

SANIDADE E SEGURIDADE DAS PRODUÇÕES



Control biolóxico do cancro do castiñeiro

Coa finalidade de controlar o cancro do castiñeiro, a Dirección Xeral de Montes, dependente da Consellería do Medio Rural, vén desenvolvendo desde hai uns anos traballos de investigación de loita biolóxica baseados na transferencia do virus causante da enfermidade dende cepas hipovirulentas ou atenuadas a cepas virulentas.

O cancro do castiñeiro é unha enfermidade fúnxica causada polo ascomiceto *Cryphonectria parasitica*, introducido en España arredor dos anos 40. Este fungo, patóxeno de feridas, é incapaz de invadir tecidos corticais sans e penetra no hóspede a través das feridas de distinta natureza (poda, fendas, cicatrices etc.). O síntoma máis característico consiste na presenza de cancros sobre o tronco, pólas ou renovos, os cales provocan un anelamento impedindo a circulación do zume da planta e producindo a morte dos brotes ou pólas por enriba da lesión; isto pode observarse nas árbores afectadas nas puntas secas emerxentes dos pés frondosos (figuras 1 e 2).

Os micovirus encóntranse nos principais grupos taxonómicos de fungos, infectando os seus hospedadores sen que a maioría produ-

zan ningún cambio no seu fenotipo. Soamente uns poucos micovirus poden alterar a virulencia dos fungos que son patóxenos para as plantas. Todos os micovirus asociados co fenómeno de hipovirulencia posúen xenomas de ARN, ben monocatenario (ARNmc) ou ben bicatenario (ARNbc).

No ano 1950, en Italia, soamente 12 anos despois do descubrimento do cancro do castiñeiro en Europa, Biraghi (1953) observou que a dispersión do fungo era máis lenta en Europa que no norte de América e que había indicios de que algúns castiñeiros europeos afectados estaban a recuperarse, como o indicaba o feito de que moitos dos novos brotes de castiñeiros afectados sobrevivían máis aló dos 4-5 anos, e que moitos dos cancros estaban cicatrizando espontaneamente e o fungo quedaba relegado á capa máis superficial da casca.

O fungo *Cryphonectria parasitica* é incapaz de invadir tecidos corticais sans e penetra no hóspede a través das feridas de distinta natureza (poda, fendas, cicatrices etc.)



Figuras 1 e 2. Síntomas do cancro do castiñeiro: arroibamento, fendas lonxitudinais-transversais e micelio branco marfil



Para a transferencia do hipovirus no campo é imprescindible que o inóculo hipovirulento sexa compatible coas cepas virulentas

En 1965, Grente conseguiu mostras dos cancos cicatrizados de Italia e obtivo illamentos de *Cryphonectria parasitica* que inoculou en lesións de castiñeiro causadas polas cepas virulentas, e observou despois a remisión do cancro. Posteriormente fixo un reillamento a partir dos cancos cicatrizados e encontrou que a maioría dos novos illados eran hipovirulentos, e suxeriu que a colocación dos illados hipovirulentos nos cancos causados por outros virulentos dera lugar ás anastomoses hifais entre eles e á conversión de cepas virulentas ou normais en hipovirulentas (Sheffer, 1997).

As cepas hipovirulentas no campo son difíciles de detectar. En xeral, teñen un crecemento máis lento que as virulentas e causan cancos superficiais, que apenas ocasionan dano á árbore (Heiniger e Rigling, 1994). Nestes

cancros, a produción de picnidios é escasa e a reprodución sexual aparece practicamente inhibida; o micelio queda restrinxido ás capas externas da casca e con frecuencia non presentan a forma típica de abano dos cancos virulentos (Heiniger e Rigling, 1994). O crecemento en cultivo tamén é máis lento que o das cepas virulentas e a aparencia da colonia adoita ser lobulada e con escaso micelio aéreo, a diferenza das virulentas, que presentan un crecemento organizado.

Esta actuación coñécese como hipovirulencia e débese á infección do fungo patóxico por un virus denominado *Cryphonectria hypovirus* —CHV— (Nuss, 2005).

Non existe ningún método eficaz, cultural nin químico, de control da *Cryphonectria parasitica*, nin ningún cultivar de castiñeiro europeo tolerante ou resistente á enfermidade (EPPPO, 1997).

