



UNIVERSIDAD DE VALLADOLID

# FACTORES QUE AFECTAN AL DECAIMIENTO DEL ALISO EN CASTILLA Y LEÓN

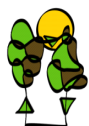
MASTER EN INVESTIGACIÓN EN LA CONSERVACIÓN Y USO  
SOSTENIBLE DE LOS SISTEMAS FORESTALES

ALUMNO: JOSÉ MARÍA LOMBA BLANCO

DIRECTOR: DR. JULIO JAVIER DÍEZ CASERO (UVA-ETSIIA)

CO-DIRECTOR: DR. JORGE MARTÍN GARCÍA (UVA-ETSIIA)

MAYO 2014, PALENCIA



**SUSTAINABLE FOREST MANAGEMENT**

**Research Institute**

University of Valladolid-INIA



Instituto Nacional de Investigación  
y Tecnología Agraria y Alimentaria



CONFEDERACIÓN  
HIDROGRÁFICA  
DEL DUERO

---

# ÍNDICE GENERAL

<b>ÍNDICE GENERAL</b>	<b>2</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	<b>3</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>3</b>
<b>1. RESUMEN EN CASTELLANO</b>	<b>5</b>
<b>2. RESUMEN EN INGLÉS</b>	<b>6</b>
<b>3. ANTECEDENTES</b>	<b>7</b>
<b>3.1. TAXONOMÍA E IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA DE LAS COLONIAS DE <i>P. ALNI</i></b>	<b>8</b>
<b>3.2. SITUACIÓN EN ESPAÑA</b>	<b>9</b>
<b>3.3. HOSPEDANTE</b>	<b>10</b>
<b>3.4. IMPORTANCIA DEL MANTENIMIENTO DE LAS ALISEDAS</b>	<b>12</b>
<b>4. OBJETIVOS</b>	<b>13</b>
<b>5. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>13</b>
<b>5.1. ÁREA DE ESTUDIO</b>	<b>13</b>
<b>5.2. DISEÑO EXPERIMENTAL</b>	<b>13</b>
<b>5.1. TRATAMIENTO Y ESTADÍSTICA DE LOS DATOS</b>	<b>15</b>
<b>6. RESULTADOS.</b>	<b>16</b>
<b>6.1. POSITIVOS DE <i>PHYTOPHTHORA SPP.</i> DETECTADO EN CASTILLA Y LEÓN.</b>	<b>16</b>
<b>6.2. RELACIÓN ENTRE LA SINTOMATOLOGÍA DEL PATÓGENO CON LOS FACTORES AMBIENTALES.</b>	<b>16</b>
<b>7. DISCUSIÓN</b>	<b>19</b>
<b>8. CONCLUSIONES</b>	<b>24</b>
<b>9. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>25</b>
<b>10. ANEJO I. LOCALIZACIÓN Y POSITIVOS DE <i>P. SPP.</i></b>	<b>29</b>
<b>11. ANEJO II. VARIABLES MEDIDAS</b>	<b>31</b>
<b>11.1. VARIABLES DENDROMÉTRICAS-DASOMÉTRICAS</b>	<b>31</b>
<b>11.2. VARIABLES PATOLÓGICOS O PATOLÓGICAS</b>	<b>32</b>
<b>11.3. VARIABLES EDÁFICAS</b>	<b>37</b>
<b>11.1. VARIABLES CLIMÁTICAS</b>	<b>38</b>
<b>12. ANEJO III. FIGURAS ASOCIADAS A LOS RESULTADOS.</b>	<b>39</b>
<b>12.1. FIGURAS DE MODELOS LINEALES Y NO LINEALES</b>	<b>39</b>
1.12.1. V. PATOLÓGICOS-FACTOR EDÁFICO.	39
<b>12.2. RELACIÓN ENTRE LOS POSITIVOS DETECTADOS EN CASTILLA Y LEÓN CON LOS FACTORES PATOLÓGICOS</b>	<b>41</b>
<b>12.3. RELACIÓN ENTRE LOS POSITIVOS DETECTADOS EN CASTILLA Y LEÓN CON SUS PROVINCIAS</b>	<b>42</b>

<b>12.1. RELACIÓN ENTRE LOS POSITIVOS DETECTADOS EN CASTILLA Y LEÓN LOS FACTORES EDÁFICOS</b>	<b>43</b>
<b>12.2. NMDS.</b>	<b>44</b>
2.12.1. V. PATOLÓGICOS-FACTOR EDÁFICO	44
2.12.2. V. PATOLÓGICOS-FACTOR CLIMÁTICO.	45
2.12.3. V. PATOLÓGICOS-FACTOR DASOMÉTRICO-DENDROMÉTRICO.	46
<b>13. ANEJO IV. INFORMACIÓN SOBRE EL NUEVO POSITIVO <i>P. PLUVIVORA</i> CON <i>P. ALNI</i></b>	<b>47</b>
<b>14. ANEJO FOTOGRÁFICO V. POSITIVOS Y SOSPECHOSOS</b>	<b>49</b>
<b>15. ANEJO VI. SALIDA DE LOS RESULTADOS ESTADÍSTICOS</b>	<b>52</b>
<b>15.1. UNIVARIANTE</b>	<b>52</b>
1.15.1. TEST DE NORMALIDAD. KOLMOGOROV-SMIRNOV (LILLIERS)	52
1.15.2. TEST DE KRUSKAL-WALLIS	55
1.15.3. TEST DE SPEARMAN. CONTRASTE DE INDEPENDENCIA Y ASOCIACIÓN	55
1.15.4. MODELOS LINEALES Y NO LINEALES	60
<b>15.2. MULTIVARIANTE</b>	<b>67</b>
2.15.1. MRPP. JUSTIFICACIÓN DE LOS RESULTADOS EXTRAÍDOS DE R	67
<b>15.3. NMDS</b>	<b>68</b>
3.15.1. JUSTIFICACIÓN DE LOS RESULTADOS	70

## ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Características generales del <i>Alnus glutinosa</i> L. Gaertn.</i>	11
<i>Tabla 2. Factores y variables seleccionados para la elaboración del estudio.</i>	14
<i>Tabla 3. Tipo de dato que se utilizó para el análisis estadístico.</i>	15
<i>Tabla 4. Correlación entre las variables ambientales y los síntomas del aliso a través del coeficiente de correlación de Spearman.</i>	17
<i>Tabla 5. Localización del punto de estudio, fecha, río, provincia, estado fitosanitario y positivos de <i>P. spp.</i></i>	29

## ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1. Países donde se ha detectado <i>P. alni</i> hasta la fecha del 2006</i>	8
<i>Figura 2. Características morfológicas de <i>P. alni</i></i>	9
<i>Figura 3. Distribución del aliso (<i>Alnus glutinosa</i> L Gaertn) en Europa. Fuente: <a href="http://www.euforgen.org">www.euforgen.org</a></i>	11
<i>Figura 4. Mapa de localización de las parcelas analizadas</i>	30
<i>Figura 5. Metodología seguida para la medición del diámetro normal e instrumental utilizado</i>	32
<i>Figura 6. Estrato arbóreo considerado para la dominancia. Fuente: Manual de Red de Daños de la Comunidad Europea de Nivel II.</i>	32
<i>Figura 7. Presencia de ramas puntisecas en la cuenca del río Tera</i>	34
<i>Figura 8. Las distintas clases que se han valorado de defoliación en el aliso</i>	34
<i>Figura 9. Ejemplo de fisuras oxidadas</i>	34
<i>Figura 10. Ejemplo de brotes epicórmicos</i>	35
<i>Figura 11. Protocolo de identificación y extracción de madera necrosada</i>	36
<i>Figura 12. Ejemplo de falsa necrosis</i>	36
<i>Figura 13. Zumo que se utiliza para preparar el medio de cultivo</i>	37

---

<b>Figura 14.</b> Protocolo de actuación en el laboratorio _____	37
<b>Figura 15.</b> Relación entre los síntomas de la copa del aliso con la materia orgánica oxidable. _____	39
<b>Figura 16. a.</b> Relación entre las cantidades de magnesio y sodio en el suelo con los brotes epicórmicos _____	40
<b>Figura 17. a.</b> Media de necrosis por parcela para cada positivo confirmado del patógeno. <b>b.</b> Media de clorosis por parcela para cada positivo confirmado del patógeno. _____	41
<b>Figura 18. a.</b> Media de necrosis por parcela asociado a los positivos confirmados. <b>b.</b> Media de necrosis por parcela para cada provincia de Castilla y León. _____	42
<b>Figura 19. a.</b> Media de magnesio asimilable por parcela asociado a los positivos confirmados. <b>b.</b> Media de limo por parcela asociado a los positivos confirmados. _____	43
<b>Figura 20. a:</b> Ordenación de los principales síntomas edáficos con los patológicos. <b>b:</b> Ordenación de los factores patológicos del aliso con la curva de tendencia de la materia orgánica. _____	44
<b>Figura 21. a:</b> Ordenación de los principales síntomas climáticos con los patológicos. <b>b:</b> Ordenación de los factores patológicos del aliso con la curva de tendencia de la temperatura media mínima anual. _____	45
<b>Figura 22.</b> Relación a los principales síntomas dasométricos-dendrométricos con los patológicos _____	46
<b>Figura 23.</b> Árbol genético para <i>P. alni</i> a la izquierda y <i>P. pluvivora</i> a la derecha _____	47
<b>Figura 24.</b> Estructuras morfológicas de <i>P. alni</i> subsp <i>alni</i> . <b>a-c.</b> Típica estructura ornamentada oogonios. <b>d-f.</b> Típico esporangio. <b>g.</b> A Salida de las zoosporas del esporangio, abajo un esporangio vacío. _____	47
<b>Figura 25.</b> Estructuras morfológicas de <i>P. pluvivora</i> _____	48
<b>Figura 26.</b> Ciclo vital de <i>Phytophthora</i> spp _____	48
<b>Figura 27.</b> Fotografías de los síntomas presentados en El Molino de Ciudad Rodrigo _____	49
<b>Figura 28.</b> Fotografías de los síntomas presentados en La Chopera, cerca de Fuenteaguilando _____	49
<b>Figura 29.</b> Fotografías de los síntomas presentados entre Bretocino y Olmillo de Valverde _____	50
<b>Figura 30.</b> Fotografías de los síntomas presentados entre Langa del Duero _____	50
<b>Figura 31.</b> Fotografías de los síntomas encontrados en Ponferrada _____	51
<b>Figura 32.</b> Fotografías de los síntomas encontrados en el parque de la Isla Dos Aguas _____	51
<b>Figura 33.</b> Relación entre defoliación y puntiseado con la temperatura media mínima anual _____	67

## 1. RESUMEN EN CASTELLANO

*Phytophthora alni* spp *alni* es un híbrido oomicete del aliso (*Alnus glutinosa* L. Gaertn). Este patógeno causa gran impacto debido a que su principal síntoma es visual y muy llamativo, troncos necrosados con exudaciones negras. Sin embargo, también se manifiesta a través de otros daños como: fisuras oxidadas, brotes epicórmicos o ramillos adventicios, defoliación, clorosis y ramas puntisecas. El conjunto de estos síntomas provoca el decaimiento del aliso e incluso su muerte. Este decaimiento ha sido asociado a varias subespecies de *Phytophthora*. tales como: *P. alni* subsp. *alni*; *P. alni* subsp. *multiformis* y *P. alni* subsp. *uniformis*, siendo la primera la más agresiva de las tres. La distribución de última enfermedad tiene una alta incidencia en los alisos y una gran repercusión social en el centro de Europa, en países como: Francia, Alemania, República Checa, Austria, Italia, entre otros. En España han sido halladas recientemente *P. alni* subsp. *uniformis* y *P. alni* subsp. *alni*. Con anterioridad a este trabajo, únicamente se tenía conocimiento de dos zonas donde se haya constatado la presencia del patógeno *P. alni*, concretamente en Galicia y Salamanca. El principal objetivo del presente trabajo fue ahondar en el conocimiento sobre las potenciales causas ambientales relacionadas con el decaimiento de los alisos, para lo que fueron estudiadas 45 alisedas repartidas por los principales ríos de Castilla y León. En cada punto se evaluaron 20 árboles, donde se analizaron los síntomas de decaimiento relacionados con el patógeno *P. alni*. Se confirmó la presencia de *P. alni* en dos nuevas zonas, en Salamanca y Zamora, y se detectó por primera vez en España decaimientos de alisos originados por *P. pluvivora*, concretamente en otras dos zonas de Salamanca y Soria. Por otro lado, se determinó nuevos avances en la asociación de la enfermedad con factores medioambientales. Así, zonas con riesgo de inundación, suelos ácidos, fértiles en nitrógeno y la falta de magnesio interactúan entre el desarrollo del aliso y del patógeno. Del mismo modo, también se observó que la temperatura media mínima anual podría ser un limitante para el desarrollo y manifestación de algunos síntomas patológicos como la presencia de ramas puntisecas y defoliación. Por otro lado, una estructura de la masa inestable favorece el desarrollo del patógeno. Estos resultados contribuyen al conocimiento de esta enfermedad y abre nuevas vías de investigación encaminadas a la prevención y tratamiento de *Phytophthora. spp* en Castilla y León.

Palabras claves: *Phytophthora. alni*, *P. pluvivora*, *Alnus glutinosa*, factores ambientales, MRRP, NMDS.

## 2. RESUMEN EN INGLÉS

*Phytophthora alni* spp *alni* is a hybrid oomycete of alder (*Alnus glutinosa* L. Gaertn). This pathogen causes great impact because its main symptom is visual and very flashy, necrotic trunks with black exudates. However, it also manifests itself through other damages such as necrotic exudates, adventitious epicormic shoots dieback, defoliation, chlorosis and branches dieback. All these symptoms cause the decline of alder, which has been associated with several subspecies of *Phytophthora*. such as *P. alni* subsp. *uniformis* , *P. alni* subsp. *multiformis* and *P. alni* subsp. *alni* , the latter being the more aggressive of the three. The disease also has a high impact on the center of Europe, in countries such as France and Germany, among others. In Spain it has been found recently *P. alni* subsp. *uniformis* and *P. alni* subsp. *alni*. Prior to this work, only had knowledge of two areas where identified the presence of the pathogen *P. alni*, Galicia and recently in the province of Salamanca. The main objective of this work was to increase knowledge about the potential causes of the alder decline, which was studied for 45 alder distributed by major rivers of Castilla y León. At each point were evaluated 20 trees, which were analyzed decline symptoms and signs related to the pathogen over *P. alni*. This studied confirmed the presence of *P. alni* in new areas of Salamanca and Zamora and first detected in Spain decline caused by *P. pluvivora*, specifically in the provinces of Salamanca and Soria. This study confirmed the presence of *P. alni* in two new areas, Salamanca and Zamora, and was first detected in Spain decays originate *P. pluvivora* alders, specifically in two other areas of Soria and Salamanca. Furthermore, this study identifies new developments in the association of the disease with environmental factors. Thus, areas at risk of flooding, soils acids, nitrogen fertile and lack of magnesium interact alder and development of the pathogen. Similarly, we also observed that the average minimum annual temperature could be a limiting factor for the development and demonstration of some pathological symptoms such as the presence of dieback and defoliation. Moreover, a structure of the unstable mass provides better conditions for the development of the pathogen. These results contribute to the knowledge of this disease and opens new avenues of research aimed at the prevention and treatment of *P. spp* in Castile and León.

Keywords: *P. alni*, *P. pluvivora* , *Alnus glutinosa* , environmental factors, MRRP , NMDS

### 3. ANTECEDENTES

«*Phytophthora*», procedente del griego *plytón* (planta) y *phthorá* (destructor de plantas), fue descrita por primera vez en 1875 por Heinrich Antón de Bary. En el año 1995, un patógeno con síntomas similares a *P. alni* fue observado en el sureste de Gran Bretaña y fue clasificado en un taxón similar a *P. cambivora* (Gibbs, 1995). En esa ocasión, el patógeno aún no se había descrito, aunque ya había sido detectado en diversos estudios (Brasier and Kirk, 2001). Trascurridos los años se fueron detectando otro tipos de especies de *Phytophthora*, en el año 2004, fue descrito formalmente un agente causal *P. alni* y consideraron que podría ser un posible híbrido entre otras dos especies de *P. multiformis* y *P. uniformis* (Brasier *et al.*, 2004). La especie fue subdivididas en tres subespecies; un híbrido estándar designado como *P. alni* subsp. *alni*, una variante sueca llamada *P. alni* subsp. *uniformis*, y una variante holandesa, alemana y del Reino Unido a la que denominaron *P. alni* subsp. *multiformis* (Clive *et al.*, 2004; Érsek and Nagy, 2008). En el año 2004, se publicó una actualización sobre el patógeno asociado a los alisos en Baviera ofreciendo información sobre la distribución, los medios de dispersión, así como las posibles estrategias de manejo (Jung and Blaschke, 2004). Se demostró que la dispersión del patógeno estaba relacionada con los cursos del agua, como con material propagativo infeccioso. Las muestras se extraían de agua de río infestada, del suelo y de la corteza de aliso necrótica (loosv *et al.*, 2005; Bakonyi *et al.*, 2006). Una vez concluida la forma de aislar el patógeno se procedía a identificar genéticamente la enfermedad. Nuevas investigaciones han detectado el patógeno en muchas otras partes de Europa, principalmente Europa central, en Alemania, República Checa, Francia, Austria, Italia, Irlanda, Suecia, Países Bajos, Bélgica, Hungría, Estonia, Lituania (Jung *et al.*, 2002; Downing *et al.*, 2006; Streito *et al.*, 2002; Balci *et al.*, 2002; Santini *et al.*, 2003; Hartmann, 1995; Mathieu, 1996; Cech, 1997; Werres, 1998; Schmidt *et al.*, 1998; Gibbs *et al.*, 1999, 2003; Olsson, 1999; Jung *et al.*, 2000b; Szabó *et al.*, 2000; Werres *et al.*, 2001; Brasier *et al.*, 2003; Nagy *et al.*, 2003.) (Fig. 1). Hasta el año 2004, *P. alni* no fue detectada fuera de Europa, pero nuevos estudios, posteriores a este año, confirmaron la existencia de daños *P. alni* subsp. *uniformis* en Alaska (Trummer *et al.*, 2007; Adams *et al.*, 2008). Dándose las condiciones adecuadas, también tienen posibilidades de presentar amenazas por *Phytophthora* otros continentes.



**Figura 1.** Países donde se ha detectado *P. alni* hasta la fecha del 2006. Fuente: <http://www.forestry.gov.uk/fr/INFD-737J2S>

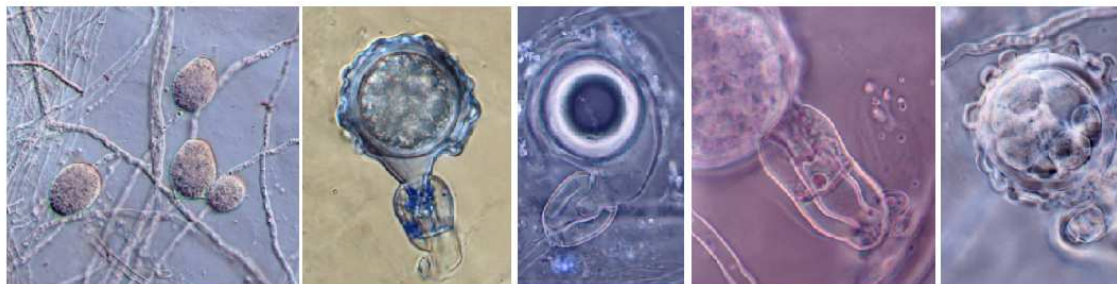
En los últimos años la enfermedad ha sido detectado en nuevos países, tales como, EEUU (USDA APHIS, 2009) y en España (Solla *et al.*, 2010; Pintos *et al.*, 2012)

### 3.1. TAXONOMÍA E IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA DE LAS COLONIAS DE *P. ALNI*

Brasier *et al* (1999) realizó un análisis molecular para demostrar que el patógeno del aliso era híbrido de *P. cambivora* y *P. fragariae*. Más tarde los investigadores demostraron que *P. alni* subsp *uniformis* y *P. alni* subsp. *multiformis* estaban genéticamente mucho más próximos que los mencionados al principio. Más recientemente loos *et al.* (2006) demostró que *P. cambivora* y *P. fragariae* no eran los progenitores de *P. alni*. Y del mismo modo, se demostró que *P. alni* subsp *alni* procedía del cruce entre *P. alni* subsp *uniformis* y *P. alni* subsp. *multiformis* (loos *et al.*, 2006; loos *et al.*, 2007). A nivel morfológico las colonias en el cultivo CA (Carrot-Agar) son irregulares, con áreas de distinto ratio de crecimiento, rápido y lento. La temperatura óptima de crecimiento oscila entre 23 y 25°C siendo la temperatura máxima de desarrollo 31°C y una mínima de 4°C. Los **esporangios** no se desarrollan en medio de cultivo y son escasamente producidos con extractos de suelo no estéril. Su forma es elipsoidal, no papilado (Fig. 2, izqd) y persistente, nacen simples, en largos esporangióforos. Se trata de una especie homotálica, con abundante producción de órganos sexuales. Otra estructura característica son los **oogonios**, los cuáles son típicamente ornamentados, en mayor o menor grado, con pie estrecho, de



tamaño muy variable, algunos presentan forma de coma y otros están distorsionados. Se produce una alta proporción de oosporas abortadas. Este patógeno posee un anteridio anfigino, predominantemente con dos células (Fig. 2) (Mansilla *et al.*, 2010). En el anejo IV se ha aportado el árbol genético (Fig. 25), el ciclo vital (Fig. 28) y más fotografías moleculares (Fig. 26, 27).



