

# INFLUENCIA DE LAS DEYECCIONES AVIARIAS EN LA DISTRIBUCIÓN DE OOMICETOS EN EL SUELO DE ALCORNOCAL EN EL PARQUE NACIONAL DE DOÑANA

Paolo De Vita<sup>1</sup>, María Socorro Serrano Moral<sup>1</sup>, Luis Ventura García Fernández<sup>2</sup>, María Cristina Ramo Herrero<sup>3</sup>, Cristina Aponte Perales<sup>2</sup>, Lorena Gómez Aparicio<sup>2</sup> y María Esperanza Sánchez Hernández<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento Agronomía. ETSIAM. Universidad de Córdoba. Apdo. 3048. 14080-CÓRDOBA (España). Correo electrónico: ag1sahem@uco.es

<sup>2</sup> IRNAS (CSIC). Avda Reina Mercedes 10. 41012-SEVILLA (España). Correo electrónico: ventura@cica.es

<sup>3</sup> Estación Biológica de Doñana (CSIC). Avda Américo Vespucio s/n. 41092-SEVILLA (España). Correo electrónico: cristina@ebd.csic.es

## Resumen

Los alcornoques centenarios del Parque Nacional de Doñana se consideran estructuras clave en el ecosistema de las arenas estabilizadas. Estos árboles se encuentran actualmente amenazados por la presencia de aves zancudas nidificantes, cuyos detritos provocan profundos cambios químicos en el suelo y afectan a las hojas, así como por dos oomicetos patógenos (*Phytophthora cinnamomi* y *Pythium spiculum*), que han sido aislados de las raíces y la rizosfera de los árboles analizados. *Phytophthora cinnamomi* ha experimentado una importante dispersión en el Parque durante el último año, aprovechando la alta humedad primaveral e invernal del 2010. Se analizó la distribución de siete especies de oomicetos (seis de *Pythium* y una de *Phytophthora*) en el suelo, bajo las copas de los alcornoques, a lo largo de un gradiente de influencia aviaria. El análisis de correspondencias canónicas reveló la existencia de una relación significativa entre la distribución de las especies de oomicetos y algunas variables químicas del suelo estrechamente relacionadas con la acumulación de desechos aviarios. Se encontró que algunas especies de *Pythium* eran capaces de vivir en suelos muy afectados por las aves, mientras que las especies patógenas, *Py. spiculum* y *P. cinnamomi* no prosperaron en sitios fuertemente afectados.

Palabras clave: Decaimiento, *Phytophthora cinnamomi*, Podredumbre radical, *Pythium*, *Quercus suber*

## INTRODUCCIÓN

Doñana (SW España) es una de las principales zonas europeas protegidas para las aves acuáticas. Fue declarado Parque Nacional en 1969, Reserva de la Biosfera en 1981 y Patrimonio de la Huma-

nidad en 1994. El alcornoque (*Quercus suber* L.) es la especie principal en las arenas estabilizadas de Doñana. Las talas masivas y diversas formas de explotación a lo largo de los últimos siglos han llevado a una drástica disminución de su población hasta el punto que sólo unos pocos cientos de gran-

