

## PARTICIPACIÓN DE *Diplodia* sp. EN EL ESCALDADO DEL ALCORNOQUE

M. Oliva i Estanyol y M. Ll. Molinas de Ferrer

Col·legi Universitari de Girona (UAB). Plaça Hospital, 6. 17071 - Girona.

---

### RESUM

Aquest treball descriu l'associació del fong *Diplodia* sp. amb una forma d'escaldat de la surera anomenada xancre sec.

*Diplodia* sp. s'ha aïllat del teixit liberari d'arbres malalts, i té capacitat d'infecció sobre el mateix. L'isolat presenta conidis que difereixen lleugerament d'altres espècies del gènere *Diplodia* citades sobre *Quercus*.

En el treball es fan una sèrie de consideracions sobre la relació existent entre l'estat de stress al qual estan sotmeses les sureres i la propagació del fong.

### RESUMEN

Este trabajo describe la asociación del hongo *Diplodia* sp. con una forma de «escaldado» del alcornoque, llamado chancro seco.

*Diplodia* sp. se ha aislado del tejido liberiano de árboles enfermos, y posee capacidad de infección sobre el mismo. El aislado presenta conidios que difieren ligeramente de otras especies del género *Diplodia* citadas sobre *Quercus*.

En el trabajo se hacen una serie de consideraciones sobre la relación existente entre el estado de stress a que están sometidos los alcornoques y la propagación del hongo.

### ABSTRACT

This paper describes the association of *Diplodia* sp., a Sphaeropsidal fungus, with a new form of «escaldat» (dieback associated with trunk lesions) that we call «xancre sec» (dry canker) in the cork-oak, *Quercus suber* L.

The dry canker is a complex syndrome consisting of wilting and trunk canker lesions. The disease occurs in an acute form and then the tree dies quickly after cork removal; or it can follow an insidious form and the tree can react and form several layers of cork before dying. A description of the symptomatology is given.

The fungus *Diplodia* sp. is isolated from diseased trees and it has infectious capacity on the living tissues. The isolate has conidial characteristics that slightly differ from other *Diplodia* parasitic in *Quercus*. Because the taxonomic revision of the genus is lacking we have not given a species name.

The relation between ecological stress and disease is emphasized and some possible preventive measures are given.

## INTRODUCCIÓN

El trabajo que se expone a continuación forma parte de una serie de estudios sobre el síndrome del «escaldado» del alcornoque (*Quercus suber* L.) en Girona. (Molinas y Oliva 1984, Oliva 1983, Oliva y Molinas 1984).

El «escaldado» es un síndrome complejo caracterizado por una afectación chancrosa del tronco y un debilitamiento fisiológico del árbol, que puede conducir a su muerte. Sus causas pueden ser diversas, desde un origen fisiológico —verdadero escaldado— Oliva y Molinas, (1984), o por la acción de patógenos como la *Phytophthora cactorum* aislada en la modalidad de chancro sangrante (Molinas y Oliva, 1984).

Otra manifestación de «escaldado», que llamaremos chancro seco, es motivo del presente trabajo.

La manifestación epidémica del chancro seco se observa en las zonas suberícolas catalanas de la Cordillera Litoral y Prelitoral desde el inicio de la década de los ochenta. La enfermedad afecta tanto al alcornocal espontáneo, que predomina en la Cordillera Litoral, como al de repoblación. La afectación es general en toda la zona, alcanzando en algunos puntos hasta el 80% de los árboles (Can Mundet, Vidreres), llegando a poner en peligro la masa de alcornocal. Los síntomas se presentan sobre árboles de todas las edades, coincidiendo con los descorches. Los ejemplares descorchados de la misma parcela se afectan simultáneamente. El hongo *Diplodia* sp. aparece asociado al chancro seco.

Varias especies de *Diplodia* han sido aisladas de árboles del género *Quercus*, y son consideradas como causantes de decaimientos y chancros del tronco y ramas de árboles debilitados. *Diplodia quercina* West. Fue asociada por Roland en 1945 a una grave epidemia de los robles en Bélgica. *Diplodia longispora* Cke. & Ell. aparece citada como causante de debilitamientos y chancros en robles (Pirone, 1960).