**Figura 2.** Características morfológicas de *P. alni*. De izquierda a derecha: Esporangios no papilados. Oogonio ornamentado. Oogonio en forma de coma. Anteridio anfigino con dos células. Oogonio ornamentado con oosporas abortadas. Fuente: Diputación de Pontevedra (Mansilla *et al.*, 2010).

### 3.2. SITUACIÓN EN ESPAÑA

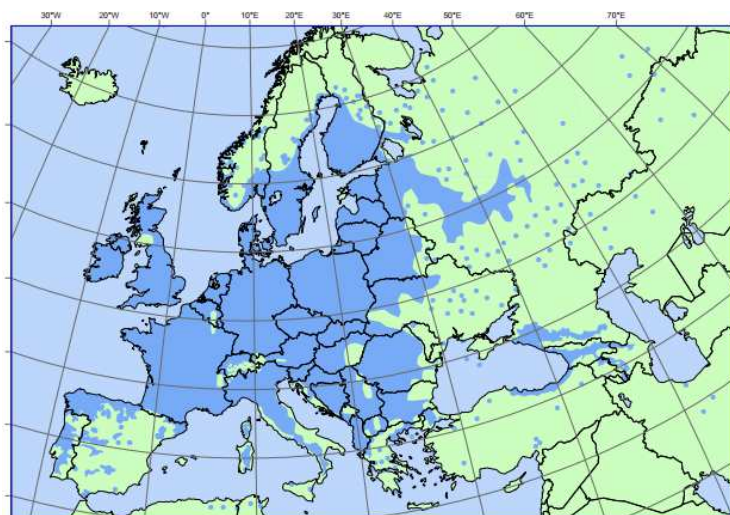
La alta capacidad de dispersión de este patógeno hizo que llegara a España y sobre los años próximos al 2007 se observó un continuo y constante decaimiento de las alisedas, concretamente en el norte de España. Estos decaimientos empezaron a observarse en las alisedas del río Miño-Sil (Galicia) y otras tantas en la provincia de León. Los daños han ido aumentando progresivamente hasta dejar al aliso en una situación delicada, dejándose ver en algunos ríos de forma puntual. Los técnicos y habitantes de las comarcas cercanas a los ríos mencionados expresaron su sorpresa y preocupación por el inusual secado de árboles jóvenes y adultos ([www.laopiniondezamora.com](http://www.laopiniondezamora.com), 2013). Ante tal preocupación, se produjo una reunión en Ponferrada (León), el 13 de Noviembre de 2009, consensuada por las dos Confederaciones Hidrográficas afectadas, (Cantábrico y Duero), junto con el Servicio de Protección de los Montes contra los Agentes Nocivos (SPMCAN) de la Dirección General de Medio Natural y Política Forestal del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. El principal objetivo de la reunión trataba de potenciar un estudio sobre el estado sanitario de las alisedas y establecer el origen y una solución para combatirla. La sequía del verano 2012, se incrementó la presencia de los síntomas de la enfermedad y fue entonces cuando la Consejería de Medio Ambiente de Castilla y León prohibió temporalmente todos los permisos para la corta y la poda de alisos. En la actualidad, la Junta de Castilla y León, concretamente la Sección Territorial II de

Medio Ambiente de León están dirigiendo medidas preventivas de obligado cumplimiento por parte de los habitantes de cada comarca afectada para evitar la propagación del patógeno. Dichas medidas han sido elaboradas por el Centro de Sanidad Forestal de Calabazanos (Palencia) de la Consejería de Medio Ambiente (Dirección General y Servicio de Defensa del Medio Natural). Las medidas seleccionadas pasan por mantener la salubridad y el buen estado de los cauces de los ríos afectados, entre ellas: evitar la plantación de alisos en zonas afectadas; regular la actividad antrópica de los cauces contaminados, para evitar una mayor propagación; controlar la pesca, actividades silvícolas y tomas de aguas para agricultura o industria y mayor vigilancia fluvial para evitar acciones no permitidas, de esta forma se pretende detener o minimizar la expansión del patógeno.

Estas medidas propiciaron un gran impacto en centros especializados en el ámbito de la patología forestal, especialmente en la Universidad y centros de investigación internacionales, que establecieron compromisos y estudios conjuntos con el fin de incrementar el conocimiento sobre la enfermedad que estaba causando el decaimiento de las alisedas en Castilla-León y Galicia. Para su investigación colaboraron: la Universidad de Valladolid, departamento de Entomología y Patología Forestal; la Universidad de Extremadura; la Universidad Politécnica de Valencia; y *Phytophthora* Research and Consultancy, (Germany) y Centre for *P. Science and Management*, Murdoch University, 90 (Australia). Este hecho revirtió en una serie de investigaciones paralelas con Confederación Hidrográfica del Duero, las universidades y los centros mencionados, que lograron determinar, por primera vez, el causante del decaimiento de las alisedas en Galicia, *P. alni* (Solla *et al.*, 2010).

### **3.3. HOSPEDANTE**

El principal hospedante de este patógeno, en España, es el aliso común (*Alnus glutinosa* L. Gaertn), cuya distribución es amplia en el centro, este y sur de Europa. Se localiza en países desde Gran Bretaña hasta Siberia Occidental y el extremo noroeste de África.



**Figura 3.** Distribución del aliso (*Alnus glutinosa* L. Gaertn) en Europa. Fuente: [www.euforgen.org](http://www.euforgen.org)

En España aparece en casi todo el territorio asociado a zonas ripícolas, excepto, en las comarcas más áridas del suroeste. Las características generales del aliso se resumen en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Características generales del *Alnus glutinosa* L. Gaertn. Fuente: Compendio de Selvicultura aplicada en España (Serrada *et al.*, 2008)

Carácter	Característica	Valor
Estación	Altitud	700-800 (1500) metros
	Rég. Pluvimétrico	400-1300 mm
	Preferencia de suelos	Suelos frescos
	Tolerancia a la sequía	Hidrófila, soporta mal la sequía
	Rég. Térmico	TMA (°C) 1-18 TMC (°C) 15-25 TMF (°C) -30-8
	Preferencia térmica	Templado-cálido a Templado-frío
	Subtipo fitoclimático (Allué, 1990)	VI, VI(IV) VI(IV) <sub>4</sub> IV(VI) <sub>2</sub>
	Piso bioclimático (Rivas, 1987)	Colino-Montano, Mesomediterráneo
Edáficos	Textura	Indiferente, prefiero suelos limosos
	Permeabilidad	Baja
	CRA	Alta
	Reacción edáfica	Prefiere ácido o neutros
	Caliza activa	Calcífuga
	Tolerancia a la salinidad	Moderada
	pH óptimo	5.5-7 (Funk, 2000). En pH básico afecta negativamente a su crecimiento.
Cultural	Temperamento	Robusto, especie de luz
	Porte	Árbol mediano de 17-22 m, copa regular y densa, piramidal que luego se hace redondeada. Tronco derecho y cilíndrico. Ramas erecto-patentes
	Enraizamiento	No presenta raíz principal, secundarias someras de las que salen terciarias que sirven de anclaje
	Crecimiento	3 <sup>er</sup> grupo. Rápido, de 9 a 11 m <sup>3</sup> /ha y año.
	Longevidad	80-120 años
	Reproducción	Sexual y asexual

---

Posibles agentes patógenos	Insecto	Defoliadores : <i>Acrionicta alni</i> (Linnaeus, 1767) <i>Agelastica alni</i> (Linnaeus 1758)
	Patógeno	Hojas: <i>Phyllactiana guttata</i> (Wallr.) Lév., Tallo: <i>Nectria cinnabarina</i> (Tode) Fr. <i>P. alni</i>
	Fenerógamas parásitas	<i>Viscum álbum</i> L.

---

Estos árboles prefieren los bordes de los cursos de agua, fondos de valles húmedos, zonas pantanosas y turberas. Existen numerosas praderas húmedas que antes fueron alisedas y sobre las que el aliso se reinstala con facilidad. En el sur de la península, este árbol se sitúa aislado en lugares de umbría.

### 3.4. IMPORTANCIA DEL MANTENIMIENTO DE LAS ALISEDAS

Los ríos son sistemas naturales con elevado valor ecológico, paisajístico y bioclimático, que desempeñan importantes y numerosas funciones ecológicas, ambientales y económicas. En este ecosistema suceden una gran variedad de procesos hidro-geomorfológicos asociados al cauce fluvial y la calidad de cada proceso depende en gran medida de la vegetación riparia o de ribera, sobre todo la arboleda. La desaparición o cambio de los principales elementos que forman parte de cada uno de los procesos vitales del medio (continuidad, anchura, estructura, naturalidad y conectividad natural) pueden desestructurar el orden natural del río, siendo estos cambios en su gran mayoría negativos. El aliso se considera una especie muy valiosa por su capacidad de colonización de terrenos pobres y la resistencia a las condiciones de encharcamiento. A estas dos importantes características se une su temperamento heliófilo: el aliso es una especie adecuada para habitar estaciones donde desaparecen el resto de las especies, particularmente los trampales y zonas sometidas a hidromorfía (Galán *et al*, 1998). Del mismo modo, la principal limitación para su expansión es la falta de humedad, en particular edáfica. Este árbol tiene una escasa capacidad de regulación estomática y presenta tasas de transpiración muy superiores a la media de las registradas en bosques de Europa central (Montero *et al*, 2003). Las alisedas forman un gran papel en la estructura y mantenimiento de la vegetación de ribera siendo otras de sus funciones la de aportar materia orgánica. Además son unos de los principales reservorios de nitrógeno. El aliso es capaz de fijar nitrógeno gracias a una simbiosis actinorrízica de unos actinomicetos llamados "*Frankia*". Por otro lado, los alisos proporcionan otros aspectos positivos: crear refugios para la fauna acuática a partir de sus raíces; estabilizar las orillas a través de su sistema radical; evitar la erosión eólica e hídrica; disminuir la temperatura de la zona circundante al aliso creando microclima de carácter húmedo y fresco. Su

disminución puede llegar a ser un 30 % menos en ausencia de vegetación de ribera; disminuir la velocidad de las escorrentías; favorecer la recarga de los acuíferos; mantener los corredores biológicos; mejorar la calidad paisajística; retrasar la formación de avenidas; retener sedimentos; actuar como cortaviento, por la densidad de su copa; posible productor de biomasa en cortas intermedias. Por todo lo expuesto anteriormente es de vital importancia estudiar esta enfermedad y sus relaciones con el árbol y los factores ambientales existentes. Por estos motivos, la enfermedad estudiada representa una gran amenaza para los alisos naturales y pone en peligro la estabilidad de los ecosistemas riparios.

#### **4. OBJETIVOS**

Los objetivos de este estudio se centran en tener mayor conocimiento de los factores ambientales con la enfermedad, y más concretamente en:

1. Evaluación del estado fitosanitario de las alisedas de Castilla y León.
2. Detectar nuevos focos de *P. alni*.
3. Determinar qué factores ambientales influyen en el decaimiento de los alisos de Castilla y León.

#### **5. MATERIAL Y MÉTODOS**

##### **5.1. ÁREA DE ESTUDIO**

El área de estudio se centra en ríos principales de Castilla y León (ver anejo I, tabla 5 y mapa de localización Fig. 4). Las parcelas de muestreo fueron seleccionadas en cada uno de los ríos de forma estratificada. Cada punto era de forma circular donde se seleccionaron 20 alisos.

##### **5.2. DISEÑO EXPERIMENTAL**

El diseño experimental se basa en los establecidos por otros programas de monitoreo (ICP, 2010) y de otros estudios elaborados (Bezós *et al.*, 2012) que sirvieron de base y en la misma línea de investigación que sigue la Universidad de Valladolid.

**Tabla 2.** Factores y variables seleccionados para la elaboración del estudio.

	Tipo de variable	Unidad	Metodología, materiales y comentarios adicionales
<b>Factores fisiográficos</b>			
Altitud o cota de la parcela	Continua	m	
Formación del río	Categórica	No unidad	Recto; Anastosomado; meandriforme
Rapidez del agua	Categórica	No unidad	Estancada; Lento; Rápido
Tamaño del río (anchura)	Categórica	No unidad	Estrecho o Grande
Pendiente media del terreno	Continua	%	
Orientación de la masa	Categórica	No unidad	Norte; Sur; Este ; Oeste y combinaciones
Zonas de posible inundación	Categórica	No unidad	Sí ; No
<b>F. edáficos</b>			
pH	Continua	No unidad	Potenciometría PNT-S-01
Conductividad	Continua	mS/cm	Conductivímetro(1:2,5)
CIC	Continua	meq/100g	
Elementos gruesos	Continua	g/100 g	Tamiz 2 mm
Arena fina	Continua	g/100 g	Tamiz 100 µm
Arena ISSS	Continua	g/100 g	Densímetro Bouyoucos
Limo ISSS	Continua	g/100 g	Densímetro Bouyoucos
Arcilla ISSS	Continua	g/100 g	Densímetro Bouyoucos
Materia Orgánica oxidable	Continua	g/100 g	Volumetría redox. PNT-S-05
Carbonatos	Continua	g CaCO <sub>3</sub> /100g	Bernard. PNT-S-05
Caliza activa	Continua	g/100 g	Bernard
Fósforo asimilable	Continua	mg/kg	Olsen. PNT-S-04
Potasio asimilable	Continua	mg/kg	Emisión atómica. PNT-S-07
Calcio asimilable	Continua	meq/100 g	Absorción atómica. PNT-S-06
Magnesio asimilable	Continua	meq/100 g	Absorción atómica. PNT-S-06
Sodio asimilable	Continua	meq/100 g	Emisión atómica.
Relación C/N	Continua	No unidad	
Nitrógeno total	Continua	g/100 g	Kjeldahl modificado
Textura	Categórica	No unidad	Clasificación a través del triángulo del suelo, USDA.
Tipo de suelo superficial	Categórica	No unidad	Rocoso; Arenoso; Arcilloso; Otros suelos
<b>F. climáticos</b>			
Pluviometría media anual	Continua	mm	Atlas climático digital y MiraMon
Temperatura mínima media anual	Continua	° C	Atlas climático digital y MiraMon
Temperatura máxima media anual	Continua	° C	Atlas climático digital y MiraMon
Radiación solar media anual	Continua	10 Kj/m <sup>2</sup> *día*micrómetro	Atlas climático digital y MiraMon
Meses de heladas	Continua	Meses	
Meses de sequía	Continua	Meses	
<b>F. dendrométricos-dasométricos</b>			
Diámetro con corteza	Continua	cm	Forcípula tradicional de brazo móvil
Dominancia	Categórica	0-2	0 = Dominado; 1= Codominante; 2 = Dominante
Perímetro con corteza	Continua	cm	Cinta métrica
Presencia de poda	Categórica	0-1	0 = no podado; 1 = podado
Competencia arbórea	Categórica	No unidad	Joven; Joven-Adulta (mezcla); Adulta
Selvicultura aplicada	Categórica	No unidad	Nada; Podas; Claras; Desbroces; mezcla de ellos
Área basimétrica	Númérica	m <sup>2</sup> /ha	Relascopio del Bitterlich
Procedencia de la masa	Categórica	Númérica	Información facilitada por el INIA
Dominancia	Categórica	0-2	0 = Dominado; 1= Codominante; 2 = Dominante
Altura	Continua	m	Aparato Vertex
Coficiente de esbeltez	Continua	m/cm	$CE = H_{total}/diámetro$ . Índice de espesura
Índice de copa viva	Continua	No unidad	$ICOPA = H_{copa}/H_{total}$ . Índice de espesura.
<b>F. patológicos o patológicos</b>			
Manifestación de los síntomas	Categórica	No unidad	Nada; Puntual; Salpicada; Grupo.
Estado de la masa	Categórica	No unidad	Sana; Normal; Deficiente
Positivos de patógenos	Categórica	No unidad	Sólo nombre
Necrosis	Continua	No unidad	0 = nada; 1= poca; 2= alta presencia de necrosis
Localización de la necrosis	Continua	No unidad	0 = raíz; 1 = parte baja del tronco; 2 = parte alta del tronco
Abundancia de la exudación	Continua	No unidad	0 = no hay exudación; 1 = poca exudación; 2 = alta exudación.
Tamaño de la necrosis	Continua	No unidad	0 = nada; 1 = pequeño; 2 = grande
Defoliación	Categórica	1-5	1 = 0-20 % de defoliación; 2 = 20-40 %; 3 = 40-60%; 4 = 60-80 %; 5 = 80-100 %
Ramas puntisecadas	Continua	No unidad	Contabilizar de forma visual el número de árboles con ramas puntisecadas en la parcela
Chancro	Continua	No unidad	0=nada; 1=presencia de chancro
Clorosis foliar	Continua	No unidad	1 = 0-20 % de clorosis; 2 = 20-40 %; 3 = 40-60%; 4

Presencia de fruto	Continua	No unidad	=60-80 %; 5 = 80-100 %
Brotos epicórmicos	Continua	No unidad	0 = no; 1=si
Fisuras oxidadas	Continua	No unidad	0 = nada ; 1 = poco; 2 = alta presencia
			0 = nada; 1 = presencia de fisuras oxidadas

Tras la elaboración de un estadillo de campo que establecía todas las variables de medición, se seleccionaron los puntos donde se iba a inventariar los diferentes objetivos de estudio. La metodología de muestreo se basó en el método de Muestreo Aleatorio Estratificado (MAE) para parcelas temporales no permanentes, adaptándolo en la medida de lo posible a los limitantes de la zona (terrenos fangosos, alisos situados en islas de difícil acceso, etc.). Debido a la particularidad de distribución de los alisos (unas veces en transeptos y otras como una masa circular), se ha adaptado una evaluación de parcelas circulares. A partir de aquí se comenzaron a medir las variables de muestreo, propuestas en la tabla 2, teniendo en cuenta unos criterios fijos a la hora de medir y/o tomar variables (Ver Anejo II). Tras la medición de variables y la toma de muestras, estas últimas se trasladaban al laboratorio para ser procesadas.

### 5.1. TRATAMIENTO Y ESTADÍSTICA DE LOS DATOS

Una vez recopilados y revisados los datos de muestreo se seleccionó finalmente un tipo estadística adecuada para el presente estudio.

**Tabla 3.** Tipo de dato que se utilizó para el análisis estadístico.

Factor	Tipo de valor utilizado
Dendrométrico-Dasométrico	Medio por parcela
Patológicos o sanitario del decaimiento	Medio por parcela
Climático	Único, por parcela
Edáfico	Único, por parcela
Fisiográfico	Único, por parcela

Una vez preparados los datos se siguió un procedimiento donde se aplicó primeramente un análisis univariante y posteriormente un estudio multivariante (Ver anejo VI). La mayor parte de este estudio fue analizado con estadística no-paramétrica por las ventajas que presenta este tipo de análisis estadístico: se puede aplicar en datos de distribución no-normal; la aplicación de este tipo de estadística no paramétrica es de gran aplicación en comunidades ecológicas y ambientales (Oksanen, 2005). Los principales análisis utilizados fueron: test de Spearman, test de Kruskal-Wallis, regresiones lineales y no lineales y análisis multidimensional no métrico (NMDS) y análisis de múltiple permutaciones (MRPP). Para ello, se utilizó el programa *R studio 3.0.1*. con sus paquetes estadísticos correspondientes.

## 6. RESULTADOS.

### 6.1. EVALUACIÓN DE LOS DAÑOS EN ALISEDAS DE CASTILLA Y LEÓN.

Del total de las alisedas evaluadas en Castilla y León, 16 muestran un estado fitosanitario deficiente, de las cuáles: 7 pertenecen a la provincia de Salamanca; 3 a Zamora; 2 a Soria, Valladolid y León. Por el contrario, las provincias como Burgos, Palencia, Ávila y Segovia presentan masas más saludables (ver anejo I, Tabla 5).

### 6.2. POSITIVOS DE *PHYTOPHTHORA*. *SPP.* DETECTADOS.

Hay que destacar que uno de los principales resultados obtenido fue la identificación de *Phytophthora alni* en nuevos lugares de Castilla y León y una nueva especie (Ver anejo I):

- Ha sido identificado como *P. alni*, en los siguientes lugares: Olmillo de Valverde-Bretocino (Zamora); Urb. El Tamaral (Zamora); Fresno de Alhándiga (Salamanca); La Chopera (Salamanca) y Ciudad Rodrigo (Salamanca).
- Ha sido identificado como *P. plurivora* (Ver anejo IV, detalle morfológico) en dos zonas: Langa del Duero, Soria, 41° 36' 34" N, 3° 25' 10" W, altitud 851 m.; La Maya, Salamanca, 40° 41' 42" N, 5° 35' 36" W, altitud 853 m. La secuencia de la región ITS de estos aislamientos del patógeno ya se ha depositado en la base de datos del banco genético EMLB/GenBank con el GenBank Accession N°. KF413074 and KF413075). Además se ha publicado un "First report" en "Plant Disease" con el título: "First report of *P. plurivora* causing collar rot on common alder in Spain".

### 6.3. RELACIÓN ENTRE LA SINTOMATOLOGÍA DEL PATÓGENO CON LOS FACTORES AMBIENTALES.

Los resultados obtenidos relativos a los síntomas patológicos de las masas de aliso frente al grupo de variables ambientales son diversos (Tabla 4). En general, los factores suelo y clima juegan un papel clave, asociándose la mayoría de sus variables con los síntomas principales. Sin embargo, no se han obtenido numerosas correlaciones con el grupo de variables fisiográficas y dasométricas-dendrométricas.



**Tabla 4.** Correlación entre las variables ambientales y los síntomas del aliso a través del coeficiente de correlación de Spearman.

