

El Chancro Carbonoso de *Quercus* III: Dispersión de ascosporas del agente causal

J. J. JIMÉNEZ, M. E. SÁNCHEZ, A. TRAPERO

Se ha realizado un seguimiento de la descarga y dispersión de ascosporas de *Biscogniauxia mediterranea*, agente del Chancro Carbonoso de los *Quercus*, en condiciones naturales, desde diciembre de 2002 hasta diciembre de 2003. Para ello, se ha utilizado un captador volumétrico (Burkard[®]), situado junto a ramas de alcornoque (*Q. suber*) con estromas carbonosos maduros. El análisis de los datos de esporulación mostró que la lluvia es la variable con mayor influencia en la descarga de ascosporas, aunque no se registró relación entre la cantidad de ascosporas descargadas y la cantidad de precipitación. Aunque la lluvia es necesaria para provocar la descarga de ascosporas, su principal vehículo de dispersión ha resultado ser el viento, y no el agua.

J. J. JIMÉNEZ, M. E. SÁNCHEZ, A. TRAPERO. Dpto. Agronomía. ETSIAM. Universidad de Córdoba. Apdo. 3048. 14080-Córdoba. Dirección de correo electrónico: aglsahem@uco.es

Palabras clave: *Biscogniauxia mediterranea*, Carbón, *Hypoxyton mediterraneum*, *Quercus ilex*, *Quercus suber*.

INTRODUCCIÓN

El Chancro Carbonoso causado por *Biscogniauxia mediterranea* afecta a frondosas de Norteamérica (SICLAIR *et al.*, 1987) y de los países de la cuenca mediterránea (TORRES, 1993; VANNINI *et al.*, 1996a), estando asociado principalmente a decaimientos de *Quercus* spp.

Las poblaciones de *B. mediterranea* poseen una gran variabilidad genética (VANNINI *et al.*, 1999). Esto puede deberse a que las ascosporas de *B. mediterranea* son las unidades de dispersión e infección más importantes (VANNINI *et al.*, 1996a), como ocurre en otras especies de *Biscogniauxia* e *Hypoxyton* y en otros Xilariáceos (CHAPELA y BODDY, 1988; GRIFFIN *et al.*, 1992; TAINTER y BAKER, 1996; VANNINI *et al.*, 1996b; HENDRY *et al.*, 1998) y también a que los nuevos genotipos pueden

diseminarse a largas distancias (FROYD y FRENCH, 1967). Además, la alta tasa de reproducción sexual y el sistema de reproducción heterotálico de *B. mediterranea* suponen importantes fuentes internas de variabilidad genética en la población. Esto es muy importante para la epidemiología de *B. mediterranea*, ya que provee al hongo de la plasticidad necesaria para sobrevivir a largo plazo y adaptarse al ambiente (VANNINI *et al.*, 1999).

La fase asexual de *B. mediterranea* se forma naturalmente en encinas y alcornoques enfermos en circunstancias poco conocidas, teniendo las conidias muy poca influencia en la dispersión del patógeno (TORRES, 1985; MUÑOZ y RUPÉREZ, 1987). Sin embargo, según OLIVA y MOLINAS (1984), tanto las ascosporas como las conidias y fragmentos de micelio son unidades de inóculo efectivas.

En Italia se ha determinado que las ascosporas de *B. mediterranea* se expulsan de los peritecios maduros en periodos con abundantes precipitaciones y altas humedades relativas, reduciéndose notablemente su dispersión en periodos secos (VANNINI *et al.*, 1996b). Las ascosporas son transportadas hasta los tejidos del huésped susceptible por vectores bióticos y abióticos (viento, agua, etc.) (OLIVA Y MOLINAS, 1984; VANNINI *et al.*, 1996a; MAZZAGLIA *et al.*, 2001). Los insectos son los principales vectores bióticos de *Biscogniauxia* e *Hypoxyton*, causando heridas que sirven como punto de infección para estos géneros fúngicos (SINCLAIR *et al.*, 1987). En Italia se ha demostrado que *Agrius* spp. y *Tropideres* spp. son vectores de *B. mediterranea* (VANNINI *et al.*, 1996a). En España y Marruecos se ha asociado la presencia de perforadores del género *Cerambyx* con la incidencia de *B. mediterranea* en encinas y alcornoques (MONTROYA, 1992; NAVARRO Y FERNÁNDEZ, 2000), pero no se ha demostrado que actúen como vectores.

