

Evaluación de la resistencia aparente de individuos de encina a *Phytophthora cinnamomi* Rands

R. M. NAVARRO CERRILLO, D. ARIZA, C. PORRAS, I. JORGE, J. JORRIN

En este trabajo se ha inoculado con *Phytophthora cinnamomi* plantas de encina producidas a partir de bellotas de árboles seleccionados en campo por su resistencia o susceptibilidad aparente a esta enfermedad. La altura final de los brinzales no mostró diferencias significativas, siendo estas más evidentes en los valores de fluorescencia y concentración de fenoles solubles en la raíz. La concentración de fenoles solubles en las raíces, ocho meses después, de la inoculación fue mayor en todos los individuos resistentes, independientemente de estar inoculados ($0,32 \text{ mg g}^{-1}$) o no ($0,27 \text{ mg g}^{-1}$), frente a los susceptibles. Estos resultados parecen indicar que existen procesos de resistencia natural a *Phytophthora cinnamomi* en individuos de encina, en los cuales esta implicado la síntesis de fenoles. La aplicación práctica de estos resultados es limitada, y debe entenderse en el marco de los programas de restauración de encinares en áreas con bajos niveles de afección de seca.

R. M. NAVARRO CERRILLO, D. ARIZA. Dpto. Ingeniería Forestal, ETSIAM. Universidad de Córdoba. Correo electrónico: irInacer@uco.es; Apartado de Correos 3048 (14080 Córdoba-España). Teléfono: 34-957-218657; Fax: 34-957-218563
C. PORRAS. Departamento de Bioquímica, ETSIAM. Universidad de Córdoba.
I. JORGE, J. JORRIN. IFAPA-Consejería de Innovación. Junta de Andalucía.

Palabras clave: Seca, variabilidad, síntesis de fenoles, ecofisiología.

INTRODUCCIÓN

El principal problema fitosanitario de las masas de *Quercus* en la península ibérica es la afección de la *seca* de encina y alcornoques, que esta dañando gravemente a un gran número de dehesas y bosques desde comienzos de los años 80 (RUPÉREZ y MUÑOZ, 1980). *Phytophthora cinnamomi* Rands ha sido identificado como el agente primario más importante en los encinares de la parte occidental de Andalucía (BRASIER *et al.*, 1993; RODRÍGUEZ-MOLINA *et al.*, 2002; SÁNCHEZ *et al.*, 2002). En algunas zonas, como la comarca del Andevalo (Huelva) empieza a producir importantes pérdidas de arbolado (ROMERO *et al.*, 2007).

Las dehesas de encina son una de las formaciones más afectadas por este proceso (SÁNCHEZ *et al.*, 2002). Esta especie presenta una gran variabilidad inter e intrapoblacional, tanto en parámetros morfológicos (VÁZQUEZ, 1998), fisiológicos (LEIVA y ALÉS, 1998) y bioquímicos (JORGE *et al.*, 2005). De igual manera, la respuesta de los individuos de encina a *P. cinnamomi* parece presentar un patrón diferencial según grados de tolerancia, ya que hay algunos individuos que muestran una resistencia aparente a la enfermedad (Porrás, comunicación personal; TAPIAS *et al.*, 2006), lo cual ha sido también documentado para otras especies leñosas como los robles (ROBIN y DESPEZ-LOUSTAU, 1998; DODD *et al.*, 2005), los eucaliptos

(STUKELY y CRANE, 1994; HÜBERLI *et al.*, 2002), los pinos (BUTCHER *et al.*, 1984) o el castaño europeo (ROBIN *et al.*, 2006).

Los individuos resistentes generalmente no muestran los mismos niveles de afección (STUKELY y CRANE, 1994). Las razones de esta resistencia se han relacionado con la aparente capacidad de la planta para detener el avance del patógeno una vez ha invadido los tejidos de la raíz (HÜBERLI *et al.*, 2002). El cese del desarrollo de las lesiones no está acompañado de la muerte del patógeno ya que el hongo permanece en el suelo y puede ser re-aislado varias semanas después de la inoculación. El proceso de defensa de la planta frente al avance de *P. cinnamomi* dentro de las raíces no parece estar asociado usualmente a la producción de barreras morfológicas por el hospedante, aunque parece que hay varios mecanismos de respuestas que podrían ser importantes. Se considera que hay numerosas pruebas de que las plantas son capaces de crear mecanismos de resistencia a *P. cinnamomi* no sólo de tipo morfológico (CAHILL y WESTE, 1983; JANG y TAINTER, 1990) como callosidades o peridermis resistente a la necrosis, sino también bioquímica con la formación de ligninas, suberinas o fenoles (CAHILL *et al.*, 1989). La infección de la raíz por *P. cinnamomi* causa importantes cambios fisiológicos y bioquímicos (CAHILL *et al.*, 1985; DAWSON y WESTE, 1986).

