

PATOGENICIDAD DE HONGOS AISLADOS DEL ALCORNOQUE EN CATALUÑA.

J. LUQUE & I. ÁLVAREZ

DEP. PATOLOGIA VEGETAL. INSTITUT DE RECERCA I TECNOLOGIA AGROALIMENTÀRIES (IRTA).
CENTRE DE CABRILS. CTRA. DE CABRILS S/N. 08348-CABRILS.

RESUMEN

Se realizaron diversas pruebas de patogenicidad en plantas de alcornoque (*Quercus suber* L.), sometidas a dos tratamientos de riego (adecuado y estrés), con 44 cepas fúngicas inoculadas en tronco (32), hoja (8) y raíz (8). Once especies mostraron síntomas patogénicos en tronco y tres en hoja. En tronco, *Botryosphaeria stevensii*, *Phytophthora cinnamomi* y (?)*Discula* sp. causaron la muerte de las plantas inoculadas. El estrés hídrico aumentó los chancros y las necrosis producidos por (?)*Discula* sp. e *Hypoxyylon mediterraneum*, redujo los de *P. cinnamomi* y no afectó a *B. stevensii*, que se mostró muy virulento independientemente del tipo de riego. En hoja, *Dendrophoma myriadea* y (?)*Fusicoccum* sp. fueron los hongos patógenos más destacados. Ambos se vieron afectados negativamente por el estrés hídrico. No se obtuvieron resultados satisfactorios en las inoculaciones en raíz.

P.C.: *Botryosphaeria stevensii*, *Hypoxyylon mediterraneum*, *Phytophthora cinnamomi*, *Quercus suber*, hongos patógenos, decaimiento.

SUMMARY

Forty four fungal strains were used in pathogenicity tests made in trunk (32), leaves (8), and roots (8) of cork oak plants (*Quercus suber* L.) with two irrigation treatments (adequate and stress). Eleven species were found to be pathogenic on trunk and three on leaf. Trunk pathogens such as *Botryosphaeria stevensii*, *Phytophthora cinnamomi*, and (?)*Discula* sp. caused the death of the inoculated plants. Hydric stress increased both canker and necrosis formation by (?)*Discula* sp. and *H. mediterraneum*, reduced the effects of *P. cinnamomi* and had no effect on *B. stevensii*. The latter fungus was a virulent pathogen irrespectively of the irrigation treatment. *Dendrophoma myriadea* and (?)*Fusicoccum* sp. were pathogenic on leaves. Both fungi were negatively affected by the hydric stress. However, no satisfactory results were obtained in the root inoculations.

K.W.: *Botryosphaeria stevensii*, *Hypoxyylon mediterraneum*, *Phytophthora cinnamomi* *Quercus suber*, pathogenic fungi, decline.

INTRODUCCIÓN

El alcornoque (*Quercus suber* L.) es una especie forestal mediterránea muy conocida por su importancia económica y paisajística. Los alcornocales ocupan en España unas 480.000 ha, de las cuales 72.000 ha se encuentran en Cataluña (MONTERO *et al.* 1989). El estudio de las enfermedades de *Q. suber* se ha desarrollado con aportaciones esporádicas. NATIVIDADE (1990) ofreció, en 1950, una primera recopilación de las micosis de *Q. suber* en Portugal. Según este autor, la mortalidad ocasional del alcornoque es fruto de la pérdida de vigorosidad

de los árboles, debida a factores edafoclimáticos, técnicas silvícolas abusivas e infecciones fúngicas posteriores. En España se detectó, a finales de los años cincuenta, un incremento de la mortalidad de *Q. suber* en las provincias de Cádiz y Girona. Esta mortalidad se asoció inicialmente a *Hypoxylon mediterraneum* (TORRES JUAN 1975, 1985; OLIVA Y MOLINAS 1984). Posteriormente se identificaron otros hongos patógenos, *Botryosphaeria stevensii*, en tronco (LUQUE Y GIRBAL 1989), y *Phytophthora cinnamomi*, en raíz (BRASIER *et al.* 1993).

