

LIÑAS DE INVESTIGACIÓN PARA A LOITA CONTRA O CANCRO E OS PERFORADORES DA CASTAÑA

ESTACIÓN FITOPATOLÓXICA DO AREEIRO
DEPUTACIÓN PONTEVEDRA

I XORNADAS INTERNACIONAIS SOBRE O CASTIÑEIRO

Ourense 22, 23 e 24 de Maio de 2008





El Castaño

Castanea sativa Miller

Árbol emblemático en el entorno gallego

Importancia económica, social y ecológica

Poblaciones en reducción: acción de patógenos

EFA: Líneas de investigación para el control de patógenos

Cancro del castaño: *Cryphonectria parasitica*

Perforadores de la castaña: NEPs

ESTUDIO DE LAS POBLACIONES DE
CRYPHONECTRIA PARASITICA EN
GALICIA

Líneas de investigación

- ✓ Estudiar la distribución e incidencia de *C. parasitica*
- ✓ Determinar la virulencia de los aislados obtenidos
- ✓ Establecer los tipos de compatibilidad vegetativa (vc)
- ✓ Determinar la patogenicidad de los tipos vc
- ✓ Determinar el tipo vc de las cepas hipovirulentas
- ✓ Establecer el tipo de reproducción predominante

Cryphonectria parasitica (Murrill) Barr

Responsable de la enfermedad conocida como cancro del castaño (Chestnut blight disease)

Ascomiceto. Orden Diaporthales

Origen asiático, fue introducido en Europa hacia 1938

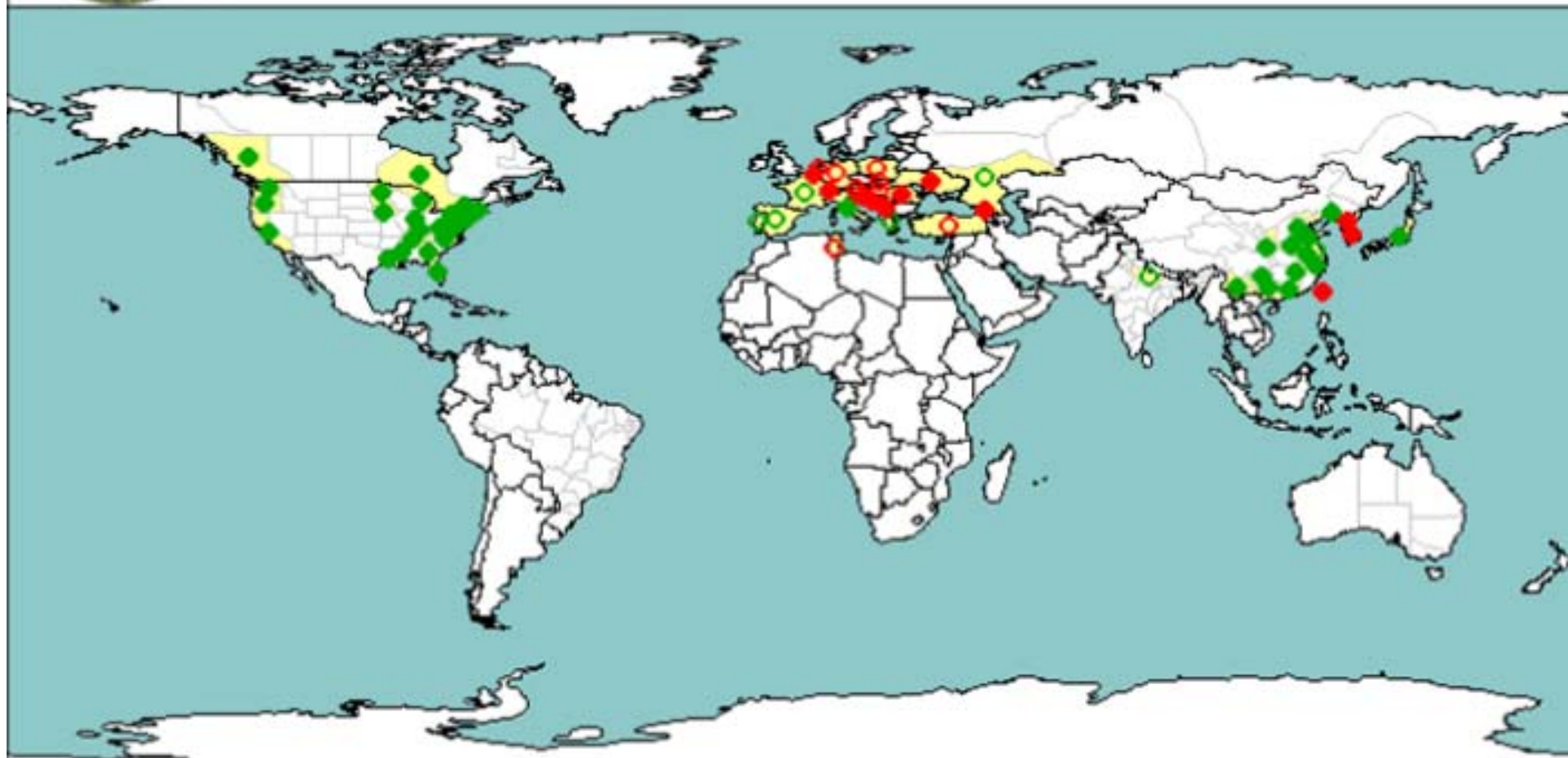
En España la primera referencia se sitúa en los años 40

En la actualidad afecta gravemente a los castaños de Galicia



Distribution Maps of Quarantine Pests for Europe

Cryphonectria parasitica



National record



Present



Present only in some areas

Subnational record



Present



Present only in some areas

Areeiro



MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESQUERÍA Y RURAL

Síntomas característicos del Cancro

Enrojecimiento



Hendiduras longitudinales



Síntomas característicos del Cancro

Micelio blanco bajo la corteza



Cuerpos de fructificación



Distribución e incidencia de *C. parasitica*

Muestreo 2003: A Coruña, Lugo, Ourense y Pontevedra

Muestreo 2007: Lugo y Ourense

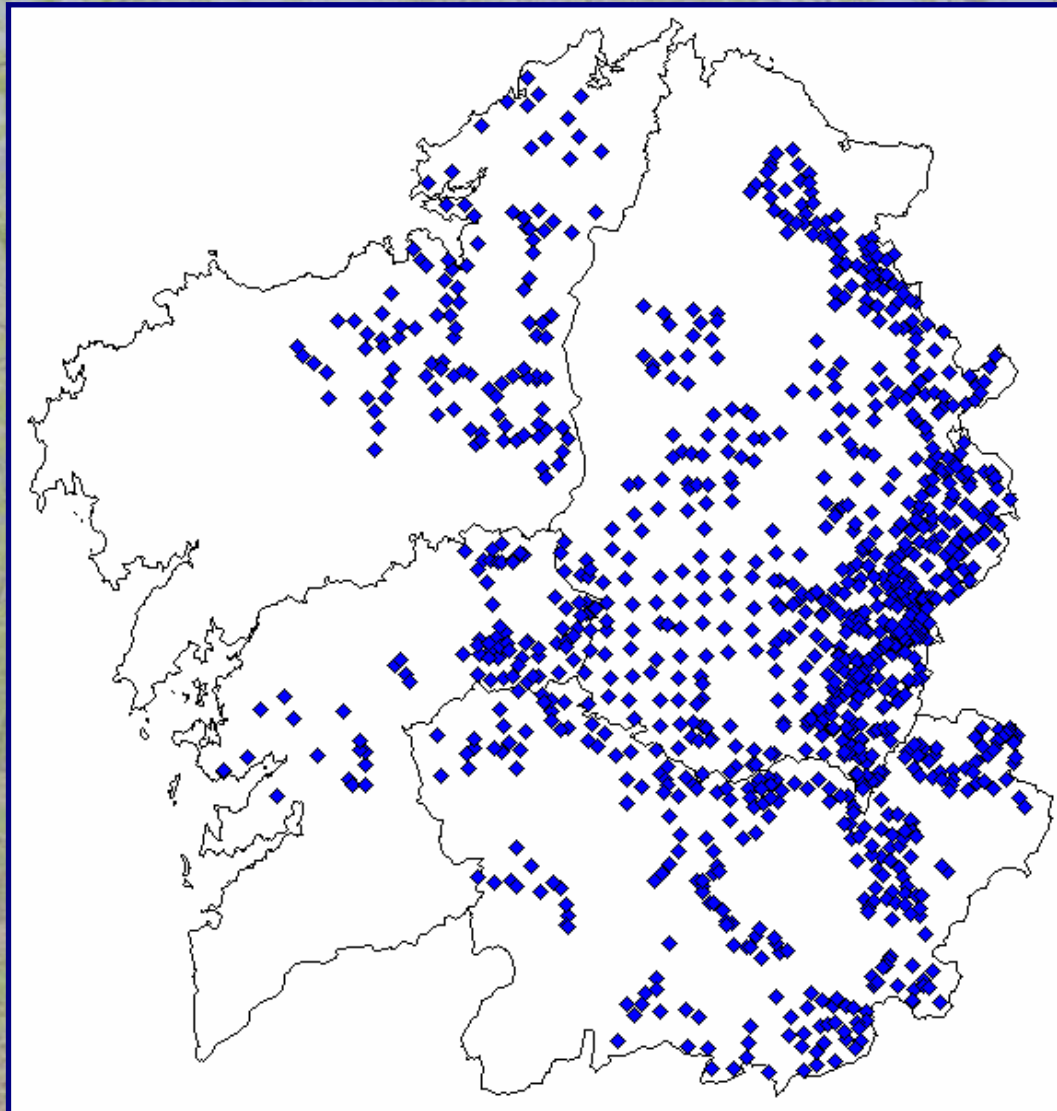
Se recogen muestras de corteza de castaños afectados

