
Taxes de creixement de *Cryphonectria* *parasitica* (càncer del castanyer)

Núria Puigaslloras i Llavina

Secció de Fitopatologia
Departament de Biologia Vegetal
Facultat de Biologia
Universitat de Barcelona

El càncer del castanyer (Castanea sativa Mill.) és una malaltia produïda per un fong ascomicet (Cryphonectria parasitica (Murr.) Barr. (1978).

En un estudi previ s'havien recollit mostres d'escorça de castanyers infectats per Cryphonectria parasitica i es va cultivar el fong en medis de laboratori.

Aquestes mostres inicials provenien de Santa Fe de Montseny. Més endavant, es van estudiar mostres que es van recollir a les castanyerades del Montnegre. Es van estudiar, també, les taxes de creixement del fong de les mostres que provenien de les dues zones. Posteriorment, es va fer una anàlisi de la incidència de la malaltia.

Introducció

El càncer del castanyer és una greu malaltia d'aquest arbre (*Castanea sativa* Mill.) que fou descoberta al parc zoològic del Bronx (Nova York), l'any 1904, per Herman W. Merdel, i que en pocs anys es va estendre per Amèrica del Nord fins que el 1940 va destruir pràcticament tots els castanyers americans.

Aquesta malaltia és produïda per un fong ascomicet: *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr. (1978) [= *Endothia parasitica* Murr.], de l'ordre dels esferials, de la subdivisió Ascomycotina. Presenta una forma sexual o teleomòrfica que produeix ascòspores en asc que es desenvolupen a l'interior de peritecis de coll molt llarg immergits en un estroma. Les ascòspores ($30 \times 7-9 \mu\text{m}$) són hialines, bicel·lulars amb 1-4 nuclis, tenen una llarga supervivència i germinen amb facilitat. L'anamorfo, o individu en fase asexual, produeix espores en gran quantitat tant en cultiu com sobre les escorces infectades; els conidis són molt petits ($3-5 \times 1,5-2 \mu\text{m}$), es formen a l'interior dels picnidis i en surten formant cirrus de color taronja. Els conidis aïllats són incoloros i, a diferència de les ascòspores, són unicel·lulars.

S'ha constatat l'existència de dues soques d'aquest fong, una de virulenta (V) i una altra d'hipovirulenta (H), que no causa la mort de l'arbre. Sembla que la hipovirulència es localitza en un factor citoplasmàtic que seria transmissible a les soques virulentes a partir d'una soca hipovirulenta per anastomosi d'hifes, sempre que les dues soques siguin compatibles genèticament.

Síntomatologia

La infecció es localitza als branquillons joves dels castanyers, i l'arbre sol morir al cap de dos o tres anys d'aparèixer el càncer. El fong també ataca alguns arbres del gènere *Quercus*, com per exemple els roures.

La simptomatologia més evident en el castanyer és l'esgrogueïment i el marciment de les fulles, que acaben presentant coloració marró, com també la marcescència de les flors. Per sota de la zona on apareixen aquests símptomes, foliars, es forma una lesió de tipus càncer lleugerament enfonsada; al centre d'aquest tros d'escorça afectat, la fusta queda al descobert i humida. L'escorça propera al càncer sol allisar-se, esquerdar-se, humitejar-se i fins i tot poden formar-se edemes. Després, apareixen estromes de color carabassa, típics a la zona del càncer, i en temps humits surten els circells de color groc ataronjat formats per conidis.

Les lesions de tipus càncer també poden localitzar-se a la soca de l'arbre o als rebrots. El fong envaeix el cambium vascular i fins i tot el xilema i, en conseqüència, l'arbre mor. No obstant això, l'arbre rebrota per la base de la soca; els plançons sovint són infectats de nou abans que l'arbre arribi a l'edat productiva.

Els primers estadis del desenvolupament natural del càncer són poc coneguts, però probablement els conidis i les ascòspores germinen i produeixen tubs germinatius i hifes ramificades damunt de les ferides recents o en noves esquerdes de l'escorça prèvies a la infecció.

Aquesta lesió inicial s'atura quan a la zona es comencen a formar cèl·lules lignificades (d'1 a 15 cèl·lules) a tot el

voltant; aquesta zona lignificada és impermeable a l'aigua i fa la funció de barrera impedit el creixement de les hifes des de la lesió cap als teixits profunds de l'escorça.

Fisiologia

Una propietat força important d'aquest fong és la producció de pigments, tant en cultiu com sobre l'hoste. La pigmentació del miceli i l'estroma va del groc al castany, depenent de la composició del medi de cultiu, de l'edat del cultiu, etc.

En el medi de cultiu, *Chyphonectria parasitica* forma el pigment entre el quart i el sisè dia després de la sembra. Segons Sando, la coloració del fong abans indicada la donen tres pigments: A, B i C; l'A i el C són grocs i insolubles en l'aigua; i el tercer pigment, el B, el va anomenar vermell d'endotina i pertany al grup dels flavonoides.