La utilización de semilla procedente de progenitores selectos que presenten resistencia a *P. cinnamomi*, puede ser una alternativa a la recuperación de poblaciones de encina afectada. El proceso de selección de material de base debería ir acompañado de técnicas de preacondicionamiento en vivero (NAVARRO *et al.*, 2004), para reforzar la capacidad de supervivencia a corto y largo plazo de las plantaciones.

En este artículo se estudia la resistencia diferencial de individuos de encina, que muestran resistencia aparente en campo, a la inoculación de *P. cinnamomi* a través del estudio de mecanismos fisiológicos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

El material vegetal utilizado en este trabajo fueron bellotas de encina (*Quercus ilex* L. subsp. *ballota* (Desf.) Samp.), colectadas en noviembre de 2004 en 10 árboles localizados en el Termino Municipal de Cazalla de la Sierra (Sevilla, 37° 56' N, 5° 45' O). Los individuos fueron seleccionados en focos de *seca*, en los cuales se hizo un diagnóstico positivo de *Phytophthora cinnamomi* de acuerdo al criterio propuesto por SÁNCHEZ *et al.* (2002). Los árboles fueron clasificados en campo como individuos con resistencia aparente (5) (IRA) e individuos sensibles (5) (IS). Los primeros se caracterizaban por presentar niveles de defoliación 0-1 (*sensu* FERRETI 1994), y un estado de vigor adecuado, y los segundos presentaban niveles de defoliación 3-4, y un claro proceso de deterioro. Todos los árboles estaban próximos entre sí, y se consideraba que tenían el mismo riesgo de afección por *Phytophthora cinnamomi*.

Las bellotas colectadas fueron mezcladas para cada una de las categorías, y cultivadas en el umbráculo de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y de Montes (ETSIAM) de la Universidad de Córdoba. Al final de la fase de cultivo en vivero, y previamente al trasplante a los envases definitivos, la planta de encina presentaba una altura de $30,24 \pm 2,01$ cm., y un diámetro en el cuello de la raíz de $4,74 \pm 0,74$ mm.

Diseño experimental

El diseño experimental se realizó para verificar si la resistencia aparente asignada en campo se mantenía en individuos obtenidos mediante reproducción sexual en condiciones de infección de *P. cinnamomi*. Se optó por un ensayo factorial con un factor, resistencia aparente, con dos niveles, con o sin resistencia aparente en campo. Se incluyen dos controles no inoculados, lo que supone cuatro tratamientos. El número de plantas utilizadas por tratamiento fueron 60, y un total de 240 para el ensayo.

El día 10 de febrero de 2005 se procedió a la inoculación de las plantas mediante la

aplicación a los cepellones de una suspensión acuosa de micelio y clamidosporas (SÁNCHEZ *et al.*, 2003). El inóculo se obtuvo a partir de una cepa de *P.cinnamomi* (PE-90) caracterizada y conservada en la micoteca del Departamento de Agronomía de la Universidad de Córdoba. El inóculo se preparó de acuerdo al procedimiento propuesto por SÁNCHEZ *et al.* (2003), utilizado previamente en otros ensayos (NAVARRO *et al.*, 2004). Los plántones inoculados se transplantaron a macetas individuales Teku-Tainer (150 x 150 x 200 mm) previamente desinfectadas con lejía comercial diluida al 10%. El sustrato necesario para completar el volumen de los nuevos envases fue una mezcla formada por turba, arena y limo (1:1:1 en volumen). El suelo no era estéril, aunque la arena y el limo habían sido previamente desinfectados. Las plantas testigo no inoculadas fueron tratadas de la misma manera, añadiendo a sus cepellones 100 ml de agua estéril libre de material fúngico.

Una vez realizados los tratamientos, todas las macetas se colocaron en mesas metálicas, de forma que en cada mesa sólo hubiese plántones con el mismo tratamiento para evitar posibles contaminaciones. Posteriormente se añadió agua a todos los envases, de forma que el nivel se situara en unos 5 cm por debajo del borde de las macetas. Las plantas permanecieron encharcadas dos días dentro de las bandejas y el resto de días se sacaban de las mismas, así durante seis semanas hasta que empezaron a mostrar alguna sintomatología evidente de afectación.

