

## Susceptibilidad a *Phytophthora cinnamomi* de cultivos herbáceos habituales en dehesas y su influencia en la podredumbre radical de los *Quercus*

M. S. SERRANO, P. FERNÁNDEZ REBOLLO, M. E. SÁNCHEZ

En este trabajo se ha evaluado la susceptibilidad a *Phytophthora cinnamomi*, causante de la podredumbre radical de encinas y alcornoques en las dehesas, de cuatro cultivos habituales en las mismas: avena, trigo, veza y altramuz amarillo, huésped conocido de *P. cinnamomi*. Para ello, se llevaron a cabo experimentos de inoculación artificial con el patógeno. Se obtuvieron aislamientos positivos en las raíces de altramuz (sintomático) y veza (asintomática), pero nunca en trigo y avena (asintomáticas). Mediante ensayos de infección *in vitro* se evaluó el efecto de las cuatro herbáceas en la producción de zoosporas de *P. cinnamomi*. Los resultados mostraron que el altramuz es capaz de estimular la producción de zoosporas, al contrario que la veza, el trigo y la avena. En altramuz y veza *P. cinnamomi* colonizó el interior de las raíces, desarrollando hinchazones hifales o clamidosporas solamente en el altramuz. Se demostró que, al contrario que el altramuz, la veza no produce incrementos significativos en la densidad y viabilidad de las clamidosporas del patógeno en el suelo. Además, la veza sembrada en sustrato infestado mostró severidades medias de síntomas aéreos y radicales muy bajas y significativamente menores que el altramuz infectado. Debido a la baja susceptibilidad de la veza a *P. cinnamomi*, su cultivo puede ser una alternativa al altramuz en las dehesas afectadas por la podredumbre radical de los *Quercus*, además del cultivo de trigo y avena, que no influyen en la epidemiología de la enfermedad.

M. S. SERRANO, M. E. SÁNCHEZ. Dpto. Agronomía (Patología Agroforestal), Universidad de Córdoba.

P. FERNÁNDEZ REBOLLO. Dpto. Ingeniería Forestal, Universidad de Córdoba.

**Palabras clave:** avena, decaimiento, encina, trigo, veza.

### INTRODUCCIÓN

El decaimiento que afecta a encinas y alcornoques en las dehesas del sur de la Península Ibérica está ocasionando importantes pérdidas ecológicas y económicas, habiéndose estimado la pérdida media anual de productividad en España por este motivo en más de 1 millón de euros, con una depreciación media de las explotaciones que supera el 20% del valor inicial (COMISIÓN DE AGRICULTURA Y MEDIO AMBIENTE DEL SENADO, 2010). La principal enfermedad aso-

ciada al decaimiento es la podredumbre radical causada por el oomiceto *Phytophthora cinnamomi* (BRASIER, 1996; SÁNCHEZ *et al.*, 2000; 2006). Este patógeno resulta difícil de controlar, debido a su capacidad para invadir el perfil del suelo hasta grandes profundidades, su rápida dispersión en suelos mal drenados o encharcados y su amplio rango de huéspedes (ERWIN y RIBEIRO, 1996). La mayor parte de las plantas susceptibles a *P. cinnamomi* son especies leñosas, sin embargo también es capaz de infectar las raíces de algunas herbáceas del género *Lu-*

*pinus* (ERWIN y RIBEIRO, 1996; SERRANO *et al.*, 2009a).

Las dehesas son explotaciones agrosilvo-pastorales en las que la ganadería constituye la principal producción, dependiendo la alimentación del ganado en gran medida, de los pastos naturales y del arbolado (generalmente especies del género *Quercus*). Sin embargo, la existencia de períodos de bache alimenticio en las dehesas, fundamentalmente durante el verano y a principios del otoño, lleva a la implantación de cultivos forrajeros de secano que bien pueden ser aprovechados para pastoreo en dichos períodos, o ser segados y conservados para su posterior utilización. Los cultivos forrajeros más utilizados en las dehesas andaluzas son la avena, el trigo y, en menor medida, la cebada, junto con la siembra mixta de veza-avena y el altramuz amarillo (tremosilla), este último para su consumo directo por el ganado durante el verano una vez agostado (CERA, 1986; COSTA *et al.*, 2006).

Se han descrito numerosos patógenos que pueden causar podredumbres radicales en trigo, como *Gaeumannomyces graminis*, *Fusarium graminearum* y *Bipolaris* spp., que ocasionan un debilitamiento y marchitez general de la planta (WIESE, 1987; MURRAY *et al.*, 2009). *Rhizoctonia solani* y *Pythium* spp. dan lugar a podredumbres radicales y damping-off (WIESE, 1987; MURRAY *et al.*, 2009). Según LARSSON y GERHARDSON (1990), *Phytophthora cryptogea* causa podredumbre radical y muerte de plántulas en trigo y síntomas leves de enfermedad en avena. Por otra parte, el número de enfermedades descritas para las leguminosas comúnmente sembradas en las dehesas es bastante reducido. La veza es muy susceptible a plantas parásitas de la raíz del género *Orobancha* (*O. aegyptiaca* y *O. crenata*) (GOLDWASSER *et al.*, 2000) y en Francia se ha descrito como huésped de *Aphanomyces euteiches*, oomiceto causante de podredumbre radical (WICKER *et al.*, 2001). *Rhizoctonia* spp. pueden causar podredumbre radical en plantas de altramuz (ALLEN y LENNÉ, 1998). En las dehesas españolas se

han registrado importantes daños en plantas de altramuz debidos a la podredumbre radical causada por *P. cinnamomi* (SERRANO *et al.*, 2009a; 2009b). Además, en Nueva Zelanda se han encontrado especies de *Phytophthora* (*P. cryptogea*, *P. gonapodyides* y *P. megasperma*), *Pythium* (*P. irregulare*, *P. rostratum* y *P. ultimum*) y *Fusarium* causando podredumbres radicales en cebada y en *Lupinus multiflorum*, pero sin ocasionar daños significativos (BRAITHWAITE *et al.*, 1998).