A continuación exponemos la sintomatología del chancro seco y las características del parásito aislado en los alcornocales gerundenses.

## SINTOMATOLOGÍA

En las primeras fases de la infección el árbol muestra un gran debilitamiento con defoliación parcial y aparición de pequeñas manchas oscuras a lo largo del tronco. Durante la primavera las áreas necróticas «lloran», es decir, exudan savia elaborada. Las zonas manchadas progresan longitudinalmente hasta alcanzar el cuello de la planta, a la vez que se extienden más lentamente en dirección lateral (Fig. 1).

A medida que progresa la afectación se muestra más acusadamente el debilitamiento y la defoliación. Extensas regiones de la casca se secan. Cuando en algún momento queda afectada una gran parte o toda la circunferencia del tronco se produce la muerte del árbol. En este momento se aprecian ostensiblemente señales de insectos perforadores.



**Figura 1.** Aspecto general de un árbol afectado, con presentación aguda de la enfermedad.

La enfermedad puede presentarse en forma aguda, en la cual no hay regeneración del suber, y la planta muere antes de iniciar un nuevo ciclo. En árboles de mayor vitalidad, la enfermedad puede seguir un curso insidioso lento. Se llegan a generar varias capas de suber, de baja calidad, con abundancia de células pétreas, antes de que se produzca la muerte y desprendimiento de la corteza.

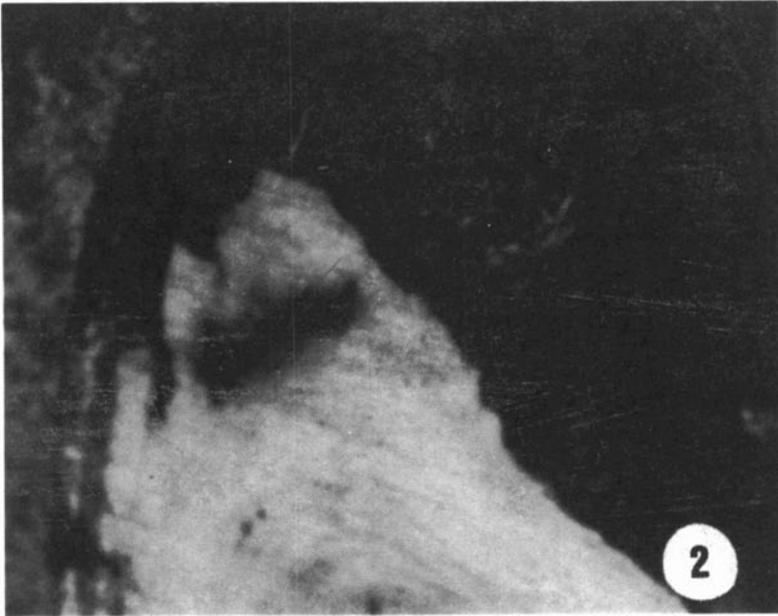
En las lesiones, la casca o capa madre, que comprende los tejidos del liber y del floema, aparece de un intenso color marrón, mientras que el leño no presenta alteraciones. La sección transversal del tronco de una planta afectada permite observar la alteración de este tejido (Fig. 2).

Sobre la casca seca emergen posteriormente picnidios globosos y negros.

Las raíces de estos árboles no presentan alteraciones. Los árboles cortados en el curso de la enfermedad rebrotan abundantemente.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se han examinado muestras de alcornoques de bosque mixto, con pinos y encinas, y de alcornoques de repoblación, tanto de la Cordillera Litoral catalana como de la Prelitoral.



**Figura 2.** Sección transversal de un tronco. Obsérvese a la derecha de la fotografía cómo la casca ya ha muerto, mientras que a la izquierda aún aparece viva.

Para facilitar la obtención del material hemos adoptado la utilización de un formón esterilizado. Las muestras se depositaban en envases estériles para su posterior tratamiento.

Las muestras estudiadas procedían:

- de las pequeñas áreas necróticas que aparecen a lo largo del tronco;
- de los extremos de la casca seca;
- de la corteza de árboles muertos.