La producció de pigments i la reproducció asexual estan molt correlacionades en aquesta espècie, fins al punt que un criteri experimental per separar les soques virulentes (V) de les hipovirulentes (H) és que les soques (H) no produeixen pigments ni picnidis en els medis de cultiu més usuals. Es desconeixen encara els complexos metabòlics i les rutes que indueixen i desenvolupen les fructificacions.

Materials i mètodes

Per constatar l'existència de *Chyphonectria parasitica* al Montnegre i el Corredor, es van recol·lectar mostres de castanyers a la carretera de Vallgorguina i a Olzinelles. Els castanyers mostrejats presentaven lesions de tipus càncer als branquillons i unes esquerdes a l'escorça amb presència d'estromes, peritecis i picnidis. A partir dels trossos d'escorça infectats, es van fer preparacions microscòpiques dels peritecis i dels picnidis per tal d'identificar-ne l'agent patògen.

En uns experiments previs, en què s'havien pres mostres de Santa Fe de Montseny, es van fer estudis de taxes de creixement i control amb fungicides de *Chyphonectria parasitica*.

Per a les mostres recollides, es van utilitzar tres medis de cultiu diferents per aïllar el fong: un medi citat a la bibliografia, força específic; un altre medi fet amb infusió de castanyer; i el tercer, molt senzill, amb PDA i solució nutritiva.

Medi específic

PDA (patata, dextrosa i agar)	42 g/l
Glucosa	50 g/l
Extracte de llevat	5 g/l
Solució nutritiva	90 g/l

Medi amb infusió de castanyer

Format per PDA enriquit amb sals minerals i infusió de castanyer.

Medi senzill

Format per PDA i solució nutritiva.

Un cop preparats els medis, es tanquen amb el sistema d'autoclau durant 20 min a 120 °C. La solució de sals minerals és formada per nitrat càlcic, nitrat potàssic, fosfat monopotàssic i sulfat magnèsic.

Quan els medis es troben a 60 °C, es distribueixen en plaques de Petri, en les quals, després de deixar refredar, se sembra un trosset d'escorça de castanyer que conté les fructificacions del fong, prèvia desinfecció superficial amb Oxisprit i rentada posterior amb alcohol de 70°. Es precinten les plaques amb Parafilm i es col·loquen en una cambra de cultiu a 23 °C i amb un règim de llum-fosc de 12-12 hores. A mesura que creix el miceli, va adquirint pigmentació i també s'hi van formant picnidis.

Resultats i discussió

Primer es va procedir al cultiu de *Chyphonectria parasitica* en medi amb PDA mantingut a l'estufa a 25 °C i fosc. En aquestes condicions el fong no creixia ni apareixien fructificacions de cap mena. Si aquestes plaques es posaven a la claror, el fong començava a créixer, fructificava i es pigmentava de carabassa en 6 o 7 dies.

De totes les plaques sembrades i posades a la claror, al cap de sis dies la majoria ja ocupaven la meitat de la placa. S'observava, també, una pigmentació en forma d'anells concèntrics que corresponien als diferents períodes d'il·luminació. En condicions de llum, la pigmentació és molt més marcada. Als sis dies de la sembra, observem, doncs, un major creixement en les plaques que estan exposades a la claror que les que són a les fosques (figura 1).

L'aparició de la pigmentació es produeix als quatre dies després de la sembra, començant per un color groc que de mica en mica es va tornant carabassa.

Les taxes de creixement en cadascun dels medis de cultiu van ser les següents:

— Medi amb infusió de castanyer: la mitjana de creixement de les plaques en sis dies és de 59,24 mm de diàmetre màxim. Aquest valor representa una taxa de creixement de 8,46 mm/dia.

— Medi PDA + solució nutritiva: la mitjana de creixement de les plaques en tres dies és de 24,6 mm de diàmetre màxim. Aquest valor representa una taxa de creixement de 8,2 mm/dia.

— Medi enriquit: la mitjana de creixement de les plaques en deu dies és de 80 mm de diàmetre màxim. Aquest valor representa un taxa de creixement de 10 mm/dia.

Les diferències no són gaire significatives pel que fa a taxes de creixement. Però si ens fixàvem en el desenvolupament global del fong si aquest creixia en el medi enriquit, en només tres dies la diferència respecte a les plaques que només contenien PDA més solució nutritiva era molt gran. Les plaques amb el medi ric presentaven ja una coloració carabassa total i tenien ja uns picnidis perfectament formats i amb les conodiòspores madures, mentre que en les altres plaques no apareixia coloració carabassa, només al voltant més immediat a l'indòcul. Cap placa no tenia picnidis ni cap altre tipus de fructificació.

S'han iniciat proves de control del fong amb fungicides citats per la bibliografia i de moment tots els resultats obtinguts semblen confirmar que el fong és resistent als fungicides.