Na práctica, a introdución e diseminación da enfermidade nas áreas libres de cancro evítase mediante medidas preventivas que xeralmente non son efectivas debido á facilidade coa que o patóxeno se propaga. Dada a ineficacia dos métodos culturais e/ou químicos, a investigación sobre o control do cancro centrouse no desenvolvemento de métodos biolóxicos baseados na transferencia do hipovirus desde cepas hipovirulentas ou atenuadas ás virulentas.

Na actualidade, os métodos de control están orientados á loita biolóxica con cepas hipovirulentas, e enténdense como tales aquelas cepas de fungo que provocan a cicatrización espontánea dos cancos activos ao inocularse no punto de infección antes, ao mesmo tempo ou posteriormente a cepas virulentas.

Cryphonectria parasitica presenta 2 tipos de cepas:

– Unhas moi virulentas, que levan rapidamente á aparición de

Van Alfen et ál. (1975) demostraron que a hipovirulencia se pode transmitir dunhas células fúnxicas a outras de forma horizontal, mediante anastomoses hifais

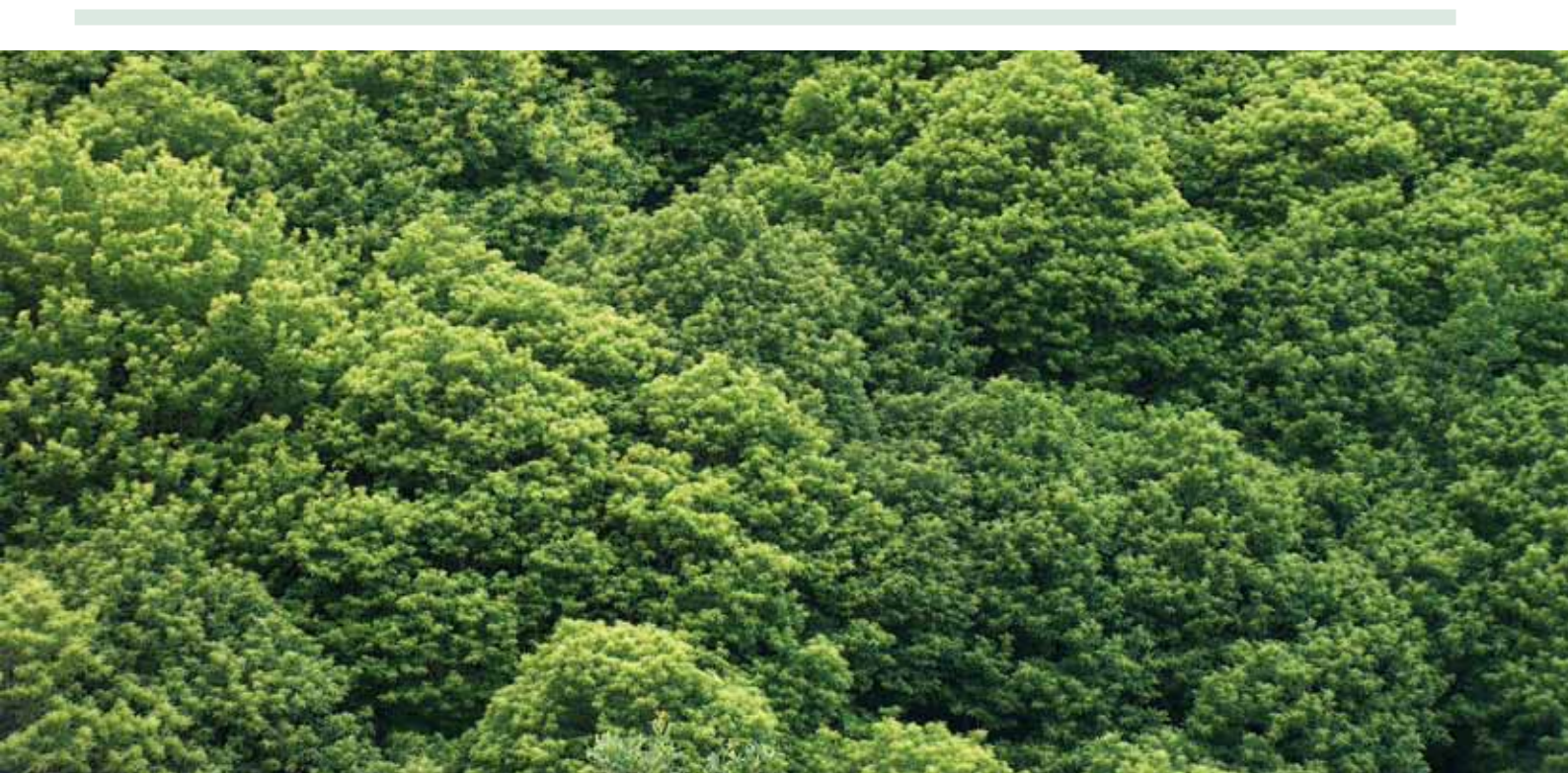
síntomas e á posterior morte da especie vexetal afectada.

