

Prospección de *Phytophthora* spp. en suelos de frondosas de la provincia de Pontevedra

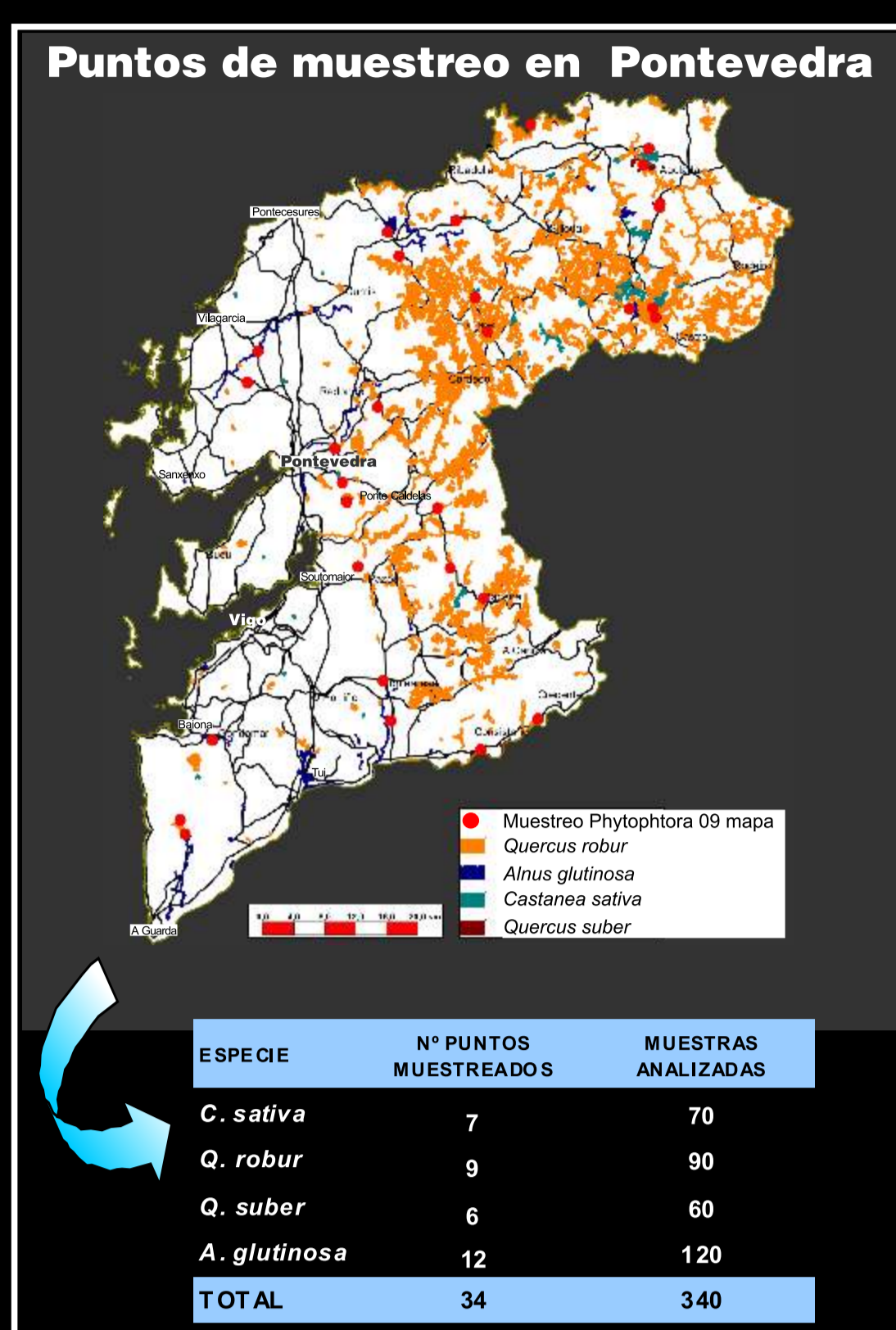
Mansilla, J.P., Rial, C., Mansilla Salinero, P., Pintos, C., Aguin, O. y Redondo, V.

