

Dispersión por vía aérea de esporas de *Diplodia pinea* en tres localidades de la cornisa cantábrica

E. ITURRITXA, R. GANLEY

Se realiza un registro semanal de los conidios de *Diplodia pinea* capturados en trampas diseñadas para recoger esporas por impactación. Las trampas se ubicaron en tres localidades representativas de la zona agro climática atlántica donde se ubica el 97 % de la superficie de Pino radiata en el País Vasco: Balmaseda con un nivel alto de infección (>60 % de los árboles con síntomas de infección), Laukiniz con un nivel medio (25 % de los árboles infectados) y Lezama con un nivel de infección bajo (<10% de árboles con síntomas de la enfermedad). En las tres localidades, las capturas son significativamente más elevadas durante el periodo primaveral, y dentro de este periodo es el mes de abril el de cifras más altas de captura. Los niveles más bajos de esporas ocurrieron entre los meses de noviembre y febrero. Se realiza una correlación entre el número de esporas capturadas y las condiciones climáticas locales. Específicamente la precipitación, humedad y temperatura se correlacionan positivamente. De acuerdo con estos resultados se recomienda realizar la poda y otras actividades forestales que puedan implicar daños mecánicos en los árboles, durante los periodos invernales, cuando el inóculo de *D. pinea* es más bajo y las bajas temperaturas dificultan los procesos de infección.

E. ITURRITXA. NEIKER tecnalia. Granja Modelo de Arkaute. Apartado 46. CP01080 Vitoria, Spain. R. GANLEY. Ensis, Scion, Rotorua, Private Bag 3020, New Zealand.

Palabras clave: Trampa de esporas, precipitación, temperatura, *Pinus radiata*.

INTRODUCCIÓN

La infección de yemas, “*Sphaeropsis* shoot blight”, es una enfermedad fúngica que afecta frecuentemente a plantaciones de *Pinus radiata* en la Comunidad Autónoma Vasca. La enfermedad causada por el hongo *Diplodia pinea* (Fr.:Fr.) Dyko & Sutton (*Diplodia pinea* (Desm.) Kickx), está también presente en Estados Unidos, Canadá, África, Nueva Zelanda, Europa, Chile y Australia, donde causa daños sustanciales en una amplia variedad de especies de coníferas exóticas y nativas (CHOU, 1987; CHOU and MACKENZIE, 1988; PAOLETTI, DANTI and STRATI, 2001; PETERSON 1981; SWART and WINGFIELD, 1991; SWART, KNOX-DAVIES and WINGFIELD, 1985).

D. pinea es un hongo capaz de infectar material vegetal de todas las edades y todo tipo de tejidos (PALMER and NICHOLLS, 1985; PETERSON, 1981; SWART and WINGFIELD, 1991). El incremento de la sensibilidad a este patógeno puede ocurrir debido a diversos factores de predisposición a la enfermedad como sequía, daños físicos y otros factores de estrés ambiental (BLODGETT, KRUGER and STANOSZ, 1997; CHOU, 1987; NICHOLLS and OSTRY, 1990; PAOLETTI, DANTI and STRATI, 2001; WINGFIELD, 1980). Los síntomas se manifiestan en una reducción de la germinación de las semillas, desecación de las yemas, muerte de las guías, deterioro del sistema radicular y puede llegar a desencadenar la muerte de la planta (CHOU, 1987; PALMER and NICHOLLS, 1985; PETERSON,

1981; WINGFIELD, 1980). En la Comunidad Autónoma Vasca, los daños causados por la enfermedad provocada por *D. pinea*, están frecuentemente asociados con el azulamiento de la madera, reduciendo su calidad considerablemente.

El control de *D. pinea* resulta complicado porque es capaz de sobrevivir en acículas, brotes y piñas durante un periodo prolongado de tiempo (PETERSON, 1981). En general, los métodos de control implican la aplicación de fungicidas, irrigación, poda y fertilización de los árboles débiles (PETERSON, 1981; SWART and WINGFIELD, 1991; SWART, KNOX-DAVIES and WINGFIELD, 1985), aunque estudios recientes muestran que la fertilización puede disminuir la resistencia del hospedador (BLODGETT, HERMS and BONELLO, 2005). La poda puede mejorar la apariencia general del árbol al eliminar las ramas con síntomas. Sin embargo, las heridas generadas por esta actividad pueden incrementar los niveles de infección al proporcionar vías fáciles de entrada para el hongo. (CHOU and MACKENZIE, 1988).