	Defoliación	Puntisecado	Clorosis	Necrosis	Fisuras Oxidadas	Brotos epicórmicos
Altitud o cota de la parcela						
Formación del río						
Rapidez del agua						
Tamaño del río (anchura)						
Pendiente media del terreno						
Orientación de la masa						
Zonas de posible inundación					-0.32**	
pH		-0.29**				
Conductividad eléctrica						0.34**
Capacidad de Intercambio Catiónico						0.28*
Elementos gruesos						
Arena fina						
Arena ISSS						
Limo ISSS				-0.25*	-0.26*	
Arcilla ISSS						
Materia Orgánica oxidable	0.27*	0.30**				0.29**
Carbonatos						
Caliza activa						
Fósforo asimilable						
Potasio asimilable			-0.26*			
Calcio asimilable						
Magnesio asimilable						0.32**
Sodio asimilable						0.53**
Relación C/N						
Nitrógeno total		0.29**				
Textura						
Tipo de suelo superficial						
Pluviometría media anual						
Temperatura mínima media anual	0.32**	0.47***				
Temperatura máxima media anual						
Temperatura media anual						
Radiación solar media anual						
Meses de heladas					0.25*	
Meses de sequía						
Área basimétrica						-0.34**
Dominancia						
Perímetro con corteza						
Perímetro con corteza						
Diámetro geométrico						
Diámetro medio con corteza						
Altura copa viva						
Altura media						
Selvicultura aplicada						
Coeficiente de esbeltez						
Índice de copa viva						
Chancro						0.46***
Fructificación						
Defoliación		0.85**	0.27**	0.54***	0.43***	0.34***
Ramas puntisecas			0.30**	0.43***	0.26*	
Clorosis				0.43***	0.40**	
Necrosis					0.65***	0.38***
Fisuras Oxidadas						0.35***
Brotos epicórmicos (RA)						
Positivos patógeno						

Las correlaciones quedan identificadas a través de la significación del p-valor. (\*) p<0.1; (\*\*)p<0.05; (\*\*\*)p<0.01. Las celdas en ausencia de estos signos implican su no significancia.

Los resultados son variados en función del tipo de factor estudiado, por ejemplo, a nivel fisiográfico se observa que aquellas zonas susceptibles de inundarse presentan un mayor número de síntomas de fisuras naranjas en los troncos de los alisos ( $\rho=$

0.32,  $S=10314.36$ ,  $p\text{-valor}=0.03$ ). En el aspecto edáfico, las propiedades químicas de cada lugar ejerce una papel importante en la presencia de algunos de los síntomas del patógeno. Como se puede observar, en los resultados de la tabla 4, un pH ácido del suelo favorece ligeramente la presencia de ramas secas en las puntas de los árboles ( $\rho=-0.29$ ,  $S=19733.24$ ,  $p\text{-valor}=0.04$ ) (Fig 15b). A esto hay que sumarle que la presencia de brotes epicórmicos en el tronco es mayor en zonas con una conductividad eléctrica alta ( $\rho=0.34$ ,  $S=10002.85$ ,  $p\text{-valor}=0.02$ ) (Fig. 15c). Este último síntoma también destaca su presencia en riberas de los ríos donde los alisos disponen de una mayor cantidad de magnesio ( $\rho=0.32$ ,  $S=10339.98$ ,  $p\text{-valor}=0.03$ ) y sodio en el suelo ( $\rho=0.53$ ,  $S=7056.46$ ,  $p\text{-valor}=0.0001$ ) (Fig. 16). Otro resultado interesante se obtuvo a través de la relación entre la materia orgánica con el patógeno, ya que, un descenso en el suelo de dicha variable provoca un efecto negativo en la copa de los alisos, favoreciendo la presencia de ramas secas o puntisecas ( $\rho=0.30$ ,  $S=10510.62$ ,  $p\text{-valor}=0.04$ ) junto con una mayor presencia de brotes adventicios en el tronco ( $\rho=0.29$ ,  $S=10684.07$ ,  $p\text{-valor}=0.03$ ). El último resultado edáfico refleja que un aumento de la cantidad de nitrógeno en el suelo favorece la presencia de ramas sin hojas y secas en la copa del aliso ( $\rho=0.29$ ,  $S=10684.07$ ,  $p\text{-valor}=0.03$ ). Desglosando los resultados climáticos, sólo se pudo destacar el papel que ejerce la temperatura media mínima anual sobre alguno de los síntomas del patógeno, como fue la defoliación ( $\rho=0.32$ ,  $S=10281.22$ ,  $p\text{-valor}=0.03$ ) y ramas puntisecas ( $\rho=0.47$ ,  $S=8060.75$ ,  $p\text{-valor}=0.001$ ), viéndose ambas favorecidas a media que la temperatura media mínima anual era mayor (Fig. 33). En el grupo de variables dasométricas, sólo se ha establecido una relación negativa entre el área basimétrica y los brotes del tronco ( $\rho=-0.34$ ,  $S=20298.92$ ,  $p\text{-valor}=0.02$ ).

A través de análisis multivariante se pudo confirmar que existían diferencias con la sintomatología que produce el patógeno con los aspectos ambientales. Por ejemplo, el test MRRP nos mostró que las provincias de Castilla y León no contenían por igual la cantidad media de síntomas detectado en las masas ( $A=0.062$ ,  $p=0.046$ ), pudiendo resaltar que las provincias de Salamanca, Zamora y Soria (Fig. 18a, 18b) son las que contenían unas condiciones sanitarias peores. Otro tipo de test empleado fue NMDS, el cual, nos ayudó a entender el comportamiento global de todas las variables de cada factor ambiental en relación con la sintomatología de la enfermedad. Por ejemplo, se observó que la presencia de altos niveles de conductividad eléctrica, CIC, nitrógeno total, materia orgánica y el limo, refuerza la presencia de dos síntomas evaluados en las parcelas, como son la defoliación y ramas puntisecas (Fig. 20). Por último, los

resultados mostraron que los síntomas que afecta a la copa del aliso (defoliación y rama secas) se dan en mayor número en parcelas donde la temperatura media mínima anual es más alta (Fig. 21).

## 7. DISCUSIÓN

Los análisis llevados a cabo en el laboratorio confirmaron que la distribución de *Phytophthora* spp. en los alisos de Castilla y León ha sido más amplia de lo esperado. En un principio, sólo se tenía noción del patógeno en los cauces de los ríos Miño y Sil (Solla *et al.*, 2010) y en Salamanca en el cauce de los ríos Tormes y Águeda (Haque *et al.*, 2012). Con este estudio se ha comprobado que *P. alni* está también implantado en la provincia de Zamora, probablemente desde hace años, debido al mal estado de las alisedas. Además, se ha descubierto por primera vez en España la presencia de *P. pluvivora* en dos provincias diferentes (Salamanca y Soria). Esto crea cuestiones acerca del origen y desde donde se propagó el patógeno. Una posibilidad es que el patógeno haya podido mantenerse estable a lo largo del tiempo en Zamora, como ha sucedido en Polonia (Belbahri *et al.*, 2006) y en ríos de Europa, donde la especie *P. alni* ssp. *alni* está muy extendida (Clive *et al.*, 2004). Otra hipótesis puede ser que el patógeno se propagó desde el norte hacia el sur, ya que se ha podido observar en campo que aquellas masas del noroeste se encuentran en peor estado sanitario que las del este y sureste. Se puede sospechar que el patógeno haya sido transportado por origen antrópico (con podas u operaciones mecánicas). Aunque no se haya estudiado los mecanismos de dispersión, se han dado caso en otro patógenos, como *Fusarium circinatum* en *Pinus radiata* D Don que se dispersaba a través de la poda mecánica en Cantabria (Bezoz *et al.*, 2012). Las propias zoosporas del patógeno también pueden jugar un papel importante, puesto que, son capaces de viajar grandes distancias por las corrientes de los ríos (Denman *et al.*, 2005), esto último explicaría que la infección que se haya extendido a los ríos Tormes y Águeda (Salamanca) o Tera (Zamora), desde río Duero, y/o viceversa. Ante esta preocupación algunos autores trabajan en establecer soluciones de cara a un futuro cercano. Una de ellas, sería entender la propagación de la enfermedad mediante un modelo de predicción del patógeno, como se han hecho en Bavaria (Alemania), para controlar su distribución (Jung *et al.*, 2007).

Además de la propagación del patógeno se debe tener en cuenta las dificultades que presenta su aislamiento y detección en laboratorio, en muchas ocasiones no ha sido posible confirmarlo a pesar de extraer muestras de masas en un estado fitosanitario

deficiente, porque incluso estando la enfermedad es difícil de aislarlo en laboratorio. Otro problema a tener en cuenta fue asegurar que los síntomas que se veían eran realmente debidos a *P. alni* y no otra especie. En un principio, los síntomas que se muestran son parecidos, pero analizados morfológica/molecularmente es posible determinar otras especies que resultan igual de agresivas en campo, como por ejemplo: *P. cinnamomi*, *P. citrophthora*, *P. nicotianae* and *P. palmivora* (Haque *et al.*, 2012) (Jung *et al.*, 2005), o especies que se retrocruzan dando lugar a otras nuevas (Balci *et al.*, 2002). Dos ejemplos de ello, se han dado en nuestro estudio, el primero, en Langa del Duero (Soria) y en La Maya (Salamanca), donde se han encontrado los mismos síntomas que *P. alni*, sin embargo, se descubrió que la especie causante era *P. pluvivora*. Otra complicación del estudio, fue seleccionar correctamente las muestras de madera infectada. A pesar de seguir un protocolo estricto, muchas de las muestras que llegaban al laboratorio, no ofrecían resultado alguno relacionado con *P. alni* como ya le han sucedido a otros autores (Érsek *et al.*, 2008) (Balci *et al.*, 2008). En un estudio con bonsáis que contenían *Phytophthora. spp* mostraron la dificultad de conseguir aislar el patógeno (Famine, 2007) a través de un protocolo elaborado por DEFRA y la comisión Forestal de Gran Bretaña. Según autores (Balci *et al.*, 2002), parte importante de este fracaso residía en la toma correcta del tejido necrotizado (Balci *et al.*, 2008). Afirmaban que el éxito del aislamiento era muy alto a partir de tejido necrótico “fresco”, es decir, en un buen aislamiento depende más de la calidad del tejido que de la cantidad de necrosis. Los mismos autores proponen ciertas soluciones detallistas que aumentarían la eficacia y los resultados en el laboratorio: por un lado que las muestras deben colocarse inmediatamente en una botella llena de agua destilada y estéril. Y que los pequeños trozos de tejido de la corteza interna necrótico se siembren directamente sobre un medio selectivo PARPNH o PARPNH-V8 (Jung *et al.*, 2009) sin desinfecciones en la superficie de las muestras (Balci *et al.*, 2002).

A nivel climático se observó que si disminuían las temperaturas medias mínimas anuales, dos de los síntomas relacionados con la copa del árbol disminuían su incidencia y/o su presencia, y viceversa. Hay que tener en cuenta que en España esta temperatura podría no resultar tan determinante o discriminante como pudieran darse en enero el centro de Europa. Otros investigadores (Černý *et al.*, 2012) demostraron que la viabilidad del patógeno disminuye significativamente si la temperatura alcanza -5,0 °C manteniéndose vivos durante al menos 1 semana. En este estudio, la temperatura media mínima más baja registrada ha sido en Villatoro (Ávila) de -2.7 °C,

sin embargo, no se trata de una temperatura absoluta y también se desconoce los días de en que dicha temperatura persiste en el tiempo. Otro estudio (Schumacher *et al.* 2006) estableció rangos de la funcionalidad del patógeno y especies análogas, de este modo, la temperatura óptima para el desarrollo del patógeno oscila entre 22.5 y 25 °C. En Castilla y León, la temperatura media mínima anual es de 5°C y la temperatura media anual es de 12 ° C, y la temperatura media máxima anual es de 21° C (IPCC, 2013), esto no impide la mortalidad del patógeno, aunque sí su desarrollo, ya que no se encuentra en su óptimo. Otro punto a tener en cuenta es el cambio climático, caracterizado por el aumento de la temperatura medias mínimas anual más bajas del invierno en Europa Central (IPCC, 2013; Bergot *et al.*, 2004) y el Norte de España, esto puede suponer un riesgo significativo para la población afectada de alisos (Černý *et al.*, 2012). Al aumentar las temperaturas media mínima anual el desarrollo del patógeno se vería favorecido y su propagación sería mayor. Otro factor importante es el clima de Castilla y León, al ser un territorio tan amplio, el clima no es el mismo a lo largo del río Tormes en Salamanca, que para el río Sil en León. Los elementos del clima como por ejemplo las temperaturas favorecen o impiden el desarrollo de la vegetación, y en el caso del aliso mucho es mucho más notable al ser una especie más propia de ribera y no de montaña (Serrada *et al*, 2008). En Castilla y León hay tres regiones climáticas (Allúe, 1996) (Buendía, 1988): (1) Clima Oceánico o Atlántico, afecta principalmente a las montañas del norte de Castilla y León y se caracteriza por sus temperaturas suaves, en las cuales el aliso no tiene problemas de crecimiento y supone un 15 % de los alisos evaluados y el 10% de las masas con estado sanitario deficiente. (2) El clima mediterráneo continental se da en el centro y sur de Castilla y León. Las temperaturas son extremas: los veranos son muy cálidos y los inviernos son muy fríos con riesgo de heladas, aquí es donde se encuentra el 80 % de los alisos estudiados y el 90 % de las masas con aspectos fitosanitarios deficientes. (3) El clima de alta montaña, donde sólo se da un 5 % de los alisos analizados, e incluso menos o casi inexistente. Según otros autores (Brasier *et al.*, 2001) la temperatura mínima de crecimiento *P. alni* es de 4° C y la del aliso se sitúa entre los 3 y 8 °C aproximadamente (Serrada *et al.*, 2008). La relación entre la temperatura mínima de desarrollo del patógeno y la del aliso son prácticamente iguales, favoreciendo en Castilla y León al patógeno y mucho más en la zona central de la Comunidad, puesto que hay más restrictivas para el aliso (altitud, humedad, hidromorfía,...) que para el desarrollo del patógeno de estudio.

En el aspecto edáfico la interacción del patógeno con algunas propiedades químicas del suelo influyen en el estado sanitario del aliso. En principio, gran parte de los suelos analizados están situados en intervalos con tendencia ácida debido al constante lavado del agua de río, con niveles normales de conductividad eléctrica y materia orgánica. Los suelos minerales con una CIC alta tienden a ser más fértiles, lo que se traduce en una presencia equilibrada de N, P y K. Un exceso de nitrógeno se puede manifestar de dos formas diferentes, en primer caso, con un aumento de crecimiento vegetativo, retrasando la maduración y reduciendo la producción de frutos y semillas, y por otro lado, puede ocasionar pérdida foliar, principalmente en la hojas más viejas, con síntomas del enrojecimiento y necrosis (Bennet, 1993). El aliso tiene la capacidad de asociarse a los actinomicetos *Frankia* (Berry *et al.*, 1985), las cuales fijan nitrógeno en las raíces del árbol, esta cualidad, conjunto con vertidos de nitratos provenientes de los cultivos agrícolas (remolacha, maíz, etc.) o ciudades (Ciudad Rodrigo) puede provocar en ocasiones un exceso de nitrógeno en el agua y suelo. En nuestros resultados el nitrógeno total del suelo extraído tiene relación con la cantidad de ramas puntisecas, a mayor cantidad de nitrógeno mayor presencia de este síntoma. Esto podría que un exceso de nitrógeno en el árbol podría afectar positivamente al hongo o por lo menos uno de sus síntomas. Hay estudios que demostraron una alta correlación entre las emisiones de óxido nitroso y el daño provocado por *P. capcisi* (Requena *et al.*, 2005). Estos autores corroboraron que altos niveles de nitrógeno en el suelo pueden generar óxido nitroso capaz de favorecer el ciclo de desarrollo del patógeno. Otro micronutriente que en conjunto con el nitrógeno podría estar incidiendo en la clorosis de los alisos y el patógeno es el magnesio, autores (Bennet *et al.*, 1993) coinciden que el magnesio es parte esencial de la clorofila y una deficiencia de magnesio podría manifestarse en lugares ácidos o ligeramente ácidos (como en ríos) y en forma de clorosis en las hojas, seguido de defoliación y desfavoreciendo el sistema radicular, siendo esta última, una parte importante del árbol donde *P. spp* es muy agresiva (Clemenz *et al.*, 2008; Scott *et al.*, 2009, C. Brasier and Jung, 2005; Haque & Diez, 2012; Blaschke, *et al.*, 1999). En este estudio se comprueba que la cantidad de magnesio existente en las parcelas donde se ha detectado *P. spp*. es menor que en las que no se ha detectado. Como se ha comprobado en mayor o menor medida la interacción de ciertos micronutrientes en el suelo tienden a favorecer en mayor o menor grado el desarrollo del patógeno, y por otro lado, el desarrollo de aliso. La textura y la tasa de materia orgánica de los suelos son dos factores importantes para nuestro estudio, los suelos con textura fina y las fracciones granulométricas más finas

(arena y limo) derivan de los minerales de más fácil descomposición que son las principales fuentes de microelementos para las plantas y la tasa de materia orgánica influye en la absorción de los microelementos, siendo estos últimos escasos en suelos pobres, y por el contrario, presentar problemas de asimilación debido a que el complejo pueden ser tan estables que impedirían el movimiento de los iones, tales como los iones de Mg y Na que se dan en nuestros resultados o incluso lavarse fácilmente por el efecto del río o provocar deficiencias por las interacciones nitrógeno-potasio (Navarro, 2000). Esto último, podría ayudar a explicar que ciertas deficiencias de absorción de magnesio por parte del aliso, causando indirectamente un decaimiento en las hojas y permitiendo al patógeno ser más eficiente en la infección. Otro de nuestros resultados reflejaba que la inundación juega un papel importante en la presencia del patógeno, concluyendo que aquellas zonas con posible riesgo de ser inundadas tenían mayor probabilidad de manifestarse los síntomas de la enfermedad. Estudios llevado a cabo en la cuenca del río Moldava (República Checa) demostraron que *P. alni* era más agresiva en zonas de inundables (Strnadová *et al.*, 2010), haciendo alusión también a la escasez de nutrientes. La situación observada de los alisos de Castilla y León con respecto los ríos y sus inundaciones están bastante reguladas. En épocas de fuertes lluvias pueden provocar ligeras crecidas que afectarían al 95 % de todos los alisos estudiados. También se destacó que la conductividad eléctrica de los ríos de Castilla y León no presenta ningún obstáculo para el desarrollo del patógeno. Esta variable está relacionada con la salinidad en el agua o suelo e indirectamente con el sodio, de manera que, si los valores son altos indicaría que las plantas tienen una mayor dificultad para absorber los nutrientes. Un estudio investigó la supervivencia de los *P. ramorum*, *P. keruoviae* y *P. alni* con zoosporas o esporangios en respuesta a la conductividad eléctrica (CE) (Kong *et al.*, 2012). Los experimentos con diferentes concentraciones de solución de Hoagland mostraron que los tres patógenos sobrevivieron a una amplia gama de niveles de CE durante al menos 3 días. Llegó afirmar que la contención de la escorrentía y la reducción de los niveles de conductividad eléctrica pueden reducir el riesgo de propagación del patógeno. Los valores registrados en la zona de estudio no presenta un problema para el desarrollo de *P. alni*, ya que, los valores medios de este estudio se sitúan sobre 240 dS m<sup>-1</sup> (Kong *et al.*, 2012; Kong *et al.*, 2009) de media en la Comunidad Autónoma de Castilla y León, muy superiores a lo investigado en el estudio mencionado. A nivel dasométrico sólo el área basimétrica ha reflejado tener relación con los brotes epicórmicos. Al parecer el aliso tiene mucha tendencia a

rebrotar de cepa llegando a crear en pocos años fustes considerables si no se realiza un selvicultura preventiva (Serrada *et al.*, 2008). En nuestros resultados unos de los síntomas patológicos puede estar influenciado por dos causas. La reacción de la aparición de los brotes epicórmicos puede darse debido a la competitividad entre cepas por crecer y nutrirse y no al patógeno, o por otro lado, a la presencia del patógeno (Webber *et al.*, 2004). En ambos casos, una confluencia de dichos efectos perjudica al desarrollo del aliso, favoreciendo su decaimiento. Cabe destacar que aquellas masas con altas densidades y con mucho competitividad a través de brotes de cepa son propensas a tener un peor estado sanitario (Serrada *et al.*, 2008). En este estudio se refleja que el patógeno es mucho más incidente en masas más inestables y de altas densidades. Se resalta un detalle observado en campo en relación al grado de agresividad que presentan las dos *Phytophthora. spp* encontradas. *P. alni* resulta ser mucho más agresiva que *P. pluvivora* en Castilla y León coincidiendo con otros autores (Jung *et al.*, 2005). A pesar de que en los resultados de laboratorio no se pudo confirmar el patógeno en algunas zonas, sí vimos en campo que los síntomas que se manifestaban podrían ser de *Phytophthora. spp*. Como ya ocurrió en otros estudios, el mero hecho de que no se pueda identificar en laboratorio no significa que no haya una presencia estable de la enfermedad (Santamaría *et al.*, 2005).