Debido a la escasez de estudios acerca de la dispersión de este hongo en la Península Ibérica, se hace necesario concretar las condiciones en las que se produce la descarga de ascosporas e identificar los principales vectores abióticos implicados en su dispersión. Por ello, en este trabajo se planteó realizar un seguimiento de la esporulación de *B. mediterranea* en condiciones naturales.

MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo de detección de ascosporas en condiciones de campo se realizó desde diciembre de 2002 hasta diciembre de 2003, con un captador volumétrico de esporas Burkard, que succiona un volumen de aire constante de 5 l/min. El captador se colocó en el centro de la parcela de ensayo, situada en la finca Alameda del Obispo, Córdoba, en una zona llana y despejada. Alrededor del captador se colocaron 4 pilas de leña de alcornoques de la Sierra de Córdoba, con una gran cantidad de estroma fúngico madu-



Figura 1. Ensayo de detección de ascosporas en condiciones de campo con un captador volumétrico.

ro. Las pilas, de 1 m de altura, se dispusieron en cuatro direcciones perpendiculares a 3 m del captador (Figura 1).

El captador contiene un tambor rotatorio en el que corre una cinta con una capa doble de adhesivo que se cambió una vez por semana. Una vez en el laboratorio, la cinta se cortó en trozos iguales y se observaron al microscopio, realizando un conteo de ascosporas en bandas paralelas, teniendo estas lecturas una precisión de 1 h.

Los datos obtenidos de captura de ascosporas se relacionaron con parámetros meteorológicos mediante el test de correlación lineal de Pearson. Los datos meteorológicos se tomaron de la estación meteorológica del Instituto de Agricultura Sostenible, ubicado en la finca Alameda del Obispo, en Córdoba.

El captador volumétrico Burkard estuvo funcionando durante el periodo experimental con 2 muestras distintas. Una muestra fue la leña con estroma carbonoso recogida en octubre de 2002, que fue respuesta en marzo de 2003 debido a que a finales de febrero una

fuerte granizada destruyó una gran cantidad de estromas. La reposición se realizó con material de características idénticas, compuestos en su totalidad por estromas maduros presentes en ramas de alcornoque de la Sierra de Córdoba.

En septiembre de 2003, se tomaron estromas carbonosos de la parcela de ensayo y se colocaron en cámara húmeda en el laboratorio para provocar así la descarga de ascosporas (TRAPERO y KAISER, 1992). Ninguno de los estromas esporuló, por lo que se tomaron nuevas muestras en octubre de 2003. Estas muestras consistieron en ramas desprendidas de alcornoces con estromas maduros y con estromas en formación procedentes de la misma zona de la Sierra de Córdoba. De este modo, estas leñas con carbón se consideraron como una muestra distinta a partir del momento en el que maduraron los nuevos estromas y empezaron a esporular, a principios del mes de noviembre de 2003.

Se relacionó el nº de ascosporas capturadas por día en los períodos en los que hubo espo-