La estación de tala y poda tienen una influencia significativa en el éxito de la infección de *D. pinea*, y la dispersión de esporas se ha correlacionado con la estación lluviosa en diversos países (CHOU and MAC-

KENZIE, 1988; PETERSON, 1981; SWART and WINGFIELD, 1991; SWART, WINGFIELD and KNOX-DAVIES, 1987). Por lo tanto, para minimizar la infección de *D. pinea* a través de actividades forestales, es importante entender la dinámica de dispersión de esporas y las condiciones ambientales favorables para la infección con el objeto de que aquellas actividades susceptibles de provocar daños mecánicos puedan ser temporalmente desplazadas a épocas en las que el riesgo de infección es bajo. El objetivo de este estudio fue registrar la frecuencia de esporas en el aire de *D. pinea* en tres plantaciones de la Comunidad Autónoma Vasca, representativas de la climatología de la cornisa cantábrica, para determinar cuando se producían los picos de esporulación a lo largo del año y facilitar las predicciones del riesgo de infección vía aérea con el fin de mejorar el manejo de las plantaciones.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se seleccionaron tres plantaciones de *Pinus radiata* en la zona agroclimática atlántica de la Comunidad Autónoma Vasca, para realizar el registro del nivel de esporas en el aire en un periodo anual. Dos de las localidades se ubican en la provincia de Viz-



Figura 1. Algunos síntomas característicos de la presencia de *Diplodia pinea*. De izquierda a derecha: Desecación de ramas. Picnidios invadiendo las escalas de las piñas. Desecación de las acículas con las fructificaciones visibles. (Ilustradora: Araiz Mesanza).