des pies centenarios sobreviven (GRANADOS, 1988). Actualmente, la regeneración natural del alcornoque en Doñana es prácticamente inexistente debido a la intensa actividad herbívora (HERREIRA, 1995). Por otra parte, la ocupación prolongada de los alcornoques por las aves zancudas para anidar parece afectar negativamente su estado de salud por la profunda alteración química del suelo y las hojas debida a los depósitos de guano (RAMO et al., 2009). El aumento de los niveles de sales ornitógenicas (nitratos, fosfatos) se ha relacionado con un aumento de los síntomas de estrés y un significativo incremento de la defoliación (GARCÍA et al., 2011). Además, las poblaciones de alcornoque situadas fuera del parque o las que crecen en las dehesas en la provincia de Huelva, se ven muy afectadas por la enfermedad causada por los oomicetos *P. cinnamomi* y *Py. spiculum* (SÁNCHEZ et al., 2002; ROMERO et al., 2007). En 2008 se encontraron varios focos de ambos agentes patógenos en Doñana y se han registrado algunos episodios de muerte súbita de árboles infectados desde el año 2009. El objetivo de este estudio es investigar si la fertilización inducida por las aves puede condicionar la distribución de los oomicetos del suelo, incluyendo la de las dos especies patógenas.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se muestrearon 45 alcornoques a lo largo del otoño e invierno de los años 2008 a 2011. Se recogieron dos diferentes conjuntos de datos. En la temporada 2008 antes de las lluvias (octubre-noviembre), se tomaron muestras de suelo (5-25 cm de profundidad) y raíces absorbentes, bajo la copa de 21 alcornoques centenarios, con el fin de evaluar la presencia y distribución de especies de oomicetos a lo largo de un gradiente de

fertilidad del suelo inducida por las aves. De 2009 a 2011 durante las estaciones de lluvia, se tomaron muestras de suelo de la rizosfera específicamente para evaluar la presencia y abundancia de los dos principales patógenos identificados (*P. cinnamomi* y *Py. spiculum*) en 40 árboles. Aproximadamente la mitad de ellos habían sido incluidos en el muestreo de 2008.

### Influencia aviaría

Se utilizaron dos tipos de estimación de la influencia aviaría para el estudio: frecuencia de anidación (porcentaje de años con nidos a lo largo de los últimos 24 años) y ocupación aviaría (número medio de nidos presentes a lo largo de los últimos 16 años). Tras la comparación de las características químicas de los suelos se concluyó que una ocupación aviaría podía considerarse insignificante para valores inferiores a 2 nidos/año y significativa a partir de ese valor (véase Tabla 1).

### Análisis de suelo y raíces

En la prospección de 2008, las muestras de suelo y raíces fueron analizadas siguiendo la metodología descrita en SÁNCHEZ et al. (2002) utilizando hojas de alcornoque como cebos biológicos y NARPH como medio selectivo (ROMERO et al., 2007). En 2009 y 2010-11, las muestras de suelo se analizaron como se describe en ROMERO et al. (2007) y los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonias por gramo de suelo seco ( $\text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$ ). Como las muestras de suelo se secaron previamente, se asumió que cada colonia obtenida era el resultado de la germinación de, al menos, una espora de resistencia. Ambas submuestras de suelo fueron analizadas para N total (Kjeldhal) y P (digestión ácida e ICP-OES).

	Influencia aviaría no significativa (<2 nidos/año)	Influencia aviaría significativa ( $\geq 2$ nidos/año)	Cociente medio
N	1900 (891)	5150 (2940)	3
P	250 (244)	3336 (4158)	13
Ca	1338 (725)	9187 (10121)	7
K	160 (82)	444 (337)	3
Mg	208 (60)	401 (240)	2

**Tabla 1.** Media y (desviación estándar) de varios macronutrientes medidos en los suelos bajo las copas de los alcornoques con diferente influencia aviaría. Las concentraciones se expresan como  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  de suelo seco

### Identificación de los aislados

La identificación morfológica de los aislados provenientes de las raíces y del suelo se llevó a cabo según las descripciones de van der PLAATS-NITERINK (1981), ERWIN Y RIBEIRO (1995) y PAUL *et al.* (2006). Además, la identificación específica fue confirmada con la secuenciación de regiones ITS de los aislados obtenidos y comparadas con las secuencias publicadas (GenBank) de los agentes patógenos.