En el laboratorio, una vez separados los diferentes tejidos, las muestras fueron sometidas a tratamientos distintos:

- observación con azul de anilina-lactofenol, para poner de manifiesto los signos del parásito;
- siembra en medio sólido (PDA), previa desinfección superficial con etanol de 90°;
- cámara húmeda, previa desinfección superficial.

Las observaciones se han realizado bajo el microscopio óptico y el microscopio electrónico de barrido.

Para la microscopía electrónica de barrido, pequeñas porciones de corteza de árboles afectados y picnidios procedentes de cultivo en medio sólido-

do, han sido fijadas con glutaraldehído al 2% en tampón fosfato, durante el tiempo que va de 6 a 24 horas. La deshidratación se realizó en serie alcohólica creciente y desecación bajo punto crítico. Las muestras fueron montadas en portaobjetos de cobre y recubiertas de oro, en una unidad de recubrimiento Polaron. Fueron examinadas en un JEOL del Servicio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Barcelona.

## OBSERVACIONES Y RESULTADOS

Durante las primeras fases de la enfermedad, en el tejido liberiano se observa, con azul de anilina-lactofenol, un grueso micelio, ramificado, septado, de color marrón oscuro.

En un estadio más avanzado de la infección emergen sobre la casca, ya necrótica, unos picnidios de 300  $\mu\text{Ø}$ , solitarios o agregados, globosos, negros, uniloculares, de gruesa pared y con un ostiolo central (Fig. 3). Estos sólo se desarrollan sobre el leño cuando el árbol ya está completamente muerto.

Conidiogénesis holoblastica. Conidio hialino, con una gran gótula central, 26-32  $\times$  12-14 $\mu$ , oval-elipsoidal, ápice obtuso y base truncada, pared gruesa (1,5-2 $\mu$ ) y liso. Una vez descargado, toma color marrón oscuro y aparece un tabique. (Fig. 4, 5, 6, 7).

Frecuentemente se encuentran macroconidios, biseptados, 38(36)-44(50)  $\times$  18(16)-20(22) $\mu$ , de color marrón oscuro.

Sobre medio sólido, el micelio al principio es blanco algodonoso de 4 $\mu$ . Al cabo de unos 8 días se vuelve marrón oscuro, se engruesa, y a menudo aparece arrosariado. Los cuerpos de fructificación se forman al cabo de unos 30 días.

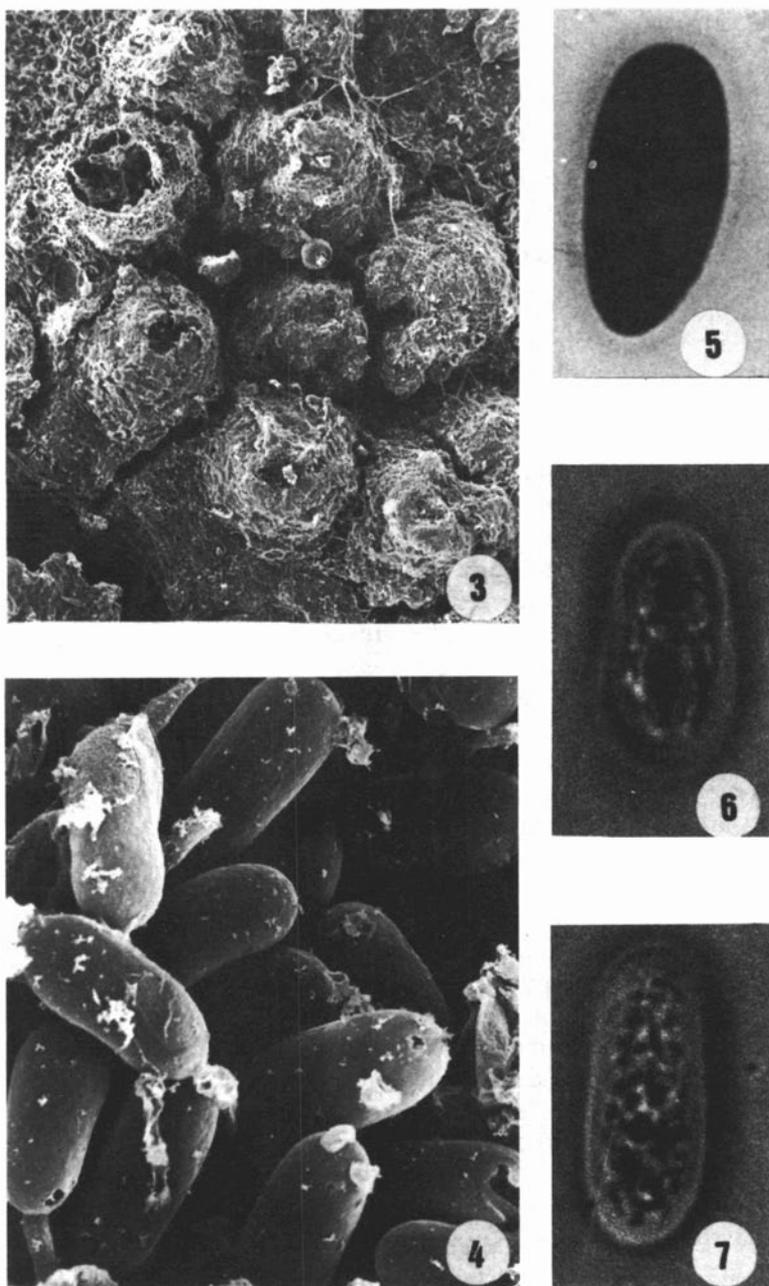
El mantenimiento del material en cámara húmeda favorece más el crecimiento de hongos saprófitos que el del propio parásito.