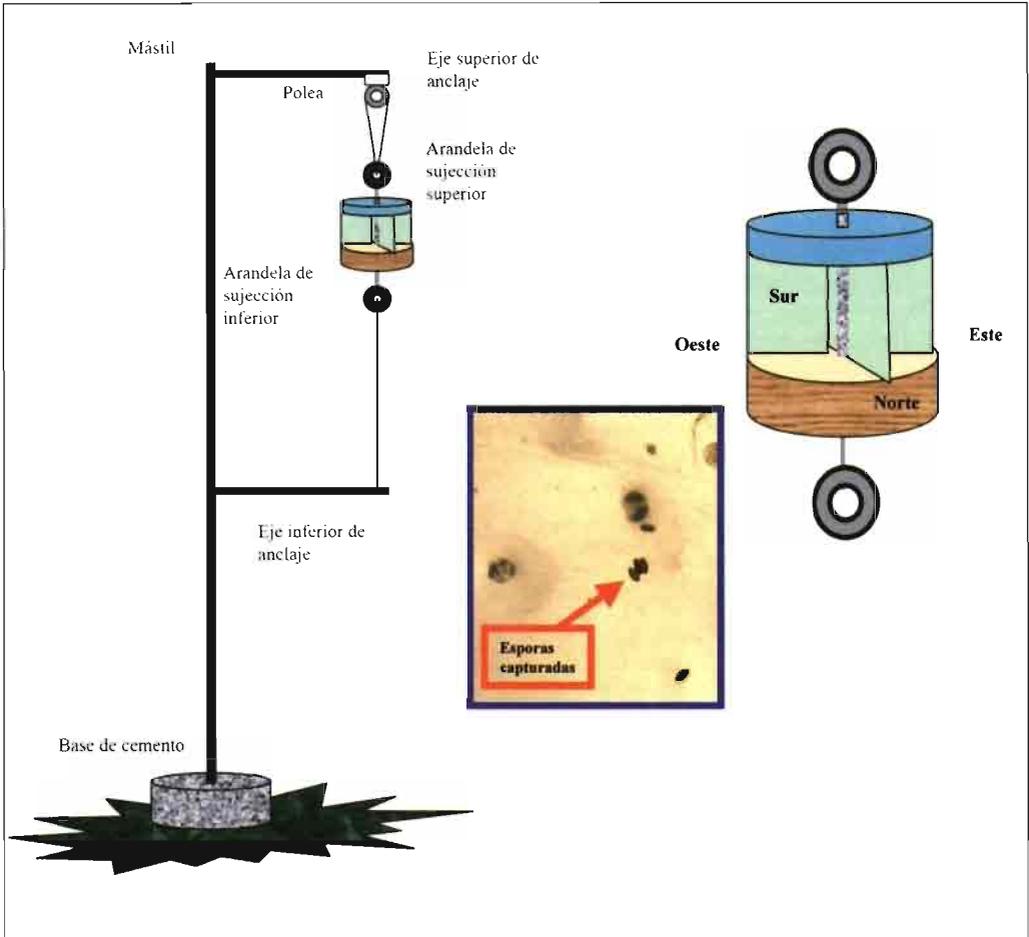


Figura 2. Diagrama esquemático de la trampa de esporas (diseño E. Iturritxa).

caya (Balmaseda y Laukiniz) y la tercera en un área más interior, Lezama, en la provincia de Álava. Los niveles de síntomas de infección por *Diplodia* para cada plantación en las tres localidades son los siguientes: Balmaseda, más de un 35% de los árboles con síntomas de la enfermedad; Laukiniz, menos de un 10% de los árboles sintomáticos y Lezama, con aproximadamente un 25% de los árboles con síntomas visibles de la enfermedad. Las trampas de esporas ubicadas en cada área fueron monitorizadas semanalmente. En la Figura 1 se muestran algunos síntomas característicos de la enfermedad.

Las trampas de esporas diseñadas y utilizadas en este estudio fueron construidas siguiendo el diseño de la Figura 2. Los portaobjetos de microscopía se impregnaban con una capa fina de glicerina sobre la que quedan adheridas las esporas que al viajar por vía aérea impactaban sobre la superficie del portaobjetos. Se colocan sobre cada trampa cuatro portaobjetos en posición vertical en las ranuras de la base de la trampa. La posición vertical aumentaba la eficacia en la captura evitando la alta deposición de restos desechables que se produce en las posicionadas horizontalmente. Los portaobjetos eran

reemplazados y examinados semanalmente en el laboratorio. Un cubreobjetos se coloca en la parte central del portaobjetos y bajo un microscopio se determina, por conteo, el número de esporas en la superficie del cubreobjetos. Un área de observación equivalente a 18 mm². Se calcula la media de las esporas en los cuatro portaobjetos por trampa, semanalmente y por localidad estudiada. Las esporas de *D. pinea* se distinguen morfológicamente de otras esporas capturadas y debido a su tamaño y coloración no se requiere la tinción de la preparación.

Para realizar la correlación de la densidad de esporas con las condiciones meteorológicas, se solicitaron los datos para las tres localidades del estudio del Servicio Vasco de Meteorología. Los parámetros utilizados fueron: temperatura (°C), precipitación (mm), porcentaje de humedad y la velocidad media del viento (m/s). Los datos meteorológicos (suministrados con una periodicidad de 10 minutos) fueron transformados a medias semanales de acuerdo a la correlación semanal con los datos obtenidos de esporulación. El análisis estadístico fue llevado a cabo utilizando SYSTAT versión 9 (SPSS, Chicago, USA). El test de Shapiro-Wilk fue utilizado como

test de la normalidad en las variables y la variable número de esporas fue transformada a Log10. El Análisis de la Varianza fue aplicado a la variable transformada pero, debido a las diferencias significativas de esporas capturadas entre localidades, los datos se analizaron por separado. Los datos transformados para cada localidad fueron agrupados por estaciones, en base a los resultados estadísticos que se fueron obteniendo durante el análisis: primavera (21 de marzo – 20 de junio), verano (21 de junio – 20 de septiembre), otoño (21 de septiembre – 20 de diciembre) e invierno (21 de diciembre – 20 de marzo). Los datos fueron sometidos a un Análisis de Varianza y un procedimiento de Tukey (nivel de significación de un 5%), para determinar la variación en el número de esporas capturadas entre estaciones. Para examinar la interacción de la temperatura, precipitación, humedad y velocidad del viento, en la variable dependiente, número de esporas, estos cuatro factores junto con la variable estación, fueron sometidos a una regresión múltiple “backward stepwise” o “paso a paso hacia atrás” ($P = 0.15$) para determinar la influencia de los factores significativos (R^2).

Cuadro 1. Análisis estadístico del número de esporas capturadas.