Estación Fitopatológica do Areiro. Deputación de Pontevedra. Subida a la Robleda s/n 36153 Pontevedra email: cpintos@efa-dip.org



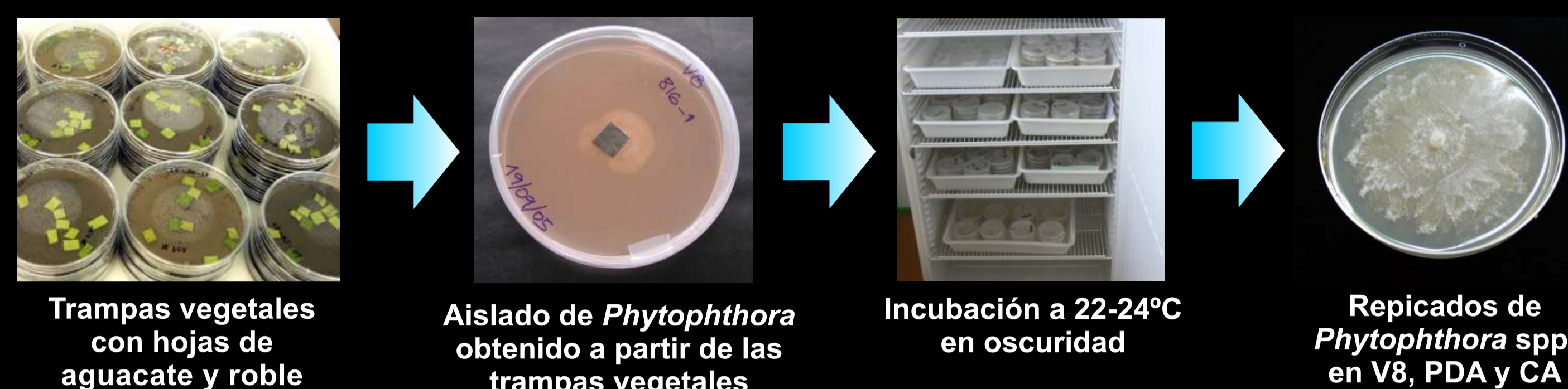
Durante la última década han sido descritas numerosas especies patógenas de *Phytophthora* asociadas al decaimiento de diferentes frondosas forestales, como *Phytophthora quercina*, *P. europaea*, *P. kernoviae*, *P. pseudosyringae* y *P. alni*, entre otras, siendo de vital importancia especialmente por su destructivo impacto en los ecosistemas forestales.

Con el objetivo de conocer las especies de *Phytophthora* presentes en suelos gallegos, durante el periodo 2009-2010, se llevó a cabo una prospección en suelos forestales de *Alnus glutinosa*, *Castanea sativa*, *Quercus robur* y *Quercus suber* en la provincia de Pontevedra.



Se muestrearon un total de 34 puntos, en cada uno de los cuales se recogieron muestras de suelo de las proximidades de las raíces absorbentes de 10 árboles, procesándose un total de 340 muestras.

AISLAMIENTO



CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA

P. cinnamomi

- ✓ Especie heterotática
- ✓ Anteridio anfigino
- ✓ Esporangios: persistentes no papilados elipsoides a ovoides
- ✓ Hifas coraloides
- ✓ Hinchamientos hifales
- ✓ Clamidosporas en racimos