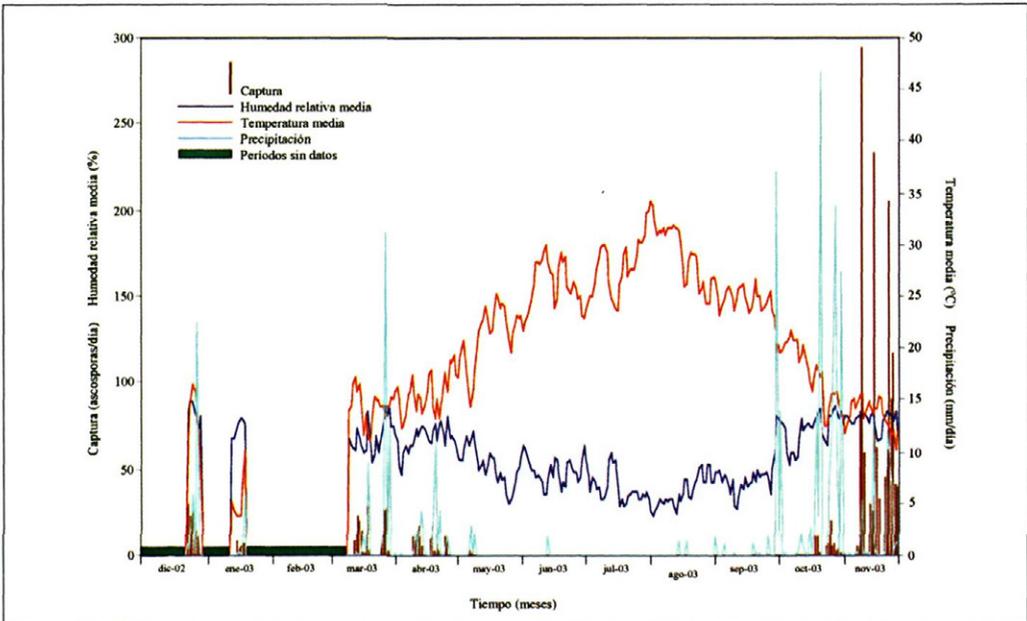


Figura 2. Captura diaria de ascosporas y variables meteorológicas durante todo el período experimental

relación, entre diciembre de 2002 y mayo de 2003, y en noviembre de 2003, con la cantidad de precipitación en mm/día, los días con lluvia, los días en que la lluvia fue superior a 0,5 mm, la HR media, la temperatura media (°C) y la velocidad del viento media (m/s).

También se hizo una correlación lineal de Pearson entre el n° de ascosporas capturadas por hora en noviembre de 2003 y la precipitación en mm/h, las horas con precipitación, la HR media por hora, la temperatura media (°C) por hora y la velocidad del viento media (m/s) por hora. Del mismo modo, se hizo una correlación lineal de Pearson con las mismas variables, pero considerando únicamente los días en que hubo descarga de ascosporas y en los que la precipitación fue superior a 0,5 mm.

Por último, para poder comprobar si existen diferencias en la captura de ascosporas en función de la hora del día, se sumaron las ascosporas capturadas cada hora del día de todos los días del mes de máxima descarga (noviembre del 2003). También se sumaron

las capturas de ascosporas por hora de los días con precipitación superior a 0,5 mm, y los mm de lluvia por hora en estos días.

RESULTADOS

En la Figura 2 se muestran los datos de captura de ascosporas desde diciembre de 2002 hasta noviembre de 2003, junto con la variación en la temperatura media, precipitación media y humedad relativa media durante este mismo período. El período de dispersión de ascosporas se concentró entre los meses de octubre y abril. No hubo captura de ascosporas en los meses más secos, entre junio y septiembre.

El test de correlación lineal de Pearson (Cuadro 1) mostró que entre diciembre de 2002 y mayo de 2003 (muestra 1) hubo una correlación positiva significativa entre la cantidad de precipitación (mm/día), los días con precipitación, independientemente de su cuantía, y la HR media con la cantidad de esporulación. Hubo una correlación negativa

Cuadro 1. Test de correlación lineal de Pearson de la captura de ascosporas con distintas variables meteorológicas

Variables meteorológicas ¹	Periodo de tiempo de captura de ascosporas y frecuencia de las lecturas				
		diciembre 2002 - mayo 2003 lecturas diarias	noviembre 2003 lecturas diarias	noviembre 2003 lecturas cada hora	noviembre 2003 ² lecturas cada hora
Precipitación	r	0,3825	0,3950	0,0161	-0,0560
	P	0,0001	0,0414	0,6822	0,4404
Precipitación1	r	0,3119	0,2131	0,1523	0,0470
	P	0,0020	0,2858	0,0001	0,5173
Precipitación2	r	0,3342	0,6059	-	-
	P	0,0009	0,0008	-	-
Humedad relativa media	r	0,5576	0,1668	0,0749	0,0685
	P	0,0000	0,4057	0,0570	0,3450
Temperatura media	r	-0,2750	-0,0225	-0,0137	0,1475
	P	0,0067	0,9113	0,7275	0,0412
Velocidad del viento media	r	0,0177	0,1760	0,0583	-0,0662
	P	0,8641	0,3800	0,1387	0,3618

¹ La variable Precipitación corresponde a la cantidad de lluvia expresada en mm/frecuencia de las lecturas, la variable Precipitación1 corresponde a la presencia de lluvia y la variable Precipitación2 corresponde a los días con precipitación superior a 0,5 mm.