	Balmaseda	Laukiniz	Lezama
AOV - Estación (P)	0.000	0.031	0.000
Significancia entre estaciones^a			
Primavera	a	a	a
Verano	b	a, b	b
Otoño	b	b, c	c
Invierno	b	c	b, c
Regresión			
Estación (P)	0.000	0.036	0.006
Velocidad del viento (P)	0.143	0.587	0.579
Temperatura (P)	0.461	0.278	0.013
Humedad (P)	0.046	0.901	0.533
Rainfall (P)	0.045	0.921	0.817
R^2 ^b	0.571	0.201	0.473

^a Tukey's W procedimiento ($P = 0.05$), estaciones con la misma letra no son significativamente diferentes.

^b Determinada utilizando sólo factores significativos.

RESULTADOS

El número de esporas capturadas de *D. pinea*, en el periodo de un año en la Comunidad Autónoma Vasca fue significativamente diferente en las cuatro estaciones (Primavera, Verano, Otoño e Invierno) en las tres localidades estudiadas (Balmaseda, Laukiniz y Lezama) (Cuadro 1). El número de esporas capturadas fue a su vez significativamente diferente en las tres localidades ($P = 0.000$), en Balmaseda se registran 9 veces más esporas de *D. pinea* que las atrapadas en Laukiniz y casi cuatro veces más esporas que las capturadas en Lezama. En las tres localidades, el pico más alto de esporas se produce durante la primavera (21 de marzo – 20 de junio) y fue significativamente superior al de las otras estaciones, con la excepción del verano en la localidad de Laukiniz (Cuadro 1, Figura 3).

En primavera, fue abril el mes con el nivel más alto de esporas registradas en las tres localidades. (Figura 3).

Para determinar si existe correlación entre el número de esporas capturadas de *D. pinea* y los factores meteorológicos locales (temperatura, precipitación, velocidad del viento y humedad) se realiza un análisis de regresión múltiple. En la localidad de Balmaseda, las variables independientes de precipitación, humedad y velocidad del viento, muestran una interacción significativa con el número de esporas capturadas (Cuadro 1). Con el factor estación, explica un 57 % de la variación en los niveles de esporas (Cuadro 1). En Lezama, la variable independiente temperatura se correlaciona significativamente con las esporas capturadas (Cuadro 1), aunque no se observa una interacción significativa con el resto de los factores climáti-