– Outras menos agresivas, que determinan menos síntomas, menos danos e non causan a morte do hospedador.

Van Alfen et ál. (1975) demostraron que a hipovirulencia se pode transmitir dunhas células fúnxicas a outras de forma horizontal, mediante anastomoses hifais. A transmisión das moléculas de ARNbc dunha cepa a outra confírelle ao individuo receptor o fenotipo hipovirulento, nun fenómeno denominado conversión (Anagnostakis e Day, 1979).

A frecuencia e a estabilidade da transmisión entre distintas cepas están determinadas polos xenes que controlan a compatibilidade vexetativa (Anagnostakis, 1977). A conversión dunha cepa virulenta in vitro vese favorecida se pertence ao mesmo grupo de compatibilidade vexetativa que a cepa hipovirulenta, aínda que tamén se pode producir entre cepas de distinto tipo (Anagnostakis e Day, 1979). No campo, no entanto, é imprescindible que o inóculo hipovirulento sexa compatible coas cepas virulentas; en caso contrario, ademais de reducirse a posibilidade de conversión, podería facilitarse a aparición de illados con novos tipos de compatibilidade vexetativa (por recombinación xenética do ADN de illados que establezan reprodución sexual) e, en consecuencia, novos focos de infección.

Dende o ano 2003, a Dirección Xeral de Montes, en colaboración coa Estación Fitopatolóxica do Areiro (dependente da Deputación de Pontevedra), vén desen-



Non existe ningún método eficaz, cultural nin químico, de control da *Cryphonectria parasitica*, nin ningún cultivar de castiñeiro europeo tolerante ou resistente á enfermidade

volvendo traballos de investigación de loita biolóxica baseados na transferencia do hipovirus dende cepas hipovirulentas ou atenuadas a virulentas, co obxectivo de controlar o cancro do castiñeiro en Galicia; nesta dirección dependente da Consellería do Medio Rural tamén realizan outros traballos para mellorar e conservar o patrimonio natural dos soutos de Galicia.

Unha das principais accións deste programa consiste na aplicación de inóculo hipovirulento, é dicir, cepas que teñen a virulencia atenuada pola infección dun hipovirus, en castiñeiros afectados polo cancro.

Na primeira fase, os obxectivos que se fixaron foron:

- **Período 2003-2007.** Abriuse unha liña de investigación sobre o control biolóxico do cancro do castiñeiro mediante un estudo exhaustivo da enfermidade.
- **Período 2008-2010.** Selecciónáronse seis parcelas experimentais entre Lugo, Ourense e Pontevedra. Das árbores sintomáticas presentes nas parcelas, recolléronse mostras da casca de 38 cancos, situados en 33 pés, que se levaron ao laboratorio para a súa análise. De cada lesión obtívose o correspondente illado virulento de *Cryphonectria parasitica* coa que se fixo o estudo de compatibilidade e de conversión. Concluíuse que a aplicación do inóculo hipovirulento, nos 29 dos

