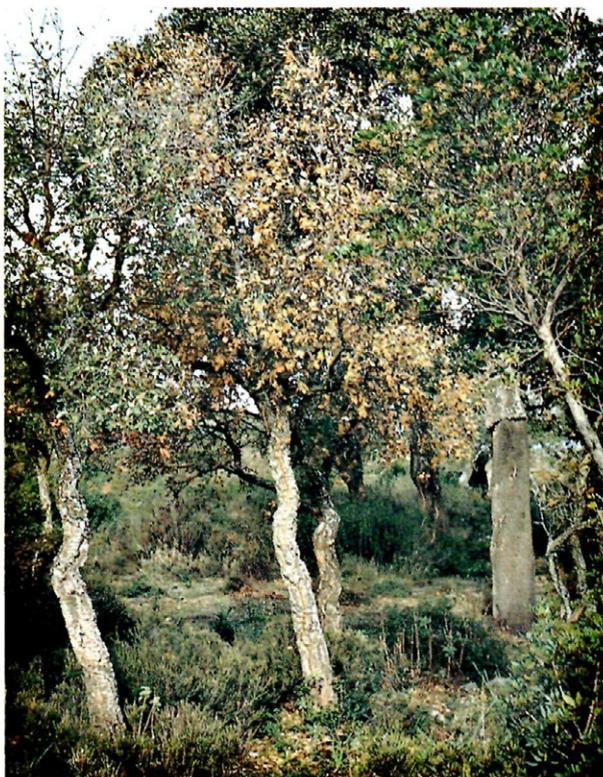


Fig. 2.—Alcornoque muerto con síntomas de muerte súbita (quick decline)

Cuadro 1. Muestras analizadas y aislados obtenidos de *P. cinnamomi* en las prospecciones realizadas en el período septiembre-diciembre 1991 en los montes y dehesas españolas con *Quercus spp.* afectados de «seca»

Especie	Muestra analizadas		Aislados de <i>P. cinnamomi</i> ²	
	Nº de focos	Nº de árboles	Nº. de focos	Nº. de árboles
<i>Q. ilex</i> subesp <i>ballota</i>	53	162	9	10
<i>Q. suber</i>	30	78	14	20
<i>Q. faginea</i>	3	7	—	—

² Los aislamientos de *Phytophthora* realizados, tanto del suelo como de las raíces

La presencia de *P. cinnamomi* en las áreas de encinares y alcornoques, tanto portugueses como españoles, claramente está confirmada, aunque este hongo, por el bajo número de aislamientos obtenidos, demuestra que se encuentra muy disperso y altamente influenciado por las condiciones climáticas, particularmente la falta de lluvia,

que induce un bajo contenido de humedad en el suelo. Factor necesario para el desarrollo del hongo y la formación de sus órganos de reproducción (GISI *et al.*, 1980).

El crecimiento *in vitro* de este hongo produce con rapidez un micelio que presenta numerosas hinchazones en las hifas (hyphal swellings) (Fig. 3) y clamidosporas (Fig. 4).

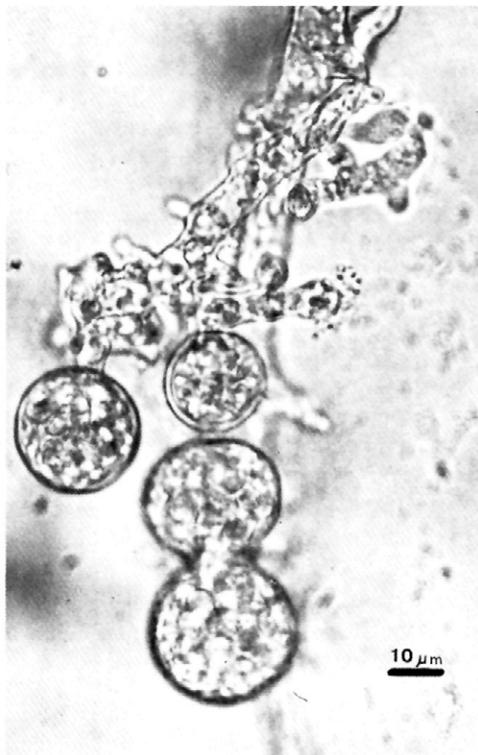


Fig. 3.—*P. cinnamomi*. hyphal swellings anchas y botriosas (dispuetas en racimo)