Las plantas fueron colocadas en el invernadero de la ETSIAM (Córdoba) donde permanecieron hasta el final del ensayo, que se extendió desde el 7 de mayo al 7 de octubre de 2005. El invernadero permitía un mejor control de la temperatura y de la humedad, que son factores fundamentales para el desarrollo de *Phytophthora cinnamomi*, el aislado PE 90 tiene una temperatura óptima de crecimiento de 25,2°C (SÁNCHEZ *et al.*, 2003). Durante todo el ensayo se mantuvo un programa de riego constante para mantener hidratado el sustrato.

Variables morfológicas

La única variable morfológica evaluada fue la altura del brinjal en dos ocasiones mediante un calibre electrónico (MITUTOYO, $e = \pm 0,1$ mm), los días 7 de julio y 7 de octubre de 2005.

Medición de la fluorescencia.

La fluorescencia de la clorofila se determinó utilizando un fluorímetro *Plant Efficiency Analyser* (PEA, Hansatech, Reino Unido). La fluorescencia basal (F_0) se midió con una luz de 650 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$, y para obtener la emisión máxima de fluorescencia (F_m), se aplicó un pulso saturante de 10.000 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y un segundo de duración. Se usaron unas pinzas especiales, que forman parte del equipo del fluorímetro, para el periodo de adaptación a la oscuridad (30 minutos) que permite obtener el máximo grado de oxidación de la quinona A (Q_A). Se determinó la relación entre la fluorescencia variable (F_v) y la máxima (F_m): $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$; según STRASSER *et al.* (2000). La razón F_v/F_m es proporcional a la eficiencia fotoquímica máxima de las hojas, y es una de las variables más empleadas por numerosos autores en estudios de respuesta a estrés. La medición de la fluorescencia se realizó cada 15-30 días en el periodo del ensayo (30 de marzo al 7 de octubre de 2005). Las mediciones se realizaron al mediodía, (12:00 hora solar) en cuarenta plantas por tratamiento, y se ha medido siempre en la misma hoja seleccionada en el tercio medio de cada planta.

Análisis de compuestos fenólicos

Al final del ensayo se analizó la concentración de compuestos fenólicos solubles en muestras de raíz de 10 plántones por tratamiento, que fueron pesados, y conservados en papel de aluminio a -80°C en nitrógeno líquido hasta su análisis. La extracción de compuestos fenólicos del material vegetal se realizó siguiendo el método descrito por PRATS (2001). El contenido de fenoles totales se determinó espectrofotométricamente por el método de Folin, siguiendo el protocolo descrito por LÓPEZ-VALBUENA (1980).

Análisis de datos

Una vez realizada la comprobación de los requisitos básicos de normalidad de los datos, se procedió a un análisis de la varianza (ANOVA) para las variables estudiadas. Los resultados se presentan en las tablas y en las figuras como media y error estándar de cada tratamiento.

RESULTADOS

Altura

La altura al final del ensayo mostró diferencias significativas para el factor resistencia aparente del progenitor ($F=18,29$; $P<0,01$), pero no para el factor inoculación ($F=0,07$; $P=0,79$), aunque la planta inoculada presentó para todos los tratamientos un valor menor (Cuadro 1). Las alturas medias obtenidas para cada uno de los tratamientos de encina durante el ensayo oscilaron entre el valor máximo de la planta resistente no inoculada ($h=28$ cm) y el valor mínimo para la planta sensible inoculada con *Phytophthora* ($h=22,3$ cm).

Medición de la fluorescencia

En la Figura 1 se muestran los valores de la relación Fv/Fm a lo largo del periodo de medición. Los valores se mantienen en rangos muy próximos para todos los tratamientos a lo largo del periodo de medición, con valores mínimos durante el periodo estival. La planta inoculada, resistente o

sensible, presentó valores de Fv/Fm por debajo de 0,7, hasta el final del verano, produciéndose una mejor recuperación en el caso de los brinzales procedentes de individuos resistentes, frente a los procedentes de individuos sensibles. La planta no inoculada, por el contrario, tuvo un menor estrés a lo largo del periodo estival. En la última medida las diferencias fueron estadísticamente significativas, siendo las plantas resistentes, inoculadas y no inoculadas, las que presentaron un nivel mínimo de estrés ($Fv/Fm=0,78$) ($F = 3,98$, $P = 0,009$). Las plantas sensibles también quedaron agrupadas, independientemente de estar o no inoculadas, y con un valor de fluorescencia ligeramente menor al final del ensayo ($Fv/Fm=0,75$).

Concentración de fenoles

Las raíces de plantas procedentes de individuos con resistencia aparente mostraron una concentración mayor de fenoles en raíz al final del ensayo que los individuos procedentes de plantas sensibles (Figura 2). En el primer caso, los valores variaron entre $0,27$ mg g⁻¹ para el control y $0,32$ mg g⁻¹ para la planta inoculada, y en plantas sensibles varió entre $0,22$ mg g⁻¹ y $0,24$ mg g⁻¹. Sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ni para el factor resistencia ($F=1,025$; $P=0,386$), ni para el factor inoculación ($F=0,485$; $P=0,63$).