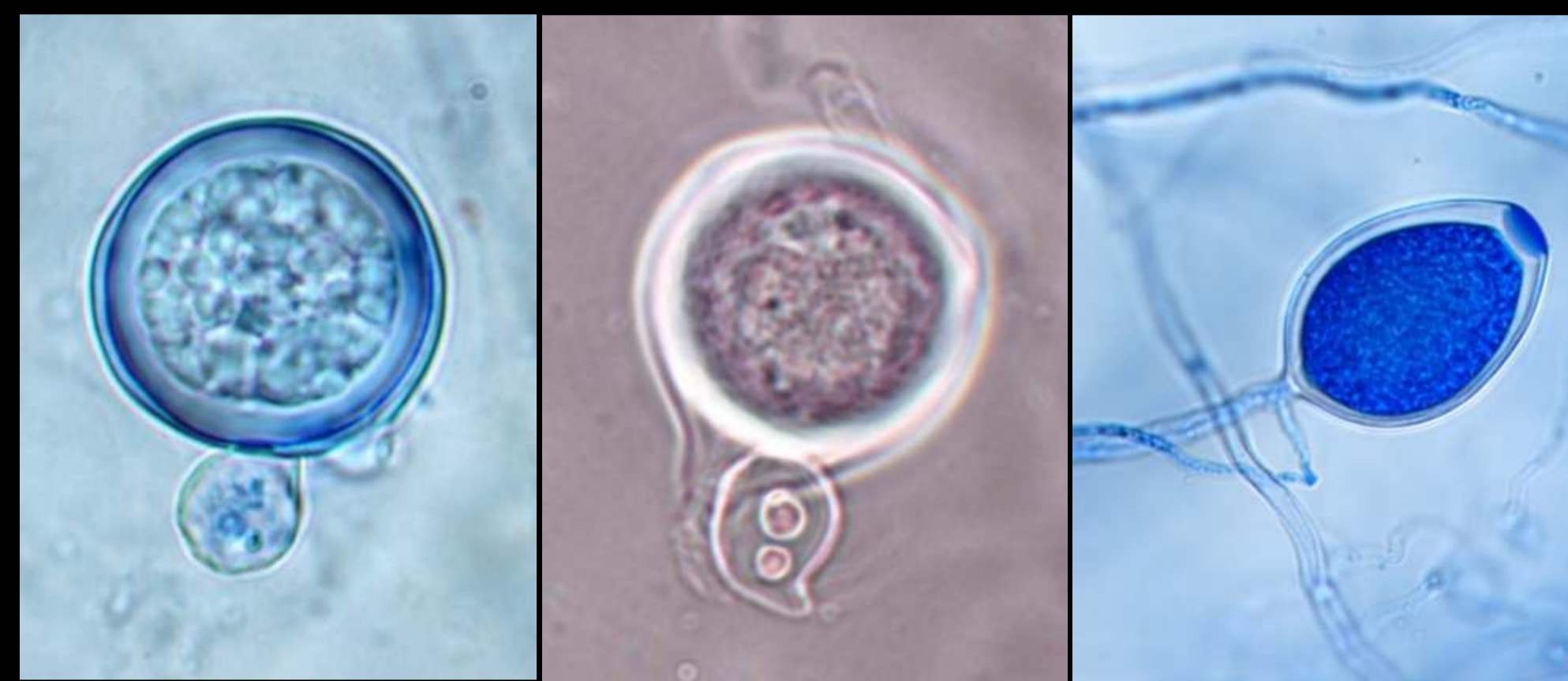


Hinchamientos hifales

Clamidosporas

P. inflata

- ✓ Especie homotática
- ✓ Anteridio hinchado, paragino
- ✓ Esporangios: persistentes semipapilados forma limoniforme proliferación externa
- ✓ Ausencia de clamidosporas



Oogonio con anteridio paragino

Esporangio semipapilado

P. citricola

- ✓ Especie homotática
- ✓ Anteridio paragino
- ✓ Esporangios: persistentes semipapilados algunos bipapilados y/o con formas distorsionadas
- ✓ Ausencia de clamidosporas



Anteridio paragino

Esporangios

P. undulata

- ✓ Hifas onduladas
- ✓ Esporangios: elípticos proliferación interna
- ✓ Clamidosporas: intercalares terminales

