

DIVERSIDAD DE AISLADOS DE *DIPLODIA PINEA* PROCEDENTES DE CHILE, NUEVA ZELANDA Y LAS COMUNIDADES DE PAÍS VASCO Y NAVARRA

Ignacio García-Serna y Eugenia Iturrutxa Vélez del Burgo

Neiker-Tecnalia. Departamento de Producción y Protección Vegetal-Sanidad Forestal. Granja Modelo de Arkaute. Apartado 46. 01080-VITORIA-GASTEIZ (España)

Resumen

Diplodia pinea es una especie patógena y oportunista en coníferas con una amplia distribución mundial. Causa serios daños en plantaciones de especies exóticas, siendo la especie *Pinus radiata* una de las de mayor susceptibilidad a la enfermedad y, especialmente, cuando existen factores ambientales añadidos, como los vendavales y granizadas que originan serios daños mecánicos en los árboles, proporcionando vías de entrada directa a los tejidos internos y situaciones de estrés en los hospedadores que los predisponen a la enfermedad. En el País Vasco, unos de los principales orígenes de la enfermedad lo constituyen estos dos factores meteorológicos en combinación con la infección e invasión por parte de *D. pinea* del tejido vegetal dañado. Durante los últimos años este efecto combinado ha contribuido, al deterioro masivo y progresivo de las masas forestales de *Pinus radiata*. En este estudio se realiza un muestreo jerarquizado para la obtención de aislados del país vasco, se analiza la diversidad fenotípica de las poblaciones obtenidas y se comparan los resultados obtenidos en las poblaciones españolas con los resultados de las poblaciones foráneas de Chile y Nueva Zelanda, países que han sido exportadores de semilla para el País Vasco.

Palabras clave: Grupos de compatibilidad vegetativa, Análisis jerárquico, Semilla importada

INTRODUCCIÓN

Diplodia pinea es un hongo del que sólo se conoce un tipo de reproducción asexual, no se ha tenido evidencia alguna de otro tipo de reproducción en el País Vasco, basándonos en estructuras fúngicas observada en relación con esta especie (ITURRUTXA, 1999).

Conociendo el nivel de diversidad genotípica en una población, se puede obtener información sobre el tipo de reproducción existente. Entre las metodologías utilizadas para llevar a cabo este tipo de estudios, además de los métodos moleculares, el análisis de los Grupos de Compatibilidad Vegetativa para la evaluación de la diversidad

genética resulta una herramienta útil con aplicaciones diversas (LELIE, 1993; SMITH et al., 2000).

El objetivo de este estudio es determinar la variabilidad jerarquizada de la población de *D. pinea* a nivel de: árbol, plantación y área y comparar esta variabilidad en relación a las posibles entradas de nuevo material a partir de semilla de otros países, que han sido habituales importadores de esta comunidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestreo

Se lleva a cabo un muestreo teniendo en cuenta la jerarquía establecida a priori, según los

siguientes niveles: Árbol (Laukiniz) plantación (Laukiniz, Zalla, esta última con tres orígenes distintos de material del País Vasco, Nueva Zelanda y Chile) y área (País Vasco), otras localidades próximas (Navarra) y países importadores de semilla (Chile, Nueva Zelanda).

Se recogen muestras de diferentes tipos ramas, acículas, tronco, piñas, que son procesadas en el laboratorio para el aislamiento de las especie de hongo estudiada. Todas las muestras proceden de la especie *Pinus radiata*. En la figura 1 se muestra una parcela muestreada en la localidad de Amorebieta a nivel de área del País Vasco.

Obtención de aislados

Se obtuvieron los aislados sembrando previamente los fragmentos vegetales infectados en medio agarizado, PDA, (ROWAN, 1982). Las colonias procedentes de estos cultivos se transfieren a medio AA (Agar y Agua) a partir de los cuales se obtiene los cultivos monospóricos para este estudio, transfiriendo puntas de hifa a un nuevo placa de PDA.

Grupos de compatibilidad vegetativa

Los aislados de cada zona fueron enfrentados entre si en sobre un medio de harina de avena y agua (OMA) siguiendo la metodología descrita en SMITH et al. (2000).

Las placas se incubaron en condiciones de oscuridad, a 20°C de temperatura, durante un periodo de 4 días, tras el cual se procedió a la lectura de la reacción entre aislados enfrentados.

La reacción de incompatibilidad da lugar a la formación de una barrera característica, de color más oscuro que se puede apreciar en la figura 2.

RESULTADOS

Como resultados preliminares de este estudio, destaca el hecho de que entre los 118 aislados analizados hasta el momento, 70 de ellos no pertenecen a los grupos de compatibilidad definidos hasta el momento, más de un 59% de los aislados estudiados.

Se han obtenido hasta el momento, un total de 9 grupos de compatibilidad vegetativa (GCV) distribuidos como se muestra en la tabla 1 en función de su origen y nivel jerárquico. Quedan por realizar varios enfrentamientos de aislados entre áreas que nos pueden llevar a dilucidar más claramente este apartado.