De acuerdo con estudios previos, que demuestran la susceptibilidad del altramuz amarillo a *P. cinnamomi* (SERRANO *et al.*, 2009a) y desaconsejan su siembra en dehesas por estimular la multiplicación del patógeno (SERRANO *et al.*, 2009b), el objetivo que plantea el presente trabajo es la evaluación de la susceptibilidad a *P. cinnamomi* de las principales herbáceas cultivadas en la dehesa andaluza (trigo, avena y veza), comparándola con la susceptibilidad de la tremosilla, y estudiando su posible influencia en el ciclo de patogénesis del microorganismo y por lo tanto, en su capacidad de infección del arbolado de la dehesa.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Material fúngico y material vegetal utilizado en los ensayos

En todos los ensayos se utilizó el aislado de *P. cinnamomi* PE90 (SÁNCHEZ *et al.*, 2003), aislado de raíz de encina y procedente de la colección fúngica del Departamento de Agronomía de la Universidad de Córdoba.

Para evaluar la susceptibilidad a *P. cinnamomi* de los cultivos herbáceos sembrados habitualmente en las dehesas andaluzas, se seleccionaron semillas de avena (*Avena sativa* L.), trigo (*Triticum aestivum* L. cv. Cracklin), veza (*Vicia sativa* L. cv. Borda DA-4), y cuatro cultivares de altramuz amarillo (*Lupinus luteus* L.): Paris, Cardiga, Nacional y Juno, huéspedes conocidos de *P. cinnamomi* (SERRANO *et al.*, 2009a; 2009b).

Las plantas se obtuvieron a partir de semillas comerciales. Las semillas se desinfectaron superficialmente mediante inmersión en hipoclorito sódico al 10%, durante 2 min para las semillas de altramuz, 1 min para las de veza y 5 s las de trigo y avena. Posteriormente se lavaron con agua destilada estéril y las semillas de las leguminosas se incubaron en cámara húmeda a  $20 \pm 2^\circ \text{C}$  hasta la emergencia de las radículas. Durante 5 y 3 días, respectivamente, las semillas de altramuz y veza se mantuvieron sobre una rejilla en el interior de cámaras húmedas, formadas por recipientes de plástico cerrados herméticamente con un 100% de humedad en su interior (CAETANO, 2007).

### **Evaluación de la susceptibilidad de distintas herbáceas a *P. cinnamomi***

Para evaluar la susceptibilidad de las distintas especies y cultivares seleccionados a la infección radical por *P. cinnamomi*, las semillas de trigo y avena y las semillas pregerminadas de altramuz y veza se sembraron en bandejas de plástico desinfectadas con hipoclorito sódico al 10% conteniendo turba húmeda, manteniendo una temperatura de  $20 \pm 2^\circ \text{C}$ . Todas las bandejas se regaron hasta capacidad de campo y hasta la emergencia de las primeras hojas. Finalmente, a los 10 (altramuz), 7 (veza) y 5 días (trigo y avena), las plantas obtenidas de cada herbácea fueron trasplantadas a bandejas de plástico desinfectadas conteniendo 7 l de sustrato turba:arena (1:1 vol.) infestado con el patógeno, siguiendo la metodología descrita en SÁNCHEZ *et al.* (2000). La infestación del sustrato se realizó con una suspensión acuosa de clamidosporas de *P. cinnamomi* con una concentración de 500 clamidosporas\*ml<sup>-1</sup> de suelo.

Para cada especie y cultivar se preparó una bandeja con 30 plantas (repeticiones) cada una. Durante el ensayo las bandejas se mantuvieron en cámara de cultivo con un período luz/oscuridad de 12 h, con una temperatura diurna de  $24 \pm 2^\circ \text{C}$  y nocturna de  $18 \pm 2^\circ \text{C}$ , manteniendo el sustrato húmedo,

regando según necesidad hasta capacidad de campo. A las 2 semanas del comienzo del ensayo, se cogieron muestras de raíz de seis plantas de cada una de las herbáceas para aislar al patógeno mediante la siembra de éstas en el medio de cultivo selectivo para *Phytophthora* NARPH (ROMERO *et al.*, 2007). Se prepararon tres placas por cada planta y se incubaron a  $22^\circ \text{C}$  en oscuridad durante 3-4 días. Al cabo de este tiempo, las colonias obtenidas se identificaron mediante la observación al microscopio invertido de las estructuras características de *P. cinnamomi*, micelio botrioso e hinchazones hifales (ERWIN y RIBEIRO, 1996) y se contabilizaron. A partir del primer aislamiento positivo en raíz de cualquier especie y cultivar (expresado como porcentaje de raíz infectada respecto de la raíz total muestreada), las muestras se cogieron semanalmente. Además, se constató la presencia/ausencia de síntomas de podredumbre radical en las distintas plantas: amarillez, marchitez, defoliación (síntomas aéreos) o la presencia de lesiones radicales.

### **Efecto de las herbáceas en la producción de zoosporas de *P. cinnamomi***

La capacidad de las diferentes especies y cultivares para estimular la producción de zoosporas de *P. cinnamomi* se evaluó mediante experimentos de infección *in vitro*. Para ello, se transfirieron discos de agar de 6 mm de diámetro procedentes del margen de colonias de *P. cinnamomi* creciendo en el medio CA (DHINGRA y SINCLAR, 1995), a vasos de vidrio transparente (250 ml de volumen) estériles que contenían en su base 35 ml de medio PA (Agar-Guisante) al 20% (TRIONE, 1974). Todos los vasos se incubaron durante 3 días en oscuridad a  $22^\circ \text{C}$ . Pasado este tiempo se vertieron en cada vaso 125 ml de una solución salina estéril MSS (CHEN y ZENTMEYER, 1970) para estimular la formación de esporangios. Se transfirieron 4-6 plantas de las distintas herbáceas (trigo, avena, veza y altramuz cv. Juno) a cada

vaso, previamente producidas en cámaras húmedas durante 7 días según se detalla en el apartado anterior. Para estos ensayos las semillas de trigo y avena se germinaron también en cámara húmeda. Las plántulas obtenidas se sujetaron en un disco de poliuretano estéril de 40 mm de grosor que hacía a su vez de tapadera del vaso (Figura 1). Se prepararon seis vasos (repeticiones) para cada herbácea ensayada (24-36 plantas) más otros seis vasos sin plantas (testigos). Todos los vasos se incubaron en oscuridad a 22° C durante 50 h, tiempo necesario para la germinación de los esporangios de *P. cinnamomi* (SERRANO *et al.*, 2011). Transcurrido este tiempo, se estimó la producción de zoosporas mediante conteo en cámara Neubauer de alícuotas de la solución salina. Los valores obtenidos se refirieron a los correspondientes testigos sin planta y se expresaron como cantidad referida a la unidad (tanto por uno) de estimulación (o en su caso, inhibición) de la producción de zoosporas.