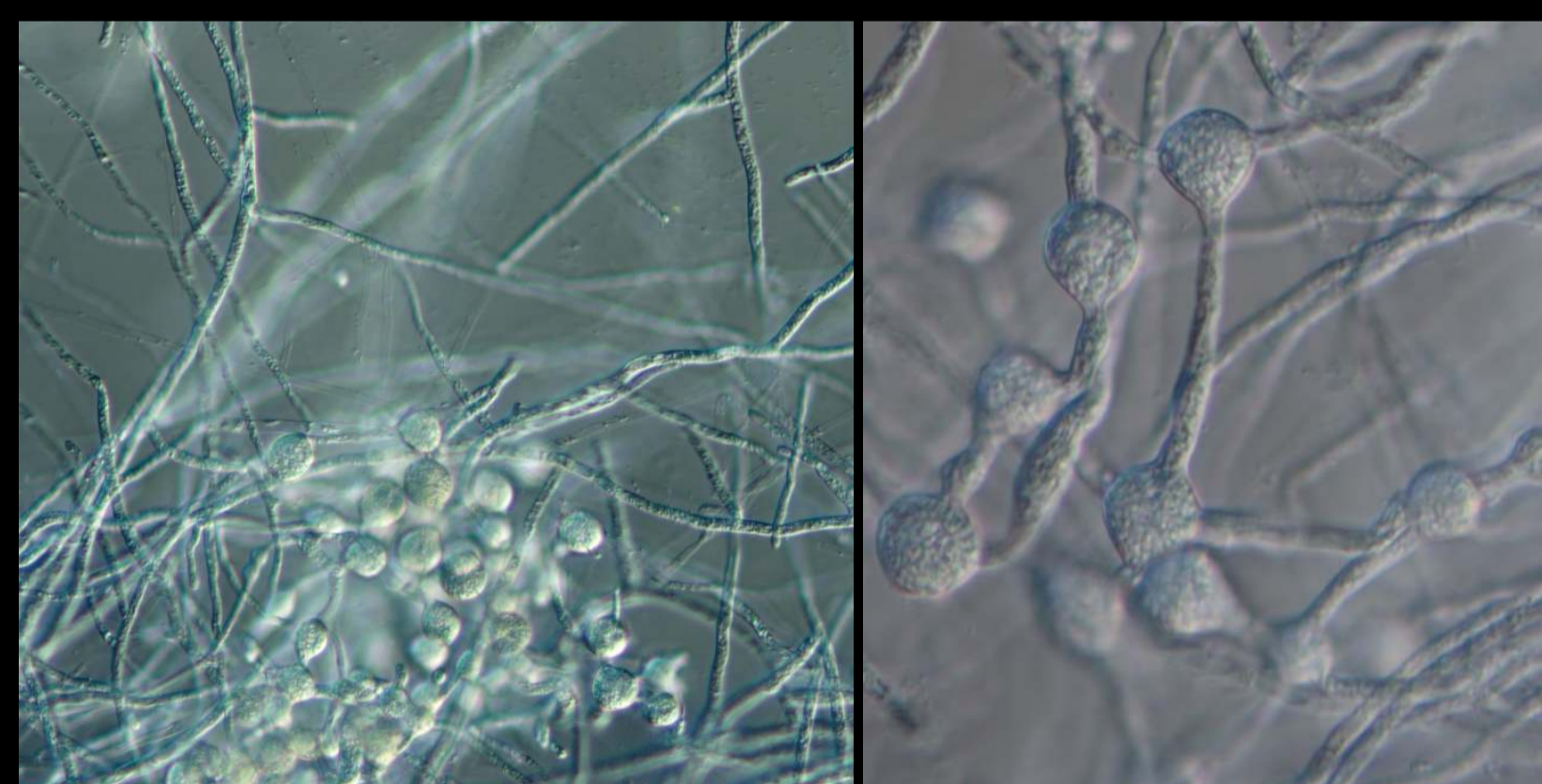


Esporangio

Clamidosporas

P. cryptogea

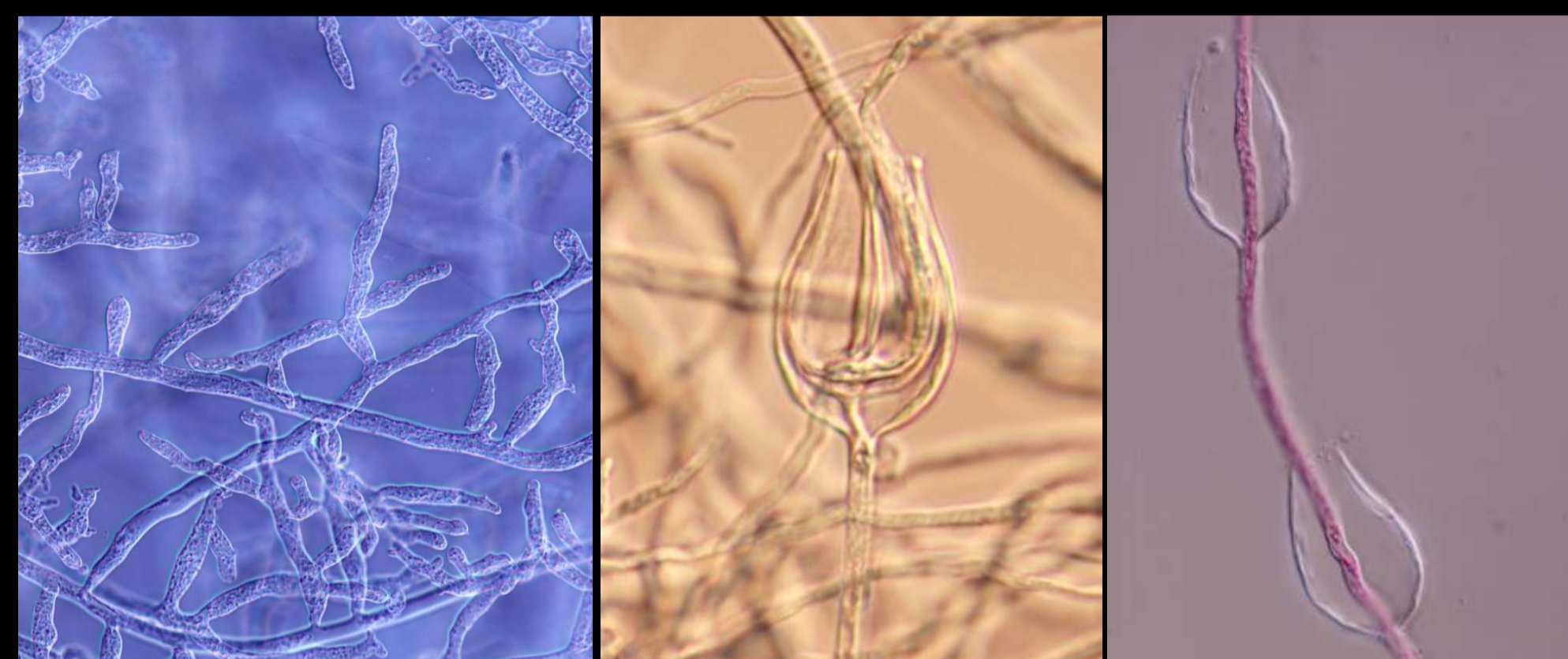
- ✓ Especie heterotática
- ✓ Anteridio anfigino
- ✓ Esporangios: persistentes no papilados ovoides y ovopiriformes Proliferación interna
- ✓ Hinchamientos hifales en red
- ✓ Ausencia de clamidosporas



Hinchamientos hifales en red

P. gonapodyides

- ✓ Especie heterotática
- ✓ Anteridio anfigino
- ✓ Esporangios: persistentes no papilados proliferación interna
- ✓ Hifas irregulares