Al realizar inoculaciones en ramas cortadas, de unos 6 cm. de diámetro, recién descorchadas, se puede observar que tienen lugar extravasaciones de savia elaborada, aparición de manchas necróticas alrededor de la zona donde se halla el inóculo, aumento de las dimensiones de las zonas necróticas y, finalmente, aparición de picnidios sobre la casca.

El hongo descrito corresponde al género *Diplodia*, deuteromicete (hongo imperfecto, anamorfo), del Orden Blastales (Sphaeropsidales) y Suborden Blastopycnidinea.

Según la clasificación de Shoemaker (1964) el aislado corresponde al *Diplodia mutila* (Fries) Mont. (*Botryosphaeria stevensii* n. nom.) si se tiene en cuenta el tamaño de los conidios; pero en este caso es muy frecuente la presencia de macroconidios marrones y bitabizados, que corresponderían a las ascosporas de *Botryosphaeria quercum* (Schw.) Sacc. (*Diplodia quercina*).

Nuestro criterio, de acuerdo con los doctores Sutton i Punithaligan del Commonwealth Mycological Institute que hace examinado los aislamientos (muestras IMI 304822), es no asignar un nombre específico hasta que no se



**Figura 3.** Microfotografía SEM. Picnidios agregados (X168).

**Figura 4.** Microfotografía SEM. Conidios (X513).

**Figura 5.** Conidio maduro y tabicado (1500X).

**Figura 6.** Conidio juvenil (X1500)

**Figura 7.** Conidio juvenil (X1500).

haya completado la revisión del género, lo cual está llevando a termino Zambettakis (Sutton, 1980).

### CONCLUSIONES

La asociación de *Diplodia sp.* con árboles escaldados y la capacidad de este hongo de desarrollarse sobre la casca hacen suponer una relación causal.

Las especies de *Diplodia* son hongos de los denominados por Lanier (1978) parásitos de equilibrio. Éstos no invaden un huésped de vigor normal que conserva intactas las posibilidades de reacción. La penetración sólo es posible si el árbol o uno de sus órganos presenta síntomas de stress.

Hay evidencia experimental de la influencia ejercida por el stress en la aparición epidémica de hongos e insectos fitófagos (Mattson y Haack, 1987). El ataque y prevalencia de podredumbre, chanros y decaimientos es mayor en plantas con síntomas de sequía que en plantas normales (Schoeneweiss, 1986).