Aislamiento en medio PD Amb



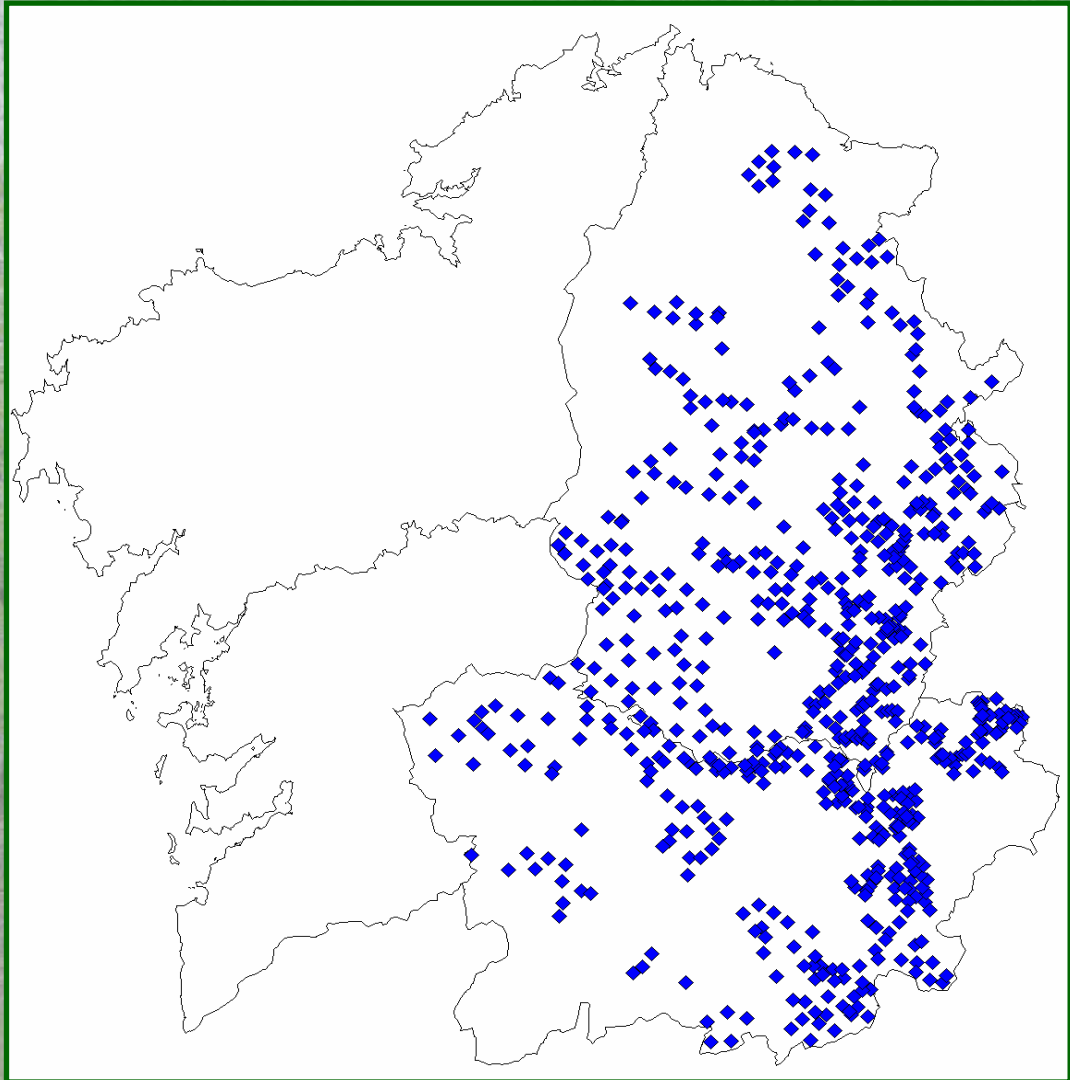
Puntos de muestreo de *Cryphonectria parasitica* año 2003

* 1060 puntos inspeccionados: 130 ayuntamientos: 278 aislados



Puntos de muestreo de *Cryphonectria parasitica* año 2007

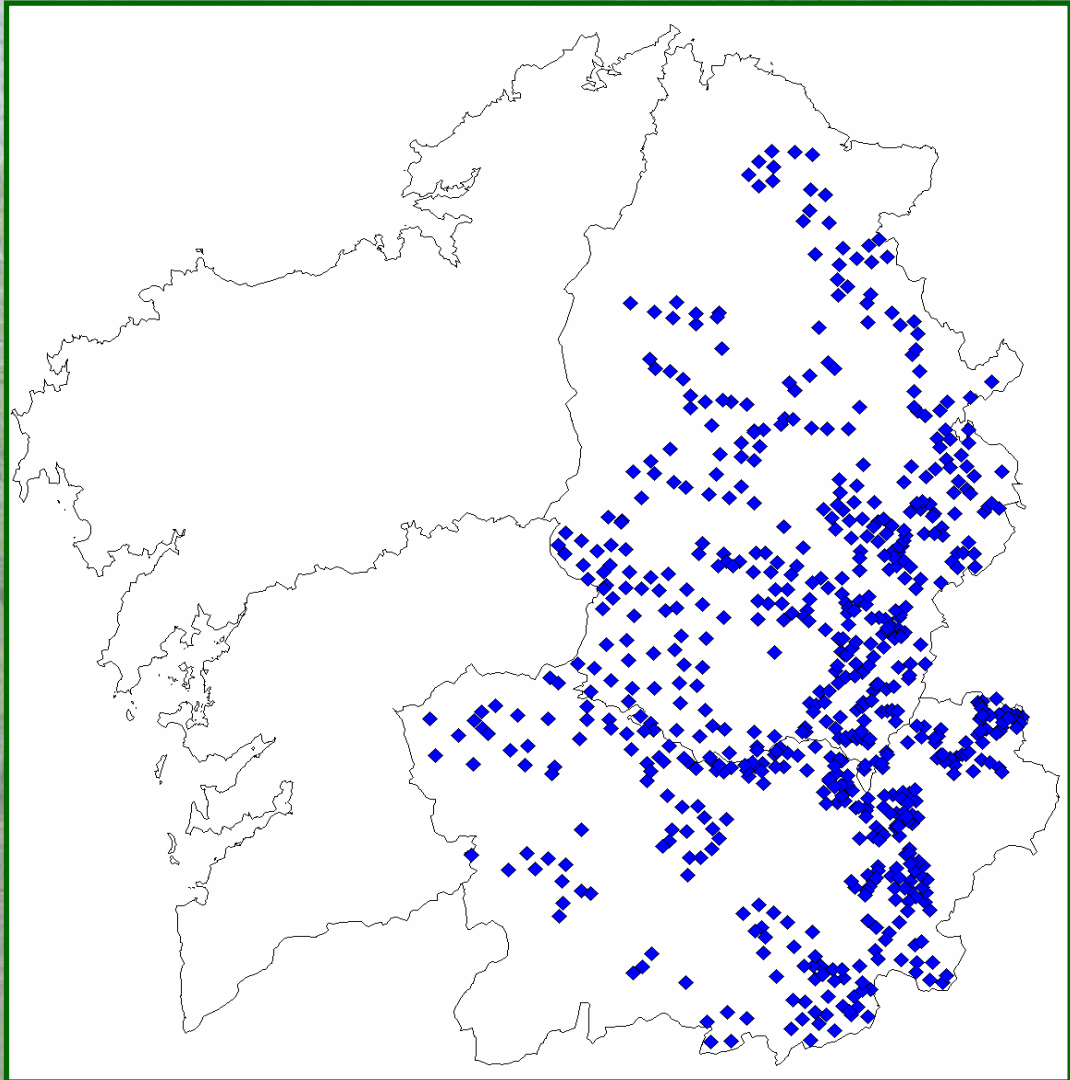
* 668 puntos inspeccionados: 102 ayuntamientos: 612 aislados