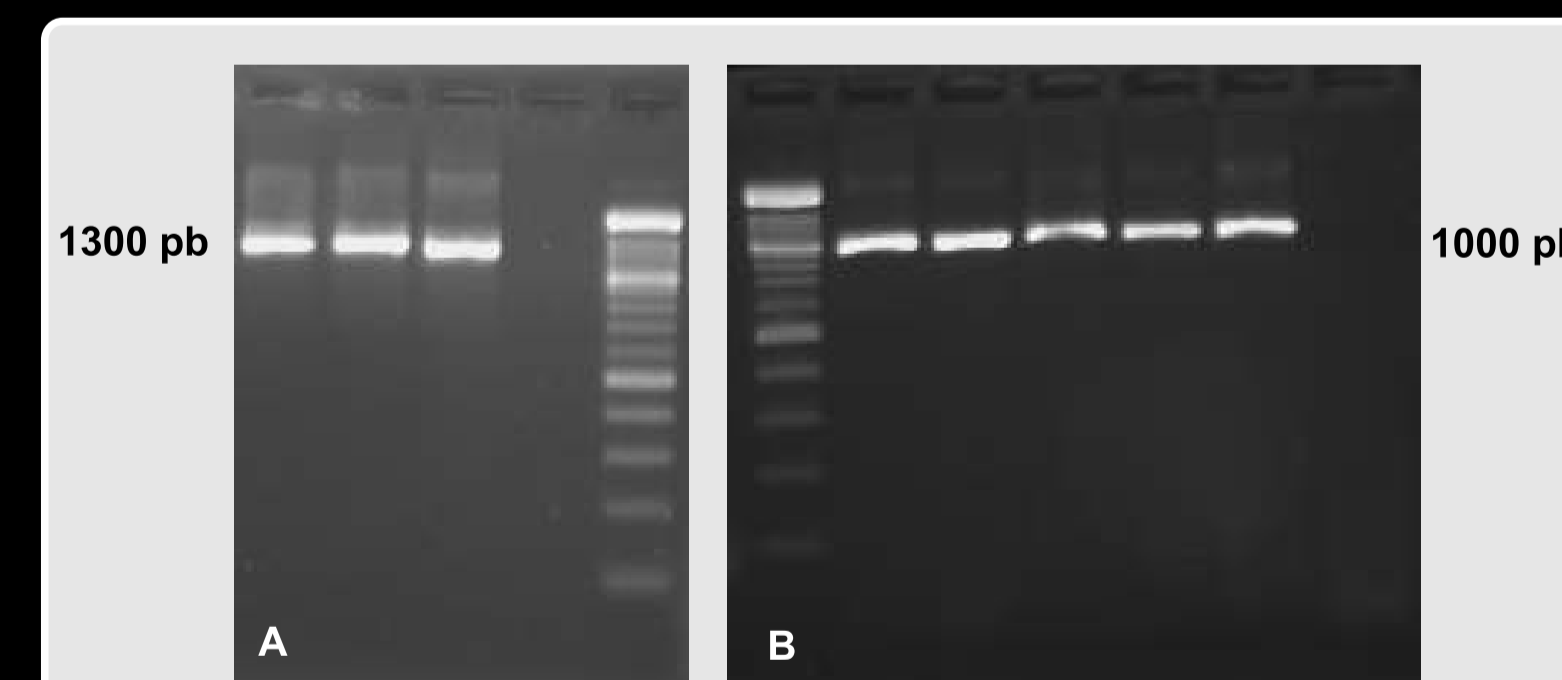
Hifas irregulares

Proliferación interna

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR

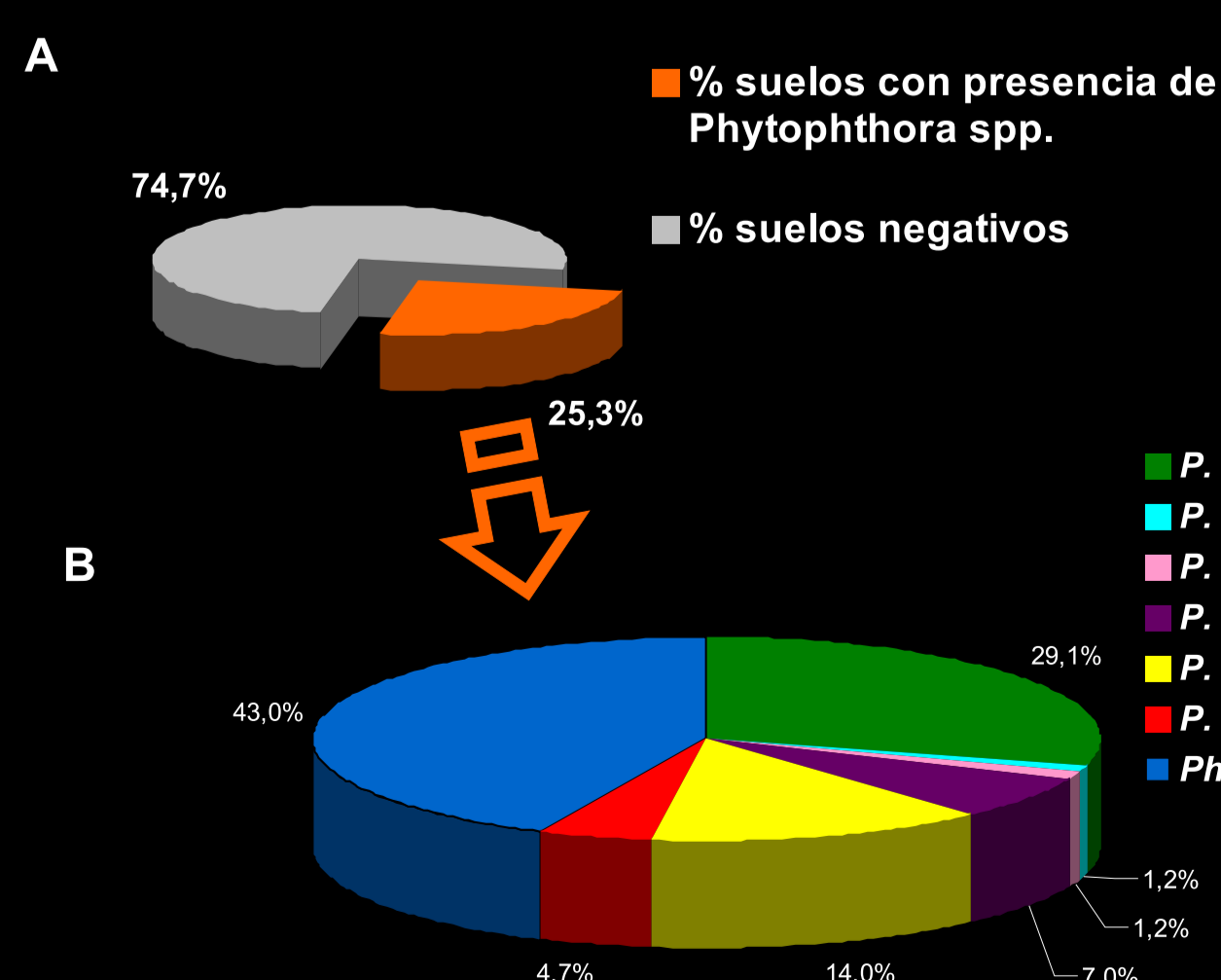
Los análisis moleculares se realizaron a partir de micelio de *Phytophthora* sp. aislado en el medio de cultivo V8 sobre celofán. Para la extracción del ADN se utilizó el protocolo corto del EZNA fungal DNA Miniprep Kit. La amplificación del ADN extraído se llevó a cabo mediante dos procedimientos: la región ITS del ADN ribosomal y el gen del factor de elongación 1 alpha (EF-1α). Los amplicones obtenidos se secuenciaron y las secuencias obtenidas se analizaron y compararon con las disponibles en la base de datos del NCBI utilizando la aplicación BLAST.

En todos los casos la identificación molecular de las especies coincidió con la caracterización morfológica.