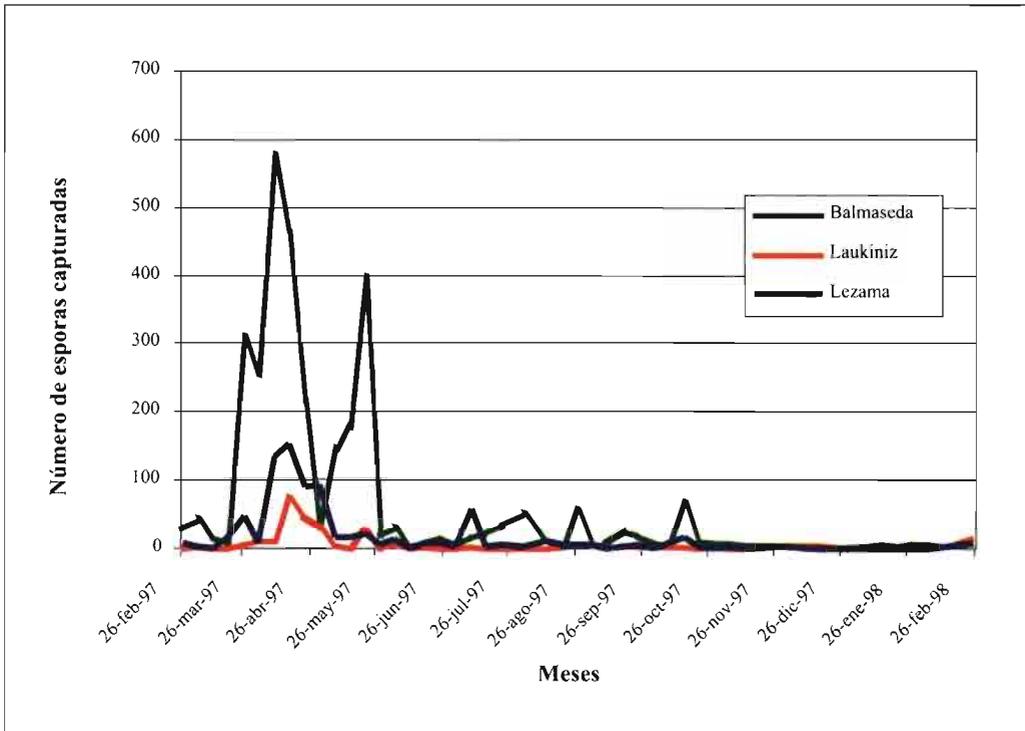


Figure 3. Número de esporas de *Diplodia pinea* capturadas en el periodo de un año en las tres localidades estudiadas.

cos estudiados. Los factores de temperatura y estación juntos, explican un 47% de la variación detectada en el número de esporas capturadas. Sin embargo, no se detecta interacción alguna entre los niveles de esporas capturadas y las variables meteorológicas consideradas en la localidad de Laukiniz. El único factor significativo fue la estación, el cual podía explicar un 20% de la variación en el número de esporas de *D. pinea* capturadas.

DISCUSIÓN

En este estudio se detectan diferencias significativas en el número de esporas de *Diplodia pinea* capturadas en el aire, en las diferentes estaciones del año. En cada una de las localidades en estudio: Balmaseda, Laukiniz y Lezama, la mayor cantidad de esporas capturadas fue registrada durante la primavera en el mes de abril. Estos resultados concuerdan con los estudios de dispersión aérea de esporas de *D. pinea* llevados a cabo en otros países, los que han mostrado, a su vez, los niveles de esporas más elevados durante los meses de primavera y verano, (CHOU and MACKENZIE, 1988; PALMER, MCROBERTS and NICHOLLS, 1988; SWART and WINGFIELD, 1991; SWART, WINGFIELD and KNOX-DAVIES, 1987).

Las cifras más altas en número de esporas capturadas se detectaron en Balmaseda, donde el número era nueve veces superior al número de esporas registradas en Laukiniz y cuatro veces superior al obtenido en Lezama. Esta diferencia en el número de esporas entre localidades podría corresponderse con los distintos niveles de daños asociados a esta enfermedad en las plantaciones estudiadas. En Balmaseda sobre un 35% de los árboles mostraban síntomas claros de la enfermedad con menos de un 10% en la localidad de Laukiniz y un 25% en Lezama. Si embargo, es muy probable que otros factores ambientales e inherentes a la ubicación de las parcelas estuvieran implicados.

En Sudáfrica se ha encontrado que la dispersión de esporas de *D. pinea* está asociada a la precipitación, con los niveles más altos de esporulación registrados en las épocas en la que las precipitaciones se producen seguidas de altas temperaturas (SWART and WINGFIELD, 1991). Para determinar la influencia de las condiciones meteorológicas en la dispersión de esporas en la Comunidad Autónoma Vasca se consideran los parámetros de velocidad del viento, humedad, temperatura y precipitación para cada localidad. En Balmaseda, el número de esporas registradas fue encontrado significativamente correlacionado con la precipitación y humedad ambiental. Sin embargo, los resultados obtenidos en la localidad de Laukiniz no mostraron correlación con ninguno de los parámetros meteorológicos estudiados y para Lezama, el número de esporas se correlacionaba con la temperatura. En general, estos resultados apoyan una interacción entre las condiciones meteorológicas y la dispersión de esporas de *D. pinea*, aunque la relación exacta no está muy clara. Es posible que una correlación más precisa entre precipitación y temperatura no se haya detectado debido a aspectos microclimáticos asociados a las localidades.

En vista de estos resultados, se recomienda limitar las actividades forestales susceptibles de ocasionar heridas, como la tala y la poda, durante la estación primaveral. Se recomienda realizar este tipo de actividades durante los meses de invierno, entre noviembre y febrero, cuando se detectan los niveles más bajos de esporas en el aire. Además de que estudios previos han mostrado que las infecciones por *D. pinea* se reducen durante los meses de invierno como consecuencia de la disminución de temperaturas que reduce la tasa a la cual el patógeno coloniza los tejidos del hospedador (SWART and WINGFIELD, 1991). Se recomiendan a su vez las prácticas de saneamiento tales como las podas, entresacas, tala o eliminación de árboles enfermos para reducir los niveles de inóculo de *D. pinea* en el ambiente.

