

EVALUACIÓN *IN VITRO* DE CEPAS HIPOVIRULENTAS DE *CRYPHONECTRIA PARASITICA* PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DEL CANCRO DEL CASTAÑO

Olga Aguín, Dolores Montenegro, José Pedro Mansilla

Estación Fitopatológica do Areeiro, Deputación Pontevedra, Subida a la Robleda s/n, 36153 Pontevedra. efa@efa-dip.org

INTRODUCCIÓN

El cancro es una de las enfermedades más graves que afectan al castaño (figura 1). Está causado por *Cryphonectria parasitica*, un ascomiceto que puede presentar dos tipos de cepas: virulentas e hipovirulentas (figura 2). Mientras que las cepas virulentas son muy agresivas y provocan la muerte del árbol, las cepas hipovirulentas producen canchros de crecimiento lento que se desarrollan superficialmente y que acaban cicatrizando. Las cepas hipovirulentas están infectadas por un virus denominado *Cryphonectria hypovirus* transferible a los aislados virulentos. Actualmente las únicas perspectivas para el control de este patógeno se basan en el tratamiento de los árboles afectados con cepas hipovirulentas.

En estudios previos en castaños del noroeste de España afectados por cancro, se detectaron cepas hipovirulentas compatibles con uno de los grupos virulentos más extendidos. En este trabajo se llevó a cabo un ensayo preliminar *in vitro* para evaluar la capacidad de tres cepas hipovirulentas de transmitir la hipovirulencia y de reducir la patogenicidad de un aislado virulento compatible.



Figura 1. Castaño afectado por cancro.

MATERIAL Y MÉTODOS

AISLADOS DE *C. parasitica*

COMPATIBILIDAD

DETERMINACIÓN DE LA VIRULENCIA

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS
CARACTERÍSTICAS MOLECULARES: ARNbc

1 aislado virulento compatible: vir

3 aislados hipovirulentos: hp1, hp2 y hp3

EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LOS AISLADOS HIPOVIRULENTOS

Inoculación sobre fragmentos de castaño (Lee *et al.*, 1992) (fig. 3)

5 tratamientos: 5 repeticiones cada uno

- Control (PDA)
- Vir
- Vir x hp1
- Vir x hp2
- Vir x hp3

Cámara de cultivo 42 días a 22 °C en oscuridad

Observación diaria del desarrollo de la enfermedad

Establecimiento de 5 niveles de severidad



Figura 3: Proceso de inoculación *in vitro* de *C. parasitica*. A: inoculación del micelio virulento. B: sellado. C: incubación.

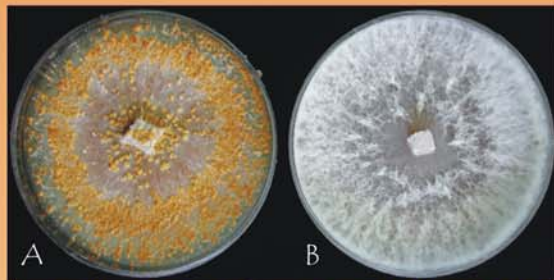


Figura 2. Aislados de *C. parasitica* utilizados en los ensayos de inoculación *in vitro*. A: aislado virulento. B: aislado hipovirulento.

RESULTADOS

En todos los tratamientos, excepto en el control, se produjeron síntomas de infección, sobre los fragmentos de castaño, que comenzaron a manifestarse a los 7 días de la inoculación con la aparición de un micelio blanco alrededor del punto de inoculación, el cual fue invadiendo progresivamente el material vegetal de castaño (figura 4A). En el caso del tratamiento virulento (vir) el micelio se extendió por toda la superficie del fragmento adquiriendo una tonalidad amarillenta, debida a la formación de los cuerpos de fructificación (figura 4B). Este tratamiento alcanzó el nivel 4 de severidad y un índice de enfermedad del 100% (figura 6).



Figura 4. A: Aspecto de los fragmentos de castaño a los 7 días de la inoculación. B: control virulento mostrando la presencia de cuerpos de fructificación (picnidios).

Transcurridos 35 días de la inoculación del micelio hipovirulento se observó una disminución en el área de corteza afectada (figura 5A). La incubación de los fragmentos por un tiempo superior a los 35 días conllevó una reducción drástica y en algunos casos la total desaparición del micelio virulento (figura 5B).

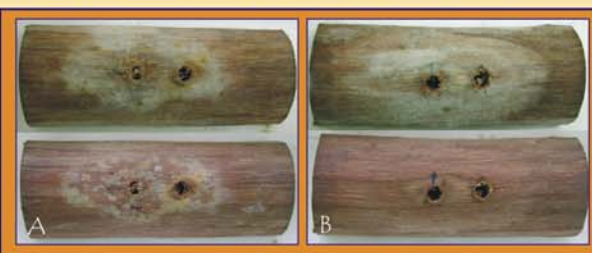


Figura 5. Aspecto de los fragmentos de castaño tras la incubación con el micelio hipovirulento. A: efecto a los 35 días. B: efecto a los tres meses.

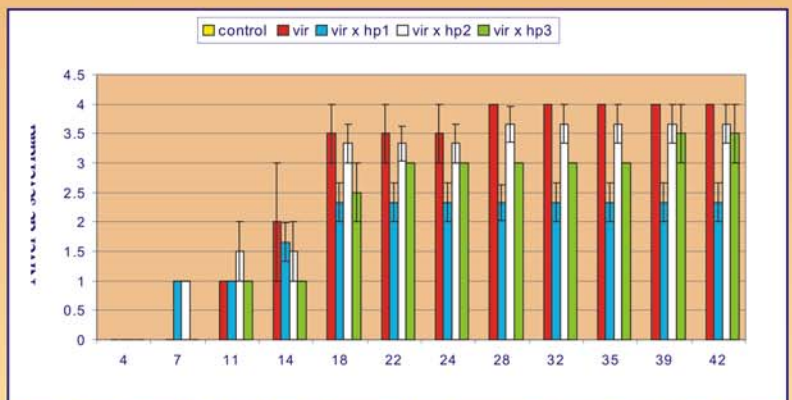


Figura 6. Nivel de severidad (media ± error estándar) de los tratamientos realizados con aislados virulentos e hipovirulentos de *Cryphonectria parasitica* sobre madera de castaño.

Todas las cepas hipovirulentas testadas transmitieron su efecto a la cepa virulenta ya que los tres tratamientos de interacción (vir x hp1, vir x hp2 y vir x hp3) produjeron una disminución del nivel de severidad y del índice de enfermedad con respecto al tratamiento vir (figura 6).

El aislado hp1 fue el que provocó un efecto más significativo. A los 35 días de la inoculación el nivel de severidad alcanzó un 2.33 y el índice de enfermedad disminuyó casi un 50% con respecto al tratamiento vir, alcanzando a los 42 días de ensayo el 58.3%, por lo que puede ser un candidato adecuado para realizar el control de la enfermedad (figura 6).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo indican la conveniencia de la aplicación de las cepas hipovirulentas en ensayos de campo previos a la puesta en marcha de un programa de control biológico del cancro a gran escala.

BIBLIOGRAFÍA

Lee, J.K., Tattar, T.A., Berman, P.M. Mount, M.S. 1992. A rapid method for testing the virulence of *Cryphonectria parasitica* using excised bark and wood of American Chestnut. *Phytopathology*, 82, 1454-1456.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecemos a Dña. Susana Rodríguez Varela, técnico de laboratorio de la Estación Fitopatológica do Areeiro, su aportación en la realización de este trabajo.