Al término del experimento se realizaron cortes histológicos de las raicillas de las plantas mediante microtomo y se tiñeron con una solución acuosa de azul de toluidina al 0,05% para su observación al

microscopio con el objeto de verificar la presencia de *P. cinnamomi* infectando las raíces.

### **Efecto de la veza y el altramuz amarillo sobre la densidad y viabilidad de clamidosporas de *P. cinnamomi* en suelo y cuantificación de los síntomas de la enfermedad radical**

Se ha evaluado el efecto de la veza y el altramuz amarillo cv. Juno sobre la densidad de inóculo viable de *P. cinnamomi* en suelo, comparándose además el grado de susceptibilidad relativo de las dos especies a la infección radical.

Para ello se obtuvieron plantas de igual forma que el primer experimento, y se transplantaron a bandejas que contenían 8 l de turba previamente infestada con una suspensión acuosa de clamidosporas de *P. cinnamomi* (SÁNCHEZ *et al.*, 2000) a una concentración de 1000 clamidosporas\*ml<sup>-1</sup> de suelo. Para cada especie de planta se prepararon tres bandejas (repeticiones) con 20 plantas en cada una de ellas, sus correspondientes testigos (3 bandejas) sembrados en sustrato no infestado, más otras tres ban-

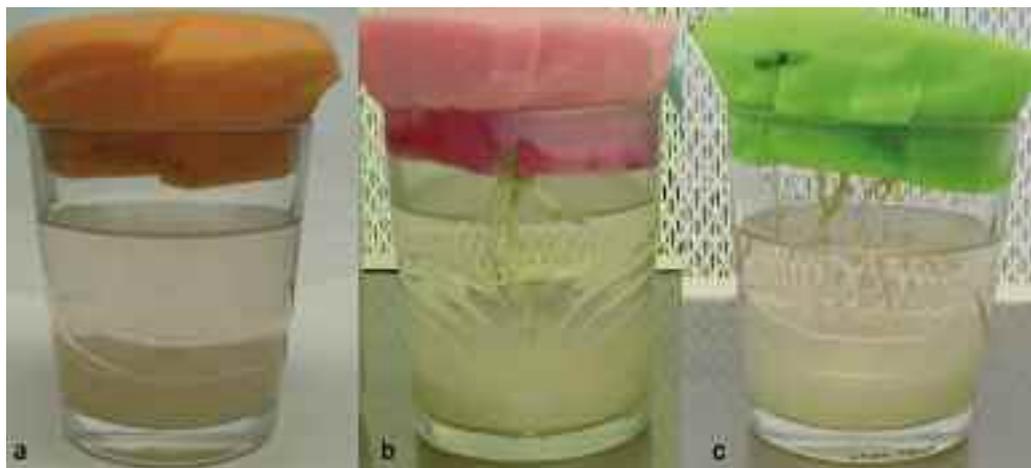


Figura 1. Estimulación o inhibición de la producción de zoosporas de *P. cinnamomi* en presencia de raicillas de herbáceas en el medio de incubación. a) Testigo sin plantas, b) vaso con raíces de altramuz, c) vaso con raíces de veza

dejas testigo con sustrato infestado y sin plantas. Todas las bandejas se incubaron en cámara de crecimiento con 12 h luz/oscuridad y 20-24° C, y se humedeció el sustrato mediante la adición de agua del grifo hasta capacidad de campo. Estas condiciones se mantuvieron hasta el final del experimento, que duró 5 semanas

Semanalmente se tomaron muestras de suelo en las cuales se evaluó la supervivencia de las clamidosporas. Se extrajeron columnas de suelo utilizando un tubo estéril de 2,5 cm de diámetro (50 ml de volumen aproximadamente). Cada muestra de suelo se secó al aire y se tamizó (2 mm de tamaño de poro). Posteriormente las muestras se procesaron mediante la extensión de alícuotas de 1 ml de una suspensión de 10 g de suelo en 100 ml de Agar-Agua estéril al 0,2%, en placas de Petri conteniendo el medio NARPH (ROMERO *et al.*, 2007). Se prepararon 20 placas para cada muestra de suelo. Las placas se incubaron a 22° C en oscuridad durante 24 h y posteriormente se lavó la superficie de cada placa con agua estéril, eliminando la mezcla suelo-agar-agua. Las placas se incubaron otras 48 h a 22° C en oscuridad y las colonias obtenidas se identificaron mediante observación al microscopio invertido de las estructuras características de *P. cinnamomi* (micelio botrioso e hinchazones hifales, ERWIN y RIBEIRO, 1996) y se contabilizaron. Los resultados se expresaron como  $\text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$  (unidades formadoras de colonia por gramo de suelo seco). Para el análisis estadístico de los datos, los valores obtenidos se transformaron según la expresión  $(\text{ufc} \cdot \text{g}^{-1})^{1/2}$  y se les aplicó un análisis de varianza, comparando los valores medios mediante el test LSD de Fisher para  $P < 0,05$  (STEEL y TORRIE, 1985).

Al término del ensayo se evaluó la severidad de síntomas foliares y radicales mediante una escala 0-4 según el porcentaje de hojas amarillas o marchitas y el porcentaje de podredumbre radical (0 = 0-10% de tejido sintomático, 1 = 11-33%, 2 = 34-66%, 3 = más del 67%, 4 = parte aérea o radical

muerta) (SÁNCHEZ *et al.*, 2000; 2004). Además se midió la longitud de las plantas de veza sembradas en sustrato infestado y no infestado. Los datos obtenidos se analizaron mediante un ANOVA y los valores medios se compararon entre sí y con los testigos mediante el test LSD de Fisher (STEEL y TORRIE, 1985) para  $P < 0,05$ .