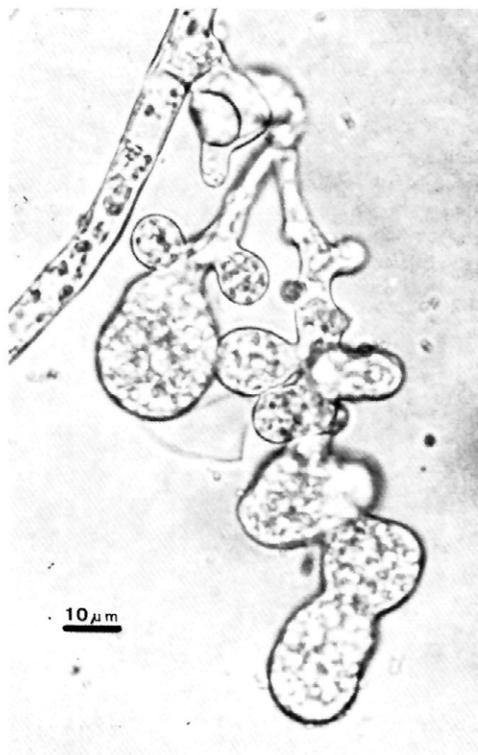


Fig. 4.—*P. cinnamomi*: clamidosporas

Cuadro 2. Infección de plantas jóvenes de *Quercus ilex* subsp. *ballota* y *Q. suber* después de ser regados dos veces por semana hasta la capacidad de campo durante 8 semanas en un suelo infectado y no infectado con micelio de *Phytophthora cinnamomi*.

Tipo de sustrato	% de infección ^z	
	<i>Q. ilex</i> subsp. <i>ballota</i>	<i>Q. suber</i>
Suelo no infectado	0	0
Suelo infectado	28,5	23,5

^z Porcentaje de plantas jóvenes infectadas a los 2 meses de la inoculación. Ninguna planta joven fue muerta por el patógeno

Esto es una característica muy señalada que facilita su identificación con pocas posibilidades de error.

Interacciones entre el huésped y el patógeno

Conocidos los síntomas de la enfermedad manifestados en ambos huéspedes (*Q. ilex* subsp. *ballota* y *Q. suber*) en las condiciones naturales y habiendo aislado, tanto del suelo como de raíces de estas especies, a un agente tan claramente dañino para las plantas leñosas como es *P. cinnamomi*, nos resulta imprescindible conocer la susceptibilidad de ambos *Quercus* a este hongo. Teniendo en cuenta que el desarrollo de la enfermedad y la manifestación de los síntomas dependen del nivel de ataque y de las condiciones que prevalecen mientras se mantienen la interacción huésped-patógeno, es necesario buscar métodos de valoración de la progresión de la enfermedad en el huésped bajo diferentes condiciones. En nuestro caso hemos investigado: a) el efecto del tipo de riego en la infección y mortalidad de las plantas jóvenes; b) el desarrollo de las lesiones en la corteza al ser inoculados árboles adultos con micelio de *P. cinnamomi* en las condiciones de campo.

Inoculación en plantas jóvenes

Todos los experimentos fueron realizados en el invernadero con 20 plantas jóvenes de encinas y 20 de alcornoques en ambos casos de 2 años. Antes de los ensayos las

plantas fueron transplantadas a macetas que contenían un suelo esterilizado al vapor y compuesto de 30% de tierra de vivero y 70% de hojas de pino.

El inóculo de *P. cinnamomi* consistió en semillas de mijo *Panicum miliaceum* L. completamente contaminadas por el micelio y dispuestas, en cantidad de 50 gramos por maceta, en las distintas macetas junto a las raíces de las plantas jóvenes de encina y alcornoque.