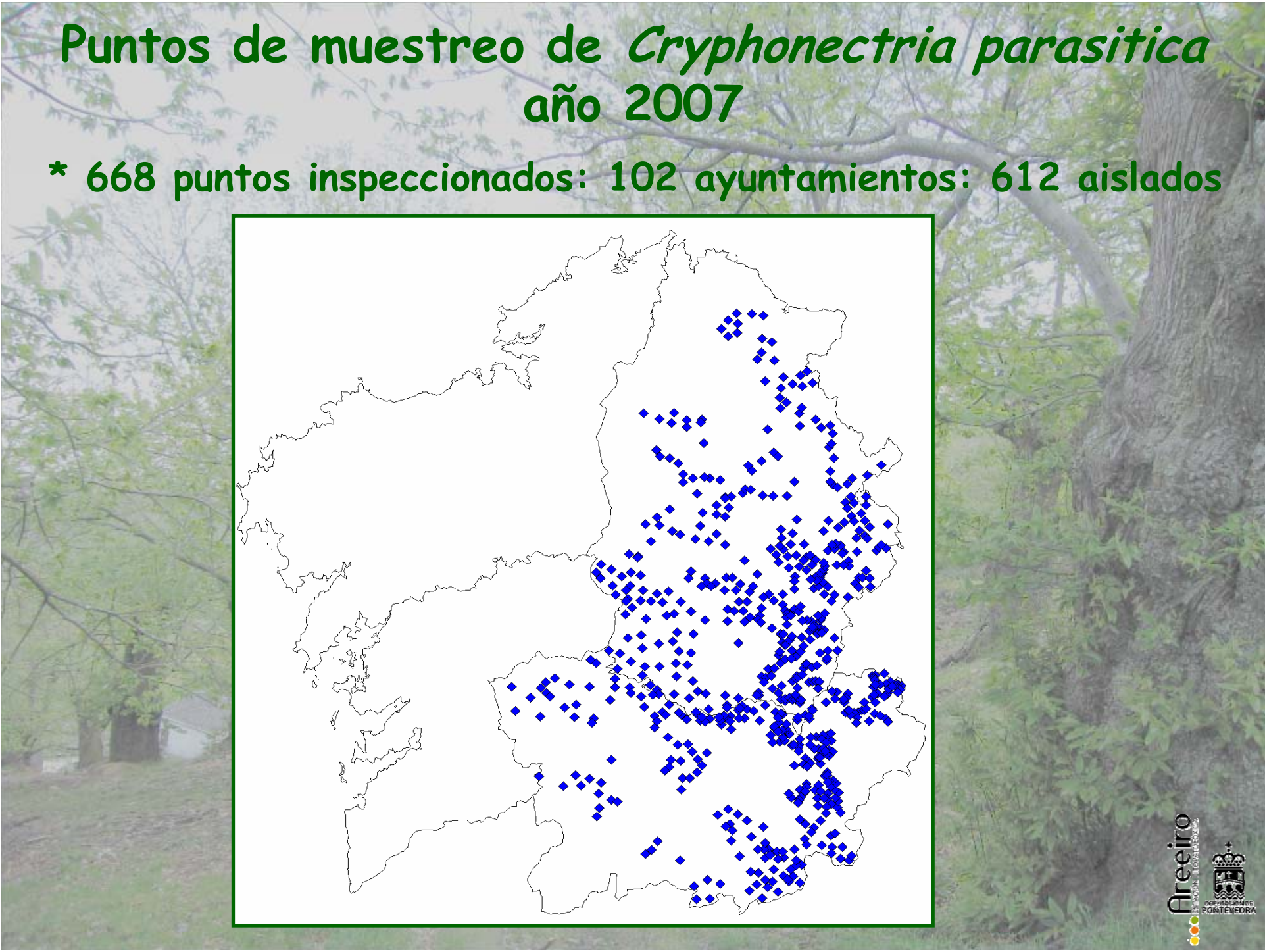
Areeiro
OPORTECENARIOS
PONTENEIRA

Puntos de muestreo de *Cryphonectria parasitica* año 2007

* 668 puntos inspeccionados: 102 ayuntamientos: 612 aislados



Areeiro
OPORDEAMENTO
PONTENEIRA



Virulencia de las cepas de *C. parasitica*

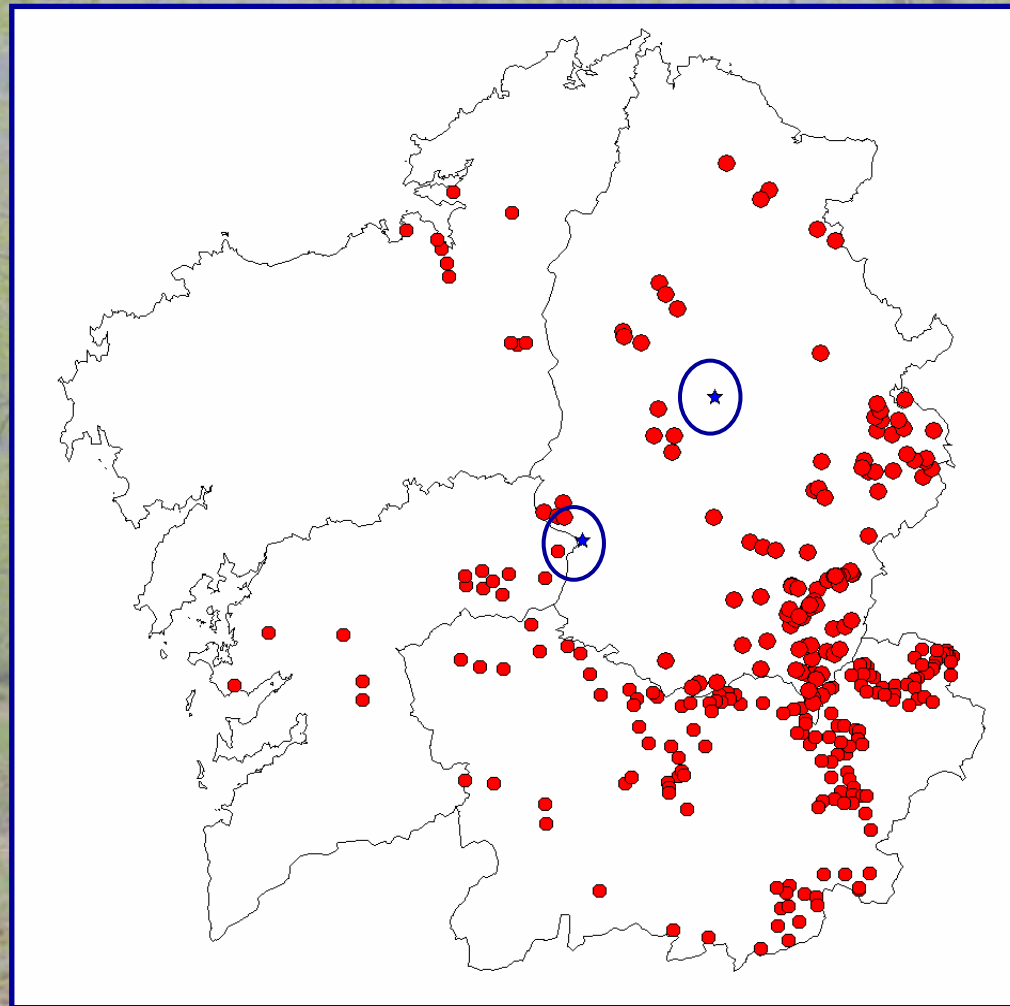
Virulento

Hipovirulento



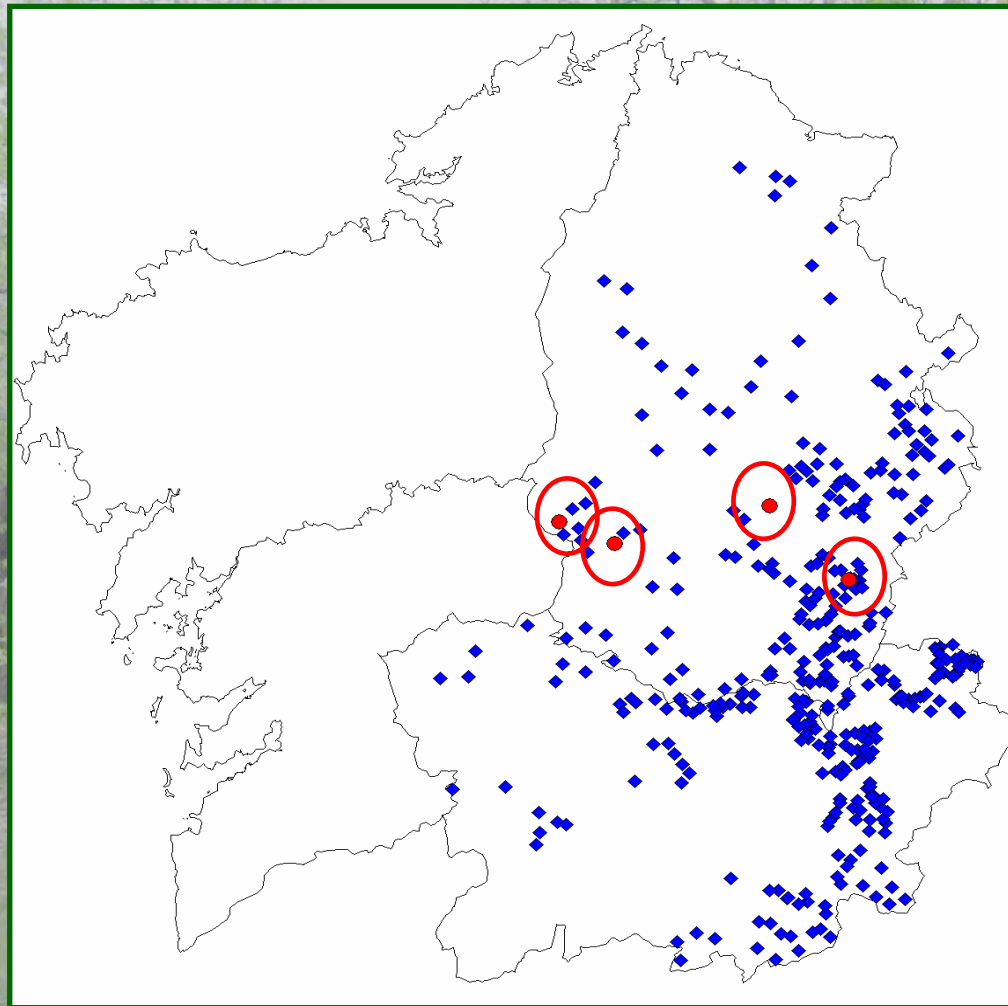
Virulencia de los aislados de *C. parasitica* en Galicia muestreo 2003

278 aislados: 276 virulentos, 2 hipovirulentos (Lugo)



Virulencia de los aislados de *C. parasitica* en Galicia muestreo 2007

612 aislados: 608 virulentos, 4 hipovirulentos (Lugo)
(caracterizados molecularmente)



Morfología de los aislados de *C. parasitica*



Virulentos

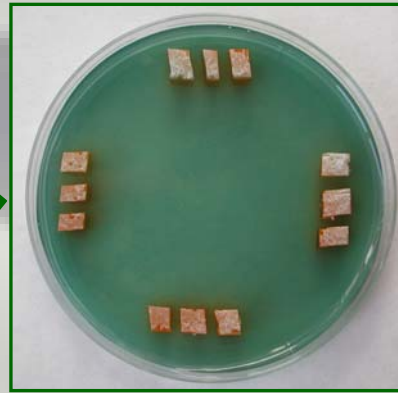


Hipovirulentos

Determinación de los tipos de compatibilidad vegetativa

Clasificación de las poblaciones en grupos de compatibilidad o tipos VC: Método barrera/fusión