En la actualidad se considera que existe un *decaimiento* que afecta a muchas especies forestales en el mundo, entre ellas *Quercus* (HOUSTON 1987; OEPP/EPP0 1990) y específicamente *Q. suber* (JACOBS *et al.* 1993). El decaimiento es un complejo de enfermedades resultante de la interrelación de diversos factores (base genética, condiciones edafoclimáticas, estado fisiológico de los árboles, ataques de organismos parásitos, etc.) que llevan al debilitamiento progresivo de la planta y pueden conducir a su muerte.

El trabajo presente se debe a la necesidad de incrementar el conocimiento sobre los hongos patógenos del alcornoque y su posible relación con el decaimiento de esta especie en Cataluña.

MATERIAL Y MÉTODOS

- *Material vegetal.* En todos los experimentos, llevados a cabo en invernadero, se utilizaron plantas de alcornoque de unos nueve meses de edad. Las plantas se mantuvieron en contenedores de 1.000 ml llenos de una mezcla de turba y vermiculita (1:1; v:v).

- *Estrés hídrico.* Las inoculaciones se practicaron en dos grupos de plantas con tratamientos hídricos distintos: *riego adecuado* (suficiente) y *estrés hídrico* (insuficiente). Las plantas del primer grupo se regaron un mínimo de dos veces por semana para asegurar la plena disponibilidad de agua. En el segundo grupo se controló el riego con objeto de mantener el potencial hídrico foliar (Ψ_f) por debajo de -1.4 MPa, valor indicativo de estrés hídrico en *Quercus* spp. (OLIVEIRA *et al.* 1992; TERRADAS Y SAVÉ 1992). Cuando los valores de Ψ_f fueron inferiores a -2.2 MPa se procedió a la rehidratación del sustrato.

- *Cepas fúngicas.* De las 153 cepas fúngicas aisladas de alcornoque en el período 1992-1995 (LUQUE *inédito*) se seleccionaron 44, correspondientes a 42 especies, para las pruebas de patogenicidad. El inóculo se preparó en placas de Petri con medio de cultivo incubadas a 25° C. Se inocularon 32 hongos en tronco, 8 en hoja y 8 en raíz.

- *Inoculaciones.* Los experimentos en tronco y hoja se realizaron en grupos de plantas con los dos tratamientos hídricos para determinar la patogenicidad de los hongos en ambas condiciones. Las inoculaciones en raíz se aplicaron sólo a plantas con riego adecuado. Todas las pruebas de patogenicidad se realizaron con diseños totalmente aleatorizados, mediante inoculaciones en grupos de 10 plantas. Para realizar las inoculaciones en tronco, se practicó un corte de 1.5 cm de longitud en el tallo de cada planta. Se dispuso en él un fragmento miceliar de 5 mm de diámetro, obtenido del margen de una colonia en crecimiento activo, y se selló la herida con Parafilm®. En las inoculaciones en hoja, se escogieron tres hojas de cada planta y se erosionó la cutícula de dos ellas. La tercera se dejó intacta para determinar si el hongo podía infectar hojas no erosionadas. Se dispuso sobre cada hoja el inóculo y se protegió el conjunto con Parafilm®. Los ensayos en raíz se realizaron hiriendo el sistema radical de cada planta e inoculando las raíces y el sustrato con 10 ml de un homogeneizado miceliar.

En todos los experimentos se usaron como controles grupos adicionales de 10 plantas tratados de forma similar al resto pero con medios de cultivo estériles.