Dos tipos de riego fueron utilizados en el experimento: riegos semanales hasta la capacidad de campo e inundaciones (empleando alrededor de 1,5-2,5 l. de agua por maceta de 5 l. de volumen) de 24 horas cada semana durante tres meses.

El riego hasta la capacidad de campo en las macetas no infectadas con *P. cinnamomi* no produjo efectos adversos visibles en las plantas jóvenes de *Q. ilex* subsp. *ballota* y *Q. suber*. La infección radicular fue a los dos meses del 0% en ausencia del patógeno y del 28,5% en las encinas y del 23,5% en los alcornoques procedentes de macetas inoculadas con el hongo. El sistema radical era normal, tanto en su morfología como en el color, en las plantas procedentes de suelo no infectado y, por el contrario, con áreas negruzcas y raicillas totalmente necrosadas en las procedentes de suelo infectado. Diferencias pequeñas en la brotación fueron comprobadas, aunque el alcornoque se mostró mucho más sensible que la encina. Ninguna de las plantas en las macetas infectadas fue muerta (Cuadro 2).

Cuadro.3. Infección y mortalidad de las plantas jóvenes de *Quercus ilex* subsp. *ballota* y *Q. suber* después de ser inundados 24 h. por semana durante 3 meses en un suelo infectado y no infectado con micelio de *Phytophthora cinnamomi*.

Seedlings	Suelo infectado		Suelo no infectado	
	Infección [†]	Mortalidad [†]	Infección [†]	Mortalidad [†]
<i>Q. ilex</i> subsp. <i>ballota</i>	90	64,3	2,5*	0
<i>Q. Suber</i>	54,5	2,5	1,5*	0

[†] Porcentaje de plantas infectadas y muertas a los 4 meses de la inoculación.

* Posiblemente por contaminación accidental de las macetas

La inundación de las macetas en ausencia de *P. cinnamomi* no produjo mortalidad en las plantas jóvenes de ambas especies de *Quercus*, aunque algunas plantas mostraron ligeras necrosis en las raíces. La mortalidad de las plantas en el tratamiento con inundación fue muy interesante en las macetas inoculadas con *P. cinnamomi* (Fig. 5). Esta mortalidad fue del 64,3% en *Q. ilex* subsp. *ballota* y del 2,5% en *Q. suber* (Cuadro 3). El porcentaje de plantas jóvenes infectadas, mostrado necrosis en las raíces, fue del 90% en las encinas y del 54% en los alcornoques. La inundación periódica también afectó el color del sistema radicular. Este se mostró ennegrecido y con áreas, claramente, necrotizadas. No hubo desarrollo o muy escaso de nuevas raíces a partir de las

viejas y las plantas se defoliaron o exhibieron hojas pequeñas.

Inoculaciones en árboles en el campo

Los experimentos se realizaron en las condiciones climáticas mediterráneas (escasa lluvia y temperaturas suaves) en dos áreas boscosas de la provincia de Castellón, zona que hasta el momento actual está exenta de "seca". Un total de 30 árboles adultos de *Q. ilex* subsp. *ballota* (en el término municipal de Jérica) y de 20 de *Q. suber* (en el término municipal de Chovar) fueron elegidos teniendo todos un diámetro del tronco aproximado 13-14 cm. y un buen desarrollo.

El inóculo de *P. cinnamomi* consistió en discos de micelio (0,8 cm. de diámetro) procedentes de cultivos en PDA de 5-7 días. Los árboles fueron inoculados, con un disco cada uno, mediante herida en la corteza del tronco a dos niveles: en el cuello de la raíz (nivel del suelo) y 1,50 m. de altura.

Las encinas inoculadas se dividieron en tres lotes de 10 árboles, uno de los cuales fue regado una vez a los 8 días de la inoculación, otro fue pulverizado con agua también a los 8 días de la inoculación y el tercero no fue regado ni pulverizado con agua. Los alcornoques tampoco fueron regados ni pulverizados con agua. Los controles se realizaron a los 6 meses de la inoculación.