² Test de correlación lineal de Pearson durante los días del mes de noviembre de 2003 en los que hubo captura de ascosporas y la precipitación fue superior a 0,5 mm.

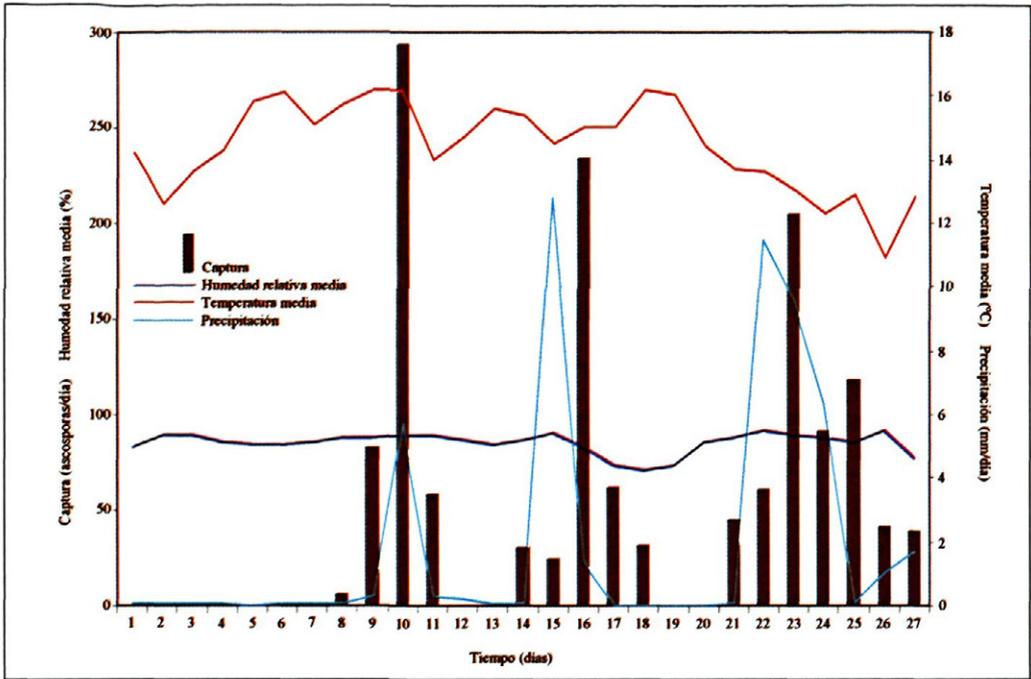


Figura 3. Captura diaria de ascosporas y variables meteorológicas medias durante el mes de noviembre de 2003.