Figura 3. Detalles do tratamento

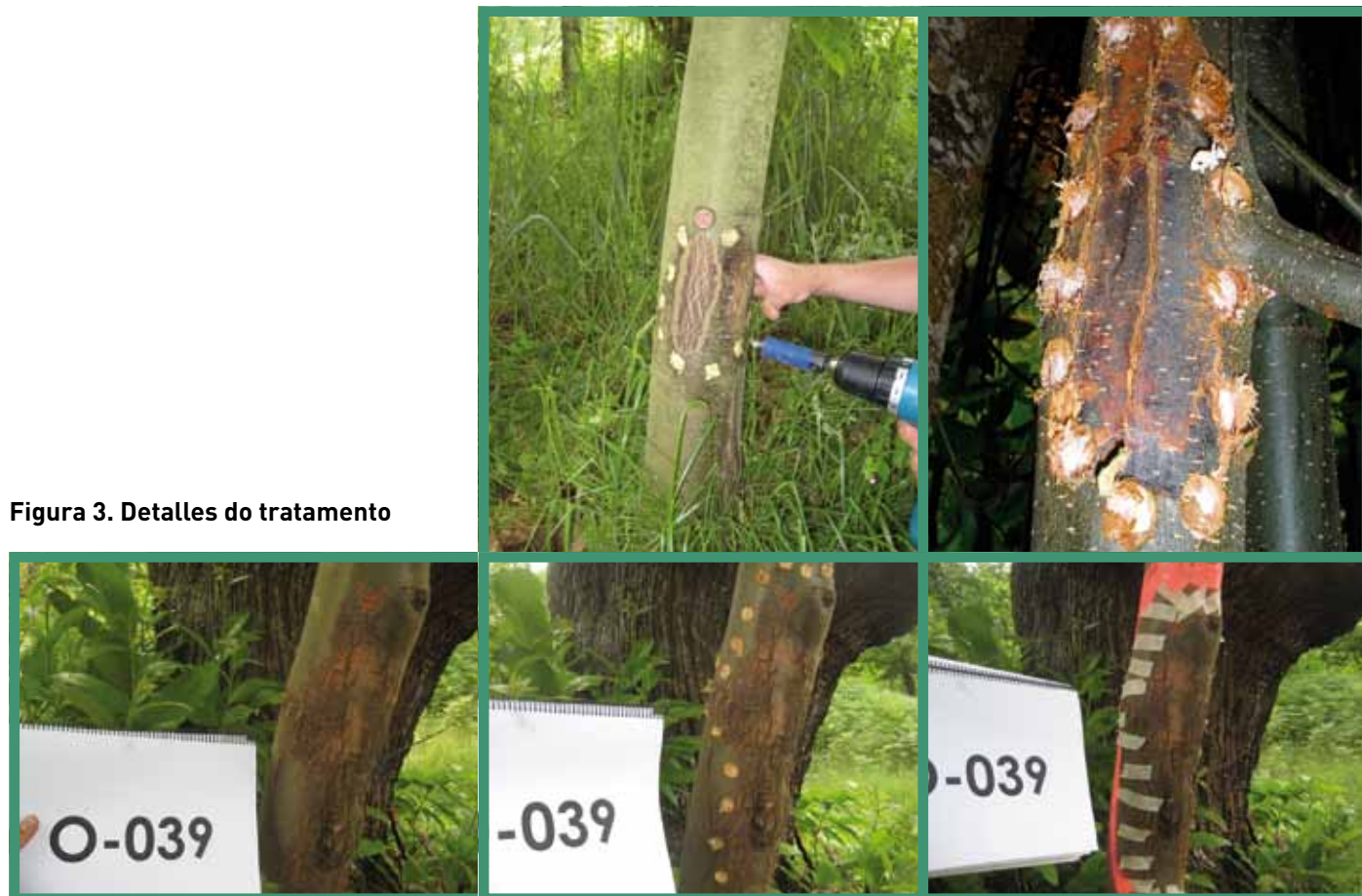




Figura 4. Sinalamento e xeorreferenciación dos pés

38 cancos inoculados (76,3%), deu lugar a unha remisión ou melloría das lesións [cicatrización en toda a superficie do cancro ou en parte desta].

- **Ano 2011.** Última fase experimental, onde se realizou a inoculación fóra das parcelas experimentais e se fixo un seguimento das árbores tratadas coas cepas hipovirulentas para observar a súa evolución e iniciar un plan de control da enfermidade cara aos vindeiros anos.

APLICACIÓN DO INÓCULO HIPOVIRULENTO EN CASTIÑEIRO Afectados

Consiste na aplicación do inóculo hipovirulento, é dicir, cepas que teñen a virulencia atenuada pola infección dun hipovirus en castiñeiros afectados polo cancro.

METODOLOXÍA

Hai que destacar que aínda se atopo nunha fase de experimen-

tación, polo que aínda é cedo para poder sacar conclusións e verificacións moi exactas sobre as observacións, manipulacións e rexistros das variables que se toman nas parcelas de proba.