La aparición de esta manifestación de «escaldado» en forma epidémica en los alcornocales catalanes, manifiesta que sobre éstos inciden unas causas de stress (Molinas y Oliva, 1987). La sequía prolongada a la que han estado sometidos los alcornocales los últimos años puede ser la causa de debilitamiento de estos. Han sido asociados los ataques de *Diplodia quercina* West. a la falta de agua (Peace, 1962).

El alcornoque, además, está sometido periódicamente al fuerte stress que supone el descorche. Como los síntomas aparecen sobre rodales descorchados el mismo verano, todo parece indicar que la infección puede estar asociada con la práctica de la pela. El efecto del descorche sobre la fisiología del árbol es negativo. El balance hídrico es desfavorable para el árbol y, en consecuencia, se produce un cierre de estomas y una parada en el proceso fotosintético (Natividade, 1950). Además, se ocasiona al árbol una gran herida que deja al descubierto los tejidos vivos. Es entonces cuando el árbol presenta una muy baja resistencia a todos los parásitos que están latentes.

Todas las medidas conducentes a mejorar el vigor de la masa reducirán probablemente la virulencia del ataque. Igualmente, la desinfección de las herramientas de descorche podría contribuir a reducir el contagio de árboles sanos.

Anteriormente ya nos hemos referido a la intervención de insectos perforadores en determinados estadios de la infección. Debería estudiarse el papel de estos en la transmisión del hongo. Estos insectos son muy sensibles al nivel de defensas del huésped y presentan fenómenos de gregarismo. Cuando uno de ellos logra establecerse en un tronco atrae rápidamente a otros mediante la emisión de feromonas (Matson y Haack, 1987). La culebrilla (*Coraeus undatus* Fabr. y Mars.), cada día más frecuente, podría actuar de propagador de *Diplodia* dentro del mismo árbol, ya que hace sus galerías en el tejido liberiano.

Debería profundizarse en el estudio de la enfermedad desde un punto de vista holístico. Es decir, estudiando la respuesta de las plantas al stress y la influencia de éste en la susceptibilidad al patógeno, así como la interacción con otros factores, preferentemente los insectos xilófagos.

### Bibliografía

- LANIER, L., JOLY, P.; BONDOUX, P. y BELLEMERE, A. (1978). *Pathologie forestière*. Masson. París.
- MATTSON, W.J. y HAACK, R.A. (1987). The role of drought in outbreaks of Plant-eating Insectes. *BioScience* 37(2): 110-118.
- MOLINAS, M.ª LL. y OLIVA, M. (1984). Aislamiento de *Phytophthora* de Bary de alcornoques afectados de escaldado. *Boletín de la Estación Central de Ecología* 13(26): 25-28.
- MOLINAS, M.ª LL. y OLIVA, M. (1987). Sureda, paisatge i «stress» ecológic. *Serra d'Or* 328: 25-28.
- NATIVIDADE Y VIEIRA, J. (1950). *Subericultura*. Direcção General dos Serviços florestais e aquícolas. Lisboa.
- OLIVA, M. (1983). *Incidència de l'Hypoxyton mediterraneum a les suredes gironines*. Tesi de llicenciatura. Universitat de Barcelona.
- OLIVA, M., MOLINAS, M.ª LL. (1984). Incidencia de *Hypoxyton mediterraneum* en los alcornoques gerundenses. *Boletín de la Estación Central de Ecología* 13 (25): 9-16.
- PEACE, R. (1962). *Pathology of trees and shrubs*. Clarendon-Press. Oxford.
- PIRONE, P. (1960). *Diseases and Pest of Ornamental Plants*. Condable. London.
- SCHOENEWEISS, D.F. (1985). Water stress predisposition to disease. En: P.G. Ayres (ed.). *Water, Fungi and Plants*. Cambridge University Press. New York. pp. 157-174.
- SHOEMAKER, R.A. (1964). Conidial States of Botryosphaeria species on *Vitis* and *Quercus*. *Canadian Journal of Botany* 42: 1297-1303.
- SUTTON; B.C. (1980). *The Coelomycetes. Fungi Imperfecte with Pycnidia, Acervuli and Stromata*. Commonwealth Mycological Institute. Kew.