ABSTRACT

ITURRITXA E., R. GANLEY. 2007. Airborne dispersal of *Diplodia pinea* spores in three locations from the Cantabrian coast. *Bol. San. Veg. Plagas*, **33**: 383-390.

A weekly record of *Diplodia pinea* spores captured in the air was carried out. Spores traps were designed to collect spores by impact. Traps were assembled in three representative localities of the Atlantic climatic area where is grown 97% of the *Pinus radiata* surface in the Basque Country: Balmaseda with the highest affectation level (> 35% of the trees with symptoms of the disease), Laukiniz with the lowest affectation level (< 10% of trees with symptoms of this disease) Lezama with middle level (25% of the trees with symptoms). In all three locations, there were significantly more spores trapped over spring, with the highest number of spores recorded in April. The lowest number of spores occurred from november until February. A correlation between the number of spores captured and climate conditions was determined. Specifically, rainfall and humidity, and temperature were positively correlated. In view of these results it is recommended that pruning or other injury-related forestry activities should be avoided during spring. Instead, such activities should be best performed during winter months when *D. pinea* inoculum is low and the cooler temperatures are less likely to facilitate infection.

Key words: spore traps, rainfall, temperature, *Pinus radiata*.

REFERENCIAS

- BLODGETT, J. T., E. L. KRUGER and G. R. STANOSZ. 1997. *Sphaeropsis sapinea* and water stress in a red pine plantation in central Wisconsin. *Phytopathology*, **87**: 429-434.
- BLODGETT, J. T., D. A. HERMS and P. BONELLO. 2005. Effects of fertilization on red pine defense chemistry and resistance to *Sphaeropsis sapinea*. *Forest Ecology and Management*, **208**: 373-382.
- CHOU, C. K. S. 1987. Crown wilt of *Pinus radiata* associated with *Diplodia pinea* infection of woody stems. *European Journal of Forest Pathology*, **17**: 398-411.
- CHOU, C. K. S. and M. MACKENZIE. 1988. Effects of pruning intensity and season on *Diplodia pinea* infection of *Pinus radiata* stem through pruning wounds. *European Journal of Forest Pathology*, **18**: 437-444.
- NICHOLLS, T. H. AND M. E. OSTRY. 1990. *Sphaeropsis sapinea* cankers on stressed red and jack pines in Minnesota and Wisconsin. *Plant Disease*, **74**: 54-56.
- PALMER, M. A. and T. H. NICHOLLS. 1985. Shoot blight and collar rot of *Pinus resinosa* caused by *Sphaeropsis sapinea* in forest tree nurseries. *Plant Disease*, **69**: 739-740.
- PALMER, M. A., R. E. McROBERTS and T. H. NICHOLLS. 1988. Sources of inoculum of *Sphaeropsis sapinea* in forest tree nurseries. *Phytopathology*, **78** (6): 831-835.
- PAOLETTI, E., R. DANTI, AND S. STRATI. 2001. Pre- and post-inoculation water stress affects *Sphaeropsis sapinea* canker length in *Pinus halepensis* seedlings. *Forest Pathology*, **31**: 209-218.
- PETERSON, G. W. 1981. Control of *Diplodia* and *Dothistroma* blights of pines in the urban environment. *Journal of Arboriculture*, **7** (1): 1-5.
- SWART, W. J., and M. J. WINGFIELD. 1991. Biology and control of *Sphaeropsis sapinea* on *Pinus* species in South Africa. *Plant Disease*, **75**: 761-766.
- SWART, W. J., P. S. KNOX-DAVIES, and M. J. WINGFIELD. 1985. *Sphaeropsis sapinea*, with special reference to its occurrence on *Pinus* spp. in South Africa. *South African Forestry Journal*, **135**: 1-8.
- SWART, W. J., M. J. WINGFIELD, and P. S. KNOX-DAVIES. 1987. Conidia dispersal of *Sphaeropsis sapinea* in three climatic regions of South Africa. *Plant Disease*, **71**: 1038-1040.
- WINGFIELD, M. J. 1980. Association of *Diplodia pinea* with a root disease of pines in South Africa. *Plant Disease*, **64**: 221-223.

(Recepción: 9 marzo 2007)

(Aceptación: 30 mayo 2007)