- *Lectura y análisis de los resultados.* Todos los ensayos de patogenicidad tuvieron una duración de seis meses. En la mitad y al final de cada período experimental se retiraron cinco plantas de cada tratamiento. Se anotaron todos los síntomas externos. Así por ejemplo, en los

ensayos en tronco se contaron el número de plantas muertas, la producción de chancros (heridas de la inoculación abiertas, con muerte de tejidos corticales y subcorticales) y se midió la extensión de las necrosis de los vasos conductores (coloraciones anormales). En la prueba de patógenos de hoja se calculó la superficie necrosada. Para las inoculaciones en raíz, se anotó la existencia de clorosis, marchitez, etc. Posteriormente, se procedió al reaislamiento e identificación de los hongos inoculados, mediante siembra en placa de fragmentos vegetales infectados que habían sido sometidos previamente a una esterilización en superficie con etanol (70°).

Los datos se analizaron estadísticamente con el programa estadístico SYSTAT, mediante análisis de la varianza y prueba de Dunnett de comparación de medias (SYSTAT 1992).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los ensayos de patogenicidad en tronco y hoja, los valores del Ψ_f de las plantas con estrés hídrico oscilaron entre -0.4 y -3.1 MPa con un valor medio de -1.3 MPa, lo que refleja la existencia de un estrés hídrico suave con episodios drásticos. Los valores medios para los grupos con riego adecuado fueron de -0.4 MPa, propios de plantas sin estrés (OLIVEIRA *et al.* 1992; TERRADAS Y SAVÉ 1992).

Los resultados de las inoculaciones en tronco, hoja y raíz se muestran en las Tablas 1-3. Catorce de las 42 especies probadas resultaron ser patógenas. Once de ellas lo fueron en tronco: *Botryosphaeria stevensii*, *Diatrype stigma*, *Endothia gyrosa*, *Fusarium solani*, *Graphium* sp., *Hypoxylon mediterraneum*, *Ophiostoma piceae*, *Phytophthora cinnamomi*, *Sporendocladia bactrospora*, (?)*Discula* sp. y el celomiceto no determinado 183 (Tabla 1). *Dendrophoma myriadea*, *Lembosia quercina* y (?)*Fusicoccum* sp. se mostraron patógenas en hoja (Tabla 2). En el experimento de patógenos de raíz no se observó ningún síntoma que permitiera asegurar la patogenicidad de ninguno de los hongos ensayados (Tabla 3).

Botryosphaeria stevensii, *P. cinnamomi* y (?)*Discula* sp. fueron los patógenos de tronco más virulentos; especialmente *B. stevensii*, que causó la muerte, en ambos ensayos, de todas las plantas a las dos semanas de haber sido inoculadas y provocó chancros y necrosis extensos (Tabla 1). *Phytophthora cinnamomi* y (?)*Discula* sp. también causaron una mortalidad significativa (entre el 50 % y el 100 % de las plantas, según ensayo y hongo), acompañada de chancros y necrosis internas considerables. Las necrosis y chancros del resto de especies patógenas presentaron dimensiones generalmente menores. En estos casos, la mortalidad de las plantas no fue estadísticamente significativa. El estrés hídrico aumentó los daños producidos por (?)*Discula* sp. e *H. mediterraneum*, redujo los de *P. cinnamomi* y no afectó a *B. stevensii*. El resto de los hongos, en general, se vio afectado negativamente por el estrés.

Los hongos patógenos de hoja sólo mostraron su patogenicidad cuando la hoja había sido dañada previamente (Tabla 2). *Dendrophoma myriadea* y (?)*Fusicoccum* sp. produjeron grandes áreas necróticas y se reaislaron con frecuencia. El estrés hídrico redujo los efectos de ambos hongos, especialmente los de *D. myriadea*. *Lembosia quercina* causó lesiones de características distintivas aunque de superficie no significativa.