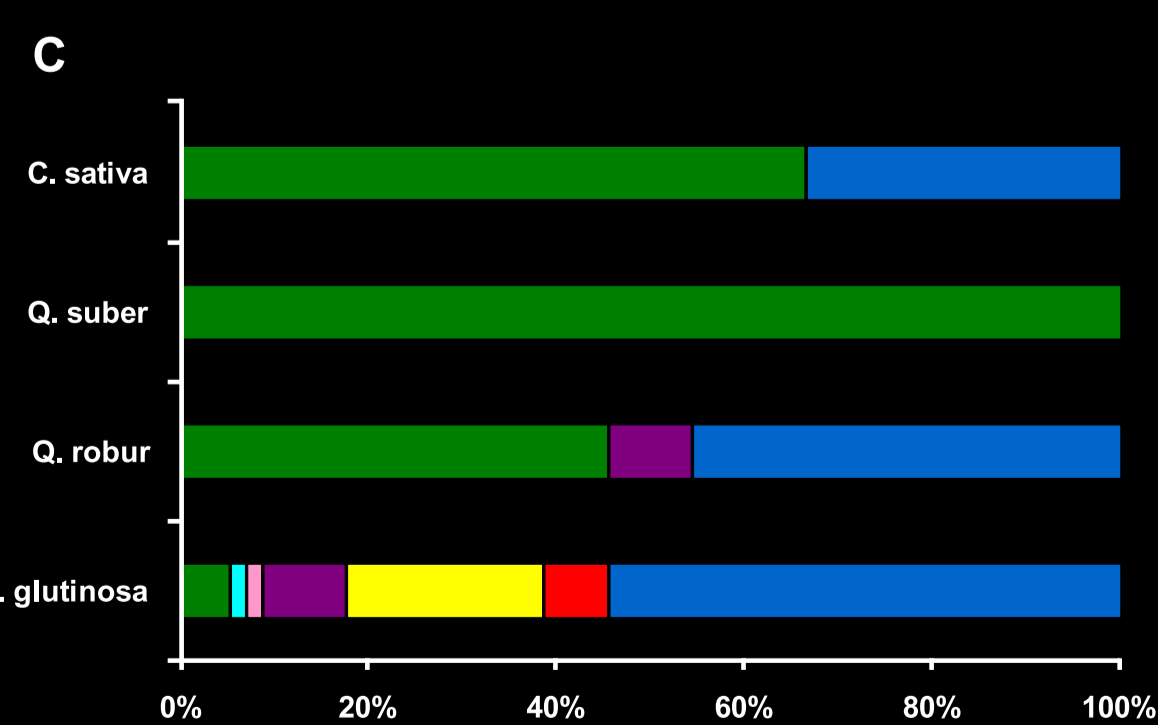


Gel de agarosa al 2% mostrando el fragmento de ADN de 1300 y 1000 pb resultado de la amplificación de la región ITS (A) y del gen EF-1α (B) de *P. cryptogea*.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES



(A) Porcentaje de detección de *Phytophthora* spp. sobre el total de suelos muestreados.
(B) Porcentaje de las diferentes especies de *Phytophthora* identificadas.
(C) Porcentaje de especies aisladas en los diferentes suelos de frondosas muestreados.



- ✓ Se ha detectado presencia de *Phytophthora* en un 25,3% de los suelos de frondosas analizados.
- ✓ Se han identificado 6 especies: *Phytophthora cinnamomi*, *P. citricola*, *P. cryptogea*, *P. gonapodyides*, *P. inflata* y *P. undulata*.
- ✓ El mayor número de aislados de *Phytophthora* fue obtenido a partir de suelos de *Alnus glutinosa* y la especie más frecuentemente detectada fue *P. cinnamomi*, aislada en las cuatro especies de frondosas muestreadas.
- ✓ Todas las especies aisladas habían sido anteriormente citadas en diversos países asociadas a la rizosfera de frondosas forestales, sin embargo no existían referencias anteriores de la presencia en España de *Phytophthora gonapodyides*, *P. undulata* y *P. inflata*.
- ✓ Serán necesarios estudios posteriores para comprobar la patogenicidad de las especies de *Phytophthora* aisladas.