Cuadro 1.- Análisis de la varianza de la altura de la planta en para cada factor considerado y su interacción en las dos mediciones realizadas los días 7 de julio y 7 de octubre de 2005.

Tratamiento	Medida 07-07-2005			
	gl	Media cuadrática	F	P
Resistencia	1	1781,00	24,52	<0,01
Inoculación	1	7,40	0,10	<0,01
Interacción	1	161,95	2,23	0,75
Tratamiento	Medida 07-10-2005			
	gl	Media cuadrática	F	P
Resistencia	1	10,75	18,29	<0,01
Inoculación	1	489,72	0,07	0,79
Interacción	1	150,57	3,25	0,07

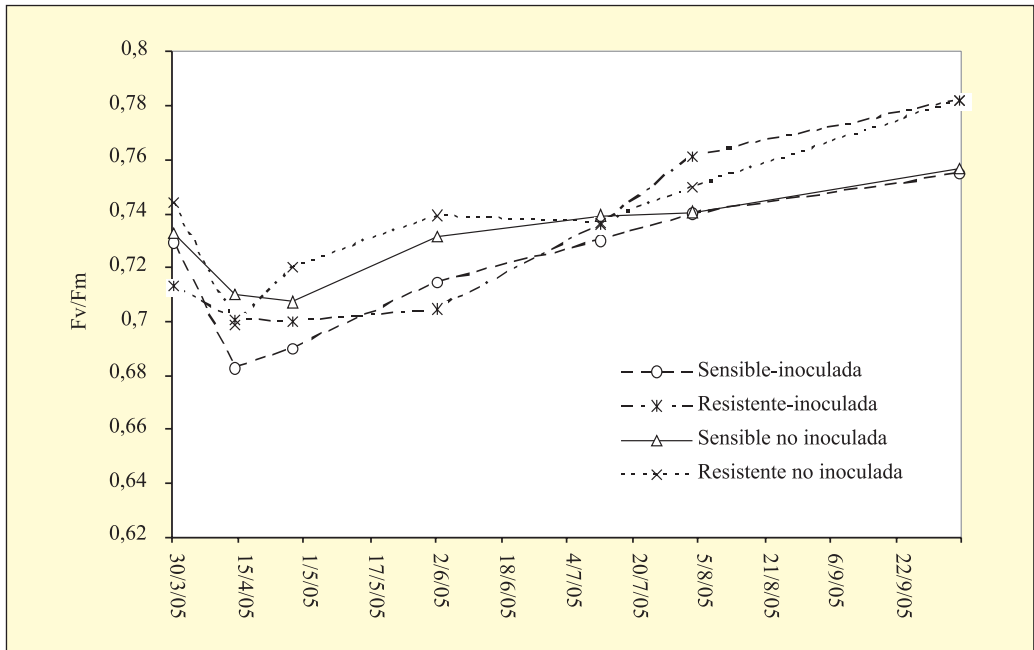


Figura 1.- Valor medio de Fv/Fm para cada los tratamiento de resistencia aparente e inoculación en plántulas de *Quercus ilex* en las mediciones realizadas durante el periodo que duró el ensayo.

DISCUSIÓN

En varios trabajos se ha sugerido la importancia de la selección de individuos resistentes como una alternativa para la restauración de zonas afectadas por *P. cinnamomi* (DODD *et al.*, 2005; ROBIN *et al.*, 2006; TAPIAS *et al.*, 2006). La identificación de individuos con resistencia aparente en campo, su propagación en vivero, y la comprobación en condiciones controladas de esta resistencia es un paso previo a cualquier trabajo de identificación y catalogación de materiales de base que puedan ser utilizados de forma generalizada en trabajos de repoblación. En este trabajo se ha evaluado la resistencia a *P. cinnamomi* de brinzales procedentes de individuos con resistencia y sensibilidad aparente en campo, mediante la producción de plántulas a partir de bellotas colectadas en campo, a través de atributos morfológicos, la altura, y fisiológicos, fluo-

rescencia de la clorofila y concentración de fenoles solubles.