Según los resultados obtenidos, *B. stevensii*, *D. myriadea*, *L. quercina* y *P. cinnamomi* deben ser considerados como patógenos primarios de *Q. suber*, mientras que (?)*Discula* sp. e *H. mediterraneum* son patógenos secundarios. Éstos últimos aumentan su virulencia cuando el huésped es sometido a estrés hídrico. La patogenicidad de *B. stevensii* en *Q. suber* así como su amplia distribución en los alcornoques catalanes (LUQUE *inédito*) hacen que este hongo pueda ser considerado como el principal problema fitopatológico de los alcornoques de Cataluña. *Hypoxylon mediterraneum* también tiene una amplia distribución en las masas de *Q. suber*. La sequía estival, fenómeno común en estos bosques, probablemente intensifica los

daños causados por este hongo. Por otra parte, *P. cinnamomi*, un patógeno muy virulento (ZENTMYER 1980), es poco frecuente en los alcornoques catalanes. Los patógenos foliares *D. myriadea* y *L. quercina* no provocan la mortalidad de las plantas pero en algunos casos llegan a afectar un porcentaje alto de la superficie foliar, por lo que reducen la capacidad fotosintética de los árboles.

La importancia de los hongos patógenos del alcornoque debe valorarse de acuerdo con los efectos producidos individualmente en las plantas y en el conjunto de las poblaciones naturales. En este sentido, *B. stevensii* e *H. mediterraneum* son probablemente los dos hongos patógenos más importantes de los alcornoques catalanes en la actualidad.

BIBLIOGRAFÍA

BRASIER, C.M.; ROBREDO, F.; FERRAZ, J.F.P. (1993). Evidence for *Phytophthora cinnamomi* involvement in Iberian oak decline. *Plant Pathology* 42: 140-145.

HOUSTON, D.R. (1987). Forest tree declines of past and present: Current understanding. *Canadian Journal of Plant Pathology* 9: 349-360.

JACOBS, K.A.; ÁLVAREZ, I.F.; LUQUE, J. (1993). Association of soil, site and stand factors with decline of *Quercus suber* in Catalonia. In: *Recent advances in studies on oak decline*: 193-203. N. Luisi, P. Lerario, A. Vannini, eds. *Tipolitografía Radio-Putignano*, Bari.

LUQUE, J.; GIRBAL, J. (1989). Dieback of cork oak (*Quercus suber*) in Catalonia (NE Spain) caused by *Botryosphaeria stevensii*. *European Journal of Forest Pathology* 19: 7-13.

MONTERO, G.; ZULUETA, J. DE; GONZÁLEZ-ADRADOS, J.R. (1989). Alcornocales españoles. Conocimientos de su silvicultura y temas de necesaria investigación. *Scientia Gerundensis* 15: 63-84.

NATIVIDADE, J.V. (1990). Subericultura. 2ª ed. *Ministério da Agricultura, Pescas e Alimentação*. Lisboa. 387 pp.

OEPP/EPPO (1990). Oak decline and the status of *Ophiostoma* spp. on oak in Europe. *OEPP/EPPO Bulletin* 20: 405-422.

OLIVA, M.; MOLINAS, M.L. (1984). Incidencia de *Hypoxylon mediterraneum* en los alcornoques gerundenses. *Boletín Estación Central Ecología ICONA* 13: 9-16.

OLIVEIRA, G.; CORREIA, O.; MARTINS-LOUÇÃO, M.A.; CATARINO, F.M. (1992). Water relations of cork-oak (*Quercus suber* L.) under natural conditions. *Vegetatio* 99-100: 199-208.

SYSTAT (1992). SYSTAT for Windows: Statistics, Version 5 Edition. *SYSTAT Inc.* Evanston. 750 pp.

TERRADAS, J.; SAVÉ, R. (1992). The influence of summer and winter stress and water relationships on the distribution of *Quercus ilex* L. *Vegetatio* 99-100: 137-145.

TORRES JUAN, J. (1975). Principales enfermedades de nuestras especies forestales. *Escuela Técnica Superior Ingenieros de Montes*. Madrid. 265 pp.