Incompatibles: línea de coloración negra visible en la placa

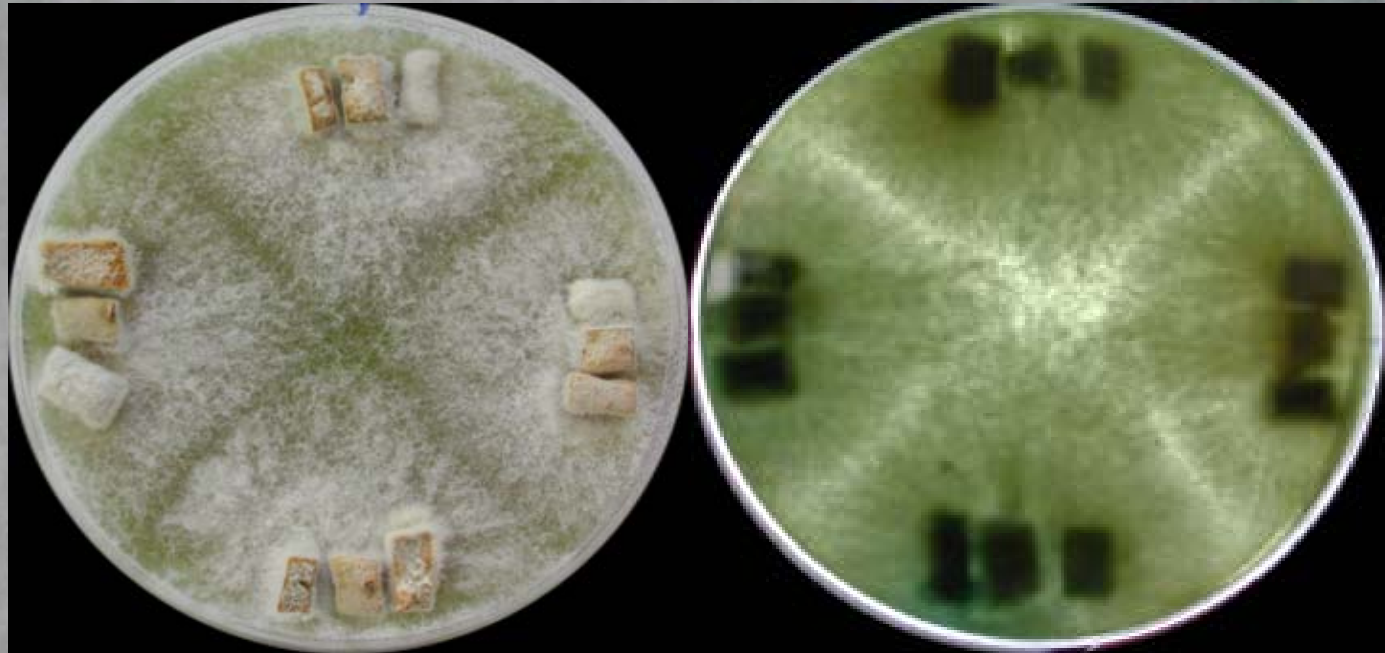


Compatibles: ausencia de barrera entre aislados

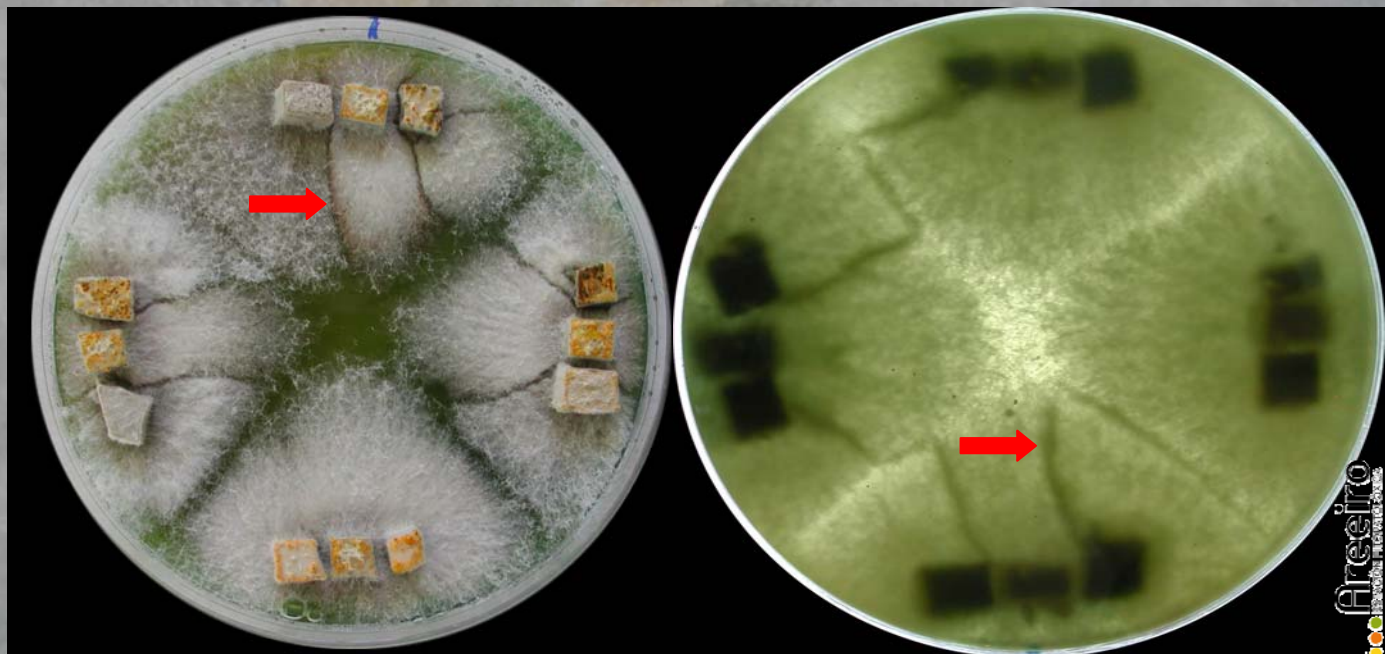


Determinación de los tipos VC

Compatibles



Incompatibles

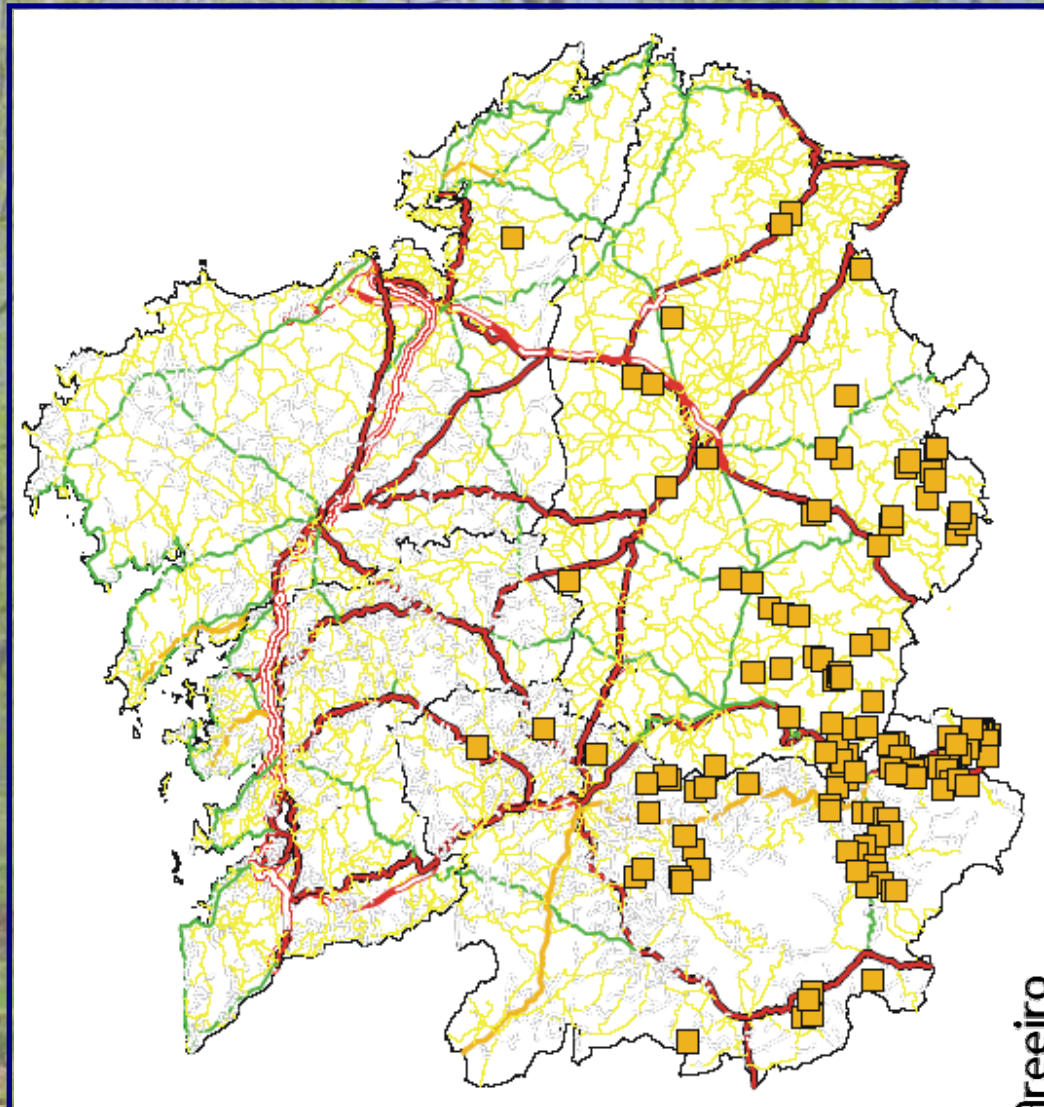


Diversidad y distribución de tipos VC en Galicia

* 8 tipos VC: A-H

Tipo VC A

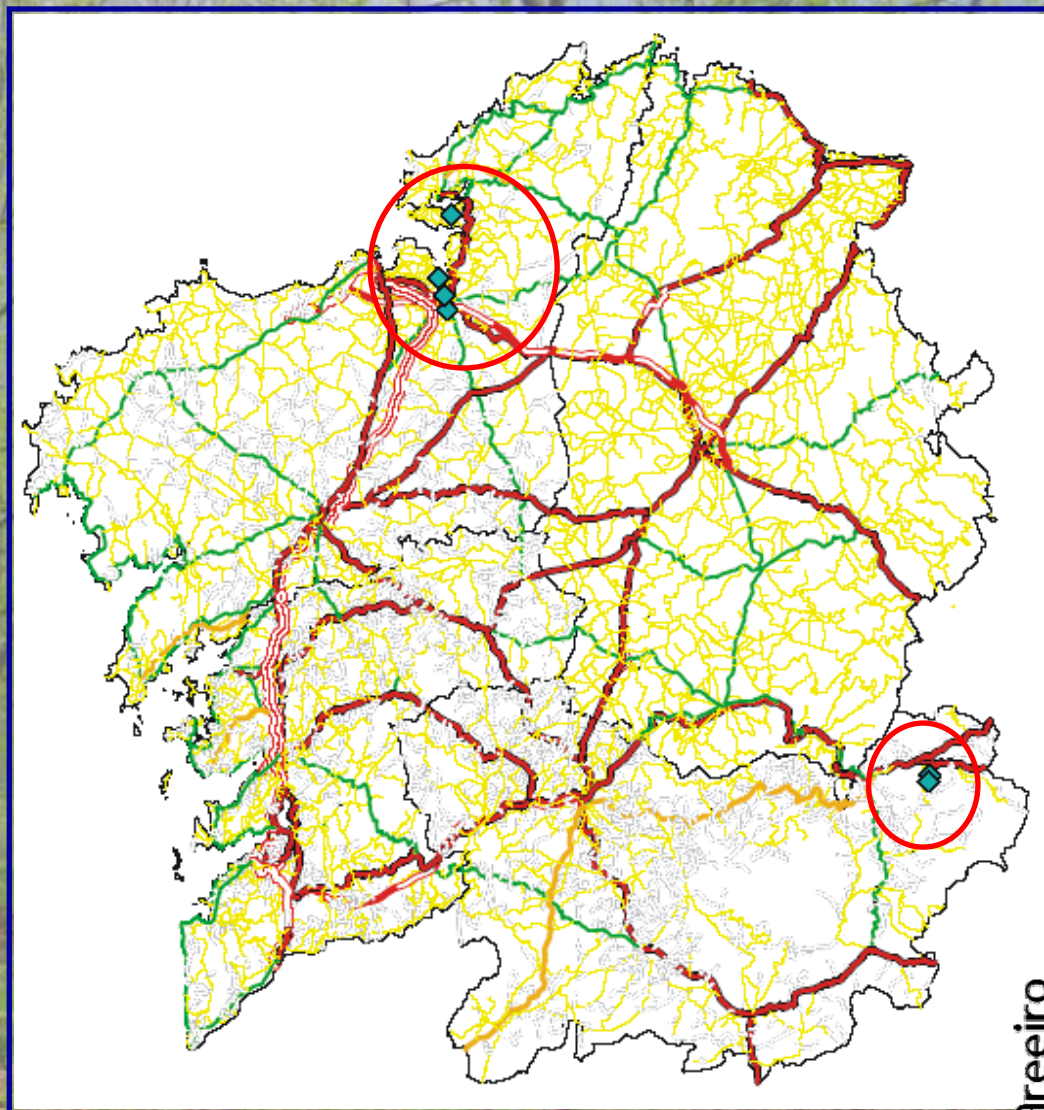
Más abundante



Diversidad y distribución de tipos VC en Galicia

* 8 tipos VC: A-H

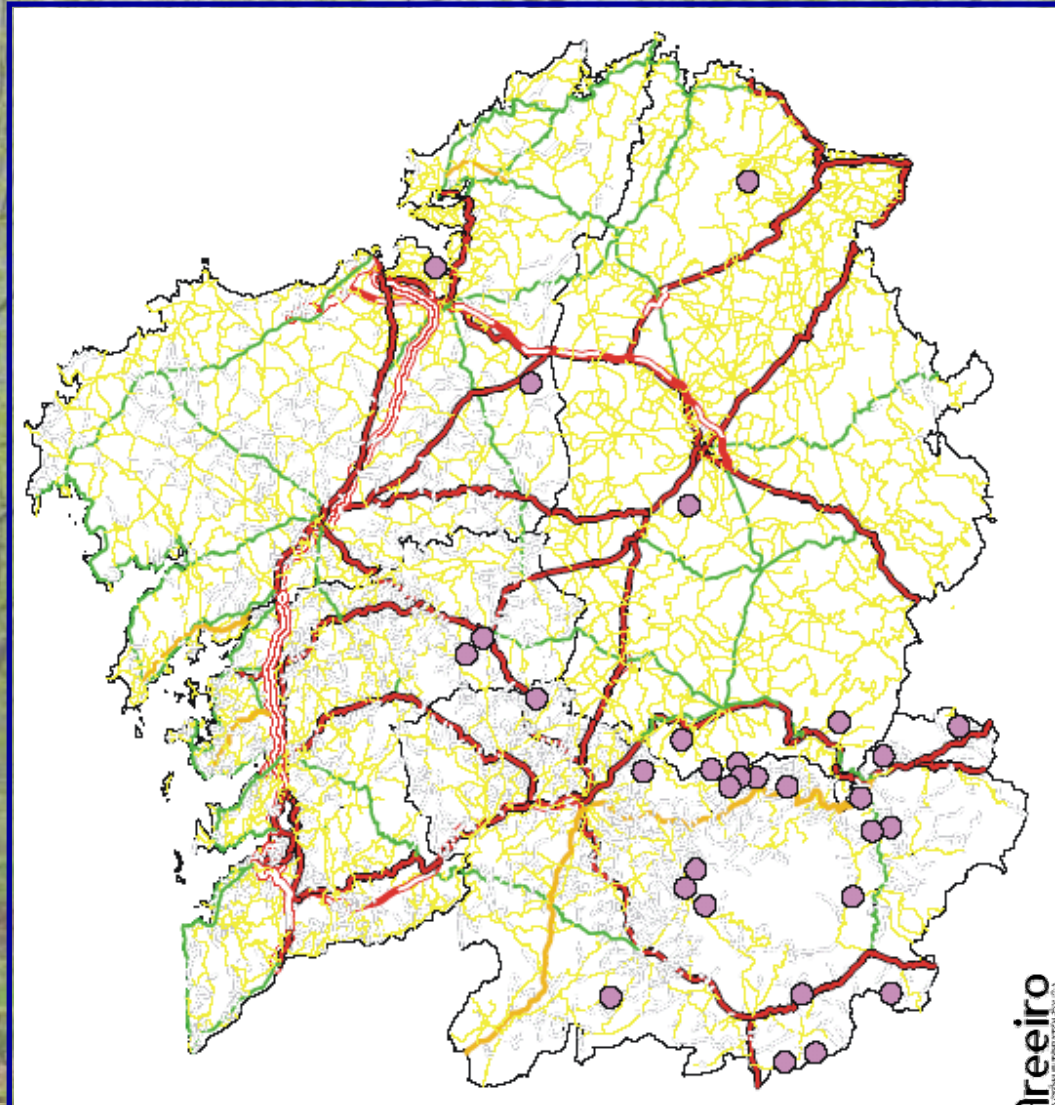
Tipo VC B



Diversidad y distribución de tipos VC en Galicia

* 8 tipos VC: A-H

