



Diputación Provincial de Pontevedra
Servicio Agrario
Estación Fitopatológica “Do Areiro”
Subida a la Robleada s/n
36153 Pontevedra
efa@efa-dip.org



XUNTA DE GALICIA
CONSELLERÍA DE MEDIO AMBIENTE
Dirección Xeral de Montes
e Industrias Forestais
San Lázaro s/n
15781 Santiago de Compostela



ESTUDIO DE LOS TIPOS DE COMPATIBILIDAD VEGETATIVA DE *CRYPHONECTRIA PARASITICA* EN CASTAÑOS DE GALICIA

O. AGUÍN¹, J.P. MANSILLA¹, M. MATA¹, A. ROMERO² Y F. RUIZ²

¹ Estación Fitopatológica “Do Areiro”, Excma. Diputación Provincial de Pontevedra, 36153 Pontevedra. www.efa-dip.org

² Xunta de Galicia. Consellería de Medio Ambiente. Dirección Xeral de Montes e Industrias Forestais. San Lázaro s/n.15703 Santiago de Compostela. A Coruña.

INTRODUCCIÓN

El chancro del castaño es una enfermedad de cuarentena cuyo agente responsable es *Cryphonectria parasitica* Murrill (Barr).

La alta presencia de este patógeno en castaños del norte peninsular (Mansilla et al., 2000;Valdezate et al., 2001;Homs et al., 2002) hace necesario la puesta en marcha de un sistema de control que minimice o atenué los daños que ocasiona. Hasta el momento el control biológico, mediante la utilización de cepas hipovirulentas está siendo el más efectivo en países europeos como Italia y Francia (Cortesi et al., 1998). Pero el éxito de este método está condicionado, entre otros factores, a que el número de tipos de compatibilidad vegetativa (vc) de las poblaciones de *C. parasitica* sea bajo y a que el micelio hipovirulento sea compatible con el virulento ya que la transmisión del hipovirus es más eficaz entre cepas pertenecientes al mismo tipo de compatibilidad (Anagnostakis, 1977).

Por lo tanto el objetivo de este trabajo fue determinar los grupos de compatibilidad vegetativa (vc) de *C. parasitica* en castaños de Galicia como paso previo al establecimiento de un programa para el control biológico del chancro del castaño en la comunidad autónoma gallega.

MATERIAL Y METODOS

Para el estudio de la compatibilidad vegetativa se utilizaron 196 aislados virulentos de *C. parasitica* procedentes de muestras de castaño recogidas en las cuatro provincias gallegas (108 aislados de Ourense, 10 de A Coruña, 64 de Lugo y 14 de Pontevedra). Se siguió el método de barrera/fusión en el medio PDA_g descrito por Powell (1995), que contiene potato dextrosa broth (24 gl⁻¹), extracto de malta (7 gl⁻¹), extracto de levadura (2 gl⁻¹), ácido tánico (0,8 gl⁻¹) y agar (20 gl⁻¹), suplementado con el colorante bromocresol verde (50 mg l⁻¹) que facilita la observación de la barrera formada entre los aislados incompatibles (Cortesi et al., 1996,1998).



Diputación Provincial de Pontevedra
Servicio Agrario
Estación Fitopatológica “Do Areeiro”
Subida a la Robleda s/n
36153 Pontevedra
efa@efa-dip.org



XUNTA DE GALICIA
CONSELLERÍA DE MEDIO AMBIENTE
Dirección Xeral de Montes
e Industrias Forestais
San Lázaro s/n
15781 Santiago de Compostela



En una placa Petri, con medio PDA_g, se colocaron a 1 cm del margen de la placa ocho parejas de confrontaciones. Cada confrontación está formada por dos micelios enfrentados separados entre sí 1 mm. Las placas se mantienen a 24°C en cámara de cultivo.

Una confrontación se considera compatible, es decir, que los micelios enfrentados son del mismo tipo de compatibilidad, cuando se fusionan completamente, mientras que en una reacción incompatible se forma una barrera visible entre los dos micelios y se observa una decoloración oscura en el agar en la base de la placa Petri.