Todos los árboles inoculados, tanto encinas como alcornoques, produjeron importantes chancros en cualquier sistema de irrigación o no irrigación. En *Q. suber*, las lesiones de la



Fig. 5.—Planta de encina de 2 años muerta por *P. cinnamomi*

Cuadro 4. Desarrollo de lesiones corticales (chancro) en alcornoque adultos causados por *Phytophthora cinnamomi* a los 6 meses de la inoculación².

Lugar de la inoculación en el tronco	Superficie del chancro (cm ²)		
	Máxima	Media	Mínima
Nivel del suelo	47	28.4	16
1,50 m. de altura	72	56.8	36

² Durante Abril–Septiembre 1993

Cuadro 5. Desarrollo del chancro en árboles adultos de encina, que han sido no regados y regados, causado por *Phytophthora cinnamomi* a los 6 meses después de la inoculación².

Tratamiento	Area del chancro (cm ²)		
	Máxima	Media	Mínima
Sin riego	120	58,6	20
Un solo riego (80l/árbol)	149	94,8	33
Una sola pulverización (25 l/árbol)	126	93,0	56

² Durante Junio–Noviembre 1993. Árboles inoculados en el tronco a 1,50 m. de altura.

corteza variaron entre los 16 y los 47 cm² (media 24,8 cm²) al nivel del suelo y entre 36 y 72 cm² (media 56,8 cm²) a 1,50 m. de altura (Cuadro 4) (Fig. 6). En *Q. ilex* subsp. *ballota*, estas lesiones 6 meses después de la inoculación, alcanzaron entre 15 y 38 cm² (media 23,2 cm²) a nivel del suelo y entre 20 y 120 cm² (media 58,6 cm²) a 1,50 m. de altura. También en esta misma especie, estos chancros fueron más extensos cuando los árboles fueron regados o pulverizados. En estos casos, el área media de los chancros corticales fueron 94,8 cm² y 93 cm² respectivamente, (Cuadro 5). Estos chancros alcanzaban todo el grosor de la corteza y penetraban en el leño entre 0,8 y 1,3 mm. Ningún síntoma en la copa, como defoliación o amarilleo de las hojas, fue observado en las dos especies de *Quercus* durante todo el período de experimentación.

CONSIDERACIONES

Estos experimentos demuestran que la infección y mortalidad de las plantas jóvenes de encinas y alcornoques en un suelo infecta-



Fig. 6.—Chancro en tronco de alcornoque producido por *P. cinnamomi*. Inoculación artificial con micelio del hongo

do con *P. cinnamomi* se puede producir en diferentes tipos de riego (factor ambiental). En nuestras experiencias el riego normalizado, o sea, hasta la capacidad de campo, llega a alterar el sistema radical. Este es contaminado, pero el subsiguiente desarrollo del hongo no ha sido capaz de destruir una suficiente cantidad de raíces para provocar la muerte de las plantas de ambas especies de *Quercus*.

El riego por inundación periódica (24 h. cada semana) provoca una elevada mortalidad, así como una gran infección de las plantas jóvenes dispuestas en un suelo infectado con *P. cinnamomi*. La encina (*Q. ilex* subsp. *ballota*) con más del 60% de mortalidad y 90% de infección ha sido más afectada que el alcornoque *Q. suber*. En estas plantas, se comprueba un aumento de los daños: las raíces están muy alteradas, con abundantes áreas necrosadas, fuertes defoliaciones y una gran mortalidad. De todas formas, en la técnica de inundación es posible que aparezcan problemas no parasitarios (asfíxia especialmente) que puedan enmascarar o agravar las sintomatologías observadas. También y de acuerdo con MIRCETICH *et al.* (1977), este nivel de virulencia desarrollado por *P. cinnamomi* en los ensayos no es necesario aplicarlo a los árboles establecidos en el

campo. No obstante, es evidente que la inundación del suelo incrementa el ataque a las raíces de *Phytophthora*.

