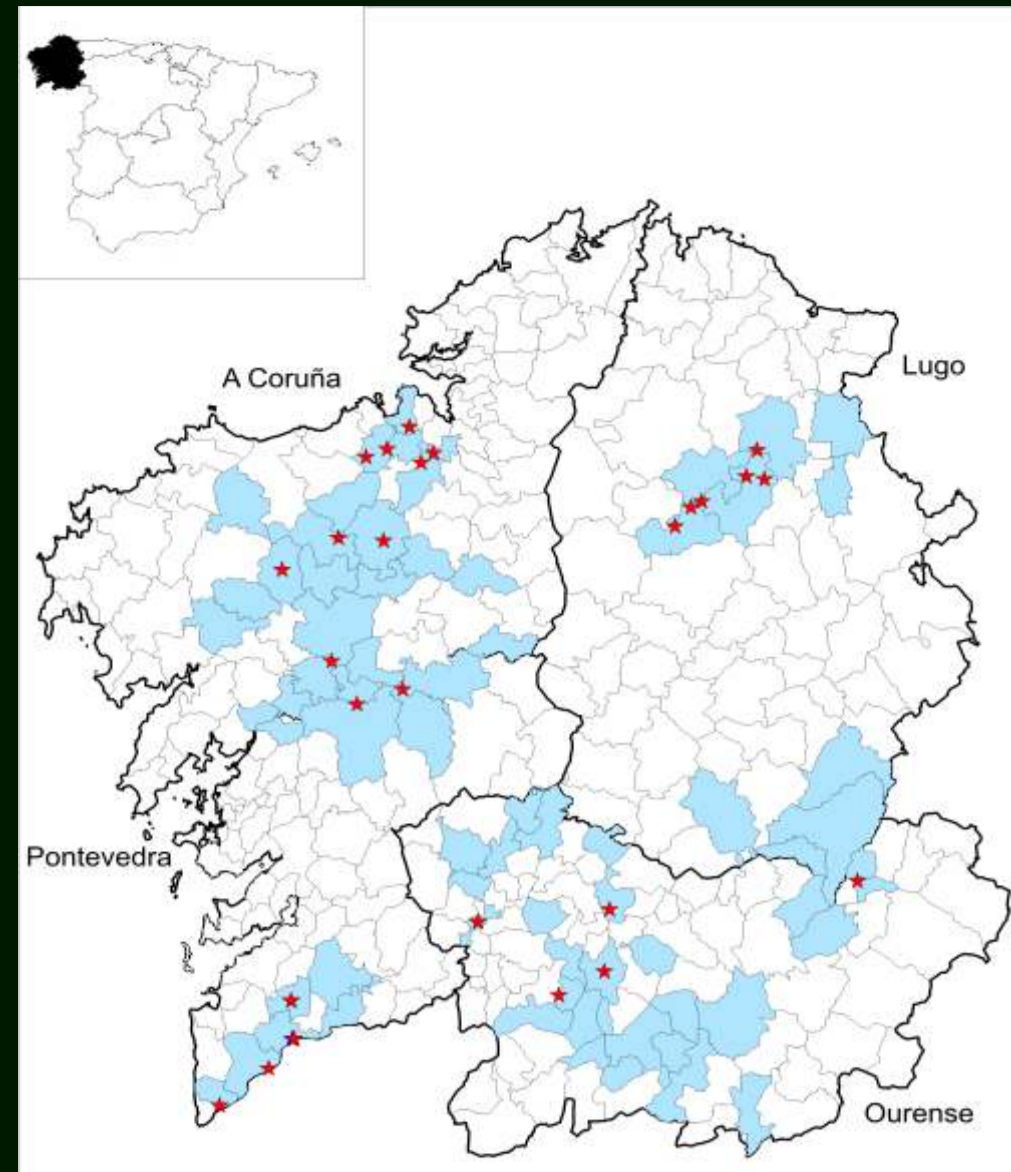


# Prospección de *Phytophthora alni* Brasier & S.A. Kirk en alisedas gallegas

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

Estación Fitopatológica do Areiro. Deputación de Pontevedra. Subida a la Robleda s/n 36153 Pontevedra e-mail: [cpintos@efa-dip.org](mailto:cpintos@efa-dip.org)