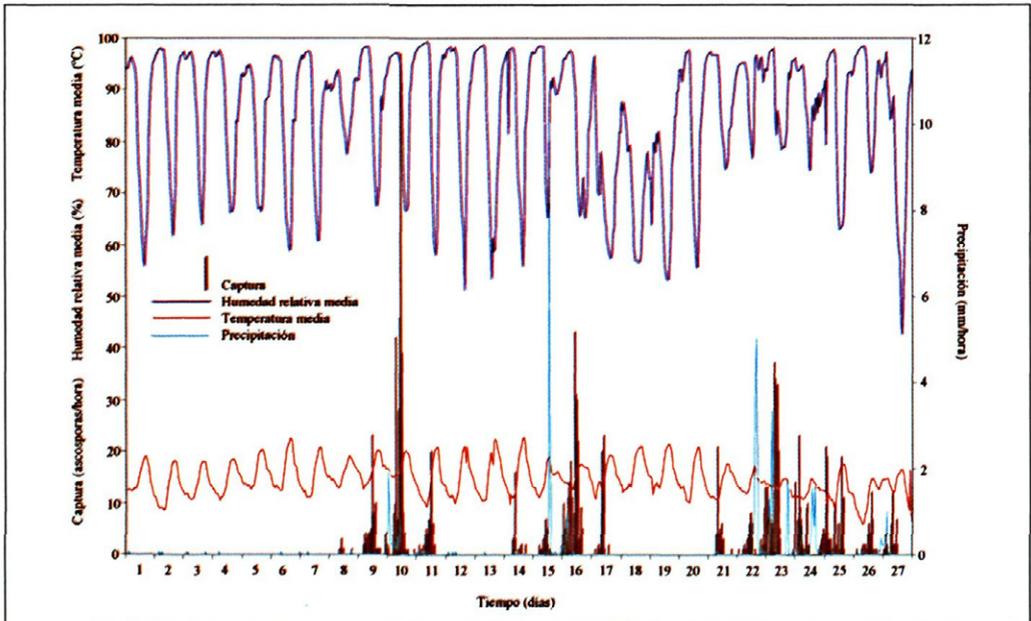


Figura 4. Captura de ascosporas y variables meteorológicas medias por hora durante el mes de noviembre de 2003.

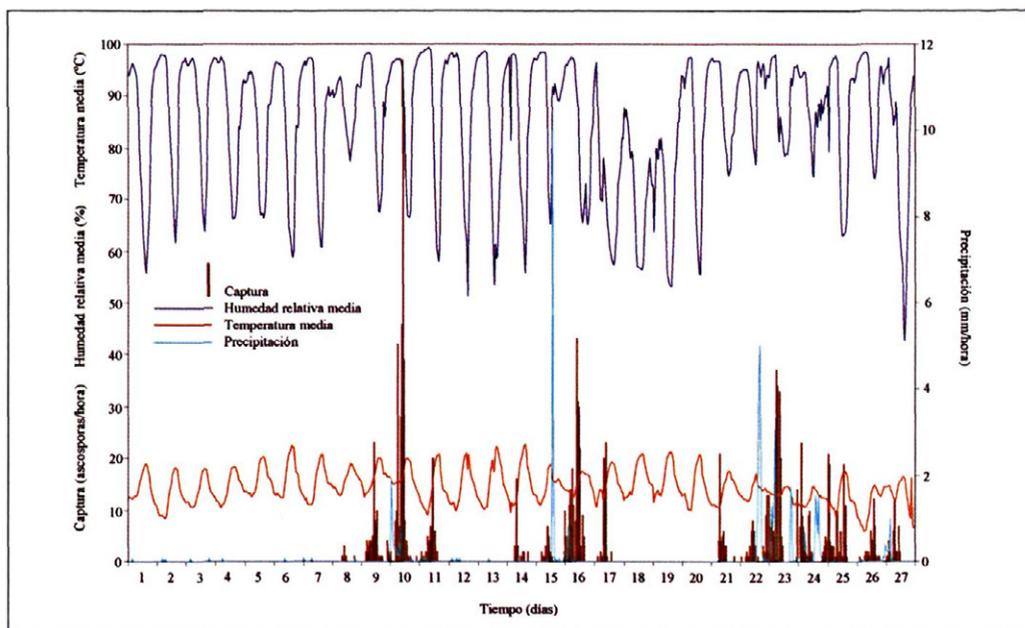


Figura 5. Captura de ascosporas acumulada en función de la hora solar durante el mes de noviembre de 2003.

significativa con la temperatura media diaria, y no influyó la velocidad del viento. Sin embargo, el coeficiente de correlación (r) no fue alto para ninguna de estas variables, siendo el más alto el de la HR media diaria ($r=0,557$).