### Análisis de datos

Para establecer las relaciones de multivarianza entre la distribución de las especies de oomicetos, las características del suelo y las variables relacionadas con la influencia aviaria, medidas en el conjunto de datos de 2008, se realizó un análisis de correspondencias canónicas (CCA), con el software CANOCO (TER BRAAK & SMILAUER, 2002). También se analizó cómo la abundancia de oomicetos variaba a lo largo de los ejes de ordenación y en relación con las variables ambientales más relevantes, mediante el ajuste de modelos lineales generalizados (GLZ), usando el programa CanoDraw (TER BRAAK & SMILAUER, 2002). Se asumió una distribución de Poisson para la presencia/ausencia de los patógenos, de acuerdo con LEPS & SMILAUER (2003). El recuento de colonias de *P. cinnamomi* y *Py. spiculum* correspondiente a los muestreos del 2009 y 2010-11 se relacionó con la influencia aviaria empleando un GLZ, asumiendo también una distribución de Poisson para la variable dependiente y una función de enlace de tipo logarítmico. El nivel de significación se fijó en 0,05.

## RESULTADOS

### Condiciones ambientales y aislamiento de oomicetos

Los árboles estudiados se extienden a lo largo de un amplio gradiente de influencia aviaria y fertilidad del suelo (Tabla 1). De hecho, la intensidad de ocupación de los árboles por las aves es un buen indicador de la fertilidad del suelo, en especial para el fósforo ( $r = 0,81$ ,  $p < 0,00002$ ). Se detectaron siete especies de oomicetos en el muestreo de 2008, que fueron

identificadas como *Py. debaryanum*, *Py. irregularis*, *Py. spiculum*, *Py. tracheiphillum*, *Py. vexans*, *Py. salinum* y *Phytophthora cinnamomi*.

### Distribución de oomicetos a lo largo de los gradientes aviarios

El análisis CCA para las cinco especies de oomicetos bien representadas (*Py. spiculum*, *P. irregularis*, *P. debaryanum*, *P. tracheiphillum* y *P. vexans*) identificó sólo un gradiente subyacente principal capaz de explicar el 27% de la varianza del conjunto de las especies. Sólo una variable (frecuencia de anidación) fue incorporada al modelo óptimo. Las otras variables ambientales, aunque resultan significativas cuando se analizaron por separado, no añadieron información adicional al modelo, por su estrecha relación con la frecuencia de anidación (correlación de Pearson de 0,78 a 0,82).

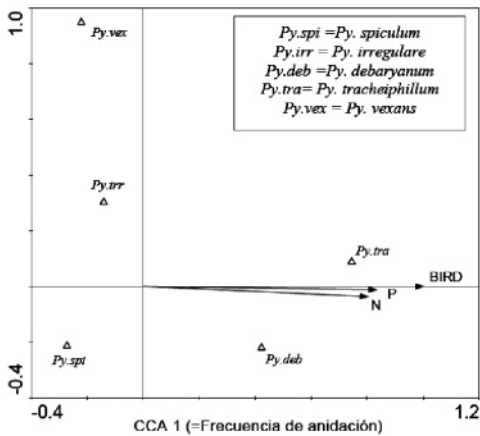
Como se muestra en la Figura 1, algunas especies se desarrollan en suelos fertilizados, mientras que otros prefieren suelos con bajos niveles de fertilidad. La Figura 2 muestra el modelo de respuesta para cada especie a lo largo del gradiente de ocupación aviaria. Se detectaron tres respuestas diferentes al gradiente: no significativa (*Py. vex.*,  $p=0,33$  y *Py. irr.*,  $p=0,37$ ); positiva y significativa (*Py. deb.*,  $p=0,016$ , y *Py. tra.*,  $p=0,000011$ ) y negativa significativa (*Py. spi.*,  $p=0,000682$ ). Una respuesta similar (no mostrada) se obtuvo de las variables de suelo (N y P).