En 2004, Brasier *et al.* identifican y describen formalmente *Phytophthora alni*, como el agente causal de una nueva enfermedad letal en los alisos europeos. Este patógeno, subdividido en 3 subespecies, *P. alni* subsp. *alni*, la más agresiva y ampliamente distribuida en Europa, *P. alni* subsp. *uniformis* y *P. alni* subsp. *multiformis*, fue detectado por primera vez en UK en 1993. Actualmente se ha extendido a numerosos países europeos. En España, la primera detección fue llevada a cabo en Galicia por la Estación Fitopatológica do Areiro (EFA) en verano de 2009 (*Plant disease* 94 (2): 273).



Relación de zonas muestreadas en azul y puntos con presencia de *P. alni* en rojo

Tras esta primera cita, la EFA en colaboración con la Xunta de Galicia realiza una prospección para determinar la extensión de *P. alni* en nuestra comunidad. Para ello, se lleva a cabo un muestreo en alisedas, con síntomas de decaimiento, situadas en las principales zonas de ribera de Galicia (148 puntos).

Una vez aislado el hongo en laboratorio, se realizaron pruebas de patogenicidad en diez plantas de *Alnus glutinosa*.

## TOMA DE MUESTRAS

Observación de síntomas de decaimiento y presencia de exudados en alisedas gallegas



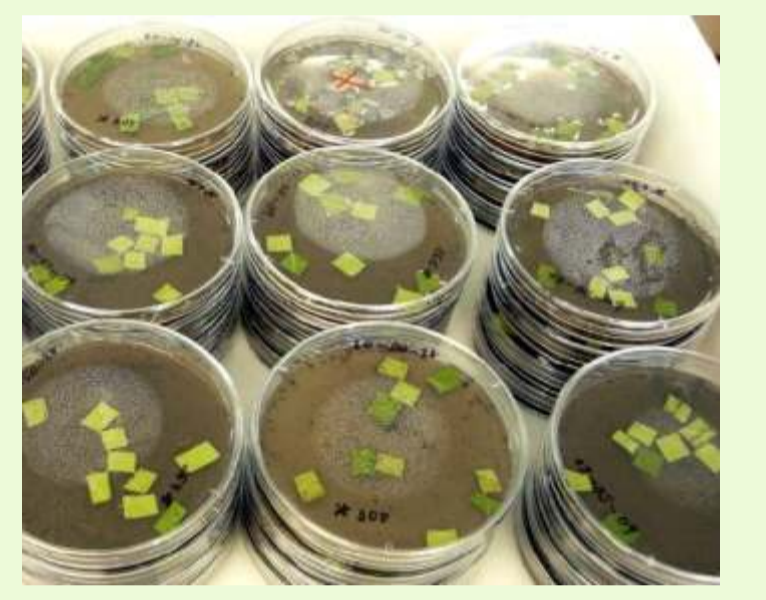
En cada punto de muestreo se recogen muestras de raíz, corteza, suelo de alisos y agua del cauce o zona encharcada próxima a los árboles.

## ANÁLISIS DE MUESTRAS

Siembra en medio V8 (raíz y corteza)



Trampas vegetales (suelo y agua)