Finalmente, las raicillas de las plantas crecidas en suelo infestado y no infestado se lavaron al chorro de agua y se sembraron en placas conteniendo el medio NARPH para el reaislamiento del patógeno inoculado.

## RESULTADOS

### Evaluación de la susceptibilidad de distintas herbáceas a *P. cinnamomi*

A partir de la segunda semana de incubación comenzaron a observarse los síntomas aéreos de la enfermedad (amarillez y marchitez) en los cuatro cultivares de altramuz, los cuales se fueron intensificando a lo largo del tiempo hasta la semana 5, en la que las plantas de altramuz aparecían completamente marchitas. Estos síntomas no se observaron en ninguna de las otras herbáceas, incluyendo las plantas de veza. A nivel radical se observaron resultados similares. A partir de la segunda semana se apreciaban lesiones necróticas en las raíces de los cultivares de altramuz que no se hicieron patentes en el resto de especies vegetales, hasta su completa necrosis en la semana 5. En el Cuadro 1 aparecen los porcentajes de aislamiento de *P. cinnamomi* de la raíz de las distintas herbáceas muestreadas a lo largo de las 6 semanas que duró el ensayo. En el primer muestreo (semana 2) ya se obtiene aislamiento positivo de *P. cinnamomi* para los cultivares de altramuz, que se mantendrá hasta la muerte de las plantas (semana 5). A partir del segundo muestreo (semana 4) se aisló al patógeno también de las raíces de veza. En ningún momento se aisló *P. cinnamomi* de las raíces del trigo o la avena.

**Cuadro 1. Valores de aislamiento de *P. cinnamomi* a partir de muestras de raíz de las distintas herbáceas creciendo en suelo infestado por el patógeno a lo largo del experimento. Los datos corresponden al porcentaje de segmentos de raíz que dieron lugar a una colonia de *P. cinnamomi* con respecto al número total de segmentos de raíz sembrados en el medio NARPH**

Cultivo	Tiempo (semanas)				
	2	3	4	5	6
Trigo	0	–	0	–	0
Avena	0	–	0	–	0
Veza	0	–	22,2	16,7	22,2
Altramuz cv. Paris	33,3	22,2	33,3	33,3	–
Altramuz cv. Cardiga	88,9	16,7	16,7	44,4	–
Altramuz cv. Nacional	33,3	0	27,8	16,7	–
Altramuz cv. Juno	1,1	25	16,7	–	–

**Efecto de las herbáceas en la producción de zoosporas de *P. cinnamomi***

Los valores obtenidos, expresados en tanto por uno de estimulación o inhibición de la producción de zoosporas, aparecen en la Figura 2.

El altramuz es capaz de estimular la producción de zoosporas de *P. cinnamomi* con

un factor de estimulación muy elevado (0,8), frente a la veza que no alcanza el 0,05. El trigo y la avena no difirieron del testigo, presentando valores ligeramente negativos.

En los cortes histológicos se observó que la estructura celular de la raíz del altramuz aparece muy desorganizada, prácticamente desintegrada, y *P. cinnamomi* alcanza un importante grado de coloniza-

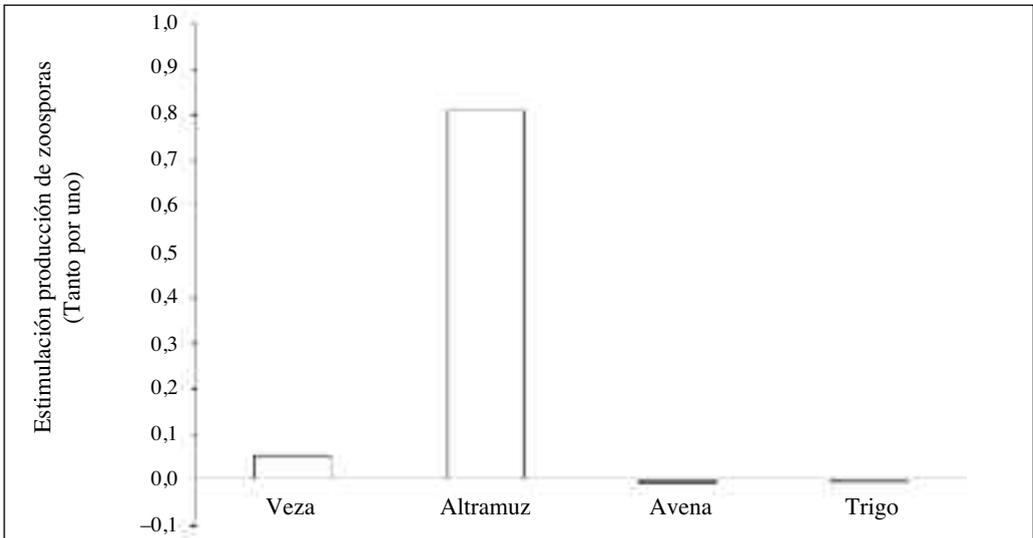


Figura 2. Cuantificación de la estimulación o inhibición de la producción de zoosporas de *P. cinnamomi* en presencia de raicillas de herbáceas en el medio de incubación, expresado en tanto por uno respecto al testigo sin plantas

ción, apareciendo gran cantidad de hifas con hinchazones y clamidosporas (Figura 3a). Por el contrario, la raíz de veza mostró una estructura celular poco alterada, con un grado de colonización por *P. cin-*

*namomi* elevado. Las hifas del patógeno ocupaban prácticamente todos los espacios intercelulares (Figura 3b), pero no se observó la presencia de hinchazones hifales ni clamidosporas.