En cambio, en el análisis de correlación lineal de Pearson para la captura diaria de ascosporas en el mes de noviembre de 2003 (muestra 2) (Cuadro 1), sólo los días con precipitación superior a 0,5 mm estuvieron correlacionados significativamente y de forma positiva con la captura de ascosporas (0,605). Los datos se representan en la Figura 3. En este mismo intervalo de tiempo, el análisis de correlación lineal de Pearson para la captura horaria de ascosporas (Cuadro 1, Figura 4) mostró que las horas con lluvia están correlacionadas significativamente y de forma positiva con la captura de ascosporas ($r=0,152$), siendo la única variable correlacionada de forma significativa. El mismo análisis de correlación realizado únicamente para los días en que hubo esporulación y precipitación superior a 0,5 mm (Cuadro 1), no mostró correlación sig-

nificativa ni con la lluvia (cantidad y presencia), ni con la humedad relativa por hora. Sin embargo, sí mostró una correlación significativa positiva con la temperatura media por hora ($r=0,147$).

En cuanto a la captura de ascosporas en función de la hora del día (Figura 5), se pudo apreciar que hay un máximo desde las 5 hasta las 10 de la mañana, y que la captura de ascosporas se reduce drásticamente durante la tarde, teniendo un mínimo desde las 15 hasta las 19 h.

En la Figura 6a se muestra la cantidad de lluvia acumulada por hora en los días del mes de noviembre en que hubo esporulación. Las horas con más lluvia no se corresponden con la máxima captura de ascosporas en esos mismos días (Figura 6b), que apenas difirió con respecto a la captura acumulada por hora de todo el mes de noviembre (Figura 5), teniendo los mismos períodos de capturas máximas y mínimas.

En las leñas amontonadas para la realización de este estudio no se observó la presencia de ningún insecto que pudiese actuar como vector para la dispersión del patógeno.

DISCUSIÓN

En este ensayo de captura de ascosporas en condiciones de campo, se observó cómo entre los meses de diciembre de 2002 y mayo de 2003 y en octubre de 2003, la esporulación fue mucho menor que en noviembre de 2003. Esto probablemente se debe a que a principios de noviembre de 2003 se formaron nuevos estromas en las ramas, que maduraron al mismo tiempo, produciendo un gran pico de esporulación.

En este ensayo de captura de ascosporas en condiciones de campo, se observó cómo entre los meses de diciembre de 2002 y mayo de 2003 y en octubre de 2003, la esporulación fue mucho menor que en noviembre de 2003. Esto probablemente se debe a que a principios de noviembre de 2003 se formaron nuevos estromas en las ramas, que maduraron al mismo tiempo, produciendo un gran pico de esporulación.