## 8. CONCLUSIONES

Acorde con los objetivos propuestos las conclusiones son las siguientes:

1. De las 45 parcelas evaluadas, 16 de ellas presentan un estado fitosanitario deficiente (35%), de las cuales, cinco positivos detectados pertenían a *P. alni* y dos positivos a *P. pluvivora*.
2. Se ha confirmado nuevo positivo de *P. alni* en Zamora, y dos de *P. pluvivora* en Langa del Duero (Soria) y en La Maya (Salamanca), con respecto otros estudios en la misma línea de investigación.
3. A nivel ambiental ciertas variables presentaban relación con la presencia del patógeno: las inundaciones favorecen la presencia del patógeno; las deficiencias del magnesio y sodio, un aumento de la conductividad eléctrica y zonas con área basimétrica alta repercuten en una mayor presencia de brotes epicórmicos; por otro lado, un pH ligeramente ácido y bajos niveles de nitrógeno se asocia con el síntoma de ramas secas en la copa del aliso; y por último, el aumento de la temperatura media mínima anual en la zona y bajos niveles de materia orgánica favorecen la presencia del conjunto de síntomas



del patógeno asociado a la parte aérea de los alisos (defoliación y ramas puntisecas). En el futuro sería interesante poder estudiar más a detalle las posibles relaciones entre estas variables.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- Adams, G.C. (2007). Baiting methodology for 2007 *Phytophthora* surveys in Alaska. Fourth Sudden Oak Death Science Symposium, June 15-18, 2009, Santa Cruz, California.
- Adams, G. C., & Catal, M. (2008). *Phytophthora alni* subsp . *uniformis* Found in Alaska Beneath Thinleaf Alders Plant Health Progress Plant Health Progress, (December), 2–4. doi:10.1094/PHP-2008-1212-02-BR.*Phytophthora*
- Bakonyi, J., Nagy, Z. a., & Ersek, T. (2006). PCR-based DNA Markers for Identifying Hybrids within *Phytophthora alni*. *Journal of Phytopathology*, 154(3), 168–177. doi:10.1111/j.1439-0434.2006.01079.x
- Balci, B. Y., Balci, S., Macdonald, W. L., & Gottschalk, K. W. (2008). Foliar susceptibility of eastern oak species to *Phytophthora* infection, 38, 320–331. doi:10.1111/j.1439-0329.2008.00548.x
- Balci, B. Y., Balci, S., MacDonald, W. L., Gottschalk, K. W., & Balci, Y. (2008). Relative susceptibility of oaks to seven species of *Phytophthora* isolated from oak forest soils. *Forest Pathology*, 38(6), 394–409. doi:10.1111/j.1439-0329.2008.00559.x
- Balci, Y., & Cech, T. L. (2002). Alder decline in Austria caused by a hybrid *Phytophthora*.
- Belbahri, L., Moralejo, E., Calmin, G., Oszako, T., García, J. a, Descals, E., & Lefort, F. (2006). *Phytophthora polonica*, a new species isolated from declining *Alnus glutinosa* stands in Poland. *FEMS microbiology letters*, 261(2), 165–74. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16907716>
- Bergot, M., Cloppet, E., Perarnaud, V., Deque, M., Marcais, B., & Desprez-Loustau, M.-L. (2004). Simulation of potential range expansion of oak disease caused by *Phytophthora cinnamomi* under climate change. *Global Change Biology*, 10(9), 1539–1552. doi:10.1111/j.1365-2486.2004.00824.x
- Berry, A. M., & Torrey, J. G. (1985). Seed germination , seedling inoculation and establishment of *Alnus* spp . in containers in greenhouse trials In forest tree seedling production , establishing favorable rhizo-, 3, 161–173.
- Bezoz, D., Lomba, J. M., Fernandez, M., & Diez, J. J. (2012). Effects of pruning in Monterrey pine plantations affected by *Fusarium circinatum*, 21(3), 481–488.

- Brasier, C M, & Kirk, S. A. (2001). Comparative aggressiveness of standard and variant hybrid alder *Phytophthoras* , *Phytophthora cambivora* and other *Phytophthora* species on bark of *Alnus* , *Quercus* and other woody hosts, (April 1995).
- Brasier, C., & Jung, T. (2005). Recent developments in *Phytophthora* diseases of trees and natural ecosystems in Europe, 5–16.
- Brasier, Clive M., Kirk, S. a., Delcan, J., Cooke, D. E. L. L., Jung, T., Man In't Veld, W. a., ... Veld, I. N. T. (2004). *Phytophthora alni* sp. nov. and its variants: designation of emerging heteroploid hybrid pathogens spreading on *Alnus* trees. *Mycological Research*, 108(10), 1172–1184. doi:10.1017/S0953756204001005
- Černý, K., & Strnadová, V. (2012). in aerial tissues of black alder, 2012(7), 328–336.
- Černý, N. Filipová, and V. S. (2012). Influence of low temperature and frost duration on *Phytophthora alni* subsp . *alni* viability, 21(2), 337–342.
- Clemenz, C., Fleischmann, F., Häberle, K.-H., Matyssek, R., & Osswald, W. (2008). Photosynthetic and leaf water potential responses of *Alnus glutinosa* saplings to stem-base inoculation with *Phytophthora alni* subsp. *alni*. *Tree physiology*, 28(11), 1703–11. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18765375>
- Denman, S., Kirk, S. a., Brasier, C. M., & Webber, J. F. (2005). In vitro leaf inoculation studies as an indication of tree foliage susceptibility to *Phytophthora ramorum* in the UK. *Plant Pathology*, 54(4), 512–521. doi:10.1111/j.1365-3059.2005.01243.x
- Díaz-Romeu R., Hunter A. (1982). Metodología de Muestreo de Suelos, Analisis Quimico de Suelos Y Tejido.PDF. CATIE Turrialba, Costa Rica: Centro Agronómico Tropical de investigación y Enseñanza.
- Érsek, T., & Nagy, Z. Á. (2008). Species hybrids in the genus *Phytophthora* with emphasis on the alder pathogen *Phytophthora alni*: a review. *European Journal of Plant Pathology*, 122(1), 31–39. doi:10.1007/s10658-008-9296-z
- Famine, P. (2007). *Phytophthora* spp . and Bonsai *Phytophthora* spp . and Bonsai, (February), 1–7.
- Grünwald N.J., G. E. M. and P. C. M. (2008). *Phytophthora ramorum* : a pathogen with a remarkably wide host range causing sudden oak death on oaks and *ramorum* blight on woody ornamentals, 9, 729–740. doi:10.1111/J.1364-3703.2008.00500.X
- Haque, M. M., & Diez, J. J. (2012). Susceptibility of common alder ( *Alnus glutinosa* ) seeds and seedlings to *Phytophthora alni* and other *Phytophthora* species, 21(2), 313–322.
- Haque, M.M., Hidalgo, E., de Lucas, A.I., and Diez, J. . (2012). Morphological, physiological and molecular characterization of *Phytophthora alni* isolates associated with alder mortality in Castilla y León, Spain.
- Ioos, R., Husson, C., Andrieux, A., & Frey, P. (2005). SCAR–based PCR primers to detect the hybrid pathogen *Phytophthora alni* and its subspecies causing alder

disease in Europe. *European Journal of Plant Pathology*, 112(4), 323–335.  
doi:10.1007/s10658-005-6233-2

Jeffers, S. N. (2006). Identifying Species of *Phytophthora*, (August).

Jung, T., & Burgess, T. I. (2009). Re-evaluation of *Phytophthora citricola* isolates from multiple woody hosts in Europe and North America reveals a new species , *Phytophthora plurivora* sp . nov ., 95–110. doi:10.3767/003158509X442612

Jung, T., & Blaschke, M. (2004). *Phytophthora* root and collar rot of alders in Bavaria : distribution , modes of spread and possible management strategies, 197–208.  
doi:10.1046/j.1365-3059.2003.00957.x

Jung, T., Cooke, D. E. L., Blaschke, H., Duncan, J. M., & Oßwald, W. (1999). *Phytophthora quercina* sp. nov., causing root rot of European oaks. *Mycological Research*, 103(7), 785–798. doi:10.1017/S0953756298007734

Jung, Thomas, Hansen, E. M., Winton, L., Oßwald, W., & Delatour, C. (2002). Three new species of *Phytophthora* from European oak forests, 106(April), 397–411.

Jung, Thomas, Hudler, G. W., Griffiths, H. M., Fleischmann, F., & Osswald, W. (2005). Involvement of *Phytophthora* species in the decline of European beech in Europe and the USA, 19(November), 159–166. doi:10.1017/S0269915X05004052

Kirk, S. A. (2010). Scientific Name. *Phytophthora alni* subsp. *alni* Brasier & S.A. Kirk *Phytophthora alni* subsp. *multiformis* Brasier & S.A. Kirk *Phytophthora alni* subsp. *uniformis* Brasier & S.A. Kirk

Kong, P., Lea-Cox, J. D., & Hong, C. X. (2012). Effect of electrical conductivity on survival of *Phytophthora alni*, *P. kernoviae* and *P. ramorum* in a simulated aquatic environment. *Plant Pathology*, no–no. doi:10.1111/j.1365-3059.2012.02614.x

Mansilla Vázquez P., Pintos Varela C., Rial Martínez C., Abelleira Argibay A., Agúin Casal O., Pérez Otero R., G. P. B. (2010). Deputación de Pontevedra . Estación Fitopatológica do Areeiro. Grupo de trabajo fitosanitario de laboratorios. Miniestiro de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.

Navarro G, (2000). Química Agrícola. Ed Mundi-Prensa. Madrid.

Pintos Varela C, Rial Martínez C, Agúin Casal O., MansillaVázquez J.P., Ares Yebra A., (2012) First Report of *Phytophthora alni* subsp. *uniformis* on Black Alder in Spain. *Plant disease*. 96 (4)

Pintos Varela, C., Mansilla Vázquez, J. P. & Agúin Casal, O. (2003). First report of *Phytophthora ramorum* on *Camellia japonica* in Spain. *Plant Disease* 87: 1396

Santamaria, O.; Diez, J. J., (2005): Fungi in leaves, twigs and stem bark of *Populus tremula* from northern Spain. *Forest Pathol.* 35,1–11

Scott, P. M., Burgess, T. I., Barber, P. a, Shearer, B. L., Stukely, M. J. C., Hardy, G. E. S. J., & Jung, T. (2009). *Phytophthora multivora* sp. nov., a new species

recovered from declining *Eucalyptus*, *Banksia*, *Agonis* and other plant species in Western Australia. *Persoonia*, 22, 1–13. doi:10.3767/003158509X415450

Solla, A., Pérez-Sierra, A., Corcobado, T., Haque, M. M., Diez, J. J., & Jung, T. (2010). *Phytophthora alni* on *Alnus glutinosa* reported for the first time in Spain. *Plant Pathology*, 59(4), 798–798. doi:10.1111/j.1365-3059.2009.02254.x

Strnadová, V., Černý, K., Holub, V., & Gregorová, B. (2010). The effects of flooding and *Phytophthora alni* infection on black alder, 2010(1), 41–46.

Trummer, L., Usfs, R., Worrall, J., Adams, G., & U, M. I. S. (2007). a first finding in North America, 2001–2006.

Wickland, a. C., Jensen, C. E., & Rizzo, D. M. (2008). Geographic distribution, disease symptoms and pathogenicity of *Phytophthora nemorosa* and *Phytophthora pseudosyringae* in California, USA. *Forest Pathology*, 38(4), 288–298. doi:10.1111/j.1439-0329.2008.00552.x

Páginas web visitadas:

[www.aemet.es](http://www.aemet.es)

[www.ipcc.ch](http://www.ipcc.ch)

<http://www.pestalert.org/>

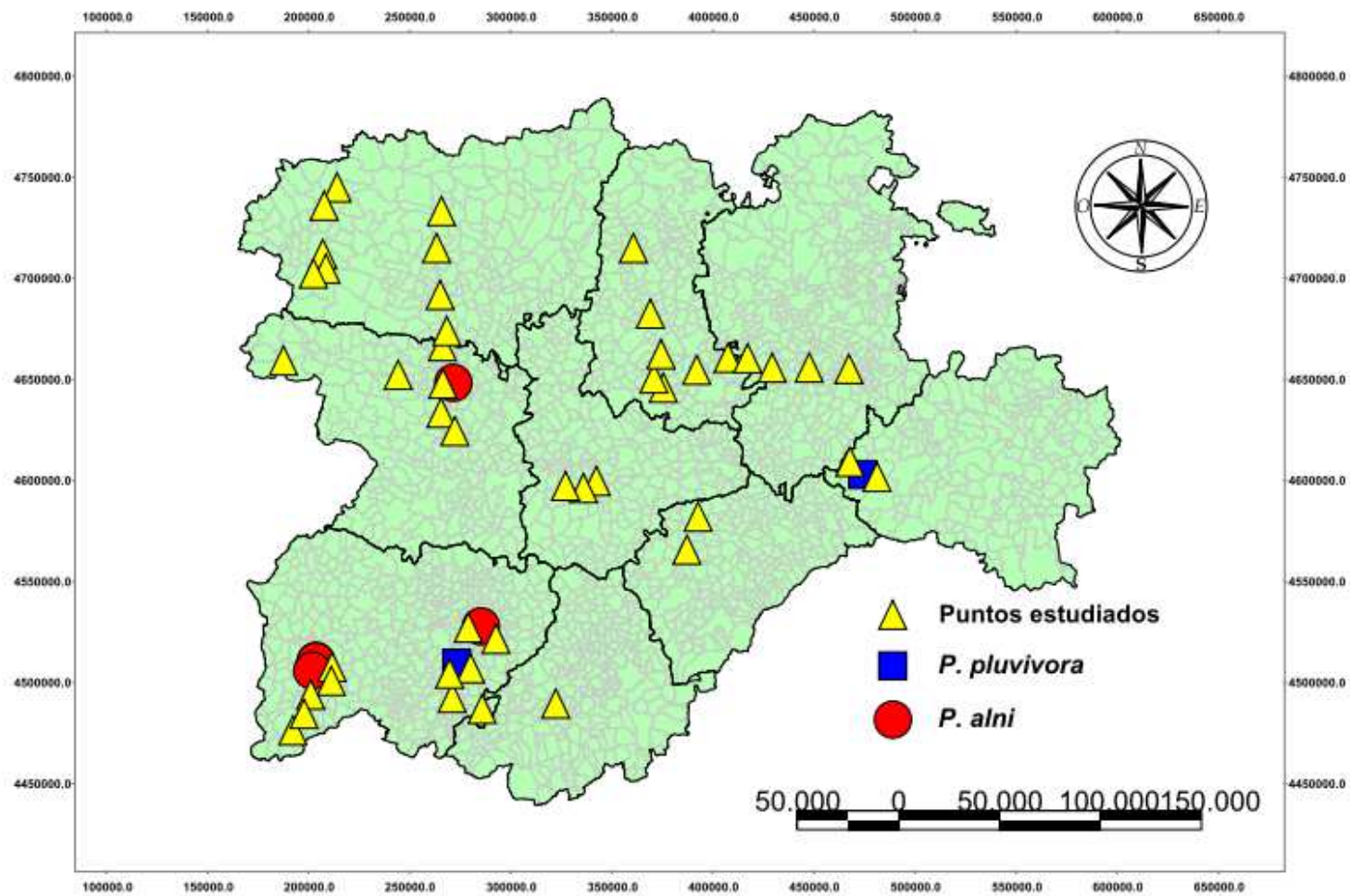
<http://www.laopiniondezamora.es/comarcas/2013/02/18/detectan-chancro-alisos-enfermedad-extermio-olmos-afecta-castanos/660516.html>

## 10. ANEJO I. Localización y positivos de *P. spp.*

**Tabla 5.** Localización del punto de estudio, fecha, río, provincia, estado fitosanitario y positivos de *P. spp.*.

Fecha	Término municipal	X utm	Y utm	Río	Provincia	Estado fitosanitario de la masa	Positivos
19/08/2012	Fresno de Alhándiga	281068	4510261	Tormes	Salamanca	Deficiente	+ <i>P. alni</i>
08/09/2012	Alba de Tormes	286433	4520677	Tormes	Salamanca	Deficiente	
08/09/2012	Puente Congosto	286518	4485133	Tormes	Salamanca	Normal	
30/09/2012	La Maya.zona regadio	280848	4508204	Tormes	Salamanca	Deficiente	+ <i>P. pluvivora</i> <sup>1</sup>
30/09/2012	La Maya.El chorrón	280353	4506778	Tormes	Salamanca	Deficiente	
29/09/2012	Inicio del águeda	692723	4466936	Águeda	Salamanca	Sana	
30/09/2012	El Tenebrón	695322	4469407	Águeda	Salamanca	Sana	
29/09/2012	La Chopera	696299	4469717	Águeda	Salamanca	Deficiente	+ <i>P. alni</i>
29/09/2012	Alquería-Ivanrey	706464	4497757	Águeda	Salamanca	Deficiente	
29/09/2012	Ciudad Rodrigo	707836	4497092	Águeda	Salamanca	Deficiente	+ <i>P. alni</i>
11/09/2012	Palenzuela	404970	4660961	Arlanza	Burgos	Sana	
12/09/2012	Puente hierro	414682	4659157	Arlanza	Burgos	Sana	
12/09/2012	Tórdomar-Escudero	418950	4659421	Arlanza	Burgos	Normal	
11/09/2012	Quintana de la fuente	400202	4660257	Arlanza	Palencia	Sana	
11/09/2012	Peral de Arlanza	411316	4659292	Arlanza	Burgos	Sana	
18/09/2012	Palencia	373293	4651288	Carrión	Palencia	Normal	
18/09/2012	Husillos	374423	4661006	Carrión	Palencia	Sana	
14/09/2012	Saldaña	357395	4708727	Carrión	Palencia	Sana	
12/09/2012	Carrión	367691	4688865	Carrión	Palencia	Sana	
20/09/2012	Villamuriel del Cerrato	374258	4647135	Carrión	Palencia	Sana	
14/20/2012	Villoldo	368069	4678865	Carrión	Palencia	Sana	
30/10/2012	Langa del Duero-1	467005	4605882	Duero	Soria	Deficiente	+ <i>P. pluvivora</i> <sup>1</sup>
30/10/2012	Langa del Duero-2	465059	4606574	Duero	Soria	Deficiente	
09/11/2012	Tordesillas-La peña	334759	4594888	Duero	Valladolid	Deficiente	
09/11/2012	San Miguel del Pino	341673	4596787	Duero	Valladolid	Deficiente	
09/11/2012	Villamarciel	344303	4599726	Duero	Valladolid	Normal	
16/10/2012	Requejo de la Vega	263342	4688675	Órbigo	León	Sana	
16/10/2012	Turcia-P3	265400	4713563	Órbigo	León	Sana	
16/10/2012	Santa Marina del Rey	263860	4710390	Órbigo	León	Sana	
15/10/2012	Cerca de Coomonte	268105	4668253	Órbigo	Zamora	Sana	
15/10/2012	Navaianos-P2	267321	4674312	Órbigo	León	Sana	
09/10/2012	Ponferrada-Toreno	704249	4728989	Sil	León	Sana	
09/10/2012	Dir.Congosto-Ponferrada	703881	4719217	Sil	León	Normal	
08/10/2012	Ponferrada-1	696517	4712870	Sil	León	Deficiente	
08/10/2012	Embalse-Ponferrada	679825	4699909	Sil	León	Normal	
08/10/2012	Ponferrada-2	694317	4712417	Sil	León	Deficiente	
15/10/2012	Olmillo de Valverde	272265	4643807	Tera	Zamora	Deficiente	+ <i>P. alni</i>
26/09/2012	Urb. El Tamaral	264356	4653789	Tera	Zamora	Normal	+ <i>P. alni</i>
26/09/2012	Mozar	269945	4648478	Tera	Zamora	Deficiente	
26/09/2012	Pumarejo de Tera	746062	4652328	Tera	Zamora	Deficiente	
26/09/2012	Calzadilla de Tera	738963	4653570	Tera	Zamora	Normal	
24/09/2012	Torquemada	391016	4654364	Pisuerga	Palencia	Normal	
26/10/2012	Cuéllar-captación aguas	393122	4579939	Cega	Segovia	Sana	
26/10/2012	Cuéllar-Puente segoviano	391605	4580093	Cega	Segovia	Sana	
22/10/2012	Villatoro	320554	4491510	Adaja	Ávila	Sana	

<sup>1</sup> Tras el cultivo de muestras en el laboratorio se obtuvieron cinco positivos de *P. alni*, dos de *P. pluvivora*. Actualmente se ha elaborado un First Report que ha sido aceptado en la revista "Plant Diseases".