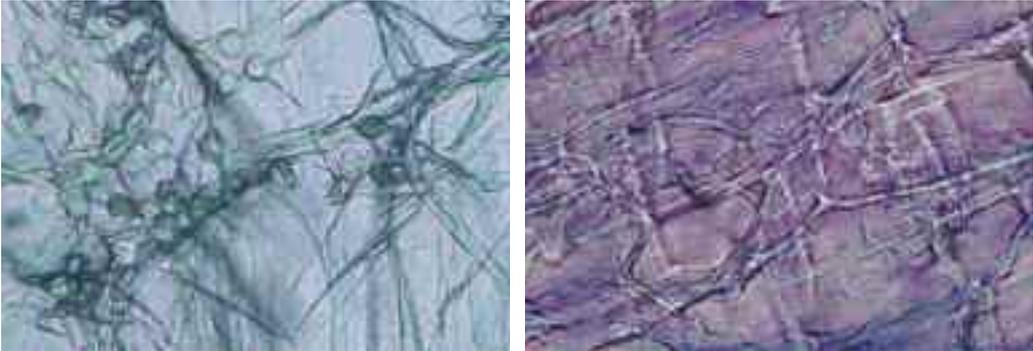


Figura 3. Corte longitudinal de raíz de altramuz (a) y veza (b) infectadas por *P. cinnamomi*.

### Efecto de la veza y el altramuz amarillo sobre la densidad y viabilidad de clamidosporas de *P. cinnamomi* en suelo y cuantificación de los síntomas de la enfermedad radical

La densidad de clamidosporas viables en el suelo infestado a lo largo del tiempo aparece en la Figura 4. La evolución de la densidad de clamidosporas a lo largo del tiempo sigue la misma dinámica en los suelos testigo (sin plantas) y en los suelos sembrados con veza y altramuz, aunque con valores de densidad, en general, significativamente más elevados desde la segunda semana hasta el final del experimento, en el suelo sembrado con altramuz que en el sembrado con veza y el testigo sin plantas, que no difirieron entre sí. En la semana 3 se produjo un incremento significativo en la densidad de clamidosporas viables con respecto al comienzo del experimento (semana 0) para todos los tratamientos, pero sólo se mantuvo en el tiempo en las bandejas sembradas con altramuz, mientras que en las sembradas con veza y en las testigo estos valores vol-

vieron a los niveles iniciales. A las 5 semanas, la densidad de clamidosporas viables en el suelo testigo y el sembrado con veza no difiere de la densidad inicial (semana 0), mientras que en el suelo sembrado con altramuz esta densidad aumentó significativamente con respecto a la semana 0.

Cinco semanas después del comienzo del experimento, entre el 90 y el 100% de las plantas de altramuz habían muerto. Las plantas de veza presentaban síntomas de enfermedad con una severidad leve: en la parte aérea de las plantas se produjo principalmente falta de crecimiento, junto con una ligera amarillez y desecación de algunas hojas y en la parte radical aparecieron algunas lesiones parduzcas y/o menor desarrollo radical con respecto a las plantas que crecieron en suelo no infestado por el patógeno. En ningún caso se observaron estos síntomas en las plantas de veza y altramuz que crecieron en sustrato libre de *P. cinnamomi*.

Los valores medios de severidad de síntomas aéreos aparecen representados en la Figura 5a. Los altramuces crecidos en sustrato infestado presentan una severidad de sínto-

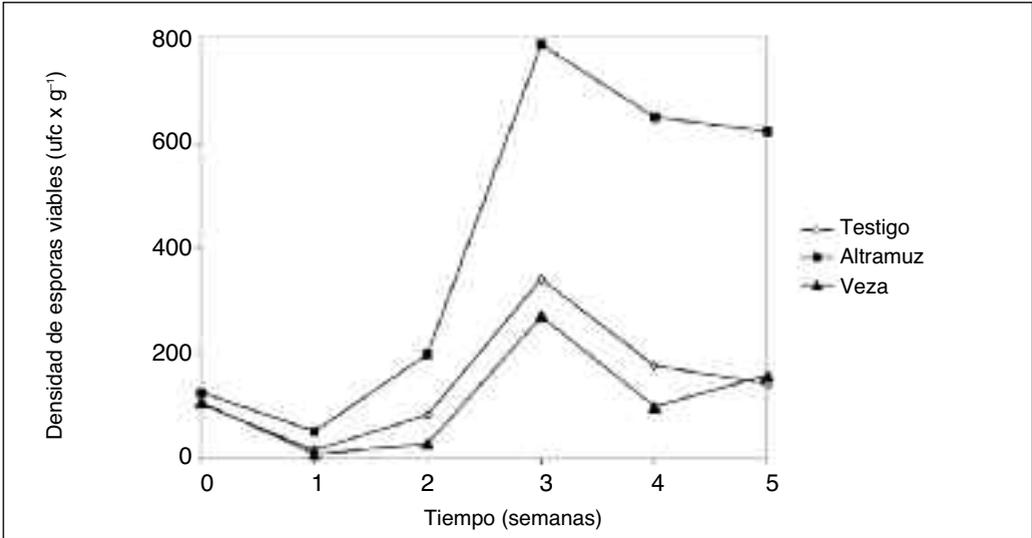


Figura 4. Valores medios de densidad de clamidosporas viables en suelo infestado y sembrado con veza, altramuz o no sembrado (testigo) a lo largo del tiempo

mas significativamente más elevada que las plantas crecidas en sustrato libre de *P. cinnamomi*. Estas diferencias no se observan para la veza infectada, cuya severidad de síntomas aéreos no difiere ni de la veza ni del altramuz testigo.

En cuanto a la severidad de síntomas radicales (Figura 5b) no se observaron diferencias significativas entre las plantas de

altramuz y veza crecidas en sustrato no infestado (testigos). Además, para cada especie, su severidad de síntomas es significativamente menor que cuando crecen en sustratos infestados. En cuanto a las plantas sembradas en suelo infestado, para el altramuz la severidad de síntomas radicales es significativamente más elevada que para la veza.