La altura de los brinzales no se vio afectada significativamente tras la inoculación con *P. cinnamomi*, lo que coincide con los resultados obtenidos en ensayos previos de fertilización (NAVARRO *et al.*, 2004), lo que muestra la escasa sensibilidad de estos parámetros en los estudios con tratamientos de inoculación con *P. cinnamomi* en ensayos de corta duración. La falta de efecto en este caso puede deberse a que en los brinzales de *Quercus*, especialmente en la encina, los efectos se producen en fases avanzadas de la enfermedad, y en este ensayo la duración total fue sólo de siete meses. El escaso crecimiento del diámetro y de la altura, dificultarían apreciar diferencias asociadas a la podredumbre radical en las fases iniciales de la enfermedad (NAVARRO *et al.*, 2004). Otros parámetros como la raíz secundaria han mostrado una mayor sensibilidad (NAVARRO

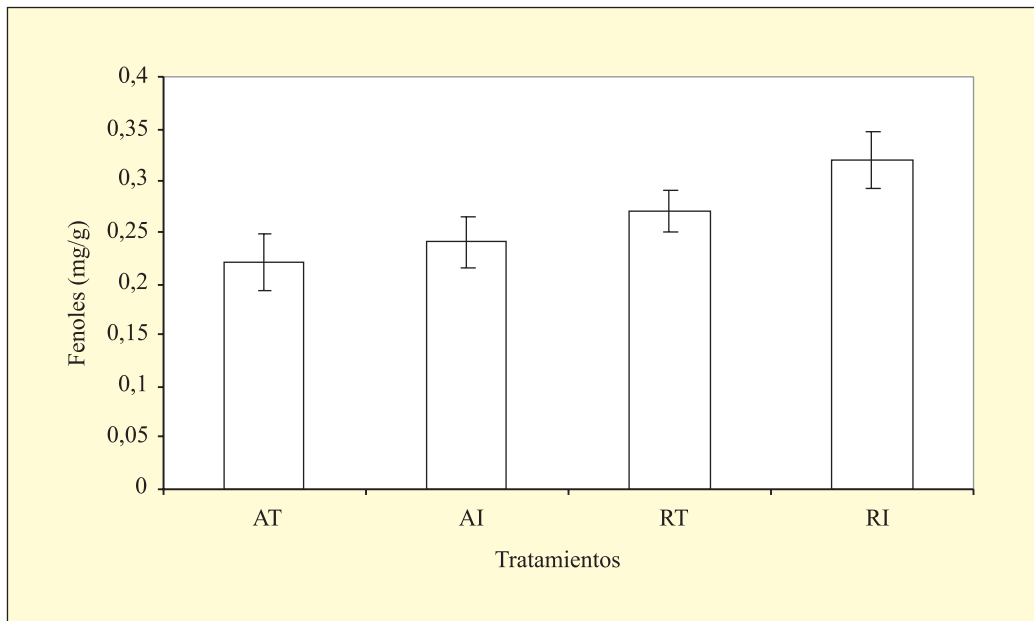


Figura 2. Concertación de compuestos fenólicos en raíz de plantones de encina al final del ensayo.

et al., 2004), aunque no fueron medidos en este ensayo.

La fluorescencia de la clorofila permite estudiar las limitaciones a la fotosíntesis de origen no estomático. La fluorescencia relativa F_v/F_m es un índice adecuado para ver la evolución del nivel de estrés de una planta (STRASSER *et al.*, 2000). La fluorescencia de la clorofila se mostró como un indicador sensible para evaluar los niveles de estrés de brinzales de encina en función de la resistencia aparente, y del estrés asociado a la presencia de *P. cinnamomi*. En varios trabajos se han mostrado los cambios fisiológicos asociados a los daños producidos por este patógeno en las raíces finas de las plantas afectadas (CAHILL *et al.*, 1985, 1993; TAPIAS *et al.*, 2006), aumentando los niveles de estrés después de la infección. Los valores de la fluorescencia entre los días de medición (marzo a octubre) presentaron un descenso de la relación F_v/F_m en todos los tratamientos después de la inoculación, lo que indica que el estrés aumentó con el trans-

plante, y el incrementó de la demanda hídrica de las plantas. Una vez superado el estrés inicial, la capacidad de recuperación varía con los tratamientos, siendo más rápida en los tratamientos no inoculados. En la fase final del ensayo, se van diferenciando significativamente las plantas resistentes frente a las no resistentes, con niveles moderados de estrés en ambos casos, lo cual puede indicar que es necesaria una mayor duración del ensayo para observar cambios fisiológicos asociados a los daños en la raíz (HANSEN *et al.*, 2005), una vez la planta ha reorganizado su fisiología a la nueva situación. Los resultados de fluorescencia obtenidos parecen corroborar los resultados obtenidos en otros ensayos (NAVARRO *et al.*, 2004, 2006), pudiéndose establecer una relación entre afectación al sistema de raíces finas de la planta y nivel de estrés hídrico expresado a través de la fluorescencia relativa. El proceso temporal observado, puede indicar que los mecanismos de defensa de la planta, como la producción de ligninas o de fenoles solubles,

pueden actuar como mecanismos iniciales de resistencia, y la planta sufre un progresivo reajuste de sus características fisiológicas en función del grado y gravedad de la infección, así como de su respuesta genética en función de la resistencia del individuo (CAHILL *et al.*, 1989; DODD *et al.*, 2005).