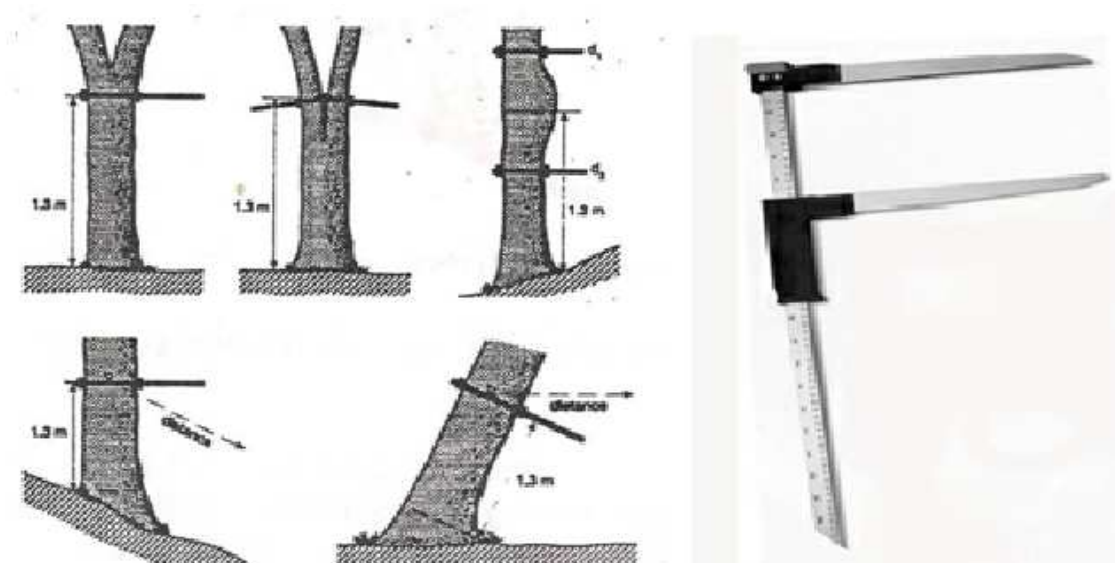


**Figura 4.** Mapa de localización de las parcelas analizadas y puntos donde se ha detectado positivos de *P. spp.* Fuente: Elaboración propia, a través de programa GvSIG 1.12.0

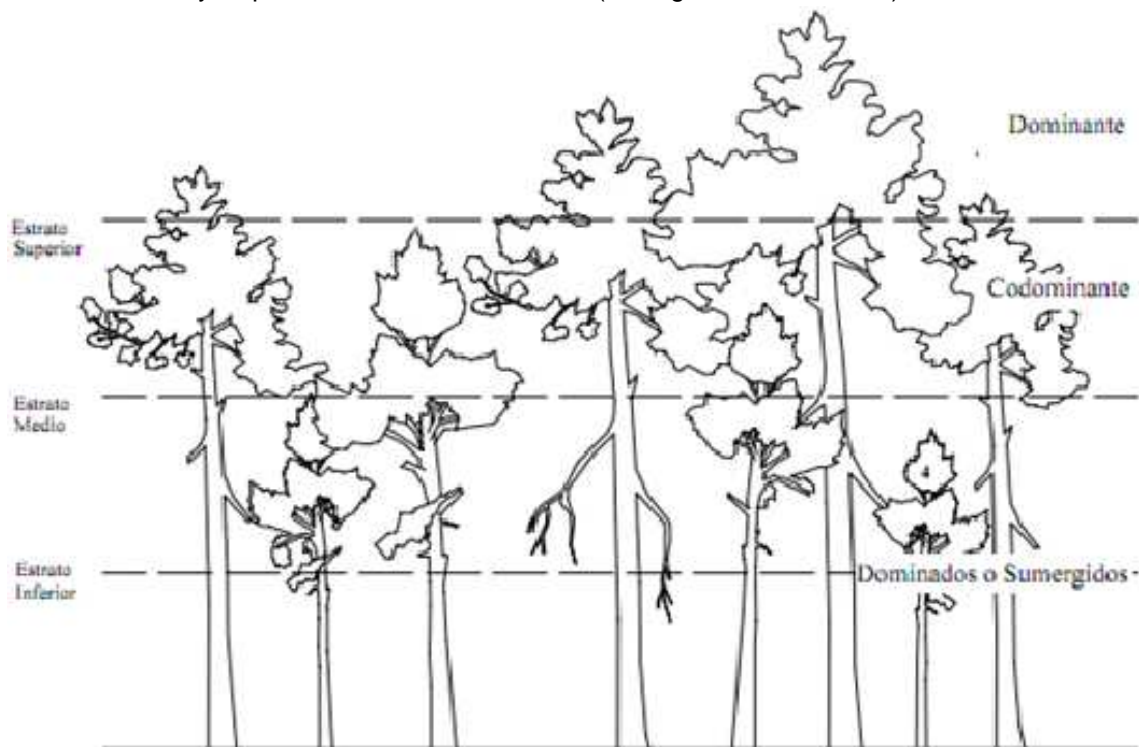
## 11. ANEJO II. Variables medidas

### 11.1. VARIABLES DENDROMÉTRICAS-DASOMÉTRICAS

Todas las variables fueron medidas en campo, excepto el coeficiente de esbeltez (CE), el índice de copa viva (ICV), que se calcularon posteriormente en la Universidad. Los equipos empleados fueron los siguientes: cinta métrica: para la medición del perímetro normal ( $d_x$ ) a una altura normal de 1,30 m con corteza; forcípula tradicional de brazo móvil, la cuál te permite medir el diámetro normal. Los criterios tomados para la determinación de la sección normal fueron los siguientes: Los árboles soldados en la base formando horquilla se miden separadamente cuando se dividen a una altura inferior a 1,30 m; si a la altura normal el tronco presenta una deformación susceptible de falsear la medida del diámetro, se puede tomar como medida la media aritmética de dos diámetros medidos a igual distancia de una parte y otra de la sección normal tan cerca como sea posible y evitando la deformación; En terreno inclinado, la altura normal (1,30 m) se mide por el lado de la ladera aguas arriba (Fig. 4). El diámetro normal mínimo seleccionado medido era mayor o igual a 7,5 cm; el aparato Vertex: para la medición de la altura de los pinos; el coeficiente de esbeltez o factor de estabilidad es el resultado de dividir la altura en metros de los pies entre el diámetro de los mismos pies en metros, cuya ecuación matemática:  $CE=H/D$ , siendo:  $H$  altura en metros y  $D$  diámetro en metros. Posteriormente se calculaba el coeficiente de esbeltez medio de la parcela, estableciéndose como patrón que las parcelas con coeficiente de esbeltez medio menores de 80, se situaban en parcelas estables (poco peligro por vientos, derribos por nieves, etc...), pero si eran mayores de 100 la masa era frágil (un peligro alto por derribos de viento, nieve,...). Y con coeficiente de esbeltez situados entre 80 y 100 eran parcelas normales; el índice de copa viva es el resultado de dividir la altura de la copa en metros entre la altura total en metros. Este índice se utiliza para evaluar la espesura de la masa, ya que, un mayor o menor desarrollo de la copa está relacionado con la espesura, a mayor espesura menor copa. Matemáticamente:  $ICV=H(\text{copa})/H(\text{total})$ ; para la medición de la dominancia se establecieron tres valores de codificación (Fig. 5): árboles dominantes, en los que las copas sobresalen algo sobre el nivel general del conjunto de la masa; codominantes, árboles mezclados en el conjunto que reciben algo de la luz desde arriba pero más bajos que los de la clase anterior y dominados o suprimidos (Fig. 6), no reciben la luz desde arriba; el área basimétrica fue medida con un relascopio de Bitterlich. El resto de variables eran calculadas en el departamento.



**Figura 5.** Metodología seguida para la medición del diámetro normal e instrumental utilizado. Fuente: Selvicultura y Repoblaciones. Rafael Serrada (Dr. Ingeniero de Montes).



**Figura 6.** Estrato arbóreo considerado para la dominancia. Fuente: *Manual de Red de Daños de la Comunidad Europea de Nivel II*.

## 11.2. VARIABLES PATOLÓGICOS O PATOLÓGICAS

Observando que otros autores consiguieron aislar con éxito el patógeno, se decidió aplicar el mismo protocolo de actuación, para ello se siguió aquellos establecidos por



el Laboratorio de Patología y Entomología Forestal de la Universidad de Valladolid. Los protocolos aplicados fueron los siguientes: Isolation techniques of *Phytophthora alni* from bark samples (Laboratorio de Entomología y Patología Forestal, Universidad de Valladolid); Preparation of selective agar media used for *P.* isolation. Una vez tenido en cuenta los protocolos, en campo, el trabajo se desarrollaba en dos partes claramente diferenciadas: toma de datos y muestras en campo e identificación de los síntomas y procesado en laboratorio. Los principales síntomas en campo son: la presencia de ramas puntisecas, se contabilizaban si el árbol objeto de estudio contenía puntisecado o no (Fig. 7). Posteriormente se calculaba el número medio de árboles con ramas puntisecadas por parcela; la presencia de defoliación en la parcela: la metodología llevada a cabo para la medición de la presencia de defoliación y el grado de defoliación, fue la propuesta por la *Guía para la Evaluación de las Copas para especies forestales mediterráneas*. En la evaluación de la defoliación de los alisos se estimó la reducción de densidad de la copa que se traduce en un incremento de la transparencia de la misma (Fig. 8). El procedimiento marcado consistía en observar la copa de diferentes puntos adecuado de observación, intentando de esta forma ser lo más objetivos posible. Aunque no resultó fácil debido a los solapamientos entre alisos. Los distintos grados que se dieron para la evaluación de la defoliación de las copas fueron las siguientes: 1=1-20%, 2=21-40%, 3=41-60%, 4=61-80%, 5=81-100%. Por último, se procedía a calcular el número medio de árboles con defoliación por parcela; la presencia de fisuras oxidadas estaba relacionado con posibles brotes de necrosis en el tronco del aliso debido a la *P.* en el pasado (Balci *et al.*, 2008), con lo cual, podría ser un buen indicador de la presencia del patógeno en el lugar (Fig. 9). Y por último, otro síntoma son los brotes epicórmicos o también llamadas ramillos adventicios en inglés “Adventitious roots (RA)” (Fig. 10). Según algunos autores, estos brotes salen como respuesta del aliso a la enfermedad (Throirain *et al.*, 2007).



**Figura 7.** Presencia de ramas puntisecas en la cuenca del río Tera (Zamora). Fuente: elaboración propia.



**Figura 8.** Las distintas clases que se han valorado de defoliación en el aliso. Fuente: elaboración propia.



**Figura 9.** Ejemplo de fisuras oxidadas. Fuente: elaboración propia.



**Figura 10.** Ejemplo de brotes epicórmicos encontrados en la provincia de Salamanca, concretamente en Fresno de Alhándiga. A la derecha, se observa estos síntomas más claramente. Fuente: Elaboración propia, excepto la fotografía derecha tomada del autor (Kirk, 2010).

La segunda parte se desarrollaba prácticamente en el laboratorio donde se trataban las muestras escogidas con presencia de necrosis. El último síntoma se extraía de la corteza y de la madera interna infectada y con presencia de un color negro u/y oxidado conocidos también como “zonas alquitranadas” o necrosis (Fig. 9 y 10) (ver anejo V, Fig. 28). Fueron tomadas de los 20 cm superiores de las lesiones activas de naranjamarroón-negro (Trummer *et al.*, 2007; Wickland *et al.*, 2008; Jung *et al.*, 2004). Posteriormente esas muestras eran colocadas en agua destilada y se transportan al laboratorio en frascos frescos. Para estar seguro en campo de haber escogido la muestra adecuada, se observaba un veteado de ondas curvilíneas parecidas a las del agua (Fig. 11). Por otro lado, había veces que observábamos síntomas similares y que podían dar cierta confusión, debido a heridas provocadas por insectos (Fig. 12), pero si no mostraba el síntoma “veteado de agua”, era automáticamente descartada. Antes de llegar al laboratorio, a los frascos llenos de agua destilada y la muestra infectada, se les renovaba el agua para evitar un exceso de polifenoles. El material utilizado fue el siguiente: cincel y martillo; nevera portátil; alcohol 96 % de pureza; tablas con líquido refrigerante; frascos de vidrio estériles llenos de agua destilada; botella de agua de plástico de 1,5 l. Posteriormente en el laboratorio, durante 2-3 días el agua se reemplazaba cuatro veces por día, con el fin de eliminar el exceso de polifenoles (Jung *et al.*, 2009), cuya presencia era nociva con *P. alni*. Al mismo tiempo

se preparaba el medio de cultivo PARPNH-V8A, combinado con un zumo comercial llamado V8 (Fig. 13). Más tarde se escogían las muestras para ser procesadas que debían estar 20 minutos aproximadamente secándose dentro de la campana de extracción y con papel absorbente, para evitar el exceso de agua. Luego se dividían las muestras (Fig. 14) en piezas pequeñas (4 · 4 · 2 mm aproximadamente) y se colocaban en agar V8-PARPH (Jeffers, 2006; Solla *et al.*, 2010). El material utilizado fue el siguiente: cajas de Petri con medio de agar PARPNH; cuchillos; pinzas; guantes; agua destilada; papel de seda / la toalla de papel; rotulador edding y parafilm (Fig. 14).



**Figura 11.** Protocolo de identificación y extracción de madera necrosada. Fuente: elaboración propia.



**Figura 12.** Ejemplo de falsa necrosis. Fuente: elaboración propia.



**Figura 13.** Zumo que se utiliza para preparar el medio de cultivo. Fuente: Masum H. y Bezos D.



**Figura 14.** Protocolo de actuación en el laboratorio. Las muestras eran procesadas en el laboratorio y cultivadas en una placa petri. Fuente: elaboración propia.

### 11.3. VARIABLES EDÁFICAS

Las muestras de suelos son muy importantes, ya que, deben ser representativas de la zona donde se pretende obtener información. En áreas cercanas a los ríos el suelo es muy heterogéneo debido en parte a fenómenos naturales (inundaciones, deposición de sedimentos, incorporación de residuos vegetales y animales, etc.), y además de los residuos que pueden ser incorporados de origen antrópico (áreas cercanas a campos de cultivos, fertilizantes, herbicidas, etc.). Otro aspecto a tener en cuenta es la raíz del aliso, puesto que, no presenta una raíz pivotante diferenciada, sino múltiples oblicuas y horizontales de las que salen otras verticales que actúan como anclaje. Enraíza profundamente y es capaz de explotar las reservas hídricas a profundidades inalcanzables para otros árboles que no soportan la asfixia radicular (Funk, 2000). Por

ello, hay que tener un exclusivo cuidado a la hora de escoger muestras que sean correctamente representativas. En el momento de extraer las muestras de suelo se ha seguido un procedimiento similar al propuesto por el CATIE (Díez-Romeu *et. al.*, 1982), adaptándolo y optimizándolo en la medida de lo posible. El procedimiento seguido fue el siguiente:

1. Muestreo para análisis de rutina: En una misma área de estudio, se seleccionaron tres puntos a dos profundidades cada punto, es decir, se tomó un total de 6 muestras. Cada muestra de cada área de estudio debía de pesar al menos un 1 kg. que en volumen suponía un llenar más de la mitad de la bolsa con capacidad para 3 litros.
2. Obtención a distintas profundidades: Se escogieron dos profundidades, superficial (0-30 cm) y profunda (30-80 cm). La primera profundidad fue propuesta por la existencia de un gran número de sedimentos y residuos, mientras que la segunda profundidad fue seleccionada por la razón de que la gran mayoría de las raíces del aliso se encuentran en este intervalo. De esta forma podíamos conocer que nutrientes son aportados en la superficie, y cuales ya están depositados en las capas más profundas accesibles a las raíces de los alisos.
3. Mezcla de las dos muestras obtenidas en un mismo punto a distinta profundidad.
4. Mezcla de las tres muestras de los tres puntos obtenidos.
5. Preparación del suelo antes de ser enviado al laboratorio ITAGRA: las muestras de suelo debían secarse al aire antes de cerrarse la bolsa para su envío. Por ello, las muestras de suelo se dejaban abiertas en una zona seca. La razón por la que se hacía esto era para evitar cambios químicos cuando el suelo está húmedo y cerrado en una bolsa durante muchas horas.

El material utilizado fue el siguiente: barrena manual y bolsa de plástico con capacidad de 3 l.

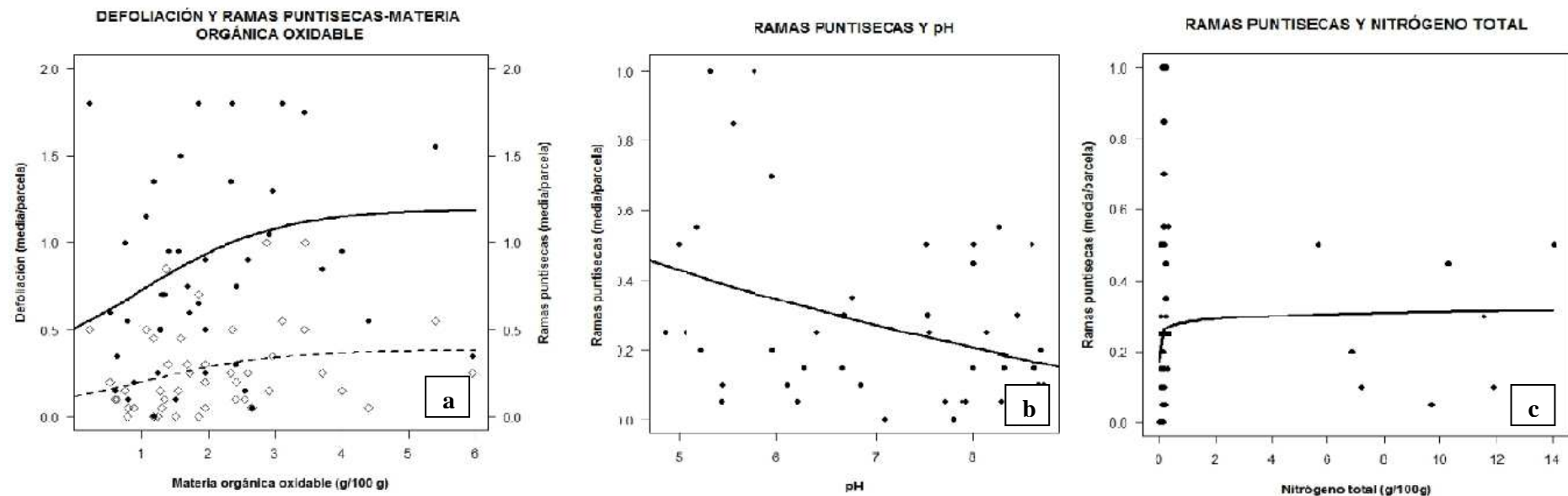
### **11.1. VARIABLES CLIMÁTICAS**

Los datos climáticos se elaboraron a través de un Atlas Climático Digital (<http://www.opengis.uab.es/wms/iberia/mms/index.htm>) y Miramon. Este atlas nos facilitaba la posibilidad de obtener valores aproximados a través de la interpolación con estaciones meteorológicas.

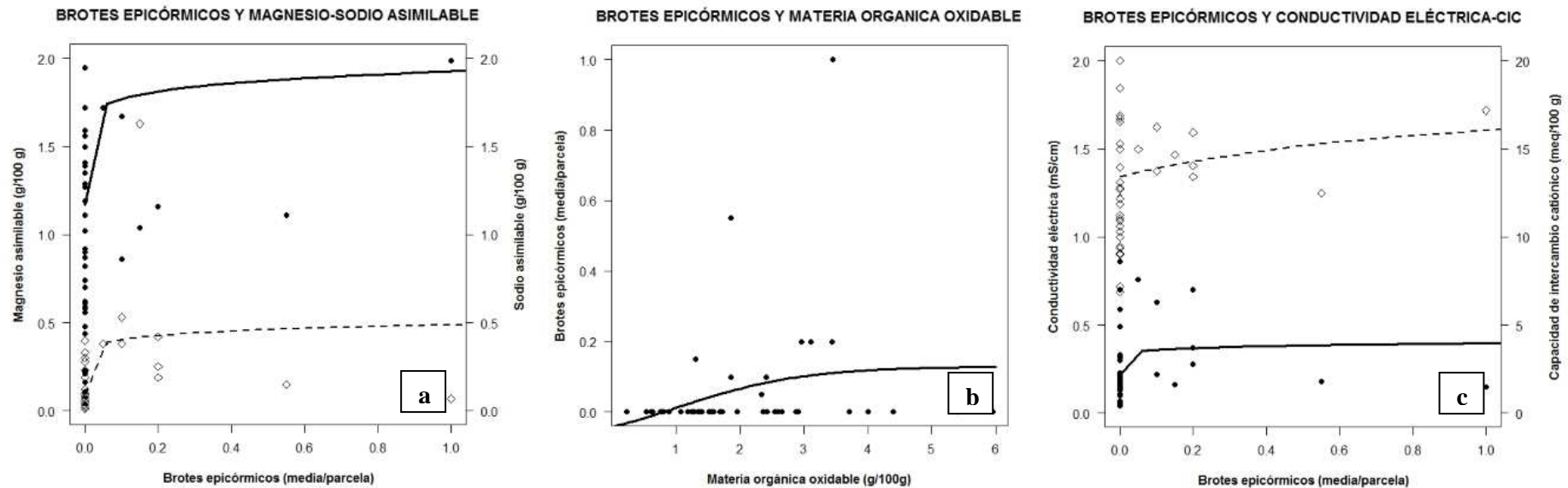
## 12. ANEJO III. Figuras asociadas a los resultados.

### 12.1. FIGURAS DE MODELOS LINEALES Y NO LINEALES

#### 1.12.1. V. patológicos-Factor edáfico.



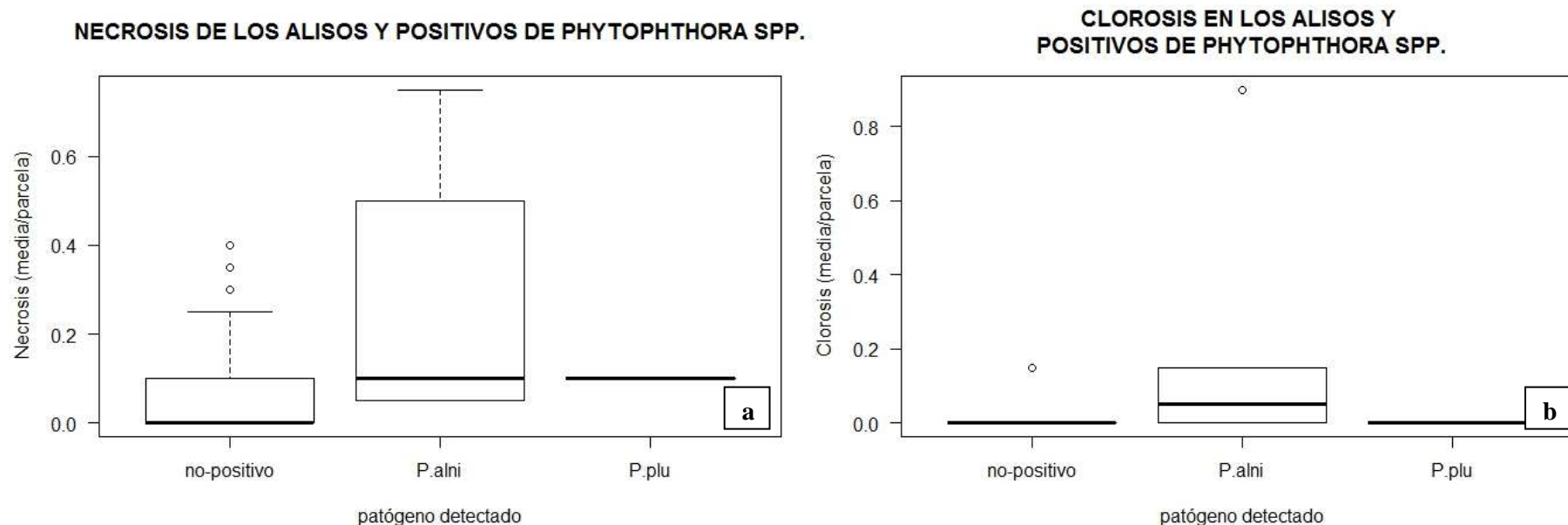
**Figura 15.** Relación entre los síntomas de la copa del aliso con la materia orgánica oxidable. (Modelo potencial no lineal, defoliación: línea continua, ramas puntiseecas: discontinua). **b.** Relación entre las ramas puntiseecas del aliso con el la acidez/basicidad del suelo (pH) (Modelo potencial no lineal). **c.** Relación entre las ramas puntiseecas y el nitrógeno total del suelo. (Modelo Michaelis-Menten no lineal).