TORRES JUAN, J. (1985). El *Hypoxylon mediterraneum* (De Not.) Mill. y su comportamiento en los encinares y alcornoques andaluces. *Boletín Servicio Plagas* 11: 185-191.

ZENTMYER, G.A. (1980). *Phytophthora cinnamomi* and the diseases it causes. *APS Press*. St. Paul. 96 pp.

ESPECIE ¹	RIEGO ADECUADO				ESTRÉS HÍDRICO			
	Plantas muertas ²	Plantas c. chancro ²	Recup. miceliar ²	Necrosis ³ (cm)	Plantas muertas ⁴	Plantas c. chancro	Recup. miceliar	Necrosis (cm)
Control	-	-	-	0.1-0.2	+/-	-	-	0.1-0.1
<i>Armillaria</i> sp.	-	-	-	0.2-0.5	-	+/-	-	0.2-0.7
<i>Botryosphaeria stevensii</i> ⁵	+	+	+	21.0	+	+	+	18.2
<i>Brachydesmiella</i> sp.	-	+/-	-	0.3-0.1	-	-	-	0.3-0.1
<i>Coryneum quercinum</i>	-	+/-	+	0.6-0.7	+/-	+	+/-	0.4-0.7
<i>Coryneum umbonatum</i>	-	+/-	-	0.2-0.6	-	-	+/-	0.2-0.3
<i>Dactylaria purpurella</i>	-	-	+/-	0.2-0.3	-	-	-	0.3-0.1
<i>Dendryphion comosum</i>	-	-	-	0.3-0.7	-	-	-	0.1-0.1
<i>Diatrype stigma</i>	-	+	+	0.9-1.3	+/-	+	-	1.7-1.1
(?) <i>Didymella</i> sp.	-	-	+/-	0.4-1.0	-	+/-	+/-	0.5-1.0
(?) <i>Discula</i> sp.	-	+	+	1.8-3.7	+	+	+	3.2-4.0
<i>Endothia gyrosa</i>	-	+	+	2.7-4.2	+/-	+	+	0.9-1.4
<i>Fusarium solani</i> 91	-	+	+	3.6-4.8	-	+	+	3.9-4.6
<i>Fusarium solani</i> 138	-	+	+	3.9-4.2	-	+	+	1.9-1.2
<i>Fusarium solani</i> 143	-	+/-	+	1.3-2.5	-	-	+	0.3-0.4
(?) <i>Fusicoccum</i> sp.	-	+	-	1.3-2.5	-	+/-	-	0.3-0.4
<i>Graphium</i> sp.	-	+/-	+	5.0-4.8	+/-	+	+	1.1-2.3
<i>Helminthosporium microsorum</i>	-	-	-	0.9-0.9	+/-	-	-	0.3-0.3
<i>Hypoxyton mediterraneum</i>	-	+	+	2.7-2.8	+/-	+	+	5.7-5.4
<i>Melanomma pulvis-pyrius</i>	-	-	-	0.3-0.3	-	-	-	0.2-0.4
<i>Ophiostoma piceae</i>	-	+	+	1.6-2.1	-	+/-	+	0.6-1.6
<i>Pestalotiopsis guepinii</i>	-	-	+/-	0.4-1.2	-	-	-	0.2-0.3
<i>Petriella guttulata</i>	-	+/-	+	0.4-0.5	-	+/-	+	0.2-0.7
<i>Phoma</i> sp.	-	+/-	+	0.8-0.9	+/-	+/-	-	0.3-0.8
<i>Phytophthora cinnamomi</i>	+/-	+	+	9.4-3.4	+/-	+	-	1.6-0.8
<i>Splanchnonema</i> sp.	-	+/-	-	0.1-0.3	-	-	-	0.1-0.1
<i>Sporendocladia bactrospora</i>	-	+	+	2.7-4.1	+/-	+	+	1.5-1.1
<i>Thyridaria macrostomoides</i>	-	+/-	-	0.3-0.4	-	+	-	0.2-0.2
<i>Verticillium</i> cf. <i>lamellicola</i>	-	-	+/-	0.1-0.3	-	-	-	0.2-0.1
<i>Verticillium tenerum</i>	-	-	+	0.4-0.3	-	+/-	+	0.8-0.9
Ascomiceto no determinado 168	-	-	-	0.1-0.1	-	+	-	1.6-0.5
Celomiceto no determinado 183	-	+	+	0.9-1.0	-	+	+/-	1.5-1.6
Hifomiceto no determinado 141	-	-	+/-	0.3-0.6	-	-	-	0.2-0.2