Se enfrentaron los aislados obtenidos en cada provincia en todas las combinaciones posibles, y un aislado de cada tipo de compatibilidad vegetativa (vc) resultante se conservó como representante del grupo.

Una vez establecidos los tipos en cada provincia se ensayaron entre si para obtener los tipos de Galicia y finalmente estos tipos se confrontaron con las cepas europeas de referencia europea (EU1 a EU64). Se calculó el índice de diversidad de Shannon (Anagnostakis et al., 1986).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se establecieron ocho tipos de compatibilidad vegetativa en las cuatro provincias estudiadas a partir de los 196 aislados virulentos analizados (Tabla 1).

Cada aislado fue incluido en un único tipo vc. El número de tipos vc detectados en cada provincia varió de 2 a 7.

Así, en la provincia de Ourense, a partir de los 108 aislados, se obtuvieron 7 grupos de compatibilidad vegetativa aunque la mayoría de las muestras (91%) se incluyeron en dos grupos. En Coruña se encontraron cuatro grupos de compatibilidad. Por otro lado en Pontevedra se establecieron 3 grupos para un total de 14 cepas (Tabla 1). En Lugo se determinaron 2 grupos a partir del estudio de 64 aislados.

El estudio de compatibilidad entre los tipos de cada provincia indicó la presencia de un mismo vc (tipo C) en las cuatro provincias, incluyendo el 8% de los aislados.

Se establecieron tres tipos que únicamente estaban constituidos por una sola muestra (tipos F,G y H).

En el estudio de la compatibilidad vegetativa con las cepas de referencia europeas (EU1-EU64) se encontró que solo el tipo E fue compatible con la cepa EU1. Los siete grupos restantes fueron incompatibles con las cepas de referencia analizadas.

El tipo EU1 se encuentra dentro de los más frecuentes en Europa y se ha publicado su presencia en diferentes países (Trestic et al, 2001; Cortesi et al, 1998, Adamciková y Juhásová, 2003).



Diputación Provincial de Pontevedra
Servicio Agrario
Estación Fitopatológica "Do Areiro"
Subida a la Robleda s/n
36153 Pontevedra
efa@efa-dip.org



XUNTA DE GALICIA
CONSELLERÍA DE MEDIO AMBIENTE
Dirección Xeral de Montes
e Industrias Forestais
San Lázaro s/n
15781 Santiago de Compostela



En España, los estudios realizados sobre la diversidad de las poblaciones de *C. parasitica*, muestran al tipo EU2 como el más abundante mientras que, en menor proporción, se presentan los tipos EU12 y EU1 (Colinas y Usplic, 1999; Homs et al, 2002).

El índice de diversidad de Shannon de los vc encontrados en Galicia varió entre 0,31 y 1,28 (tabla 2). Se han determinado ocho vc en las poblaciones estudiadas pero la mayoría de los aislados pertenecen a un solo tipo, el denominado A que incluye el 70 % de los aislados.

La baja diversidad de tipos vc establecidos (la mayor parte de los aislados se incluyen en un mismo tipo vc) facilita el éxito del control de *C. parasitica* mediante la aplicación de micelio hipovirulento. Sin embargo esta diversidad puede verse incrementada, con el paso del tiempo, debido a la entrada de castaños infectados procedente de otras zonas. Esto puede producir nuevos focos de enfermedad y la introducción de nuevos alelos o loci de incompatibilidad vegetativa (vic) que den lugar a recombinaciones con los tipos existentes y, en consecuencia, produzcan una mayor diversidad de tipos de compatibilidad vegetativa, lo que dificultaría la eficacia del control biológico con cepas hipovirulentas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido parcialmente financiado con fondos FEOGA-Or. Los autores quieren agradecer al Dr. Paolo Cortesi, Dr. Milgroom, D. Miguel Hermida, Dña. Angeles Barros y a D. Manuel Vilas. la aportación a este trabajo.