**Figura 16. a.** Relación entre las cantidades de magnesio y sodio en el suelo con los brotes epicórmicos (Modelo potencial no lineal, magnesio: línea continua, sodio: discontinua). **b.** Relación entre la variable brotes epicórmicos y la materia orgánica oxidable del suelo. (Modelo logarítmico) **c.** Relación entre la conductividad eléctrica y la capacidad de intercambio catiónico con los brotes epicórmicos. (Modelo potencial no lineal, conductividad eléctrica: línea continua, capacidad de intercambio catiónico: discontinua).



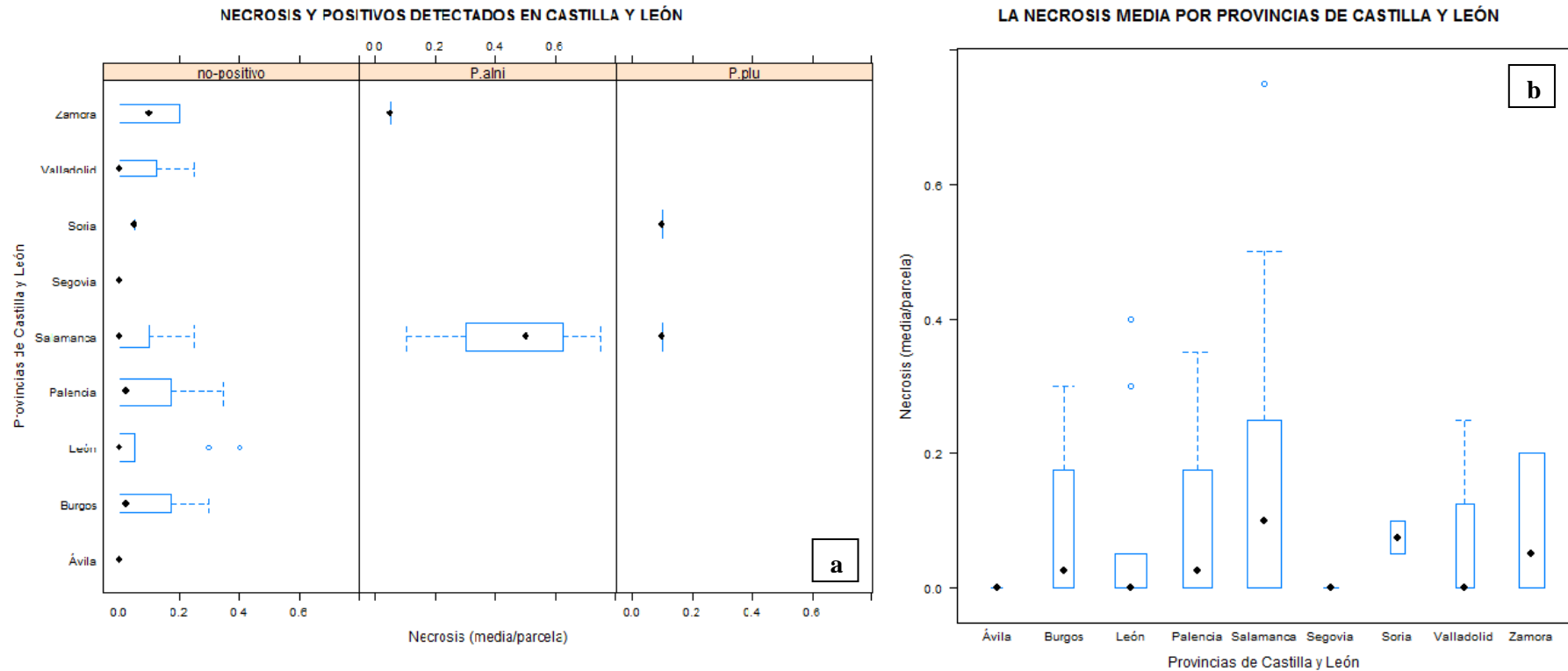
## 12.2. Relación entre los positivos detectados en Castilla y León con los factores patológicos



**Figura 17. a.** Media de necrosis por parcela para cada positivo confirmado del patógeno. **b.** Media de clorosis por parcela para cada positivo confirmado del patógeno.

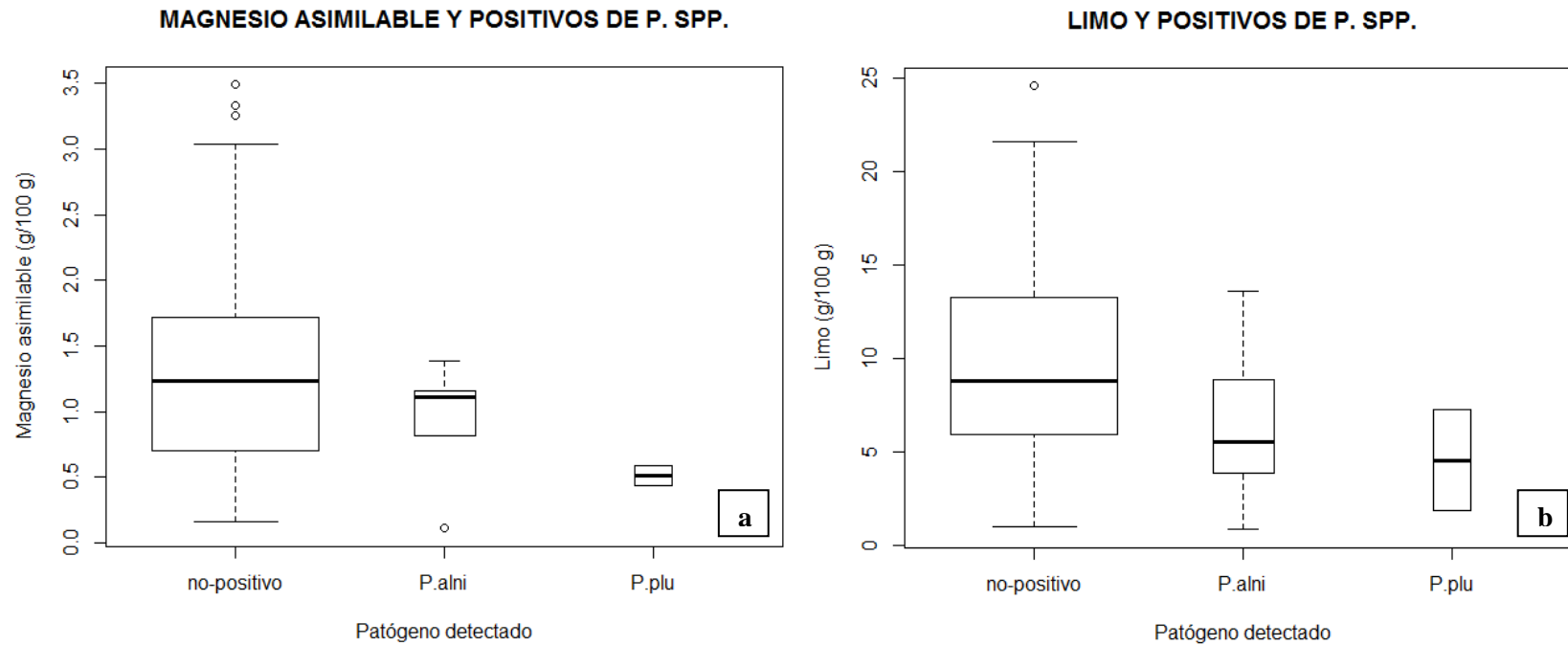
Ambos gráficos han salido significativos en el test de Kruskal-Wallis.

### 12.3. Relación entre los positivos detectados en Castilla y León con sus provincias



**Figura 18. a.** Media de necrosis por parcela asociado a los positivos confirmados. **b.** Media de necrosis por parcela para cada provincia de Castilla y León.

### 12.1. Relación entre los positivos detectados en Castilla y León los factores edáficos

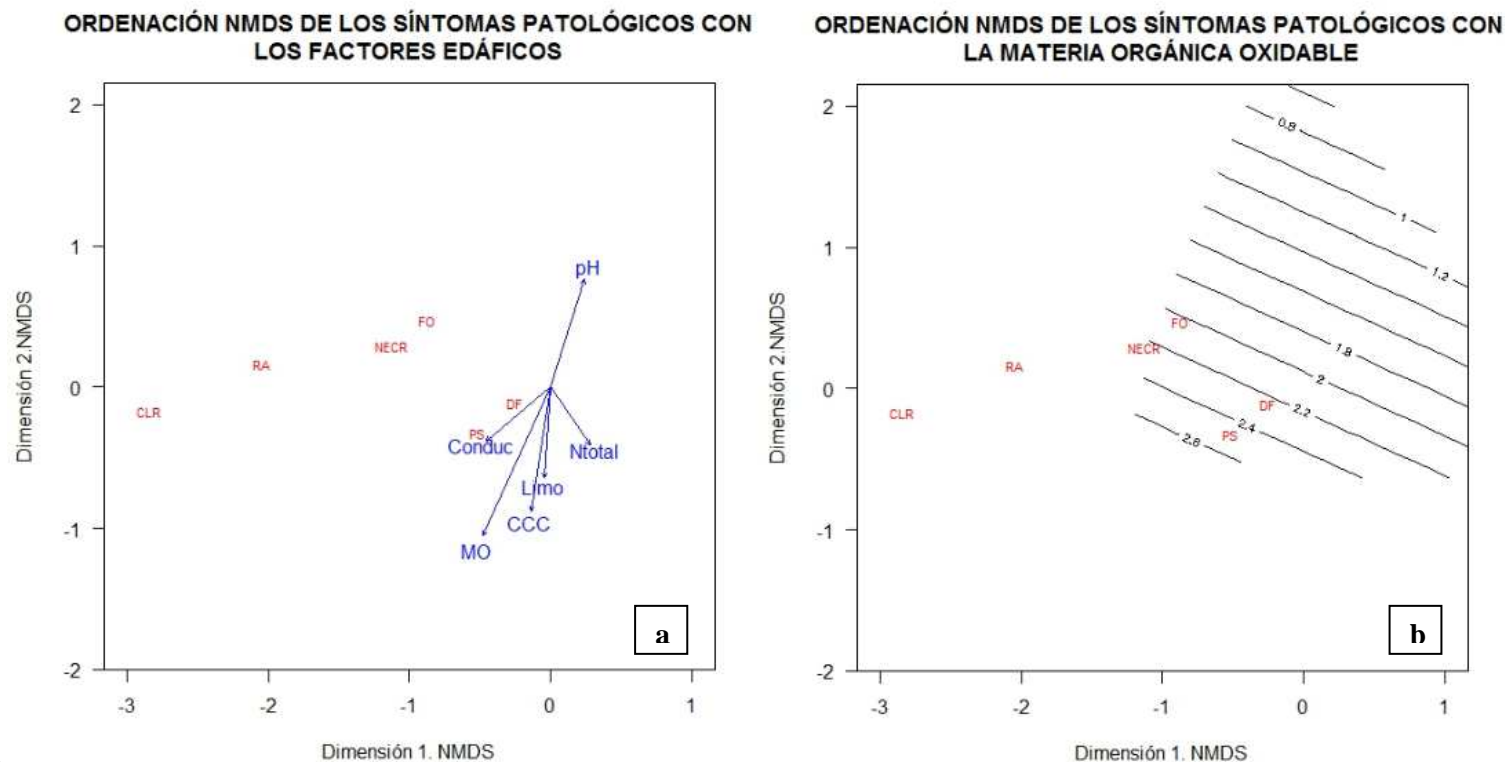


**Figura 19. a.** Media de magnesio asimilable por parcela asociado a los positivos confirmados. **b.** Media de limo por parcela asociado a los positivos confirmados.

## 12.2. NMDS.

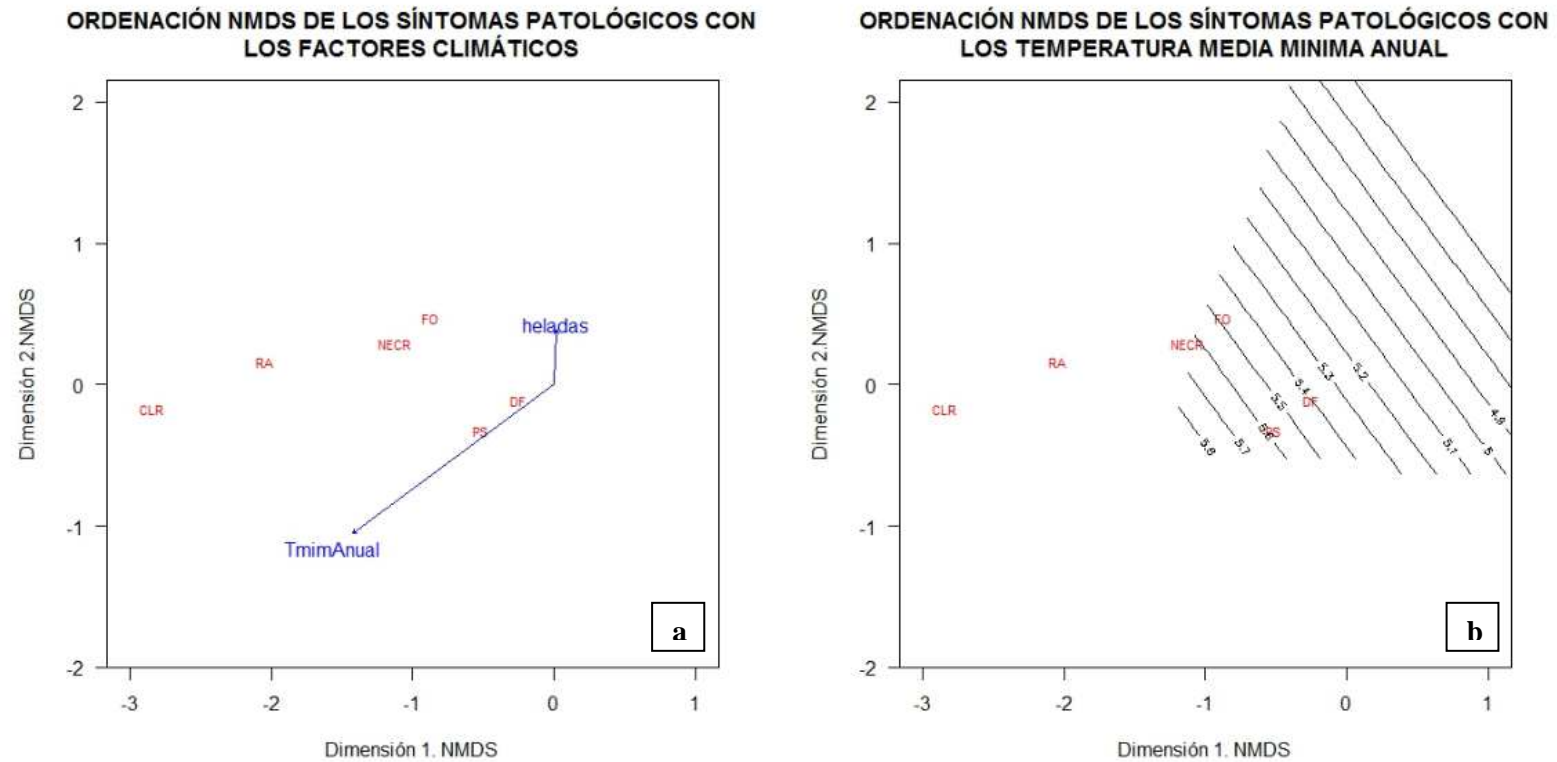
Las figuras NMDS ha sufrido un proceso de filtrado para quedarnos con las variables más importantes (Ver anejo estadístico, en multivariante).

### 2.12.1. V. patológicos-Factor edáfico



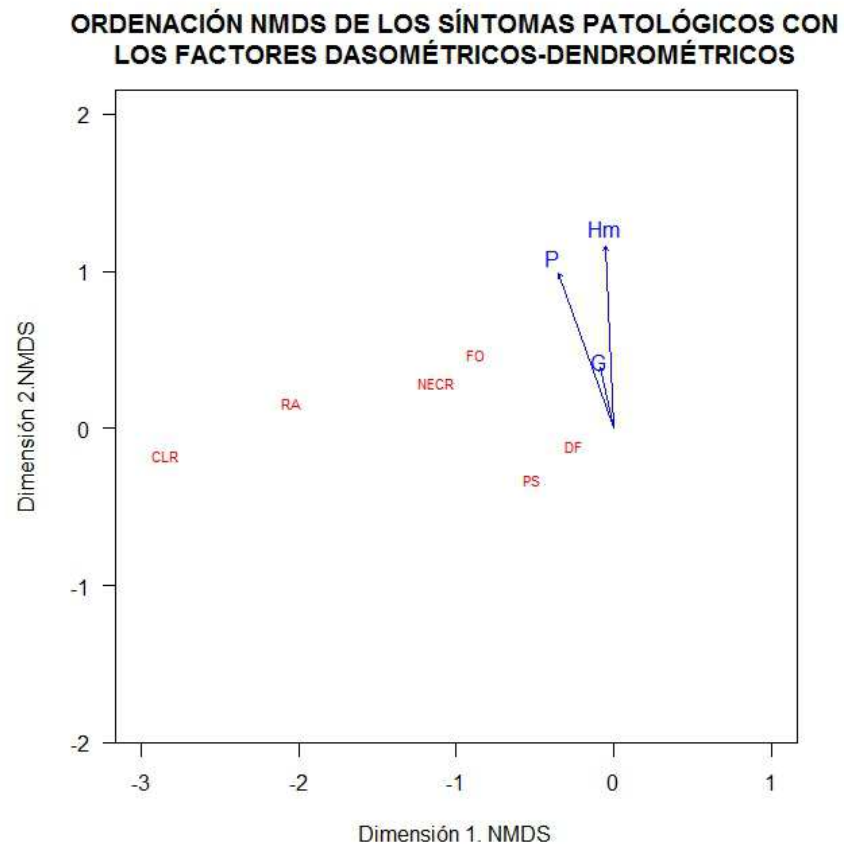
**Figura 20.** a: Ordenación de los principales síntomas edáficos con los patológicos. b: Ordenación de los factores patológicos del aliso con la curva de tendencia de la materia orgánica.

### 2.12.2. V. patológicos-Factor climático.



**Figura 21.** a: Ordenación de los principales síntomas climáticos con los patológicos. b: Ordenación de los factores patológicos del aliso con la curva de tendencia de la temperatura media mínima anual.

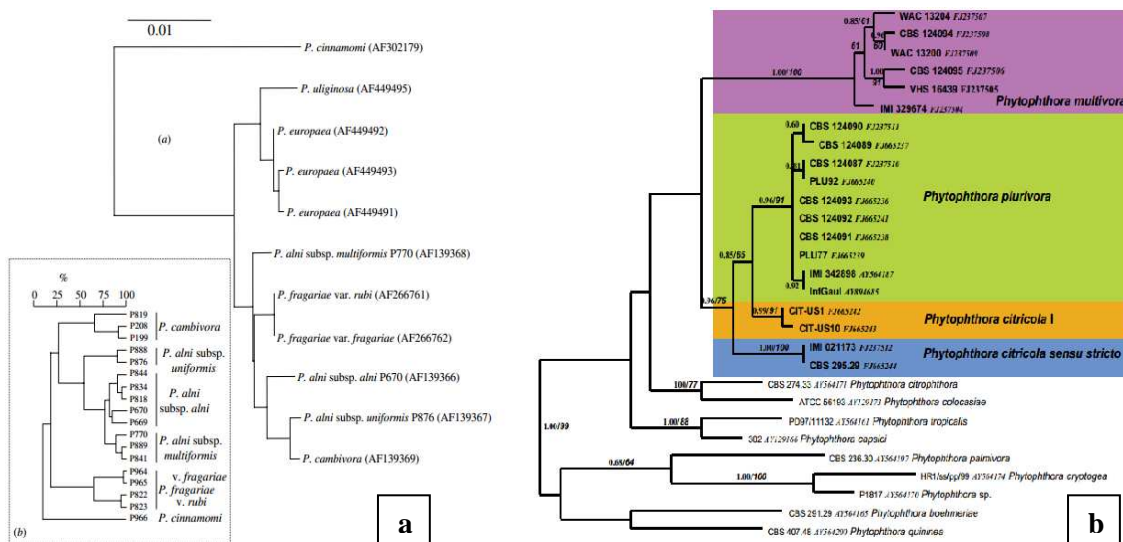
### 2.12.3. V. patológicos-Factor dasométrico-dendrométrico.