La infección de brinzales de encina producidos a partir de bellotas de individuos con resistencia y sensibilidad carente en campo, mostró cambios en la concentración de fenoles solubles en raíz. Aunque las diferencias no fueron significativas, las plántulas resistentes mostraron un ligero incremento frente a las plantas sensibles, lo cual ha sido observado también en otras especies (CAHILL y McCOMB, 1992). En el caso de daños causados por *Phytophthora* spp. se han encontrado evidencias de que los fenoles solubles desempeñan un papel importante en los procesos de resistencia (Hardham, 2005). Sin embargo, el incremento de fenoles solubles en la planta resistente se produjo tanto en la planta inoculada como en la no inoculada, por lo que no parece claro que sea una reacción única a la presencia del patógeno. El contenido en fenoles y la lignificación en raíces de *Eucalyptus calophylla*, se ha relacionado con los niveles de actividad de fenilalanina amoniaco-liasa (PAL) (CAHILL y McCOMB, 1992). La diferencia observada entre individuos resistentes y no resistentes podría estar controlada por la activación de esta proteína, y producirse de manera independiente de la infección con *P. cinnamomi*, que no obstante estimula una mayor activación de estos mecanismos de defensa. La respuesta a la presencia del patógeno es relativamente rápida (72-96 h después de la inoculación), lo que permite a la planta mantener unas condiciones de estrés menor, como se observa por los valores de fluorescencia (Figura 1). Sin embargo, en la planta resistente no inoculada la respuesta parece ser más gradual, presentando una mejor respuesta a largo plazo. Estas diferencias han sido documentadas en eucalipto (CAHILL y McCOMB, 1992), aunque los mecanismos implicados todavía no han sido clarificados.

En este estudio preliminar parece que los fenoles solubles (así como posiblemente su composición), podrían desempeñar un papel importante en los mecanismos de resistencia diferencial de individuos, lo cual a su vez tienen un fuerte control genético. Cómo ya ha sido sugerido para eucalipto (CAHILL y McCOMB, 1992), es posible que la deposición de ligninas y la síntesis de fenoles solubles puedan estar implicados en la resistencia a la infección de *P. cinnamomi* en encina.

Los resultados de este trabajo parecen confirmar la hipótesis de la existencia de individuos resistentes de encina a los daños producidos por *Phytophthora*. El estudio de variables fisiológicas, y en particular la respuesta de la raíz a través de la producción de sustancias fungo tóxicas, puede ser un procedimiento adecuado para evaluar las características genéticas de progenitores selectos en campo, y su selección como árboles plus para la producción de material forestal de reproducción. Esta resistencia parece tener un fuerte control genético, al activarse los mecanismos de defensa tanto en presencia como en ausencia del patógeno, lo cual hace muy prometedor la viabilidad de la selección de individuos que han mostrado una respuesta positiva en focos de *seca*, aunque el efecto ha sido estudiado sólo durante el período de nueve meses que duró el ensayo. Sería interesante elaborar un protocolo de cultivo especial para planta resistente, que incluya programas adecuados de fertilización y preacondicionamiento de la planta, por ejemplo mediante fertilización final con fosfatos, que han demostrado un efecto preventivo en plantas de encina y alcornoque (NAVARRO *et al.*, 2004). No obstante, el uso de este material forestal de reproducción en trabajos de restauración debería estar orientado a zonas con riesgo de daños por *Phytophthora*, pero no estrictamente en zonas muy afectadas, donde las alternativas posiblemente pasan por cuarentenas prolongadas, cambios en la especie principal, etc. Los organismos públicos responsables de la certificación de los materiales forestales de reproducción y su comercialización, deberían contribuir en esta dirección, tanto mediante los procesos de selección de

árboles plus, como en el control sobre el uso en vivero y comercialización final.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado con el apoyo del Servicio de Ordenación de los Recursos Forestales de la Consejería de Medio

Ambiente de la Junta de Andalucía a través del Convenio *Seguimiento de los daños de seca sobre masas de Quercus en Andalucía*, así como el proyecto AGL2002-00530 *Bases biológicas, epidemiológicas y selvícolas para el control de las principales enfermedades asociadas a la seca de los Quercus en Andalucía*.