REFERENCIAS

- ADAMCÍKOVÁ, K. & JUHÁSOVÁ, G. 2003. Diversity of subpopulation of *Cryphonectria parasitica* in Horná Nitra. *Folia oecologica* 30/1:149-155.
- ANAGNOSTAKIS, S.L. 1977. Vegetative incompatibility in *Endothia parasitica*. *Experimental Mycology*, 1: 306-316.
- ANAGNOSTAKIS, S.L., HAU, B. AND KRANZ, J. 1986. Diversity of vegetative compatibility groups of *Cryphonectria parasitica* in Connecticut and Europe. *Plant Disease* 70: 536-538.
- COLINAS, C. ; USCUPPLIC, M. 1999. Studies on Chestnut blight (*Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr) in North-East Spain. *Acta Horticulturae* 494:495-500.
- CORTESI, P., MILGROOM, M.G. & BISIACH M. 1996. Distribution and diversity of vegetative compatibility types in subpopulations of *Cryphonectria parasitica* in Italy. *Mycol. Res.*, 100: 1087-1093.



Diputación Provincial de Pontevedra
 Servicio Agrario
 Estación Fitopatológica “Do Areeiro”
 Subida a la Robleada s/n
 36153 Pontevedra
 efa@efa-dip.org



XUNTA DE GALICIA
 CONSELLERÍA DE MEDIO AMBIENTE
 Dirección Xeral de Montes
 e Industrias Forestais
 San Lázaro s/n
 15781 Santiago de Compostela



CORTESI, P., RIGLING, D. & HEINIGER, U. 1998. Comparison of vegetative compatibility types in Italian and Swiss subpopulations of *Cryphonectria parasitica*. Eur. J. For. Path. 28: 167-176.

HOMS, G., RODRÍGUEZ, J., RIGLING, D. & COLINAS, C. 2002. Caracterización de la población de *Cryphonectria parasitica* y detección de cepas hypovirulentas en 3 subpoblaciones de Cataluña. Actas del III Congreso Forestal Español. Ed. Junta de Andalucía.

MANSILLA, J.P., PINTOS, C.; SALINERO, M.C. 2000. Plagas y enfermedades del castaño en Galicia. Ed. Xunta de Galicia. 93 páginas

POWELL, W.A. 1995. Vegetative incompatibility and mycelial death of *Cryphonectria parasitica* detected with a pH indicator. Mycologia 87: 738-741.

TRESTIC, T.; USCUPLIC, M; COLINAS, C.; ROLLAND, G.; GIRAUD, A. AND ROBIN, C. 2001. Vegetative compatibility type diversity of *Cryphonectria parasitica* populations in Bosnia-Herzegovina, Spain and France. Forest Snow Landscape Research. 76:391-396

VALDEZATE, C., ALZUGARAY, R., LANDERAS E. y BRAÑA, M. 2001. Situación actual de *Cryphonectria parasitica* (Murril) Anderson, cancro cortical, en los castaños asturianos. Bol. San. Veg. Plagas, 27: 401-410.

Tablas

Tabla 1. Diversidad de los grupos de compatibilidad vegetativa de *Cryphonectria parasitica* en Galicia

VC TIPOS	PROVINCIA			
	ORENSE	CORUÑA	PONTEVEDRA	LUGO
A	79	1	0	58
B	2	4	0	0
C	20	2	2	6
D	4	0	0	0
E	1	3	11	0
F	1	0	0	0
G	1	0	0	0
H	0	0	1	0
N ^a	108	10	14	64
S ^b	7	4	3	2
S/N	0,06	0,4	0,2	0,03
H' ^c	0,86	1,28	0,65	0,31

a Tamaño de cada subpoblación (nº de aislados).

b Nº de vc encontrados en cada subpoblación.

c Índice de diversidad de Shannon: $H' = -(\sum p_i \ln p_i)$, donde p_i es la frecuencia de cada vc.



Diputación Provincial de Pontevedra
Servicio Agrario
Estación Fitopatológica "Do Areiro"
Subida a la Robleda s/n
36153 Pontevedra
efa@efa-dip.org



XUNTA DE GALICIA
CONSELLERÍA DE MEDIO AMBIENTE
Dirección Xeral de Montes
e Industrias Forestais
San Lázaro s/n
15781 Santiago de Compostela



Figura 1. Distribución de los ocho grupos de compatibilidad vegetativa de *Cryphonectria parasitica* en Galicia