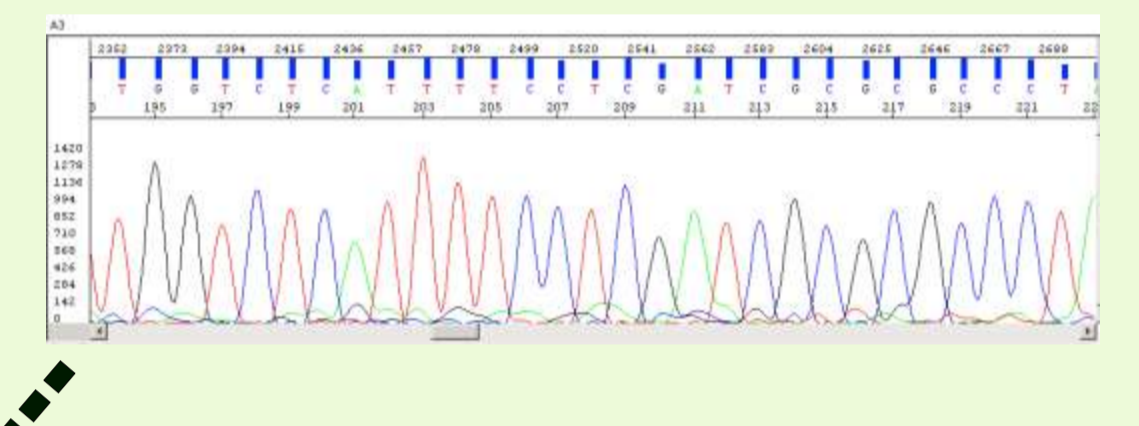


Aislados de *Phytophthora* sp. repicados a V8 y carrot-agar. Incubación 22 °C en oscuridad