Las inoculaciones con *P. cinnamomi* en los troncos de árboles adultos de encinas y alcornoques, producen destrucción del tejido cortical, particularmente de las capas internas de la corteza, y la amplitud de estas lesiones o chancros está relacionado con el contenido de humedad de los tejidos. Los árboles que han sido tratados con riego al suelo o con pulverización de la copa con agua, en nuestros ensayos han producido mayores chancros que los árboles sin ningún tipo de riego. Esto indica que la introducción del hongo en los tejidos corticales de encinas y alcornoques posibilita su colonización y, que es posible, que *P. cinnamomi*, en las secas condiciones españolas, si ello se produce puede determinar lesiones en las raíces principales y el tronco. No obstante en estos primeros ensayos, no se han observado en los árboles inoculados síntomas de estrés hídricos.

Investigaciones, actualmente en período avanzado de ejecución, se han dispuesto para determinar esquemas de inoculación en plantas adultas de encinas y alcornoques con *P. cinnamomi* a fin de obtener síntomas de estrés hídrico y manifestaciones evidentes de "seca".

ABSTRACT

TUSET, J. J.; HINAREJOS, C.; MIRA, J. L. y COBOS, J. M. 1996: The occurrence of *Phytophthora cinnamomi* in the evergreen oak and cork oak disease. *Bol. San. Veg. Plagas*, **22** (3): 491-499.

The evergreen oak (*Quercus ilex* subsp. *ballota*) and the cork oak (*Q. suber*) are the main oaks of Iberia and both cover approximately 10% of the total Spanish surface. The oak decline ("seca") in these trees has been evidenced since 1980. The more characteristic symptoms of the "seca" are: i) slow decline, with a gradual fall of the leaves, ii) quick decline, with a rapid drying of branches on which dry leaves remain sometimes and dead trees. Both symptoms alway observed either in isolated or in group trees.

The oak decline has been attributed mainly to complexes involving abiotic factors (drought, flood, changes in the traditional use of the woodland, etc.) and secondary attacks by insects and fungi. In 1991 and 1995 year, *Phytophthora cinnamomi* has been isolated from soil and roots of evergreen oak and cork oak affected trees sited in Extremadura, Andalucía and Castilla-La Mancha regions. This fact has induced us to confirm if this fungus is responsible of a decline ("seca") of the *Quercus* in the Spanish conditions. Several trials of seedlings inoculation in the greenhouses and in the adult plants in the field with *P. cinnamomi* has been realized to know the pathogenic interaction between this fungus and both *Quercus* species.

Key words: *Phytophthora cinnamomi*, seca, oak decline, *Quercus ilex* subsp. *ballota*, *Q. rotundifolia*, *Q. suber*.

REFERENCIAS

- BRASIER, C. M. 1992. Oak tree mortality in Iberia. *Nature*, **360**:539.
- BRASIER, C. M.; ROBREDO, F.; FERRAZ, J. F. P. 1993. Evidence for *Phytophthora cinamomi* involvement in Iberian oak decline. *Plant Pathology*, **42**:140-145.
- COBOS, J. M.; MONTOYA, R.; TUSET, J. J. 1993. New damage to the *Quercus* woodlands in Spain. Preliminary evaluation of the possible implication of *Phytophthora cinamomi*. *Proc. Int. Congress "Recent Advances in Studies on Oak Decline"*. *Dipart. di Patologia Vegetale, Università degli Studi, Bari (Italia)*. 163-169 pp.
- GISI, U.; ZENTMEYER, G. A.; KLURE, L. J. 1980. Production of sporangia of *Phytophthora cinamomi* and *P. palmivora* in soils at different matric potentials. *Phytopathology*, **70**:301-306.
- MIRCETICH, S. M.; CAMPBELL, R. N.; MATHERON, M. F. 1977. *Phytophthora* trunk of coast live oak and cork oak trees in California. *Plant Dis. Rep.* **61**:66-70.

(Aceptado para su publicación: 15 marzo 1996)