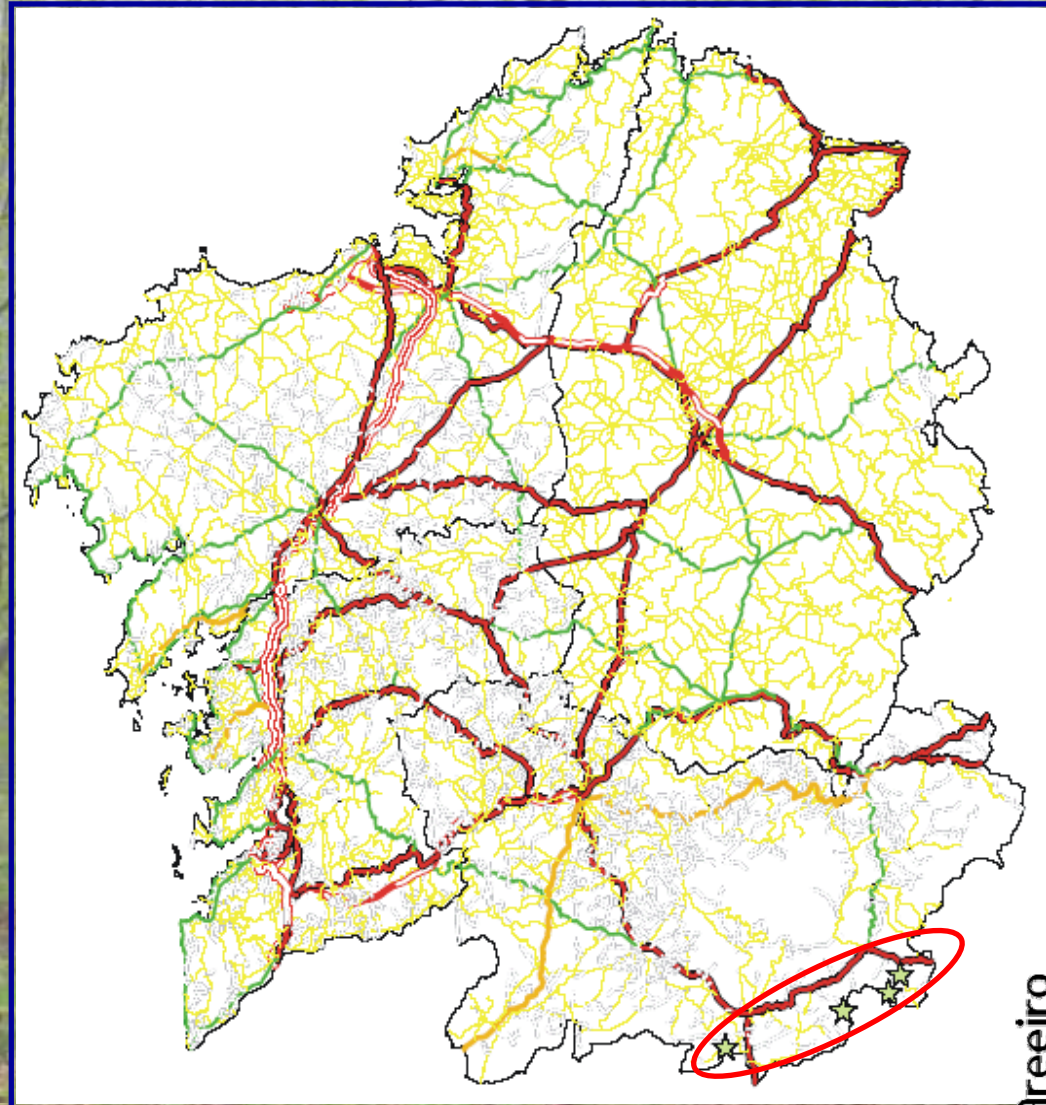
Tipo VC C: segundo
más abundante



Diversidad y distribución de tipos VC en Galicia

* 8 tipos VC: A-H

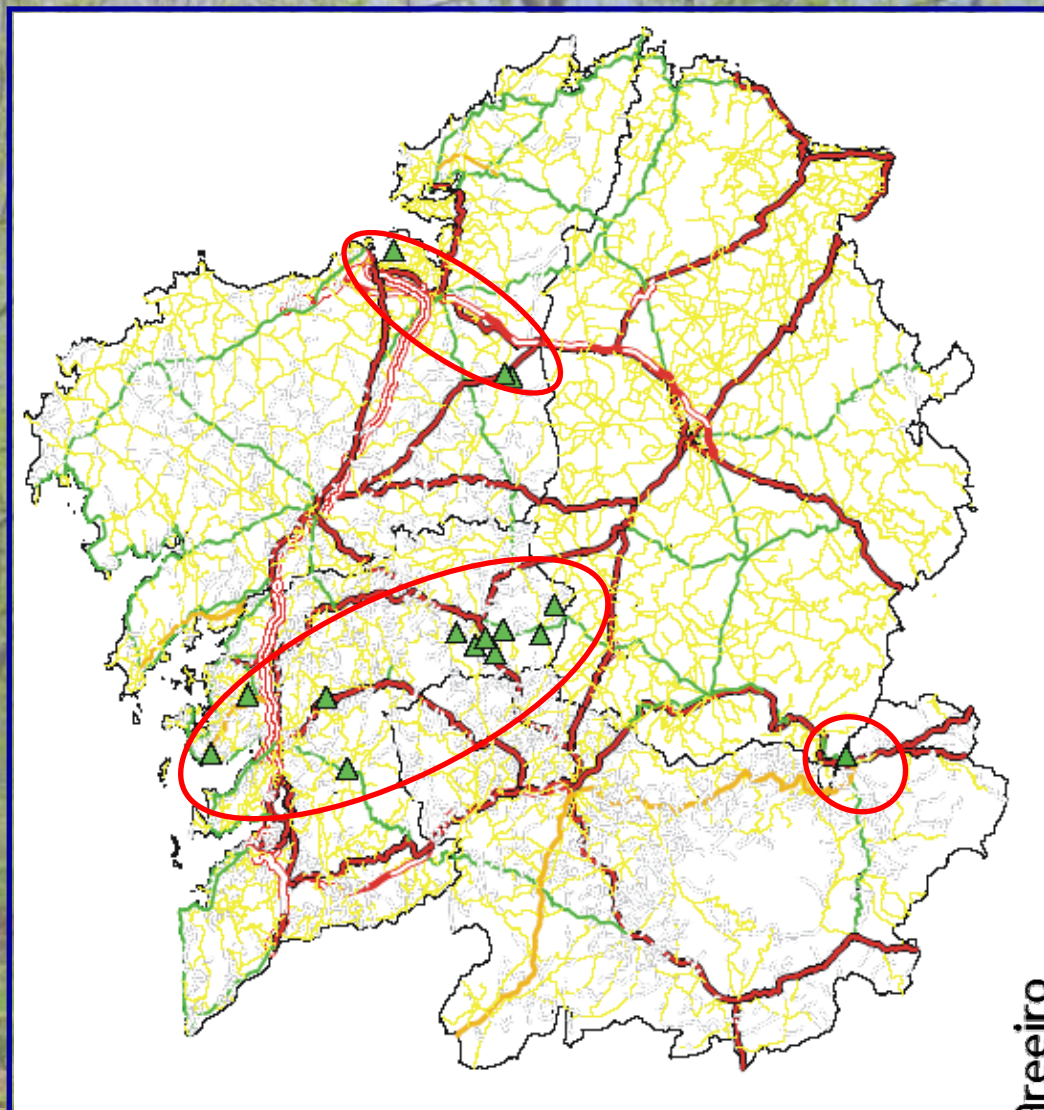
Tipo VC D



Diversidad y distribución de tipos VC en Galicia

* 8 tipos VC: A-H

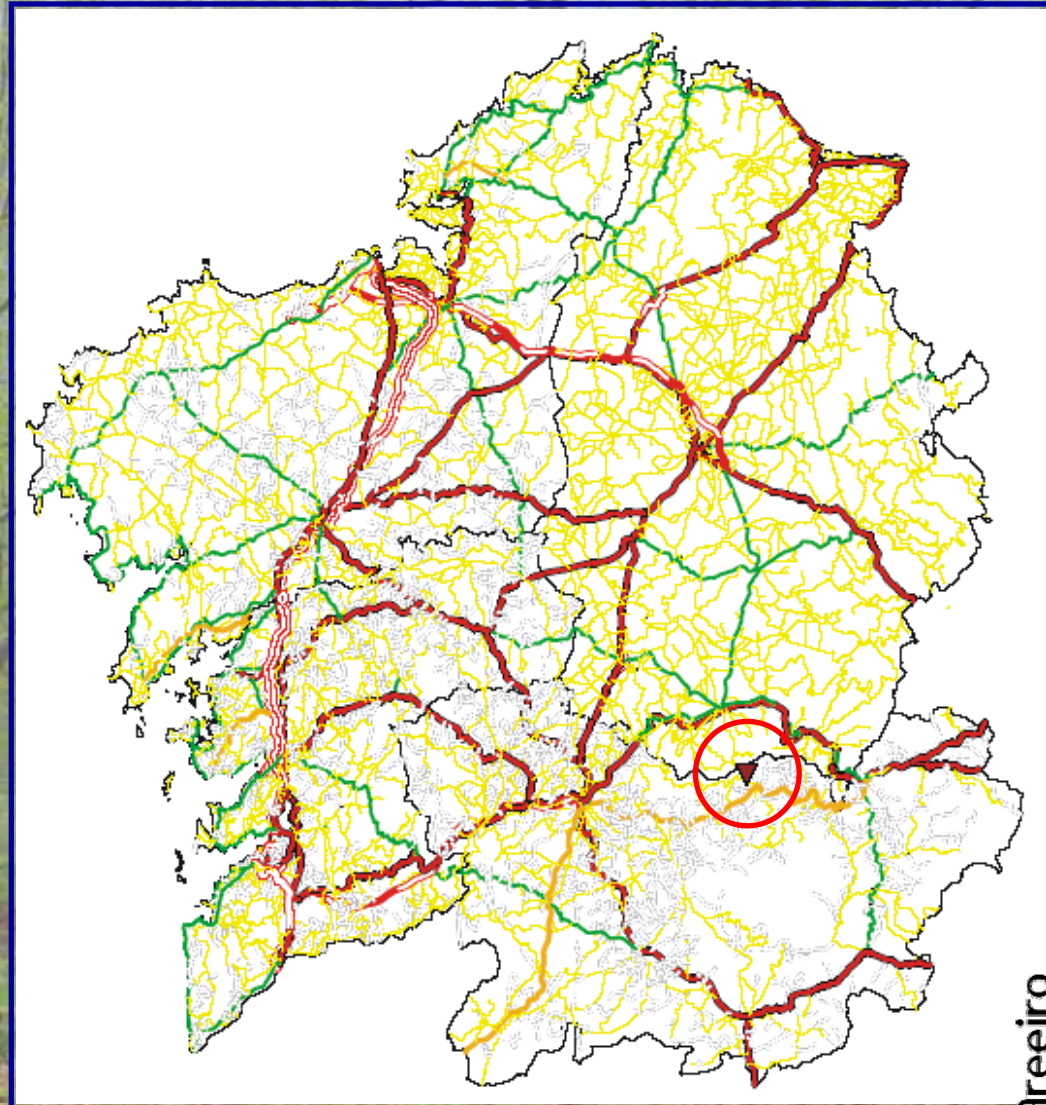
Tipo VC E



Diversidad y distribución de tipos VC en Galicia

* 8 tipos VC: A-H

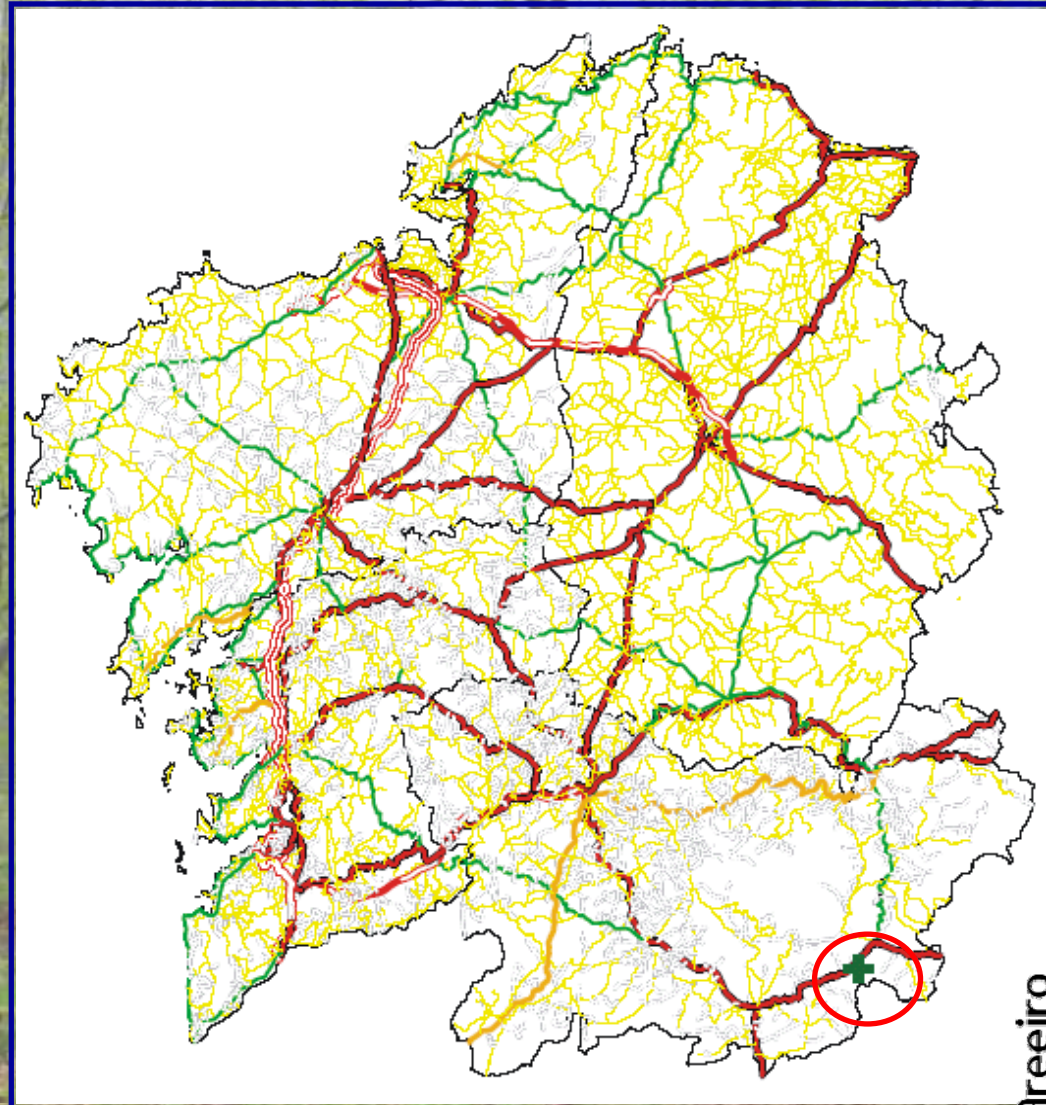
Tipo VC F



Diversidad y distribución de tipos VC en Galicia

* 8 tipos VC: A-H

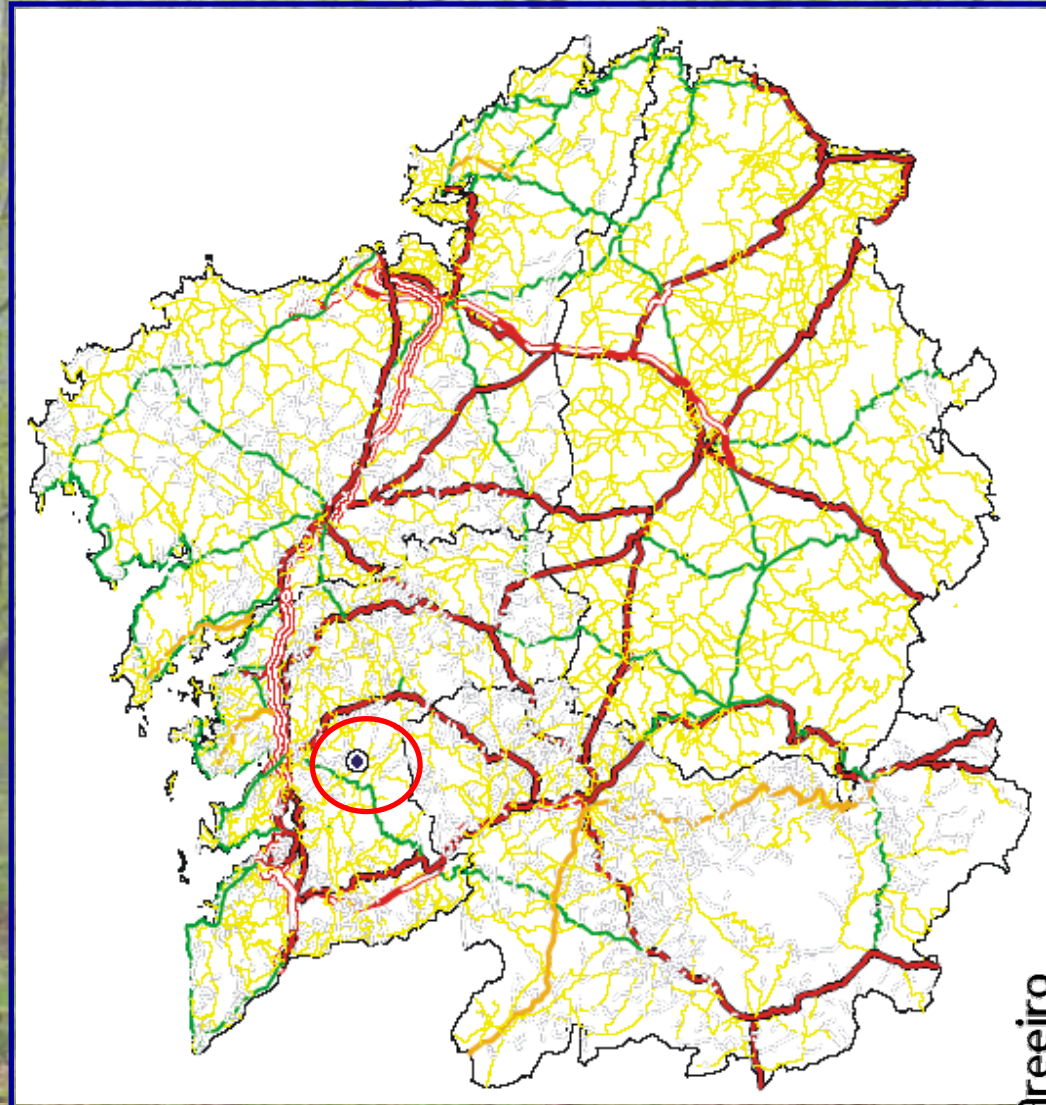
Tipo VC G



Diversidad y distribución de tipos VC en Galicia

* 8 tipos VC: A-H

Tipo VC H