Análisis morfológico



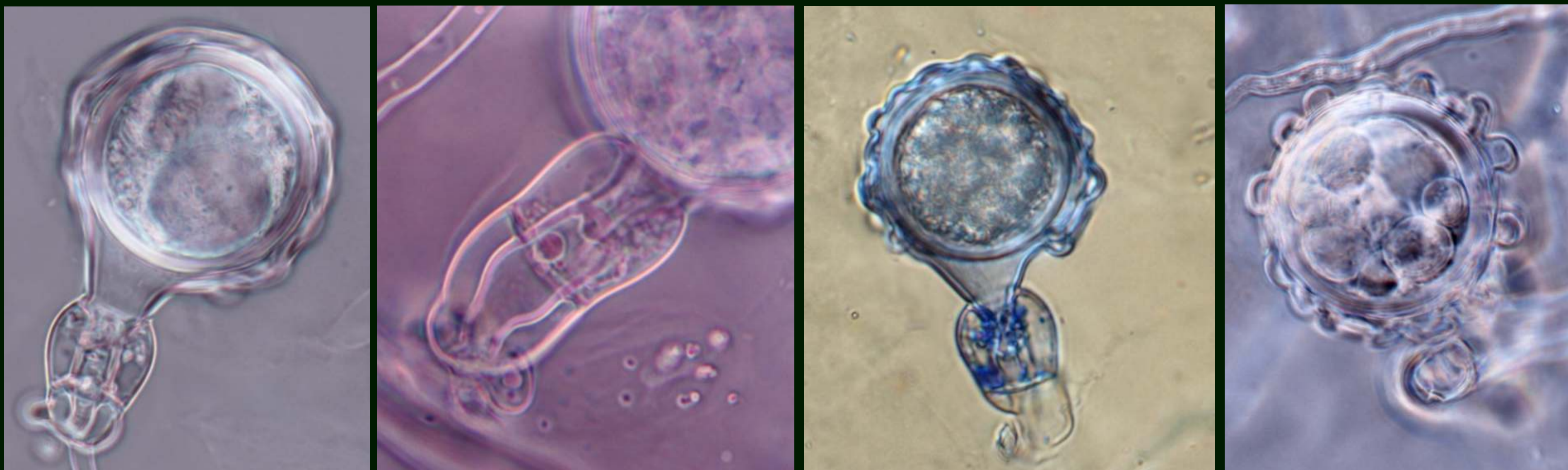
Análisis molecular



Identificación de la especie de *Phytophthora*

## IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA DE *Phytophthora alni*

ÓRGANOS SEXUALES



Anteridio anfigino

Anteridio de dos células

Oogonio ornamentado

Oospora abortada

ESPORANGIOS

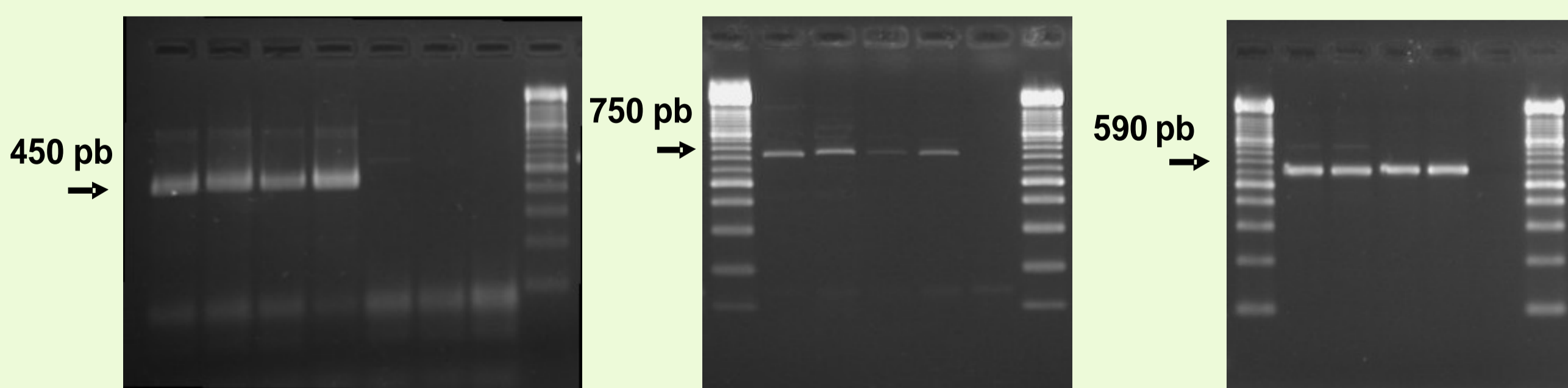


Esporangios persistentes no papilados

## IDENTIFICACIÓN MOLECULAR

Primers, fragmento de ADN esperado y especificidad de las secuencias diseñadas por Ios et al. en el año 2005 para el diagnóstico de *P. alni* y sus tres subespecies.

Pareja de primers	Fragmento esperado (pb)	Especificidad
PA-F/PA-R	450	<i>P. alni</i> subsp. <i>alni</i> <i>P. alni</i> subsp. <i>multiformis</i> <i>P. alni</i> subsp. <i>uniformis</i>
PAU-F/PAU-R	750	<i>P. alni</i> subsp. <i>alni</i> <i>P. alni</i> subsp. <i>uniformis</i>
PAM-F/PAM-R	590	<i>P. alni</i> subsp. <i>alni</i> <i>P. alni</i> subsp. <i>multiformis</i>



Geles de agarosa al 2% mostrando los fragmentos de 450 pb, 750 pb y 590 pb obtenidos con los primers específicos.

Secuencia depositada en el GenBank con el n° de acceso GU108602.

```
Phytophthora alni subsp. alni isolate EFA 685-A(1) internal transcribed spacer 1, partial
sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2
partial sequence
GenBank: GU108602.1
Accession Number: GU108602.1
Accession Number: GU108602.1
Accession Number: GU108602.1
Accession Number: GU108602.1
Accession Number: GU108602.1
Accession Number: GU108602.1
Accession Number: GU108602.1
Accession Number: GU108602.1
Accession Number: GU108602.1
Accession Number: GU108602.1
```

## CONCLUSIONES

- ✓ Se detectó presencia de *P. alni* en las cuatro provincias gallegas y en un total de 26 (17,6%) de los 148 puntos muestreados. *P. alni* fue aislada a partir de muestras de corteza y raíz de *Alnus*. En ningún caso se detectó su presencia en muestras de suelo ni de agua.
- ✓ Todos los aislados se corresponden con *P. alni* subsp. *alni*, coincidiendo en todos los casos la identificación morfológica con la molecular.
- ✓ Se ha detectado presencia de otras especies de *Phytophthora*, fundamentalmente en muestras de suelo, como *P. cinnamomi*, *P. citricola*, *P. cryptogea*, *P. gonapodyides* y *P. undulata*. De estas 2 últimas especies no existen referencias anteriores de su presencia en España.
- ✓ Las inoculaciones en plantas de *A. glutinosa* demostraron la patogenicidad de los aislados gallegos de *P. alni* subsp. *alni*. Las plantas inoculadas mostraron síntomas típicos de la infección, reaislandose el hongo en todas las plantas inoculadas.

PRUEBAS DE PATOGENICIDAD



Síntomas de la inoculación con *P. alni* subsp. *alni*