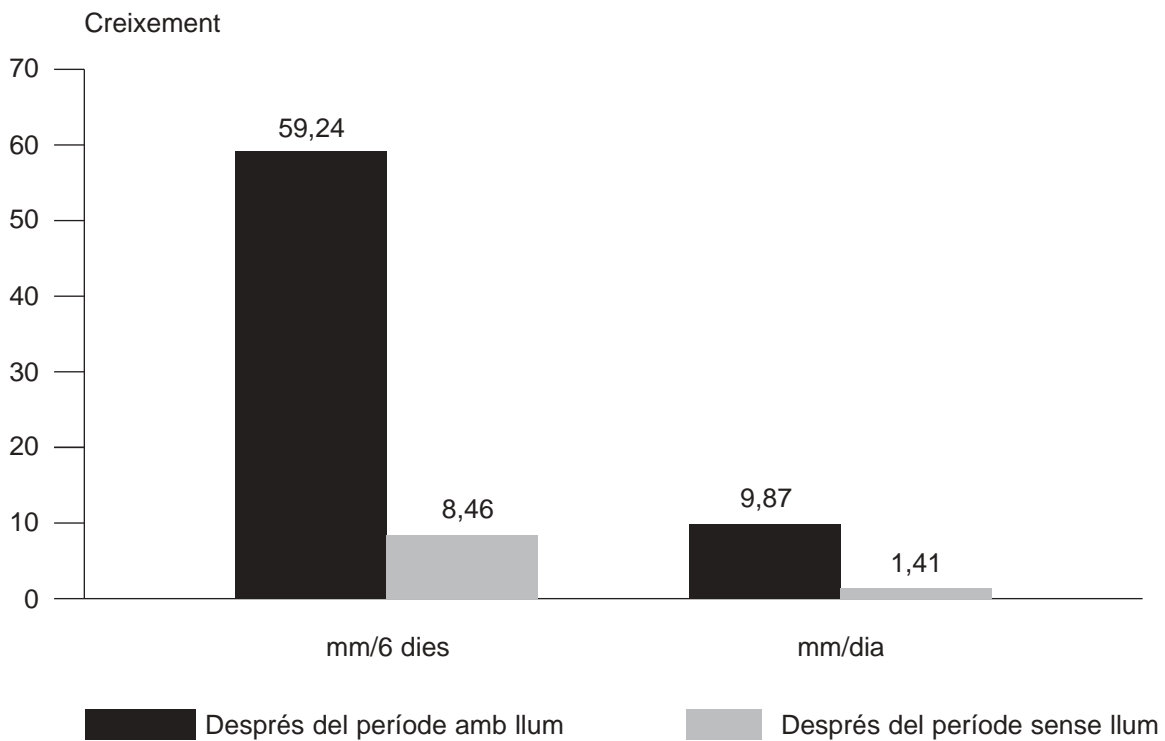


Figura 1. Taxes de creixement en medi de castanyer.

De totes maneres, hem observat que, de fet, els productes químics assajats actuen com a fungistàtics, és a dir, que cal que el fong estigui en contacte amb el producte químic per tal que aquest producte freni l'avanç del fong. Si un inòcul que ha estat en contacte amb un fungicida es tornava a sembrar en medi que no contenia fungicida, el fong es tornava a desenvolupar amb perfecta normalitat.

Conclusions

Un cop analitzats els resultats, podem concloure que *Cryphonectria parasitica* és un fong de creixement ràpid si se sotmeten els cultius a fotoperíodes apropiats.

El creixement s'accelera força emprant medis de cultiu específics o el preparat amb infusió de castanyer, però el creixement no és bo en medis senzills com ara el PDA.

Caldrà assajar nous productes per aconseguir el control d'aquesta malaltia.

Bibliografia

Anagnostakis, S.L. (1975): «Chestnut blight: biological control by transmissible hypovirulence in *Endothia parasitica*», *Science*, 189: 890-891.

Anagnostakis, S.L.; P.E. Waggoner (1981): «Hypovirulence, vegetative incompatibility and the growth of cankers of chestnut blight», *Phytopathology*, vol. 71, núm. 11.

Anagnostakis, S.L.; P.R. Day (1979): «Hypovirulence conversion in *Endothia parasitica*», *Phytopathology*, vol. 71, núm. 12.

Day, P.R.; J.A. Dodds; J. Elliston; R.A. Jaynes; S.L. Anagnostakis (1977): «Double-stranded RNA in *Endothia parasitica*», *Phytopathology*, vol. 67.

Dodds, J.A. (1980): «Revised estimates of the molecular weights of dsRNA segments in Hypovirulence strains of *Endothia parasitica*», *Phytopathology*, vol. 67.

Hilman, B.I.; R. Shapira; D.L. Nuss (1990): «Hypovirulence-associated suppression of host functions in *Endothia parasitica* can be partially relieved of high light intensity», *Phytopathology*, vol. 80, núm. 10.

Roane, M.K.; G.J. Griffin; Rushekin (1986): «Chestnut blight and other *Endothia* diseases, and the genus *Endothia*», *APS PRESS*. The American Phytopathological Society.

Van Alfen, N.K. (1982): «Biology and potential for disease control of hypovirulence of *Endothia parasitica*», *Ann. Rev. Phytopathology*, 20: 349-362.

Van Alfen, N.K.; R.A. Jaynes; J.T. Bowman (1978): «Stability of *Endothia parasitica* hypovirulence in culture», *Phytopathology*, vol. 67.