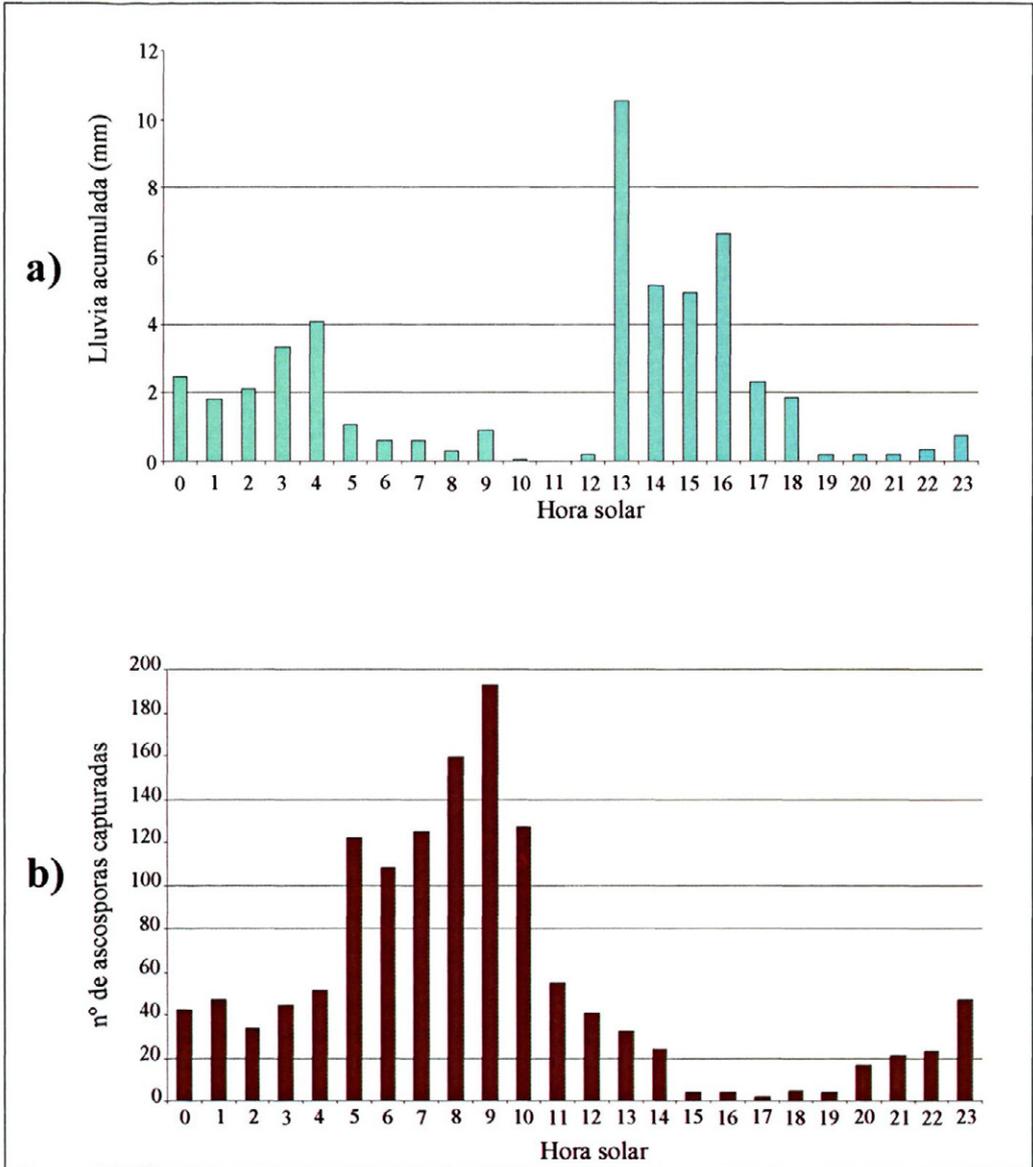


Figura 5. Captura de ascosporas acumulada en función de la hora solar durante el mes de noviembre de 2003.

La lluvia ha resultado la única variable que influye significativamente en la descarga de ascosporas de *B. mediterranea* en las condiciones climáticas andaluzas (VANNINI *et al.*, 1996b). Sin embargo, no hay una relación entre el número de ascosporas descargadas y la cantidad de precipitación durante el tiempo en el que se midió la descarga, ni en horas ni en días, a pesar de que VANNINI *et al.* (1996a) observaron una relación entre el número de ascosporas descargadas en un mes y la cantidad de precipitación en ese mes. Según nuestros resultados, esta relación probablemente obedece a que en los meses con más captura de ascosporas hubo un mayor periodo de tiempo con presencia de lluvia, más que a la cantidad de lluvia caída.

Hay un desfase entre las horas con lluvia y las horas con esporulación. Esto muestra

que aunque la lluvia es necesaria para provocar la descarga de ascosporas, el principal vehículo de dispersión de ascosporas es el viento, y no el agua, pues en las horas con más precipitación hubo poca dispersión de ascosporas, siendo bastante más alta en las horas posteriores.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto de Investigación AGL2002-00530 y por el Convenio suscrito entre la Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía y la Universidad de Córdoba para el estudio de la Seca de *Quercus* en Andalucía. M.E. Sánchez disfruta de un contrato del Programa "Ramón y Cajal" del MEC.

ABSTRACT

JIMÉNEZ J. J., M. E. SÁNCHEZ, A. TRAPERO. 2005. Charcoal Canker of *Quercus* III: Ascospore dispersion of the causal agent. *Bol. San. Veg. Plagas*, **31**: 577-585.

Discharge and dispersal of ascospores of *Biscogniauxia mediterranea*, the agent of Charcoal Disease affecting *Quercus* spp., have been evaluated from december 2002 up to december 2003 by using a volumetric spore trap (Burkard[®]) localized near to *Q. suber* branches with mature fungal stromata. Results have showed that rainfall was the most influent variable on ascospore discharge. However, there was not any relationship between the amount of ascospores discharged and rainfall rates. Rainfall has demonstrated to be needed for ascospore discharge, but wind, better than water, has resulted to be the main spore dispersion way.