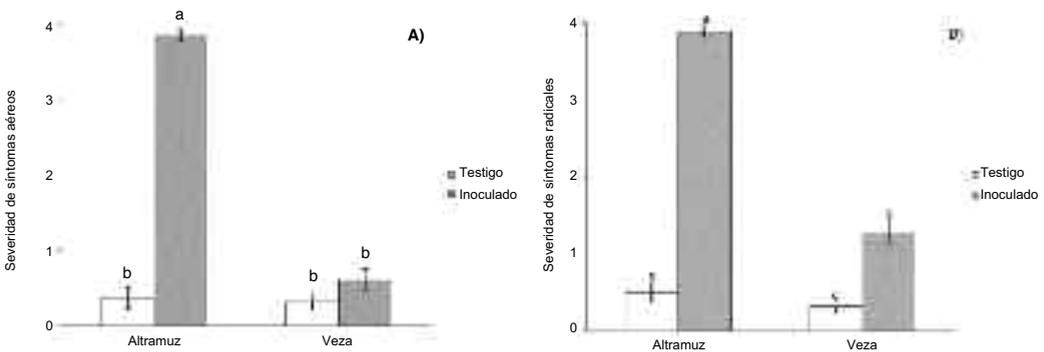


Figura 5. Severidad media de síntomas y error estándar en plantas de altramuz y veza creciendo en presencia o ausencia de *P. cinnamomi* tras 5 semanas de incubación a 20-24° C. a) Severidad de síntomas aéreos. b) Severidad de síntomas radicales. 0 = 0-10% de tejido sintomático, 1 = 11-33%, 2 = 34-66%, 3 = más del 67%, 4 = parte aérea o radical muerta. Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Fisher para P<0,05

Se observó una disminución en el crecimiento de las plantas de veza cuando están en sustrato infestado con respecto de la veza testigo, como se observa en la Figura 6. La longitud media de los tallos de las plantas de veza creciendo en sustrato libre del patógeno es significativamente mayor que la de las plantas sembradas en suelo infestado.

*Phytophthora cinnamomi* se reaisló de todas las muestras de raicillas sintomáticas

(muertas en el caso del altramuz y con presencia de lesiones en el caso de la veza) procedentes de las plantas que crecieron en sustrato infestado. La frecuencia de reaislamiento, expresada como porcentaje de segmentos de raíz que dieron lugar a una colonia de *P. cinnamomi* en NARPH fue del 71% para la veza y del 85% para el altramuz. En ningún caso se reaisló el patógeno de las raicillas de las plantas testigo.

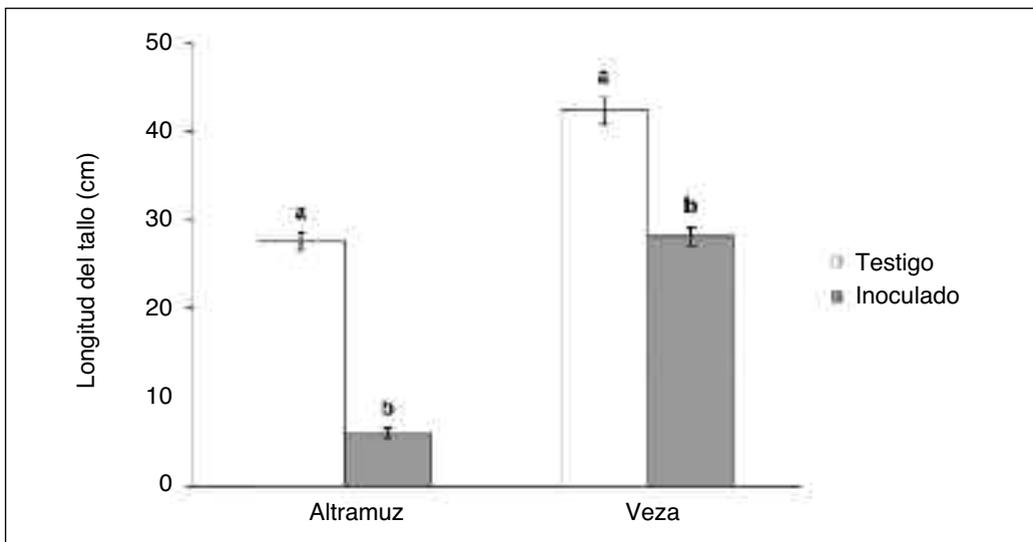


Figura 6. Longitud media del tallo y error estándar de las plantas de altramuz y veza creciendo en suelo no infestado (Testigo) o infestado con *P. cinnamomi* tras 5 semanas de incubación a 20-24°C. Para cada especie de planta, letras distintas indican diferencias significativas según el test de Fisher para  $P < 0,05$

## DISCUSIÓN

Al contrario que en el caso del altramuz amarillo (SERRANO *et al.*, 2009a), no parece haber indicios que hagan sospechar que otros cultivos habituales en la dehesa (trigo, avena y veza) estén sufriendo algún tipo de podredumbre radical que apunte a que podrían ser huéspedes de *P. cinnamomi*, principal agente causal de la muerte de encinas y alcornoques en Andalucía (SÁNCHEZ *et al.*, 2006). De hecho, nuestras propias observaciones indican que, con la excepción del al-

tramuz, el resto de cultivos no presenta ningún tipo de síntoma visible ni se tiene noticia de la existencia de focos de enfermedad que afecte a estos cultivos en las dehesas andaluzas. Sin embargo, según estudios realizados por SÁNCHEZ-MÁRQUEZ *et al.* (2011) numerosas gramíneas silvestres son huéspedes asintomáticos de distintos hongos patógenos. Para la Verticilosis del olivo y el algodónero causado por *Verticillium dahliae*, se ha demostrado que el patógeno puede colonizar las raíces de diversas gramíneas cultivadas como avena, cebada, maíz, sorgo y

trigo y también de numerosas malas hierbas (*Bromus* spp., *Hordeum murinum*, *Aster squamatus*, *Avena sterilis*, *Echinochloa crus-galli*, *Echallium elaterium*, etc.) (PEGG y BRADY, 2002; CABEZA y BEJARANO, 2010) que pueden actuar como huéspedes asintomáticos del patógeno, y por lo tanto influir en la epidemiología de la enfermedad favoreciendo la multiplicación del patógeno.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran que el trigo y la avena no son huéspedes de *P. cinnamomi*: no se han observado síntomas aéreos ni radicales en plantas de trigo y avena creciendo en sustrato infestado, en ningún caso se ha aislado al microorganismo de las raíces de estas plantas y además, no sólo no estimulan la producción de zoosporas de *P. cinnamomi*, sino que la inhiben ligeramente. Una situación similar se da con otras especies del género: *P. cryptogea*, *P. gonapodyides* y *P. megasperma*, que no resultan patógenas para el trigo ni la avena (BRAITHWAITE *et al.*, 1998). Sin embargo, según LARSSON y GERHARDSON (1990), *P. cryptogea* causa enfermedad en trigo y avena en Suecia.