Patogenicidad de los tipos VC

Test *in vitro* sobre fragmentos de tronco de castaño:

8 tipos VC: A-H

- Mayor Virulencia. Tipo vc C (segundo más abundante)
- Menor virulencia. Tipo vc H (poco abundante)



Determinación del tipo vc de las cepas hipovirulentas

Confrontación de los aislados hipovirulentos con los tipos vc establecidos

Conversión: compatible Sin conversión: incompatible



Muestreo 2003: 2 hipovirulentas incompatibles

Muestreo 2007: 4 cepas hipovirulentas compatibles con los tipos vc mayoritarios; posibilidad de puesta en marcha de programa de control biológico

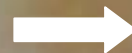
Determinación del tipo de apareamiento

Dos tipos: *MAT-1* y *MAT-2*

Determinación mediante técnicas moleculares: Nested-PCR

Muestreo año 2007: 612 aislados

Se han detectado ambos tipos siendo *MAT-1* predominante (84%)



tipo de apareamiento principalmente asexual

Líneas futuras

- Preparación de un inóculo a partir de las cepas hipovirulentas compatibles detectadas en Galicia
- Ensayos en campo mediante aplicación del inóculo en parcelas experimentales
- Puesta en marcha de un programa de control biológico a gran escala en castaños de Galicia



**Lucha biológica con nematodos
entomopatógenos contra carpófagos
del castaño**