ABSTRACT

NAVARRO CERRILLO, R. M., D. ARIZA, C. PORRAS, I. JORGE, J. JORRIN. 2009. Apparent resistance of Holm oak trees to *Phytophthora cinnamomi* Rands. *Bol. San. Veg. Plagas*, **35**: 89-97.

In this work, *Phytophthora cinnamomi* has been inoculated into holm oak plants produced from acorns from trees selected in the field for their resistance or apparent susceptibility to this disease. The final height of the saplings did not reveal any significant differences, and these were more evident in their fluorescence values and concentration of soluble phenols in their roots. That concentration, 8 months after the inoculation, was higher in all the resistant individuals, regardless of being inoculated (0.32 mg g^{-1}) or not (0.27 mg g^{-1}), compared to the susceptible ones. These results would appear to indicate that there are processes of natural resistance to *Phytophthora cinnamomi* in holm oak trees, in which a phenol synthesis is implicated. The practical application of these results is limited, and should be understood as being in the sphere of the holm oak restoration programmes in areas with low levels of decay affection.

Key words: Forest decline, variability, phenolic synthesis, ecophysiology.

REFERENCIAS

- BRASIER, C.M., ROBREDO, F., FERRAZ, J.F.P. 1993. Evidence for *Phytophthora cinnamomi* involvement in Iberian oak decline. *Plant Pathology*, **42**: 140-145.
- BURCHER, T.B., STUKELY, M.J., CHESTER, G. 1984. Genetic variation in resistance of *Pinus radiata* to *Phytophthora cinnamomi*. *Forest Ecology and management* **8**: 197-220.
- CAHILL DM, WESTE GM. 1983. Formation of callose deposits as response to infection with *Phytophthora cinnamomi*. *Transactions of the British Mycological Society* **80**: 23-29.
- CAHILL, D.M., MCCOMB, J.A: 1992. A comparison of changes in phenylalanine ammonia-lyase activity, lignin and phenolic synthesis in the roots of *Eucalyptus calophylla* (field resistant) and *E. marginata* (susceptible) when infected with *Phytophthora cinnamomi*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **5**: 315-332.
- CAHILL D.M, WESTE G.M, GRANT B.R. 1985. Leakage from seedling roots inoculated with *Phytophthora cinnamomi*. *Phytopathologische* **114**: 348-364.
- CAHILL D.M, LEGGE N, GRANT B, WESTE G. 1989. Cellular and histological changes induced by *Phytophthora cinnamomi* in a group of plant species ranging from fully susceptible to fully resistant. *Phytopathology* **79**: 417-424.
- CAHILL, D.M., BENNETT, I.J., MCCOMB, J.A. 1993. Mechanism of resistance to *Phytophthora cinnamomi* in clonal, micropropagated *Eucalyptus marginata*. *Plant Pathology*, **42**: 865-872.
- DAWSON P.D, WESTE G.M. 1986. Impact of root infection by *Phytophthora cinnamomi* on the water relation, of two *Eucalyptus* species that differ in susceptibility. *Phytopathologist* **74**: 486-490.
- DODD, R.S., HÜBERLI, D., DOUHOVNIKOFF, V., HARNIK, T., AFZAL-RAFII, Z., GARBELOTTO, M. 2005. Is variation in susceptibility to *Phytophthora ramorum* correlated with population genetic structure in coast live oak (*Quercus agrifolia*)? *New Phytologist* **165**: 203-214.
- FERRETI, M. (ed.). 1994. *Especies forestales mediterráneas. Guía para la evaluación de copas*. Comisión de las Comunidades Europeas, Bruselas.
- HANSEN, E.M., PARKE, J.L., SUTTON, W. 2005. Susceptibility of Oregon forest trees and shrubs to *Phytophthora ramorum*: A comparison of artificial inoculation and natural infection. *Plant Disease* **89**: 63-70.
- HARDHAM, A.R. 2005. Pathogen profile. *Phytophthora cinnamomi*. *Molecular Plant Pathology*, **6** (6): 589-604.