En base a los resultados obtenidos, podemos concluir que el cultivo de estos cereales en las dehesas no influye en la epidemiología de la enfermedad radical de los *Quercus*, al no favorecer la multiplicación del patógeno, ni potenciar la dispersión de sus propágulos.

En el caso de la veza, la severidad media de los síntomas aéreos registrada en las plantas crecidas en sustrato infestado no difiere de las plantas crecidas en sustrato sin infestar y, aunque sí se apreciaron lesiones radicales, no alcanzan los niveles de severidad de las plantas infectadas de altramuza, pudiéndose describir como síntomas leves. Este hecho, junto con el aislamiento positivo del microorganismo de las raíces de las plantas de veza crecidas en sustrato infestado, nos permiten describir a esta leguminosa como huésped de *P. cinnamomi*, si bien el microorganismo se muestra como un patógeno muy débil. De hecho, el principal síntoma observado en la veza es el menor crecimiento de las plantas sembradas en suelos

infestados, mientras que en el caso del altramuza amarillo, su trasplante a suelo infestado con el patógeno en las mismas condiciones, dio lugar a una mortalidad media del 95% a las 5 semanas del trasplante. Este carácter de *P. cinnamomi* como patógeno débil de la veza justificaría por qué no se observan focos de esta leguminosa con síntomas de podredumbre radical en campo, como sí ocurre para el altramuza amarillo (SERRANO *et al.*, 2009a; 2009b). Resultados similares observan RODRÍGUEZ-MORCILLO *et al.* (2000; 2002) en el patosistema *V. dahliae*-olivo y *V. dahliae*-algodón, donde este hongo actúa como patógeno débil de cultivos de ajo, cebolla y colza, reduciendo ligeramente el crecimiento de estas plantas, de las que también se aisló al patógeno. Cabe destacar que los exudados radicales de la veza no estimulan la producción de zoosporas infectivas de *P. cinnamomi*, ni tampoco influyen en la viabilidad de las clamidosporas del patógeno en suelo, lo que no ocurre con el altramuza amarillo, que incrementa la producción de zoosporas y además produce un aumento significativo en la densidad de clamidosporas viables en el suelo, como ya se demostró en SERRANO *et al.* (2009b).

Como conclusión final, la veza puede ser una leguminosa alternativa al altramuza amarillo para su cultivo en dehesas afectadas por la podredumbre radical causada por *P. cinnamomi* (SERRANO *et al.*, 2009a; 2009b), ya que aunque el patógeno puede infectar la raíz de la veza, no es capaz de multiplicarse en ella ni tampoco sus exudados radicales estimulan la producción de esporas infectivas en el suelo infestado. Igualmente, el trigo y la avena podrían ser cultivados en dehesas afectadas por la podredumbre radical, ya que como se ha demostrado, ni son susceptibles a la infección por *P. cinnamomi* ni influyen en la epidemiología de la enfermedad.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (pro-

yecto AGL2009-00530) y la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía. Los autores quieren también agradecer

la colaboración de Ramón Leal por el suministro de las semillas de trigo, veza y avena.

#### ABSTRACT

SERRANO, M. S., P. FERNÁNDEZ REBOLLO, M. E. SÁNCHEZ. 2011. Susceptibility to *Phytophthora cinnamomi* of herbaceous crops common in rangelands and its influence on *Quercus* root rot. *Bol. San. Veg. Plagas*, **37**: 251-262.

Susceptibility of four common crops to *Phytophthora cinnamomi*, causal agent of root rot affecting Holm and Cork oaks in rangelands, has been checked. Wheat, oat, vetch, and yellow lupin, known host of *P. cinnamomi*, were evaluated by artificial inoculations with the pathogen. Positive isolations from lupin (symptomatic) and vetch (asymptomatic) roots were obtained, but never from wheat or oat (asymptomatic). The effect of the four crops in *P. cinnamomi* zoospore production was evaluated by *in vitro* infections. Lupins were able to stimulate zoospore production, in contrast with vetch, wheat and oat. *Phytophthora cinnamomi* colonized lupin and vetch roots, but hyphal swellings or chlamydospores were observed only in lupin roots. Vetch did not significantly increased chlamydospore density or viability in the soil, opposite than lupin.

Vetch plants growing in infested soil showed weak foliar and root symptom severities, significantly lower than infected lupin plants. The low susceptibility of vetch to *P. cinnamomi* suggests that this crop can be considered as an alternative to lupin in rangelands affected by *Quercus* root rot, together with wheat and oat, which did not influence the epidemiology of the disease.