Para a execución dos traballos, cóntase con tres equipos de técnicos de campo formados cada un deles por unha parella de capataces e coordinados por un técnico de gabinete.

O procedemento para a inoculación de cepas hipovirulentas de *Cryphonectria parasitica*, compatibles coas virulentas da zona que cómpre tratar, descríbese a continuación:

- Mediante un sacabocados, procédese a levantar a capa superficial da casca, principalmente o contorno da lesión sobre os troncos e nas pólas da casca lisa, de maneira que permita observar o límite dos tecidos sans e enfermos (figura 3).
- Realízanse buracos cun sacabocados en toda a profundidade da casca e lonxitude

As cepas hipovirulentas son aquelas cepas de fungo que provocan a cicatrización espontánea dos cancos activos ao inocularse no punto de infección antes, ao mesmo tempo ou posteriormente a cepas virulentas



Figura 5. Proceso de cicatrización



Deputación
Pontevedra
Estación Fitopatolóxica do Areiro

Indicacións para aplicación de hipovirulencia en castiñeiros afectados polo cancro

1.- Manter inóculo o hipovirulento en frío antes do uso.



2.- Na árbore facer uns buracos, cun sacabocados, na parte sa da casca, arredor da lesión, cunha distancia aproximada de 5-10 cm entre eles.



3.- Encher o buraco cos inóculos hipovirulentos.



4.- Tapar cunha cinta adhesiva os buracos durante 2-3 días para evitar a desecación ou caída do produto.



Resumo gráfico da metodoloxía de traballo de inoculación de cepas hipovirulentas

do límite, situándoos sempre na parte sa, cunha distancia aproximada de 5-10 cm entre eles (figura 3).

- En cada buraco realizado procédese a inxectar o micelio hipovirulento compatible e logo tápase con cinta adhesiva para evitar a perda ou desecación do micelio (figura 4).
- Finalmente, as árbores inoculadas serán marcadas e xorreferenciadas para a súa posterior análise e seguimento (figura 4).
- Nota: o cancro afecta á zona cambial, polo tanto non é necesario introducir profundamente o sacabocados, soamente a nivel da casca. A cicatrización non tarda moito, ao redor de 8-12 meses, e non afecta á calidade da madeira (figura 5).

SITUACIÓN ACTUAL

Os resultados obtidos foron moi satisfactorios, polo que se procedeu ao desenvolvemento da segunda fase da realización dos traballos de investigación para a mellora e conservación do patrimonio natural dos soutos en Galicia mediante a elaboración e aplicación no campo do inóculo hipovirulento, e a facer un seguimento das árbores tratadas con estas cepas para observar a súa evolución.

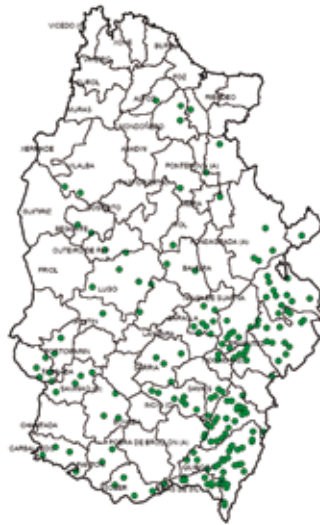
PARCELAS DE INOCULACIÓN

A aplicación do inóculo hipovirulento estase a realizar nas catro provincias galegas, na rede de parcelas da Estación Fitopatolóxica do Areeiro e en parcelas onde se detectou a enfermidade.

Provincia de Lugo. A aplicación do inóculo comezou nesta provincia na primavera. Ata o día de hoxe foron tratadas as 184 parcelas previstas e actuouse sobre 374 castiñeiros afectados.

Táboa 1. Parcelas e pés tratados na provincia de Lugo

PROVINCIA	Parcelas tratadas	Nº pés tratados
LUGO	184	374



As cepas hipovirulentas no campo son difíciles de detectar. En xeral, teñen un crecemento máis lento que as virulentas e causan cancos superficiais, que apenas ocasionan dano á árbore

Provincia de Ourense. Os traballos comezaron na primavera. Ata o día de hoxe foron tratadas as 318 parcelas previstas e actuouse sobre 755 castiñeiros afectados.

Táboa 2. Parcelas e pés tratados na provincia de Ourense

PROVINCIA	Parcelas tratadas	Nº pés tratados
OURENSE	318	755