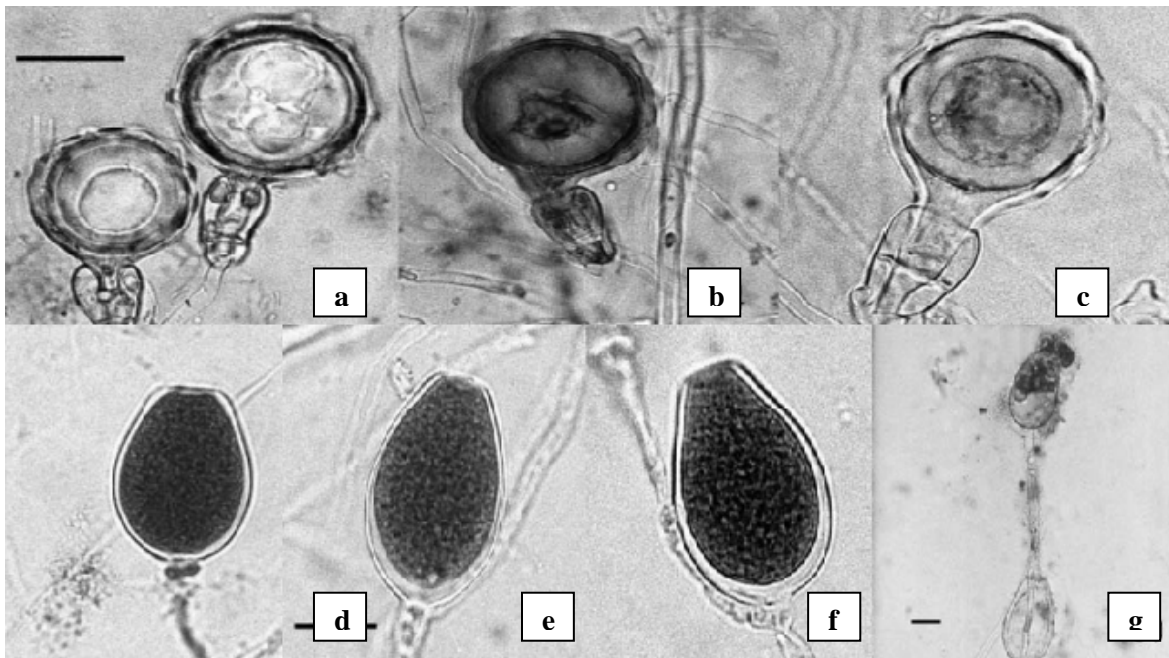
**Figura 22.** Relación a los principales síntomas dasométricos-dendrométricos con los patológicos del aliso.

### 13. ANEJO IV. INFORMACIÓN SOBRE EL NUEVO POSITIVO *P. pluivora* CON *P. alni*

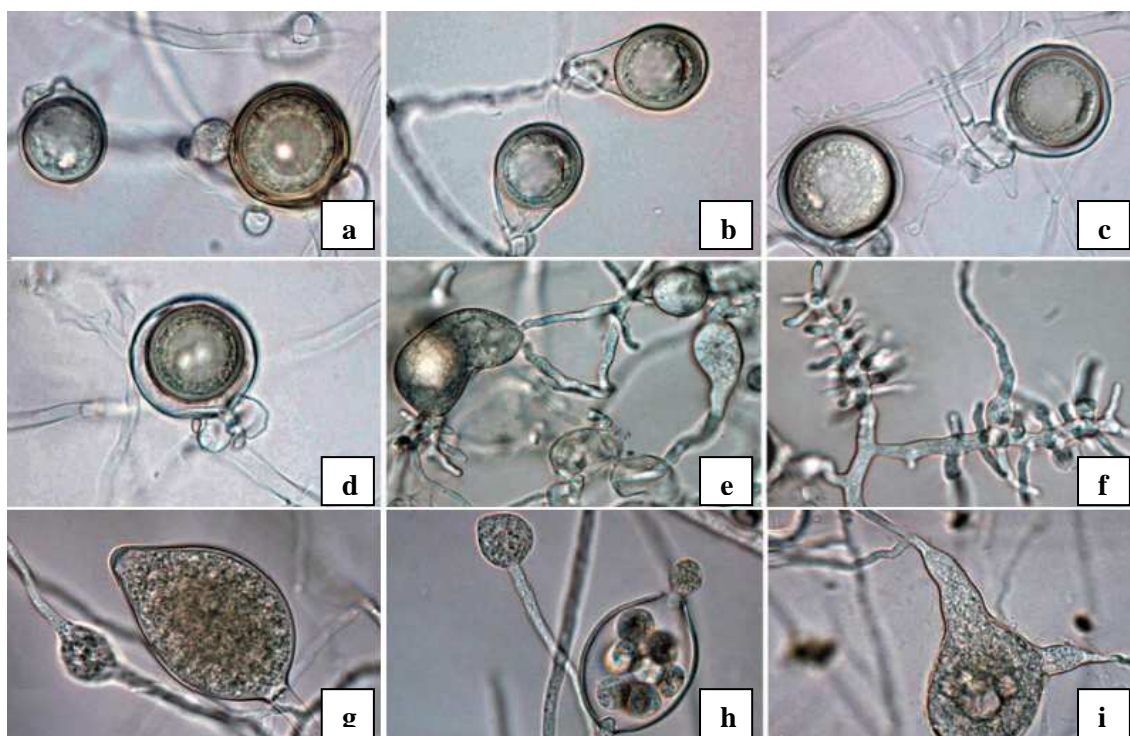
Debido al nuevo descubrimiento de este tipo de *Phytophthora* en Castilla y León ha sido oportuno aportar algo más de información.



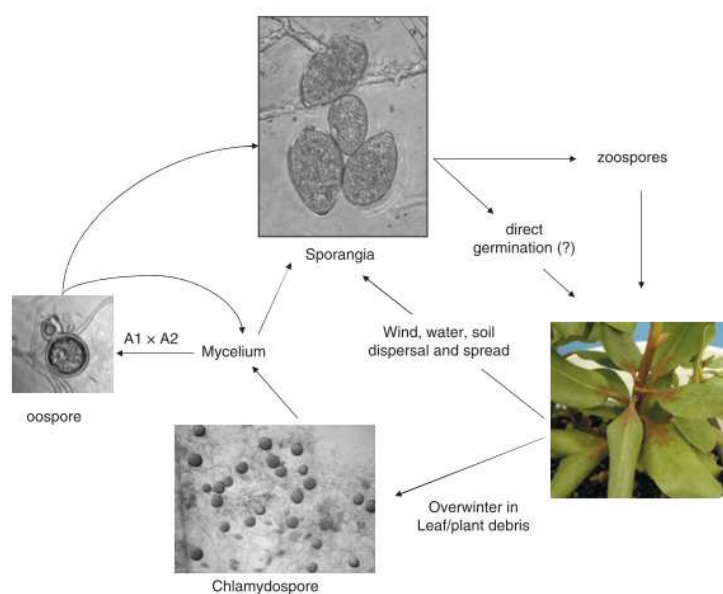
**Figura 23.** Árbol genético para *P. alni* a la izquierda y *P. pluivora* a la derecha (T Jung and Burgess, 2009; Clive *et al.*, 2004).



**Figura 24.** Estructuras morfológicas de *P. alni* subsp. *alni*. **a-c.** Típica estructura ornamentada oogonios. **d-f.** Típico esporangio. **g.** A Salida de las zoosporas del esporangio, abajo un esporangio vacío.



**Figura 25.** Estructuras morfológicas de *P. pluvivora*. **a.** oogonio con una oospora plerótica marrón-dorado y anteridio paraynous; **b.** oogonios alargados con oospores pleróticas; **c.** oogonio con apleróticas esporas y paraynous anteridio con la hifa alargada; **d.** oogonio con apleróticas oospores marcadas y anteridio amphigynous; **e.** hinchazón de las hifas a seis semanas de cultivo; **f.** hifas clusterizadas en el lateral. **g.** esporangio limiforme. **h.** esporangio liberando zoosporas; **i.** Esporangio bipapilado. Escala utilizada = 25  $\mu$ m.



**Figura 26.** Ciclo vital de *Phytophthora* spp (Grúnwald *et al.*, 2008).



## 14. ANEJO FOTOGRÁFICO V. POSITIVOS Y SOSPECHOSOS

Lugares donde se han aislados muestras, que posteriormente han dado positivo de *P. alni*:



**Figura 27.** Fotografías de los síntomas presentados en El Molino de Ciudad Rodrigo (Salamanca).



**Figura 28.** Fotografías de los síntomas presentados en La Chopera, cerca de Fuenteaguilando (Salamanca).



**Figura 29.** Fotografías de los síntomas presentados entre Bretocino y Olmillo de Valverde (Zamora).

Síntomas aislados que han dado positivo de *P. pluvivora*:



**Figura 30.** Fotografías de los síntomas presentados entre Langa del Duero (Soria).

A continuación se exponen fotografías de lugares sospechosos de contener *P. spp.*, pero que no se han podido confirmar en laboratorio:



**Figura 31.** Fotografías de los síntomas encontrados en Ponferrada (León).



**Figura 32.** Fotografías de los síntomas encontrados en el parque de la Isla Dos Aguas (Palencia).

## 15. ANEJO VI. SALIDA DE LOS RESULTADOS ESTADÍSTICOS

### 15.1. UNIVARIANTE

#### 1.15.1. Test de normalidad. Kolmogorov-Smirnov (Lilliers)

Si el test es significativo implica que las variables no tienen una distribución normal:

```
> lillie.test(Limo)
      Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: Limo
D = 0.1142, p-value = 0.149
```

```
> lillie.test(X.cepa)
      Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: X.cepa
D = 0.1565, p-value = 0.007435
```

```
> lillie.test(Altitud)
      Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: Altitud
D = 0.1345, p-value = 0.04024
```

```
> lillie.test(Proc)
      Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: Proc
D = 0.4426, p-value < 2.2e-16
```

```
> lillie.test(Elemgrue)
      Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: Elemgrue
D = 0.2869, p-value = 4.283e-10
```

```
> lillie.test(Arcilla)
      Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: Arcilla
D = 0.1214, p-value = 0.0941
```

```
> lillie.test(Arena)
      Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: Arena
D = 0.1377, p-value = 0.03207
```

```
> lillie.test(Arfina)
      Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: Arfina
D = 0.1158, p-value = 0.136
```

```
> lillie.test(c.n)
      Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: c.n
D = 0.1157, p-value = 0.137
```

```
> lillie.test(Pasim)
      Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
```

```
data: Pasim
D = 0.3001, p-value = 4.173e-11

> lillie.test(Carb)
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: Carb
D = 0.352, p-value = 1.437e-15

> lillie.test(Caasim)
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: Caasim
D = 0.2311, p-value = 2.162e-06

> lillie.test(Conduc)
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: Conduc
D = 0.2626, p-value = 2.248e-08

> lillie.test(CCC)
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: CCC
D = 0.1135, p-value = 0.1552

> lillie.test(MO)
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: MO
D = 0.1395, p-value = 0.0282

> lillie.test(Ntotal)
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: Ntotal
D = 0.4656, p-value < 2.2e-16

> lillie.test(Mgasim)
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: Mgasim
D = 0.114, p-value = 0.1504

> lillie.test(Kasim)
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: Kasim
D = 0.1525, p-value = 0.01033

> lillie.test(Hm)
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: Hm
D = 0.0838, p-value = 0.5952

> lillie.test(Do)
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: Do
D = 0.1126, p-value = 0.1626

> lillie.test(Dg)
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: Dg
D = 0.09, p-value = 0.4787
```

```
> lillie.test(ICV)
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: ICV
D = 0.1734, p-value = 0.001628
```

```
> lillie.test(F)
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: F
D = 0.1639, p-value = 0.003907
```

```
> lillie.test(CHR)
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: CHR
D = 0.4246, p-value < 2.2e-16
```

```
> lillie.test(RA)
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: RA
D = 0.4281, p-value < 2.2e-16
```

```
> lillie.test(CLR)
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: CLR
D = 0.4916, p-value < 2.2e-16
```

```
> lillie.test(PS)
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: PS
D = 0.1771, p-value = 0.001133
```

```
> lillie.test(FO)
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: FO
D = 0.3081, p-value = 9.557e-12
```

```
> lillie.test(PAnual)
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: PAnual
D = 0.2862, p-value = 4.829e-10
```

```
> lillie.test(heladas)
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: heladas
D = 0.3161, p-value = 2.144e-12
```

```
> lillie.test(sequia)
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: sequia
D = 0.1427, p-value = 0.02229
```

```
> lillie.test(TmimAnual)
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: TmimAnual
D = 0.2814, p-value = 1.088e-09
```

```
> lillie.test(TmaxAnual)
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
```

```
data: TmaxAnual  
D = 0.2828, p-value = 8.611e-10
```

```
> lillie.test(TmAnual)  
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test  
data: TmAnual  
D = 0.2658, p-value = 1.362e-08
```

```
> lillie.test(RadAnual)  
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test  
data: RadAnual  
D = 0.399, p-value < 2.2e-16
```

Sólo ocho variables analizadas poseen distribución normal (23 %), debido a la escasez de normalidad en la gran mayoría de los datos, se propone hacer una estadística que no tenga en cuenta la distribución de los datos y sí la distancias, es decir, una estadística no-paramétrica.

### 1.15.2. Test de Kruskal-Wallis

```
Kruskal-Wallis rank sum test  
data: CLR and patogeno  
Kruskal-Wallis chi-squared = 17.7135, df = 2, p-value = 0.0001424
```

```
Kruskal-Wallis rank sum test  
data: NECR and patogeno  
Kruskal-Wallis chi-squared = 6.8157, df = 2, p-value = 0.03311
```

### 1.15.3. Test de Spearman. Contraste de independencia y asociación

También se puede demostrar el grado de correlación y significancia que hay entre dos variables de interés a través del test de Spearman, cuyas principales relaciones fueron las siguientes:

#### VARIABLES PATOLÓGICOS-FACTOR AMBIENTAL FISIOGRAFICO:

```
Spearman's rank correlation rho  
data: FO and inundacion  
S = 10314.36, p-value = 0.03229  
alternative hypothesis: true rho is not equal to 0  
sample estimates:  
rho  
0.3205294
```

#### VARIABLES PATOLÓGICOS-FACTOR AMBIENTAL EDÁFICO:

```
Spearman's rank correlation rho  
data: DF and MO
```

S = 11080.81, p-value = 0.07304  
alternative hypothesis: true rho is not equal to 0  
sample estimates:  
rho  
0.2700386

Spearman's rank correlation rho  
data: PS and pH  
S = 19733.24, p-value = 0.04571  
alternative hypothesis: true rho is not equal to 0  
sample estimates:  
rho  
-0.29995

Spearman's rank correlation rho  
data: PS and MO  
S = 10510.62, p-value = 0.04027  
alternative hypothesis: true rho is not equal to 0  
sample estimates:  
rho  
0.307601

Spearman's rank correlation rho  
data: PS and Ntotal  
S = 10707.79, p-value = 0.04986  
alternative hypothesis: true rho is not equal to 0  
sample estimates:  
rho  
0.2946123

Spearman's rank correlation rho  
data: CLR and Kasim  
S = 19165.02, p-value = 0.08164  
alternative hypothesis: true rho is not equal to 0  
sample estimates:  
rho  
-0.2625179

Spearman's rank correlation rho  
data: NECR and Limo  
S = 19125.28, p-value = 0.08482  
alternative hypothesis: true rho is not equal to 0  
sample estimates:  
rho  
-0.2598996



Spearman's rank correlation rho

data: FO and Limo

S = 19266.38, p-value = 0.07397

alternative hypothesis: true rho is not equal to 0

sample estimates:

rho

-0.2691949

> spearman.test(RA, Conduc)

Spearman's rank correlation rho

data: RA and Conduc

S = 10002.85, p-value = 0.02235

alternative hypothesis: true rho is not equal to 0

sample estimates:

rho

0.3410508

Spearman's rank correlation rho

data: RA and CCC

S = 10818.25, p-value = 0.05599

alternative hypothesis: true rho is not equal to 0

sample estimates:

rho

0.2873353

Spearman's rank correlation rho

data: RA and MO

S = 10684.07, p-value = 0.04861

alternative hypothesis: true rho is not equal to 0

sample estimates:

rho

0.2961747

Spearman's rank correlation rho

data: RA and Mgasim

S = 10339.98, p-value = 0.03325

alternative hypothesis: true rho is not equal to 0

sample estimates:

rho

0.318842

Spearman's rank correlation rho

data: RA and Naasim

S = 7056.496, p-value = 0.0001911

alternative hypothesis: true rho is not equal to 0

sample estimates:

rho  
0.5351452

Spearman's rank correlation rho  
data: Limo and patogeno  
S = 19545.28, p-value = 0.05579  
alternative hypothesis: true rho is not equal to 0  
sample estimates:  
rho  
-0.2875676

Spearman's rank correlation rho  
data: Mgasim and patogeno  
S = 19286.19, p-value = 0.07254  
alternative hypothesis: true rho is not equal to 0  
sample estimates:  
rho  
-0.2705002

#### VARIABLES PATOLÓGICOS-FACTOR AMBIENTAL CLIMÁTICO:

Spearman's rank correlation rho  
data: DF and TmimAnual  
S = 10281.22, p-value = 0.03109  
alternative hypothesis: true rho is not equal to 0  
sample estimates:  
rho  
0.3227129

Spearman's rank correlation rho  
data: PS and TmimAnual  
S = 8060.757, p-value = 0.001304  
alternative hypothesis: true rho is not equal to 0  
sample estimates:  
rho  
0.4689884

Spearman's rank correlation rho  
data: FO and heladas  
S = 11351.32, p-value = 0.09469  
alternative hypothesis: true rho is not equal to 0  
sample estimates:  
rho  
0.2522185

### VARIABLES PATOLÓGICOS-FACTOR DASOMÉTRICO:

data: RA and G

S = 20298.92, p-value = 0.02399

alternative hypothesis: true rho is not equal to 0

sample estimates:

rho

-0.3372145

data: Hm and patogeno

S = 10654.33, p-value = 0.04709

alternative hypothesis: true rho is not equal to 0

sample estimates:

rho

0.2981335

data: CE and patogeno

S = 10906.82, p-value = 0.06134

alternative hypothesis: true rho is not equal to 0

sample estimates:

rho

0.2815008

### VARIABLES PATOLÓGICOS-VARIABLES PATOLÓGICOS:

Spearman's rank correlation rho

data: NCR and DF

S = 7474.531, p-value = 0.001331

alternative hypothesis: true rho is not equal to 0

sample estimates:

rho

0.5432536

Spearman's rank correlation rho

data: NCR and PS

S = 8394.389, p-value = 0.006273

alternative hypothesis: true rho is not equal to 0

sample estimates:

rho

0.4284293

Spearman's rank correlation rho

data: NCR and FO

S = 5017.283, p-value = 3.876e-06

alternative hypothesis: true rho is not equal to 0

sample estimates:

rho  
0.6464212

Spearman's rank correlation rho  
data: NCR and CLR  
S = 7904.398, p-value = 0.002844  
alternative hypothesis: true rho is not equal to 0  
sample estimates:  
rho  
0.43296

Spearman's rank correlation rho  
data: CLR and patogeno  
S = 7869.699, p-value = 0.0009298  
alternative hypothesis: true rho is not equal to 0  
sample estimates:  
rho  
0.4815745

Spearman's rank correlation rho  
data: NECR and patogeno  
S = 9303.749, p-value = 0.009015  
alternative hypothesis: true rho is not equal to 0  
sample estimates:  
rho  
0.3871048

Spearman's rank correlation rho  
data: FO and patogeno  
S = 10997.8, p-value = 0.06726  
alternative hypothesis: true rho is not equal to 0  
sample estimates:  
rho  
0.2755073

#### 1.15.4. Modelos lineales y no lineales

Para elaborar las relaciones entre los factores patológicos se empleó este tipo de procedimiento para crear el “modelo más ajustado” o “mejor” modelo:

1. Se creaba el modelo.
2. Se comprobaba cual de los modelos creados tenía un mayor coeficiente de correlación y/o determinación y se seleccionaba.
3. A continuación se elaboraban los gráficos

> modelolm<-lm(DF~TmimAnual)

```
> modelopot<-lm(DF~I(1*TmimAnual^(0.1)))
> modeloexpn<-lm(DF~I(-1*exp((-1)*TmimAnual)))
> modeloasinxp<-lm(DF~SSasymp(TmimAnual,-1,1,1), data)
> modelomicha<-lm(DF~SSmicmen(TmimAnual,1,1,1), data)
> modelolog<-lm(DF~SSlogis(TmimAnual,1,1,1), data)
> modeloweib<-lm(DF~SSweibull(TmimAnual,1,1,1,1), data)
> summary(modelolm)
```

Call:  
lm(formula = DF ~ TmimAnual)

Residuals:  
Min 1Q Median 3Q Max  
-0.9170 -0.4578 -0.1578 0.3105 1.5513

Coefficients:  
Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)  
(Intercept) -0.1971 0.5518 -0.357 0.7227  
TmimAnual 0.2091 0.1033 2.025 0.0491 \*  
---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.6264 on 43 degrees of freedom  
Multiple R-squared: 0.08709, Adjusted R-squared: 0.06586  
F-statistic: 4.102 on 1 and 43 DF, p-value: 0.04907

```
> summary(modelopot)
```

Call:  
lm(formula = DF ~ I(1 \* TmimAnual^(0.1)))

Residuals:  
Min 1Q Median 3Q Max  
-0.8778 -0.4594 -0.1594 0.3213 1.5365

Coefficients:  
Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)  
(Intercept) -9.779 5.324 -1.837 0.0731 .  
I(1 \* TmimAnual^(0.1)) 9.061 4.514 2.007 0.0511 .  
---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.6269 on 43 degrees of freedom  
Multiple R-squared: 0.08566, Adjusted R-squared: 0.06439  
F-statistic: 4.028 on 1 and 43 DF, p-value: 0.05106

```
> summary(modeloexpn)
```

Call:  
lm(formula = DF ~ I(-1 \* exp((-1) \* TmimAnual)))

Residuals:

Min 1Q Median 3Q Max  
-0.92072 -0.42072 -0.09719 0.40216 1.47928

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	1.0417	0.1307	7.972	5.19e-10 ***
I(-1 * exp((-1) * TmimAnual))	17.9534	11.7115	1.533	0.133

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.6384 on 43 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.05182, Adjusted R-squared: 0.02977

F-statistic: 2.35 on 1 and 43 DF, p-value: 0.1326

> [summary\(modeloasinexp\)](#)

Call:

lm(formula = DF ~ SSasymp(TmimAnual, -1, 1, 1), data = data)

Residuals:

Min 1Q Median 3Q Max  
-0.91838 -0.56838 -0.07046 0.42967 1.48162

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	-836.4	1147.3	-0.729	0.47
SSasymp(TmimAnual, -1, 1, 1)	-837.3	1147.4	-0.730	0.47

Residual standard error: 0.6516 on 43 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.01223, Adjusted R-squared: -0.01074

F-statistic: 0.5325 on 1 and 43 DF, p-value: 0.4695

> [summary\(modelomicha\)](#)

Call:

lm(formula = DF ~ SSmicmen(TmimAnual, 1, 1), data = data)

Residuals:

Min 1Q Median 3Q Max  
-0.8775 -0.4545 -0.1545 0.3204 1.5225

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	-5.319	3.180	-1.673	0.1016
SSmicmen(TmimAnual, 1, 1)	7.435	3.797	1.958	0.0567 .