**Keywords:** Decline, Holm oak, oat, vetch, wheat.

#### REFERENCIAS

- ALLEN, D. J., LENNÉ, J. M. (eds). 1998. *The Pathology of Food and Pasture Legumes*. CAB International, Wallingford, UK.
- BRAITHWAITE, M., ALEXANDER, B. J. R., ADAMS, R. L. M. 1998. Nationwide survey of pests and diseases of cereal and grass seed crops in New Zealand. 2. Fungi and Bacteria. *Proceedings of 51<sup>st</sup> New Zealand Plant Protection Conference*, **51**: 51-59.
- BRASIER, C. M. 1996. *Phytophthora cinnamomi* and oak decline in southern Europe. Environmental constraints including climate change. *Ann. Sci. For.*, **53**: 347-358.
- CABEZA, E., BEJARANO, J. 2010. Influencia de las cubiertas vegetales sobre la epidemiología y control de las enfermedades del olivo. En: *Aspectos agronómicos y medioambientales de la agricultura de conservación*. Eumedia-Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Madrid: 165-175.
- CAETANO, P. C. L. 2007. *Envolvimento de Phytophthora cinnamomi no declínio de Quercus suber e Q. rotundifolia: estudo da influência de fatores bióticos e abióticos na progressão da doença. Possibilidades de controlo químico do declínio*. Tesis doctoral. Faculdade de Engenharia de Recursos Naturais, Universidade do Algarve. Faro, Portugal.
- CERA, F. 1986. *El altramuz amarillo ("tramusilla") su cultivo y aprovechamiento en el Andévalo onubense*. Monografías nº 3. Dirección General de Investigación y Extensión Agraria. Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía.
- CHEN, D. W., ZENTMYER, G. A. 1970. Production of sporangia by *Phytophthora cinnamomi* in axenic culture. *Mycologia*, **62**: 397-402.
- COMISIÓN DE AGRICULTURA Y MEDIO AMBIENTE DEL SENADO. 2010. *Informe de la ponencia del Senado sobre la protección del ecosistema de la dehesa*.
- COSTA, J. C., MARTÍN, A., FERNÁNDEZ, P., ESTIRADO, M. 2006. *Dehesas de Andalucía. Caracterización ambiental*. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía. Sevilla.
- DHINGRA, O. D., SINCLAR, J. B. 1995. *Basic plant pathology methods*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- ERWIN, D. C., RIBEIRO, O. K. 1996. *Phytophthora diseases worldwide*. APS Press, St. Paul, MN.
- GOLDWASSER, Y., PLKHINE, D., LJEIFIELD, Y., ZAMSKI, E., RUBIN, B. 2000. The differential susceptibility of vetch (*Vicia* spp.) to *Orobanche aegyptiaca*: Anatomical studies. *Ann. Bot.*, **85**: 257-262.
- LARSSON, M., GERHANDSON, B. 1990. Isolates of *Phytophthora cryptogea* pathogenic to wheat and some other crop plants. *J. Phytopathol.*, **129** (4): 303-315.
- MURRAY, T. D., PARRY, D. W., CATTILIN, N. D. 2009. *A Colour Handbook Diseases of small grain cereals crops*. Manson Publishing, London, UK.
- PEGG, G. F., BRADY, B. L. 2002. *Verticillium wilts*. CAB International, UK.

- RODRÍGUEZ MORCILLO, V., BEJARANO ALCÁZAR, J., JIMÉNEZ DÍAZ, R. M. 2000. Importancia de especies cultivadas en la supervivencia de patotipos de *Verticillium dahliae* que infectan algodonero y olivo en Andalucía. X Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología. Valencia. España.
- RODRÍGUEZ MORCILLO, V., BEJARANO ALCÁZAR, J., JIMÉNEZ DÍAZ, R. M. 2002. Gama de plantas huésped de los patotipos de *Verticillium dahliae* que infectan algodonero y olivo en Andalucía. XI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología. Almería. España.
- ROMERO, M. A., SÁNCHEZ, J. E., JIMÉNEZ, J. J., BELHARI, L., TRAPERO, A., LEFORT, F., SÁNCHEZ, M. E. 2007. New *Pythium* taxa causing root rot on Mediterranean *Quercus* species in southwest Spain and Portugal. *J. Phytopathol.*, **155**: 289-295.
- 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.
- SÁNCHEZ, M. E., SÁNCHEZ, J. E., NAVARRO, R. M., FERNÁNDEZ, P., TRAPERO, A. 2003. Incidencia de la podredumbre radical causada por *Phytophthora cinnamomi* en masas de *Quercus* en Andalucía. *Bol. San. Veg. Plagas*, **29**: 87-108.
- SÁNCHEZ, M. E., ANDICOBERRY, S., TRAPERO, A. 2004. Patogenicidad de *Phytophthora* spp. causantes de podredumbre radical de *Quercus ilex* ssp. *ballota* en viveros forestales. *Bol. San. Veg. Plagas*, **30**: 239-255.
- SÁNCHEZ, M. E., CAETANO, P., ROMERO, M. A., NAVARRO, R. M., TRAPERO, A. 2006. Phytophthora root rot as the main factor of oak decline in southern Spain. En: *Progress in Research on Phytophthora Diseases of Forest Trees*. Brasier C, Jung T, Oßwald W (Eds). Forest Research, Farnham, UK: 149-154.
- SÁNCHEZ-MÁRQUEZ, S., BILLS, G. F., HERRERO, N., ZABALGOGEAZCOA, I. 2011. Non-systemic fungal endophytes of grasses. *Fungal Ecol.* (en prensa, doi:10.1016/j.funeco.2010.12.001)
- SERRANO, M. S., FERNÁNDEZ REBOLLO, P., CARBONERO, M. D., TRAPERO, A., SÁNCHEZ, M. E. 2009a. La tremosilla (*Lupinus luteus*): un nuevo huésped de *Phytophthora cinnamomi* en las dehesas de Andalucía occidental. *Bol. San. Veg. Plagas*, **35**: 75-87.
- SERRANO, M. S., SÁNCHEZ, M. E., DE VITA, P., CARBONERO, M. D., TRAPERO, A., FERNÁNDEZ, P. 2009b. Influencia del cultivo de *Lupinus luteus* en la podredumbre radical de las encinas en dehesas. *Bol. San. Veg. Plagas*, **35**: 481-490.
- SERRANO, M. S., DE VITA, P., FERNÁNDEZ-REBOLLO, P., SÁNCHEZ, M. E. 2011. Control de la podredumbre radical de las encinas mediante fertilizantes inorgánicos II: Efecto *in vitro* del Ca y el K en la capacidad infectiva de *Phytophthora cinnamomi*. *Bol. San. Veg. Plagas*, **37** (1): 109-118.
- STEEL, R. G. D., TORRIE, J.H. 1985. *Bioestadística: principios y procedimientos*. Mcgraw-Hill, Bogotá.
- TRIONE, E. J. 1974. Sporulation and germination of *Phytophthora lateralis*. *Phytopathology*, **64**: 1531-1533.
- WICKER, E., HULLÉ, M., ROUXEL, F. 2001. Pathogenic characteristics of isolates of *Aphanomyces euteiches* from pea in France. *Plant Pathol.*, **50**: 433-442.
- WIESE, M. V. 1987. *Compendium of wheat diseases* (2<sup>nd</sup> edition). APS Press, St Paul, MN.

(Recepción: 14 julio 2011)

(Aceptación: 16 septiembre 2011)