- HÜBERLI, D., TOMMERUP, I.C., COLGUHOUN, I.J., HARDY, G.E. 2002. Evaluation of resistance to *Phytophthora cinnamomi* in seed-grown trees and clonal lines of *Eucalyptus marginata* inoculated in lateral branches and roots. *Plant Pathology* **51**: 435-442.
- JANG J.C, TAINTER F.H. 1990. Cellular responses of pine callus to infection to *Phytophthora cinnamomi*. *Phytopathology* **80**: 1347-1352.
- JORGE I, NAVARRO-CERRILLO R.M, LENZ C, ARIZA D, PORRAS C, JORRIN J. 2005. The Holm oak leaf proteome: analytical and biological variability in the protein expression level assessed by 2-DE and protein identification tandem mass spectrometry de novo sequencing and sequence similarity searching. *Proteomics* **5**: 222-34.
- LEIVA, M.J., FERNÁNDEZ-ALÉS, R. 1998. Variability in seedling water status during drought within a *Quercus ilex* subsp. *ballota* population, and its relation to seedling morphology. *Forest Ecology and Management*, **2-3**: 147-156.
- LÓPEZ-VALBUENA R. 1980. Efectos del mildiu (*Plasmodium para halstedii*) en el metabolismo de compuestos fenólicos en girasol. Tesis Doctoral. UCO. Córdoba, España
- NAVARRO CERRILLO, R M; GALLO, L., SÁNCHEZ, E., TRAPERERO, A., FERNÁNDEZ, P. 2004. Efecto de distintas fertilizaciones de fósforo en la resistencia de brinzales de encina y alcornoque a *Phytophthora cinnamomi* Rands. *Investigación Agraria. Sistemas y Recursos Forestales* **3**: 550-557.
- NAVARRO CERRILLO, R M; JORGE, I. ARIZA, D., PORRAS, C. 2006. Fitotoxicidad del fosfonato en brinzales de encina (*Quercus ilex* L.). *Bol. San. Veg.* **33**: 111-120.
- PRATS E. 2001. Importancia de las cumarinas y otros compuestos fenólicos en la defensa del girasol frente a patógenos. Tesis Doctoral. UCO. Córdoba, España
- ROBIN, C., DESPEZ-LOUSTAN, M. 1998. Testing variability in pathogenicity of *Phytophthora cinnamomi*. *Forest Ecology and Management*, **8**: 465-475.
- ROBIN, C., MOREL, O., VETTRAINO, A.M., PERLERON, C., DIAMANDIS, S., VANNINI, A. 2006. Genetic variation in susceptibility to *Phytophthora cambivora* in European chestnut (*Castanea sativa* L.). *Forest Ecology and Management* **226**: 199-207.
- RODRÍGUEZ-MOLINA, M.C., TORRES-VILA, L.M., BLANCO, A., PALO, E.J., TORRES-ÁLVAREZ, E. 2002. Viability of Holm and cork oak seedlings from acorns sown in soils naturally infected with *Phytophthora cinnamomi*. *For. Path.* **32**: 365-372.
- ROMERO DE LOS REYES, E., NAVARRO CERRILLO, R., GARCIA-PORRAS, A. 2007. Aplicación de ortofotos para la estimación de pérdidas de individuos en dehesas de encina (*Quercus ilex* L.) afectados por procesos de decaimiento. *Bol. San. Veg.* **33**: 121-134.
- RUPÉREZ, A., MUÑOZ, M. 1980. Grave enfermedad de las encinas. *Bol. San. Veg.* **6**: 107. SÁNCHEZ, M.E., CAETANO, P., FERRAZ, J., TRAPERERO, A. 2002. Phytophthora disease of *Quercus ilex* in southwestern Spain. *For. Path.* **32**: 5-18.
- SÁNCHEZ, M.E., SÁNCHEZ, J.E., NAVARRO, R.M., FERNÁNDEZ, P., TRAPERERO, A. 2003. Incidencia de la podredumbre radical causada por *Phytophthora cinnamomi* en masas de *Quercus* en Andalucía. *Bol. San. Veg.* **29**: 87-108.
- STRASSER, R., SRIVASTAVA, A., TSIMILLI-MICHAEL, M. 2000. The fluorescence transient as a tool to characterise and screen photosynthetic samples. En: M. Junus, U. Parte y P. Mohantray (Eds.), *Probing photosynthesis: mechanisms, regulation and adaptation*. 445-483 pp.
- STUKELY, M.J., CRAVE, C.E. 1994. Genetically based resistance of *Eucalyptus marginata* to *Phytophthora cinnamomi*. *Phytopathology* **6**: 650-656.
- TAPIAS, R., FERNÁNDEZ, M., MOREIRA, A.C., SÁNCHEZ, E., CRAVADOR, A. 2006. Posibilidades de la variabilidad genética de encinas y alcornoques en la conservación y recuperación de bosques amenazados por la seca. *Bol. Inf. CIDEU* **1**: 45-51.
- VÁZQUEZ, F. 1998. *Semillas de Quercus: biología, ecología y manejo*. Consejería de Agricultura y Comercio, Junta de Extremadura, Mérida, 220 pp.

(Recepción: 23 septiembre 2008)

(Aceptación: 12 enero 2009)