### Influencia aviaria y respuesta de los patógenos

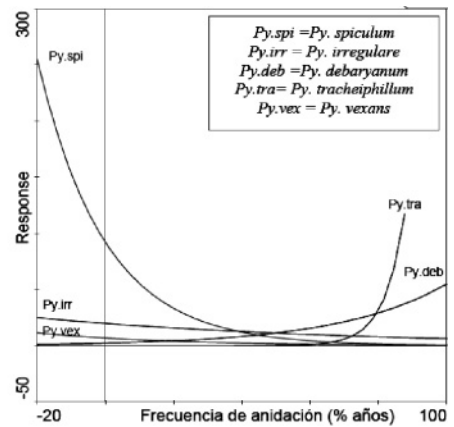
La Figura 3 muestra el promedio de colonias de los dos patógenos en los sitios con influencia aviaria insignificante o significativa. A pesar de que la abundancia media de *P. cinnamomi* fue 10 veces mayor en suelos no fertilizados que en los fertilizados, la alta (y desigual) dispersión de los datos genera una significación mucho mas baja ( $p=0,045$ ) que la obtenida para *P. spiculum* ( $p < 0,00001$ ), a pesar de que en esta última el promedio de colonias fue de sólo dos veces mayor en los sitios no fertilizados.

## DISCUSIÓN

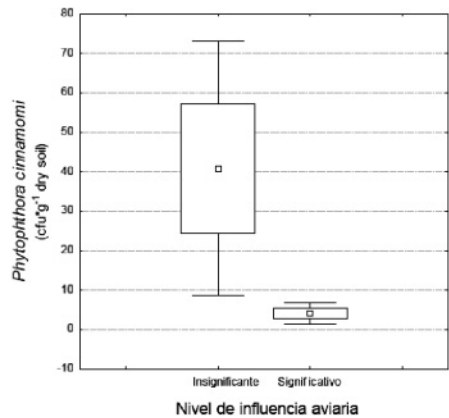
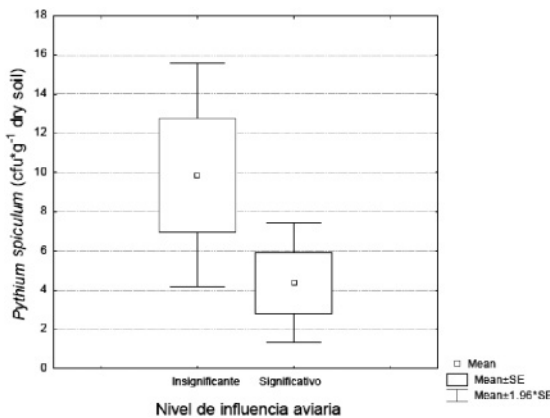
Las aves inducen cambios en la fertilidad del suelo que afectan de manera significativa a la



**Figura 1.** Distribución de abundancia de oomicetos a lo largo del gradiente de influencia aviar. Las variables ambientales se representan por flechas cuya proyección sobre el eje indica su relación con él



**Figura 2.** Modelo de respuesta a los niveles de ocupación de aves de cinco especies de *Pythium*



**Figura 3.** Respuesta de *Pythium spiculum* y *Phytophthora cinnamomi* a los distintos niveles de influencia aviar

composición de la comunidad de oomicetos de la rizosfera. Cuando la influencia aviar es excesiva, el suelo se saliniza e hiperfertiliza y tanto la salud del árbol (GARCÍA *et al.*, 2011) como la distribución de los patógenos se ve afectada. No obstante, hemos encontrado pruebas consistentes de cambios en la composición de la comunidad de oomicetos incluso a niveles moderados de fertilización. A diferencia de los oomicetos no patógenos, las poblaciones tanto de *P. cinnamomi* como de *P. spiculum* parecen disminuir rápidamente, incluso a niveles mode-

rados de fertilización aviar. Estos resultados confirman los obtenidos por ARYANTHA *et al.* (2000), que demostraron que, entre diferentes estiércoles probados frente a *P. cinnamomi*, sólo la gallinaza fresca redujo significativamente la supervivencia del patógeno en el suelo. Mientras la fertilización moderada inducida por las aves podría prevenir la proliferación de patógenos y a su vez podría ayudar a la supervivencia de los árboles, una hiperfertilización resulta perjudicial tanto para los alcornoques como para los patógenos del suelo.