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.6282 on 43 degrees of freedom  
Multiple R-squared: 0.08186, Adjusted R-squared: 0.06051  
F-statistic: 3.834 on 1 and 43 DF, p-value: 0.05674

> [summary\(modelolog\)](#)

Call:

```
lm(formula = DF ~ SSlogis(TmimAnual, 1, 1, 1), data = data)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.9192	-0.4192	-0.1050	0.4000	1.4808

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	-6.543	4.688	-1.396	0.170
SSlogis(TmimAnual, 1, 1, 1)	7.599	4.782	1.589	0.119

Residual standard error: 0.6372 on 43 degrees of freedom  
Multiple R-squared: 0.05547, Adjusted R-squared: 0.0335  
F-statistic: 2.525 on 1 and 43 DF, p-value: 0.1194

> [summary\(modeloweib\)](#)

Call:

```
lm(formula = DF ~ SSweibull(TmimAnual, 1, 1, 1, 1), data = data)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.91838	-0.56838	-0.07046	0.42967	1.48162

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	-1674	2295	-0.729	0.47
SSweibull(TmimAnual, 1, 1, 1, 1)	1675	2295	0.730	0.47

Residual standard error: 0.6516 on 43 degrees of freedom  
Multiple R-squared: 0.01223, Adjusted R-squared: -0.01074  
F-statistic: 0.5325 on 1 and 43 DF, p-value: 0.4695

> [modelolm1<-lm\(PS~TmimAnual\)](#)

> [modelopot1<-lm\(PS~I\(1\\*TmimAnual^\(0.1\)\)\)](#)

> [modeloexpn1<-lm\(PS~I\(-1\\*exp\(\(-1\)\\*TmimAnual\)\)\)](#)

> [modeloasinexp1<-lm\(PS~SSasymp\(TmimAnual,-1,1,1\), data\)](#)

> [modelomicha1<-lm\(PS~SSmicmen\(TmimAnual,1,1\), data\)](#)

> [modelolog1<-lm\(PS~SSlogis\(TmimAnual,1,1,1\), data\)](#)

> [modeloweib1<-lm\(PS~SSweibull\(TmimAnual,1,1,1,1\), data\)](#)

> [summary\(modelolm1\)](#)

Call:

```
lm(formula = PS ~ TmimAnual)
```

Residuals:

```
   Min    1Q  Median    3Q   Max
-0.34994 -0.14677 -0.04677  0.05640  0.75640
```

Coefficients:

```
      Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept) -0.27225   0.21349  -1.275  0.2091
TmimAnual    0.10317   0.03995   2.582  0.0133 *
```

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.2424 on 43 degrees of freedom  
Multiple R-squared: 0.1343, Adjusted R-squared: 0.1141  
F-statistic: 6.669 on 1 and 43 DF, p-value: 0.0133

[> summary\(modelopot1\)](#)

Call:

```
lm(formula = PS ~ I(1 * TmimAnual^(0.1)))
```

Residuals:

```
   Min    1Q  Median    3Q   Max
-0.33164 -0.15081 -0.05081  0.06836  0.74919
```

Coefficients:

```
      Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)   -5.033     2.059  -2.445  0.0187 *
I(1 * TmimAnual^(0.1))  4.499     1.746  2.577  0.0135 *
```

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.2424 on 43 degrees of freedom  
Multiple R-squared: 0.1338, Adjusted R-squared: 0.1136  
F-statistic: 6.641 on 1 and 43 DF, p-value: 0.01348

[> summary\(modeloexpn1\)](#)

Call:

```
lm(formula = PS ~ I(-1 * exp((-1) * TmimAnual)))
```

Residuals:

```
   Min    1Q  Median    3Q   Max
-0.27951 -0.12951 -0.07227  0.16653  0.72049
```



Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	0.34191	0.05093	6.714	3.35e-08 ***
I(-1 * exp((-1) * TmimAnual))	9.26211	4.56473	2.029	0.0487 *

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.2488 on 43 degrees of freedom  
Multiple R-squared: 0.08738, Adjusted R-squared: 0.06616  
F-statistic: 4.117 on 1 and 43 DF, p-value: 0.04867

> [summary\(modeloasinexpl\)](#)

Call:

lm(formula = PS ~ SSasymp(TmimAnual, -1, 1, 1), data = data)

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.27922	-0.17922	-0.07922	0.16965	0.72078

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	-486.8	452.6	-1.076	0.288
SSasymp(TmimAnual, -1, 1, 1)	-487.1	452.6	-1.076	0.288

Residual standard error: 0.257 on 43 degrees of freedom  
Multiple R-squared: 0.02623, Adjusted R-squared: 0.003581  
F-statistic: 1.158 on 1 and 43 DF, p-value: 0.2879

> [summary\(modelomicha1\)](#)

Call:

lm(formula = PS ~ SSmicmen(TmimAnual, 1, 1), data = data)

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.31244	-0.15765	-0.05765	0.10193	0.74235

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	-2.838	1.230	-2.307	0.0259 *
SSmicmen(TmimAnual, 1, 1)	3.715	1.469	2.529	0.0152 *

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.243 on 43 degrees of freedom  
Multiple R-squared: 0.1295, Adjusted R-squared: 0.1092  
F-statistic: 6.395 on 1 and 43 DF, p-value: 0.01519

```
> summary(modelolog1)
```

```
Call:
```

```
lm(formula = PS ~ SSlogis(TmimAnual, 1, 1, 1), data = data)
```

```
Residuals:
```

```
  Min    1Q  Median    3Q   Max
-0.27868 -0.12868 -0.07273  0.16081  0.72132
```

```
Coefficients:
```

```
                Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)        -3.551     1.825  -1.945  0.0583 .
SSlogis(TmimAnual, 1, 1, 1)  3.900     1.862   2.094  0.0422 *
```

```
---
```

```
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
Residual standard error: 0.2481 on 43 degrees of freedom
```

```
Multiple R-squared:  0.09257, Adjusted R-squared:  0.07147
```

```
F-statistic: 4.387 on 1 and 43 DF, p-value: 0.04215
```

```
> summary(modeloweib1)
```

```
Call:
```

```
lm(formula = PS ~ SSweibull(TmimAnual, 1, 1, 1, 1), data = data)
```

```
Residuals:
```

```
  Min    1Q  Median    3Q   Max
-0.27922 -0.17922 -0.07922  0.16965  0.72078
```

```
Coefficients:
```

```
                Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)        -973.9     905.2  -1.076  0.288
SSweibull(TmimAnual, 1, 1, 1, 1)  974.1     905.2   1.076  0.288
```

```
Residual standard error: 0.257 on 43 degrees of freedom
```

```
Multiple R-squared:  0.02623, Adjusted R-squared:  0.003581
```

```
F-statistic: 1.158 on 1 and 43 DF, p-value: 0.2879
```

```
> par(oma=c(1,1,1,3))
```

```
> plot(DF~TmimAnual,type="p",lty=1,pch= 16,lwd=3,las=1,ylim=c(0,2),
```

```
+   ylab="Defoliación (media/parcela)",
```

```
+   xlab="Temperatura media mínima anual (°C)",
```

```
+   main="DEFOLIACIÓN Y RAMAS PUNTISECA-TEMPERATURA
```

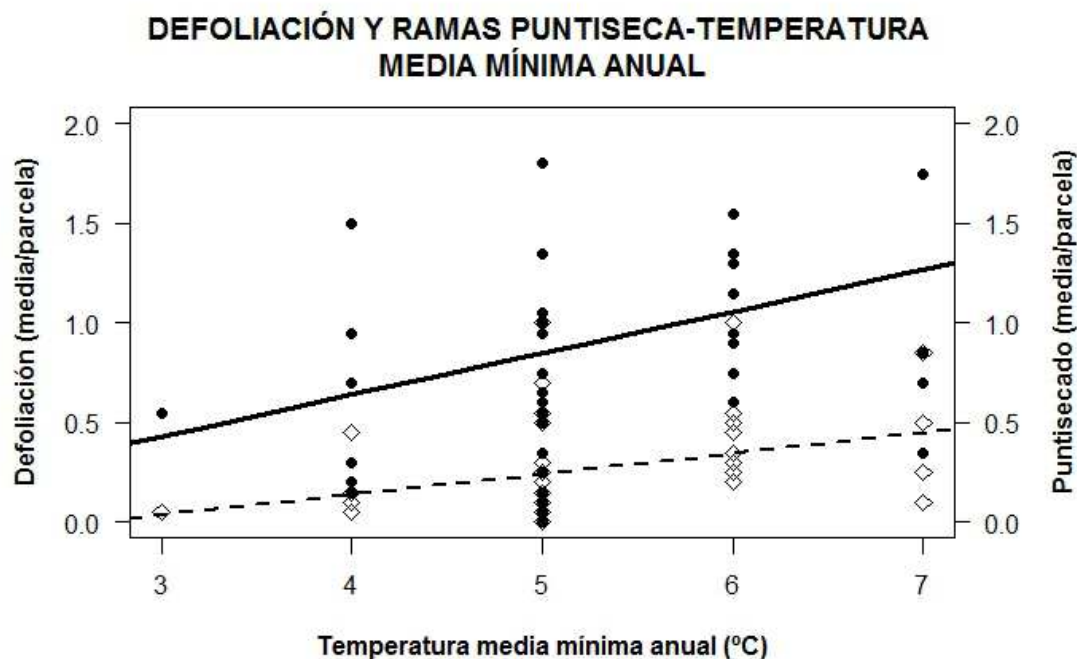
```
+ MEDIA MÍNIMA ANUAL",
```

```
+   font.main=2, font.lab=2)
```

```
> x <- seq(0, 40, l = 100)
```

```
> points(x, predict(modelolm, data.frame(TmimAnual= x)),
```

```
+ type = "l", lty = 1, lwd=3)
> par(new=TRUE)
> plot(PS~TmimAnual,type="p",lty=2, pch = 5, yaxt="n", xaxt="n",
+ ylim=c(0,2),
+ xlab = "",ylab = "", lwd=1,las=1, main="")
> axis(4, las=1)
> mtext("Puntisecado (media/parcela)",4,line=3,font=2)
> x <- seq(0, 25, l = 100)
> points(x, predict(modelolm1, data.frame(TmimAnual = x)),
+ type = "l", lty = 2, lwd=2)
```



**Figura 33.** Relación entre defoliación y puntisecado con la temperatura media mínima anual. Ambos modelos son modelos lineales. Defoliación, línea continua y ramas puntisecas, línea discontinua.

Para la obtención de los demás gráficos obtenidos en el anejo III, se ha seguido el mismo procedimiento anterior.

## 15.2. MULTIVARIANTE

### 2.15.1. MRPP. Justificación de los resultados extraídos de R

#### VARIABLES PATOLÓGICOS-PROVINCIA:

```
mrpp(dat = sani, grouping = gr$Prov, permutations = 1000, distance = "bray")
Dissimilarity index: bray
```

Weights for groups: n  
Class means and counts:  
Ávila Burgos León Palencia Salamanca Segovia Soria Valladolid Zamora  
delta NaN 0.3714 0.4314 0.4757 0.5064 0.3333 0.3333 0.2025 0.7425  
n 1 3 9 8 10 2 2 3 6  
Chance corrected within-group agreement A: 0.06293  
Based on observed delta 0.4712 and expected delta 0.5029  
Significance of delta: 0.046953  
Based on 1000 permutations

### VARIABLES PATOLÓGICOS-SELVICULTURA APLICADA A LOS BORDES DEL RÍO:

mrpp(dat = sani, grouping = gr\$selv, permutations = 1000, distance = "bray")  
Dissimilarity index: bray  
Weights for groups: n  
Class means and counts:  
claras claras-poda no poda  
delta NaN 0.7543 0.4682 0.2768  
n 1 5 35 3  
Chance corrected within-group agreement A: 0.02935  
Based on observed delta 0.4881 and expected delta 0.5029  
Significance of delta: 0.093906  
Based on 1000 permutations

### VARIABLES PATOLÓGICOS-PATRÓN DE INFECCIÓN OBSERVADO:

mrpp(dat = sani, grouping = gr\$patron, permutations = 1000, distance = "bray")  
Dissimilarity index: bray  
Weights for groups: n  
Class means and counts:  
grupo nada salpicada unica  
delta 0.2784 0.482 0.5032 0.4284  
n 2 29 7 6  
Chance corrected within-group agreement A: 0.06774  
Based on observed delta 0.4688 and expected delta 0.5029  
Significance of delta: 0.007992  
Based on 1000 permutations

### VARIABLE PATOLÓGICOS-COMPETENCIA ARBÓREA CON EL ALISO:

mrpp(dat = sani, grouping = gr\$compe, permutations = 1000, distance = "bray")  
Dissimilarity index: bray  
Weights for groups: n  
Class means and counts:  
adulta joven joven-adulta  
delta 0.4956 NaN 0.4629  
n 31 1 12  
Chance corrected within-group agreement A: 0.03256  
Based on observed delta 0.4865 and expected delta 0.5029  
Significance of delta: 0.044955  
Based on 1000 permutations

## 15.3. NMDS

Matemáticamente el método se expresa de esta forma:

1. Se calcula la matriz de similaridad  $X$  a partir de la matriz de datos de parcelas x variables patológicos. Esta matriz nos indica cómo de iguales son cada par de parcelas utilizando para ello la similaridad entre las variables patológicos. La distancia utilizada es la distancia de Bray-Curtis ( $d_{ji}$ ).

$$d_{ji} = \frac{A + B - 2J}{A + B - J}$$

Siendo:

$$A = \sum_{i=1}^N x_{ij} \quad B = \sum_{i=1}^N x_{ik} \quad J = \sum_{i=1}^N \min(x_{ij}, x_{ik})$$

$x_{ij}$  = valor resultante de la fila  $i$  (parcela) para la columna  $j$  (variable sanitaria).

$x_{ik}$  = valor resultante de la fila  $i$  (parcela) para todas las columnas  $k$  (variables patológicos).

2. Se asignan las parcelas a una configuración inicial aleatoria en un espacio  $k$ -dimensional (dónde  $k$  son las cinco variables patológicos), aunque en realidad, la ordenación se va a realizar principalmente sobre dos dimensiones.
3. Se calculan las distancias sobre este nuevo espacio geométrico y se calcula una matriz de distancia  $Y$ . Se comparan las matrices de con el "stress", que es una medida de la desviación de una relación linear entre la distancia en la matriz original de datos y la distancia en el espacio de ordenamiento (Ver anejo estadístico). **Valores de stress < 0.05 indican una muy buena representación de los datos en el gráfico. Un stress de < 0.1 indica una buena representación. Si el estrés > 0.2 el gráfico no es muy confiable.**
4. La distancia  $X$  e  $Y$ , se mide cómo son de parecidas entre ellas (stress).
5. A partir de la configuración inicial, se reasignan las parcelas y las variables patológicos para reducir las distancias con la matriz  $X$ .
6. Se repite este proceso de manera iterativa (1000 permutaciones) hasta que se consigue una solución óptima en dónde la matriz de distancias  $Y$  es muy parecida a la matriz de distancias  $X$ . Esto es, se minimiza el stress.
7. El resultado final es una representación gráfica óptima de las parcelas y las variables patológicos.

Además, se destaca que para este análisis se utilizó una aplicación a la hora de obtener las gráficas que observaremos en el apartado de resultados. Las aplicaciones encontradas del paquete “vegan” del programa R, son las siguientes:

- Ordisurf: permite dibujar curvas de valores donde se podía deducir fácilmente la tendencia de crecimiento y clasificar el conjunto de parcelas y variables patológicos en función de dicha tendencia.

### 3.15.1. Justificación de los resultados

#### VARIABLES PATOLÓGICOS-VARIABLES EDÁFICAS:

Primeramente se calcula el stress del gráfico teniendo en cuenta en un principio las variables patológicos con la distancia de Bray.

Call:

```
metaMDS(comm = datos.dis)
```

```
global Multidimensional Scaling using monoMDS
```

```
Data: datos.dis
```

```
Distance: bray
```

```
Dimensions: 2
```

```
Stress: 0.0719602
```

```
Stress type 1, weak ties
```

```
Two convergent solutions found after 9 tries
```

```
Scaling: centring, PC rotation
```

```
Species: scores missing
```

Tras la salida de los datos de R y según el valor del stress, el gráfico a obtener es bastante confiable. Posteriormente hay que calcular qué variable poseerá mayor fuerza dentro del gráfico. La fuerza la determinará la significancia del p-valor.

\*\*\*VECTORS

	NMDS1	NMDS2	r2	Pr(>r)
RA	-0.994492	-0.104809	0.1623	0.061 .
CLR	-0.962658	-0.270721	0.0953	0.103
PS	-0.802503	-0.596648	0.7043	0.001 ***
FO	-0.984155	0.177311	0.2234	0.019 *
NECR	-0.999943	-0.010666	0.3366	0.013 *
DF	-0.874596	-0.484852	0.8784	0.001 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

P values based on 999 permutations.

Por último se añaden al gráfico obtenido los vectores ambientales, en este caso, se estudió la composición edáfica que han salido correlacionados en el estudio univariante.

\*\*\*VECTORS

	NMDS1	NMDS2	r2	Pr(>r)
Conduc	-0.769147	-0.639072	0.0259	0.5105
CCC	-0.156220	-0.987722	0.0582	0.2837
MO	-0.414310	-0.910136	0.0983	0.1239
Limo	-0.069101	-0.997610	0.0305	0.5105
pH	0.299120	0.954216	0.0471	0.3696
Mgasim	-0.601526	-0.798853	0.0311	0.4965
Kasim	0.077497	-0.996993	0.0031	0.9101
Naasim	-0.507064	0.861909	0.0080	0.7752
Ntotal	0.562472	-0.826816	0.0179	0.6464

P values based on 1000 permutations.

Tras el primer análisis, se puede observar que sólo la materia orgánica ha presentado un valor casi significativo, no obstante, hay otras variables que también no ejercen un peso importante y por el exceso de otras variables no se ven. Se propone eliminar algunas variables de poca presencia en el análisis, como Kasim y Naasim.

Se presenta el resultado analítico final del gráfico NMDS:

\*\*\*VECTORS

	NMDS1	NMDS2	r2	Pr(>r)
Conduc	-0.769147	-0.639072	0.0259	0.54446
CCC	-0.156220	-0.987722	0.0582	0.26773
MO	-0.414310	-0.910136	0.0983	0.09391
Limo	-0.069101	-0.997610	0.0305	0.51149
pH	0.299120	0.954216	0.0471	0.35165
Ntotal	0.562472	-0.826816	0.0179	0.62737

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

P values based on 1000 permutations.

Como se ha podido reflejar la materia orgánica posee un peso estadístico significativo. Los demás grupos de variables se han calculado siguiente el mismo proceso. El resultado final es un gráfico (Fig.20a).

### VARIABLES PATOLÓGICOS-VARIABLES AMBIENTALES CLIMÁTICAS:

Se presenta el resultado analítico final del gráfico NMDS:

\*\*\*VECTORS

	NMDS1	NMDS2	r2	Pr(>r)
heladas	0.04176	0.99913	0.0061	0.87213
TmimAnual	-0.80532	-0.59284	0.1252	0.05994

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

P values based on 1000 permutations.

El resultado final es un gráfico (Fig. 21).

### VARIABLES PATOLÓGICAS-FACTORES DASOMÉTRICAS-DENDROMÉTRICOS:

Se presenta el resultado analítico final del gráfico NMDS:

#### \*\*\*VECTORS

	NMDS1	NMDS2	r2	Pr(>r)
G	-0.223412	0.974724	0.0185	0.61439
P	-0.333357	0.942801	0.1271	0.05694 .
Hm	-0.045296	0.998974	0.1560	0.02797 *

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

P values based on 1000 permutations.

El resultado final es un gráfico (Fig. 22).