El grupo más amplio de compatibilidad se ha detectado en la localidad de Zalla, diez aislados pertenecientes a un grupo de compatibilidad vegetativa, a nivel de parcela, seguido por el



Figura 1. Daños ocasionados por el efecto combinado de un vendaval y la colonización masiva del hospedador por parte de *D. pinea*

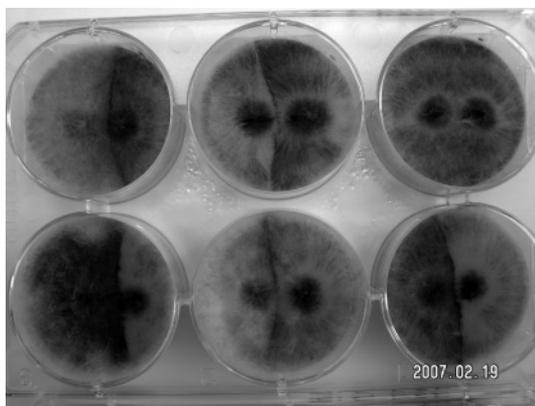


Figura 2. Ensayo de compatibilidad vegetativa de aislado apareados de *D. pinea*. Aspecto de las reacciones de compatibilidad e incompatibilidad vegetativa

Nivel Jerárquico	Origen	GCV	Aislados/GCV	Aislados sin CV	Total de aislados
Área	Chile	1	4	6	10
Área	Nueva Zelanda			10	10
Área	Navarra	1	3	7	10
Área	País Vasco	4	8	10	18
			6	11	17
			3	4	7
			2	9	11
Parcela	Zalla	1	10	3	13
Parcela	Laukiz	1	7	5	12
Árbol	Laukiz	1	5	5	10
Totales		9	48	70	118

Tabla 1. Distribución de los grupos de compatibilidad vegetativa y de lo aislados sin compatibilidad definida en función de los niveles jerárquicos estudiados y origen

País Vasco en la jerarquía de Área, con ocho aislados por grupo de compatibilidad vegetativa.

Entre los aislados procedentes de Chile en relación a los aislados neozelandeses, se observa una mayor homogeneidad entre los aislados chilenos. Ninguno de los aislados procedentes de Nueva Zelanda dio lugar a una reacción de compatibilidad excepto la reacción control.

DISCUSIÓN

Teniendo en cuenta que aún quedan por incluir en este estudio, resultados de varios enfrentamientos entre aislados, hasta el momen-

to, se ha observado, entre los analizados, una variabilidad elevada en cuanto a la distribución de aislados compatibles y no compatibles, siendo estos últimos un número muy alto, especialmente si lo comparamos con resultados obtenidos en el estudio de otro hongo de chancho en el País Vasco, como *Fusarium circinatum*. En este último caso, sólo se han detectado dos grupos de compatibilidad vegetativa, muy próximos y no se han detectado aislados sin alguna reacción de compatibilidad, aunque sí con diferente grado de intensidad en dicha reacción (ITURRITXA et al., 2004).

La frecuencia de aparición de aislados, sin reacción de compatibilidad vegetativa, es eleva-

da en todos los niveles jerárquicos que se están considerando en este estudio: Área, parcela y árbol. Esta elevada diversidad en las poblaciones de *Diplodia pinea* coincide con la detectada en otros países importadores de semilla de *Pinus radiata* como Sudáfrica, Australia, Chile y Nueva Zelanda (SMITH et al., 2000; BURGÚES et al., 2001; KAY et al., 2002).

La variabilidad detectada hasta el momento, a nivel de la parcela de Zalla es bastante llamativa, especialmente porque esta parcela en concreto, fue seleccionada en base a su composición diversa en orígenes de *Pinus radiata*, distribuidos en bloques al azar. Se partía de la hipótesis de que fuera el área de una mayor variabilidad en cuanto a grupos de compatibilidad vegetativa. En la parcela de Zalla se ha detectado el grupo de compatibilidad vegetativa con un mayor número de aislados incluidos en él. Estos resultados se corresponden con el incremento de la variabilidad en la población al producirse repetidas introducciones de material vegetal foráneo como reflejan BURGÚES et al. (2001).

Los resultados obtenidos hasta el momento en este estudio, muestran la frecuente introducción de nuevos aislados de *Diplodia pinea* en nuestros ecosistemas forestales, especialmente queda patente en las poblaciones obtenidas a partir de samilla importada de Chile y Nueva Zelanda.

La elevada diversidad en las poblaciones de organismos patógenos, independientemente de ser considerados o no de cuarentena, plantea un aumento de la dificultad de optimizar la selección de material resistente y las estrategias de control del patógeno.

Nuestros esfuerzos han de estar dirigidos a medidas de prevención y control destinadas a

evitar las nuevas introducciones de genotipos incluso en el caso de organismos que estén ya presentes.

BIBLIOGRAFÍA

- BURGESS, T.; WINGFIELD, B.D. & WINGFIELD, M.J.; 2001. Comparison of genotypic diversity in native and introduced populations of *Sphaeropsis sapinea* isolated from *Pinus radiata*. *Mycol. Res.* 105 (11): 1331-1339.
- LELIE, J.F., 1993. Fungal Vegetative Compatibility. *Anu. Rev. Phytopathol.* 31: 127-150
- ITURRITXA, E.; 1999. *Distribución del hongo Sphaeropsis sapinea: Ensayos de patogenicidad y resistencia*. Informe técnico monográfico. Departamento de Agricultura y Pesca del Gobierno Vasco. Neiker. Vitoria.
- ITURRITXA, E.; GANLEY, R.; STEENKAMP, E.; WRIGHT, J.; GORDON, T.R. & WINGFIELD, M.J.; 2006. *Characterisation of a population of Fusarium circinatum from Spain*. Monográfico. Informe I. Neiker-tecnalia 64-81. Vitoria.
- KAY, S.J.; CHEE, A.A.; SALE, P.O.; TAYLOR, J.T.; HADAR, E. & FARREL, R.L.; 2002. Variation among New Zealand isolates of *Sphaeropsis sapinea*. *For. Path.* 32: 101-121
- ROWAN, S.J.; 1982. Tip dieback in southern pine nurseries. *Plant Disease* 66: 258-259.
- SMITH, H.; WINGFIELD, M.J.; DE WET, J. & COUTHINO, T.A.; 2000. Genotypic diversity of *Sphaeropsis sapinea* from South Africa and Northern Sumatra. *Plant Disease* 84: 139-142.