## Agradecimientos

Este trabajo de investigación ha sido financiado por el Organismo Autónomo Parques Nacionales de MIMARM (Proyecto DECALDO 091/2009), el proyecto de la Junta de Andalucía BIOGEOBIRD (P09-RMN-4987) y la subvención de FSE-FEDER.

## BIBLIOGRAFÍA

- ARYANTHA, I.P.; CROSS, R. & GUEST, D.I.; 2000. Suppression of *Phytophthora cinnamomi* in potting mixes amended with uncomposted and composted animal manures. *Phytopathology* 90: 775-782.
- ERWIN, D.C. & RIBEIRO, O.K.; 1996. *Phytophthora diseases worldwide*. APS Press, St. Paul, MN. 562.
- GARCÍA, L.V.; RAMO, C.; APONTE, C.; MORENO, A.; DOMINGUEZ, M.T.; GÓMEZ-APARICIO, L.; REDONDO, R. & MARAÑÓN, T.; 2011. Protected wading bird species threaten relict centennial cork oaks in a Mediterranean Biosphere Reserve: a conservation management conflict. *Biological Conservation* 144: 764-771.
- GRANADOS, M.; MARTÍN, A. & GARCÍA, F.; 1988. Long-term vegetation changes on the stabilized dunes of Doñana National Park (SW Spain). *Vegetatio* 75: 73-80.
- HERRERA, J.; 1995. Acorn predation and seedling production in a low-density population of cork oak (*Quercus suber* L.). *Forest Ecol. Manage.* 76: 197-201.
- LEPS, J. & SMILAUER, P.; 2003. *Multivariate analysis of ecological data Using CANOCO*. Cambridge University Press. Cambridge, UK.
- PAUL, B.; BALA, K.; BELBAHRI, L.; CALMIN, G.; SÁNCHEZ, E. & LEFORT, F.; 2006. A new species of *Pythium* with ornamented oogonia: morphology, taxonomy, ITS region of its rDNA, and its comparison with related species. *FEMS Microbiology Letters* 254: 317-323.
- RAMO, C.; GARCÍA, L.V.; DÍAZ-DELGADO, R.; MARAÑÓN, T.; SILJESTRÖM, P.; RODRÍGUEZ, R.; GARRIDO, H.; URDIALES, C.; LAFFITE, R.; IBÁÑEZ, F. & CALDERÓN, J.; 2009. El declive del alcornocal en la Vera del Parque Nacional de Doñana: el papel de las colonias de aves nidificantes, *En: S.E.C.F.-Junta de Castilla-León (eds.), Actas V Congreso Forestal Español*. CD-Rom. 5CFE01-377: 1-9. Sociedad Española de Ciencias Forestales. Pontevedra.
- ROMERO, M.A.; SÁNCHEZ, J.E.; JIMÉNEZ, J.J.; BELBAHRI, L.; TRAPERRO, A.; LEFORT, F. & SÁNCHEZ, M.E.; 2007. New *Pythium* taxa causing root rot on Mediterranean *Quercus* species in southwest Spain and Portugal. *J. Phytopath.* 155: 289-295.
- SÁNCHEZ, M.E.; CAETANO, P.; FERRAZ, J. & TRAPERRO, A.; 2002. *Phytophthora* disease of *Quercus ilex* in southwestern Spain. *Forest Path.* 32: 5-18.
- TER BRAAK, C.J.F. & SMILAUER, P.; 2002. *CANOCO reference manual and CanoDraw for Windows user's guide: software for canonical community ordination v.4.5*. Microcomputer Power. Ithaca.
- VAN DER PLAATS-NITERINK, A.J.; 1981. Monograph on the genus *Pythium*. *Studies in Mycology* 21: 1-242.