Key words: *Biscogniauxia mediterranea*, Charcoal Disease, *Hypoxyton mediterraneum*, *Quercus ilex*, *Quercus suber*.

REFERENCIAS

- CHAPELA, I.H., BODDY, L. 1988. Fungal colonization of attached beech branches. I. Early stages of development of fungal communities. *New Phytol.*, **110**: 39-45.
- FROYD, J.D., FRENCH, D.W. 1967. Ejection and dissemination of ascospores of *Hypoxyton pruinaum*. *Can. J. Bot.*, **45**: 1507-1517.
- GRIFFIN, D.H., QUINN, K.E., GILBERT, G.S., WANG, C.J.K., ROSEMARIN, S. 1992. The role of ascospores and conidia as propagules in the disease cycle of *Hypoxyton mammatum*. *Phytopathology*, **82**: 114-119.
- HENDRY, S.J., LONSDALE, D., BODDY, L. 1998. Strip-cankering of beech (*Fagus sylvatica*): Pathology and distribution of symptomatic trees. *New Phytol.*, **140**: 549-565.
- MAZZAGLIA, A., LIBRANDI, I., VANNINI, A., ANSELMINI, N. 2001. Endophytic incidence of *Biscogniauxia mediterranea* in asymptomatic oak trees. Proceedings of the 11th Congress of the MPU. Andalus Academic Publishing. Redondo, Portugal. pp. 291-293.
- MONTOYA, J.M. 1992. Mortandad de quercíneas: la perspectiva selvícola y los antecedentes climáticos. La cuestión de *Hypoxyton mediterraneum* en el alcornoque de Mamora (Marruecos). *Ecología*, **6**: 123-130.
- MUÑOZ, M.C., RUPÉREZ, A. 1987. La patología de la encina (*Quercus ilex* L.) en España. *Bol. San. Veg.*

- Plagas*, **13**: 203-212.
- NAVARRO, R.M., FERNÁNDEZ, P. 2000. El síndrome de la seca del encinar. Propuesta de solución para el Valle de los Pedroches. Fundación Ricardo Delgado Vizcaíno, Pozoblanco, Córdoba.
- OLIVA, M., MOLINAS, M.L.L. 1984. Incidencia de *Hypoxylon mediterraneum* en los alcornoques gerundenses. *Boletín de la Estación Central de Ecología*, **25**: 9-16.
- SINCLAIR, W.A., LYON, H.H., JOHNSON, W.T. 1987. Diseases of trees and shrubs. Cornell University Press, Ithaca, NY.
- TAINTER, F.H., BAKER, F.A. 1996. Principles of Forest Pathology. John Wiley & Sons, New York.
- TORRES, J. 1985. El *Hypoxylon mediterraneum* (De Not.) Mill. y su comportamiento en los encinares y alcornoques andaluces. *Boletín del Servicio de Plagas*, **11**: 185-191.
- TORRES, J. 1993. Patología Forestal. Mundi-Prensa, Madrid.
- TRAPERO, A., KAISER, W.J. 1992. Development of *Didymella rabiei*, the teleomorph of *Ascochyta rabiei*, on chickpea straw. *Phytopathology*, **82**: 1261-1266.
- VANNINI, A., BIOCCHA, M., PAPANATTI, B. 1996a. Contributo alla conoscenza del ciclo biologico di *Hypoxylon mediterraneum* su *Quercus cerris*. *Informatore Fitopatologico*, **9**: 53-55.
- VANNINI, A., PAGANINI, R., ANSELMINI, N. 1996b. Factors affecting discharge and germination of ascospores of *Hypoxylon mediterraneum* (De Not.) Mill. *Eur. J. For. Path.*, **26**: 12-24.
- VANNINI, A., MAZZAGLIA, A., ANSELMINI, N. 1999. Use of random amplified polymorphic DNA (RAPDP) for detection of genetic variation and heterothallic mating system in *Hypoxylon mediterraneum*. *Eur. J. For. Path.*, **29**: 209-218.

(Recepción: 30 junio 2005)

(Aceptación: 17 noviembre 2005)