(1): Ocasionalmente se añade el número de cepa.

(2): Conjunto de dos lecturas, tres y seis meses después de las inoculaciones. Equivalencia de los símbolos: -: de 0 a 2 plantas; +/-: de 3 a 6 plantas; +: de 7 a 10 plantas.

(3): El primer valor indica la necrosis tres meses después de la inoculación mientras que el segundo corresponde al final del experimento. En negrita, diferencia significativa ($p \leq 0.05$) respecto al valor medio del grupo control.

(4): Sólo las frecuencias de plantas muertas por *B. stevensii* y (?)*Discula* sp. fueron significativamente distintas de las registradas en el grupo control ($p \leq 0.05$).

(5): Tres semanas después de la inoculación.

Tabla 1. Sintomatología, recuperación miceliar y necrosis total media de las pruebas de patogenicidad en tronco de plantas de *Quercus suber* mantenidas bajo dos tratamientos de riego distintos.

ESPECIE ¹	SUPERFICIE MEDIA DE LA NECROSIS (mm ²)			
	Riego adecuado		Estrés hídrico	
	Con erosión cuticular	Sin erosión cuticular	Con erosión cuticular	Sin erosión cuticular
Control	11.3	0.0	19.9	0.0
<i>Dendrophoma myriadea</i>	50.1	2.0	15.8	0.3
(?) <i>Fusicoccum</i> sp.	56.0	0.0	32.5	0.0
<i>Hypoxylon mediterraneum</i>	4.6	0.0	21.0	0.0
<i>Lembosia quercina</i>	14.3	0.0	12.4	0.4
Hifomiceto no determinado 133	10.8	0.0	14.8	0.0
Hongo miceliar no determinado 78	6.9	0.0	14.1	0.0
Hongo miceliar no determinado 132	10.8	2.5	7.3	0.0
Hongo miceliar no determinado 134	11.0	0.0	27.2	2.8

(1): Ocasionalmente se añade el número de cepa.

Tabla 2. Superficie media de la necrosis foliar en plantas de *Quercus suber* mantenidas bajo dos tratamientos de riego distintos e inoculadas con diversos hongos. En negrita, valores significativamente mayores que el control ($p \leq 0.05$).

ESPECIE ¹	VIABILIDAD DEL INÓCULO	SÍNTOMAS EXTERNOS ^{2,3}	RECUPERACIÓN DEL MICELIO ³
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>querci</i>	si	-	+
<i>Fusarium solani</i>	si	-	+
<i>Phytophthora cinnamomi</i>	si	-	+
<i>Pythium</i> sp. 1 39	si	-	-
<i>Pythium</i> sp. 2 122	si	-	-
<i>Verticillium tenerum</i>	si	-	-
Hongo miceliar no determinado 124	si	-	-
Hongo miceliar no determinado 184	si	-	-

(1): Ocasionalmente se añade el número de cepa.

(2): Cualquier síntoma: clorosis, marchitez, etc.

(3): Equivalencia de los símbolos: -: de 0 a 2 plantas; +/-: de 3 a 5 plantas; +: de 6 a 10 plantas.

Tabla 3. Sintomatología y recuperación miceliar de hongos inoculados en raíz de *Quercus suber*.