Plagas del fruto del castaño en Galicia



Curculio elephas

Cydia fagiglandana



Cydia splendana



Control de carpófagos del castaño

En España no hay registrado ningún producto fitosanitario para el castaño contra plagas de curculiónidos y tortrícidos

Posible solución



Utilización de NEPs

Los NEPs son parásitos obligados gran variedad de insectos

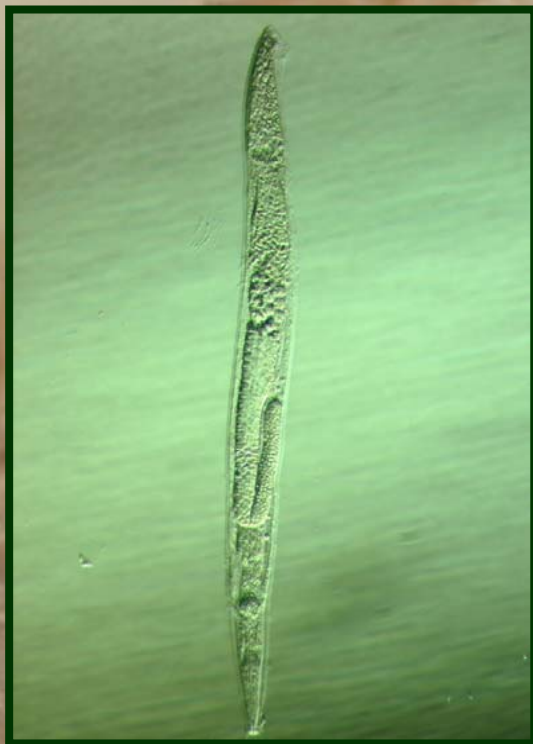
Ventajas



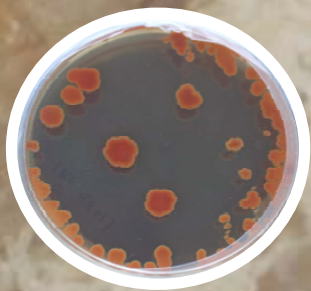
- No contaminan medio ambiente
- Facilidad de aplicación
- Eficacia

Nematodos entomopatógenos (NEPs)

Heterorhabditis



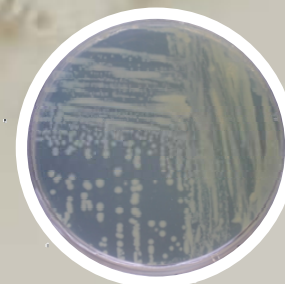
Photorhabdus



Steinernema

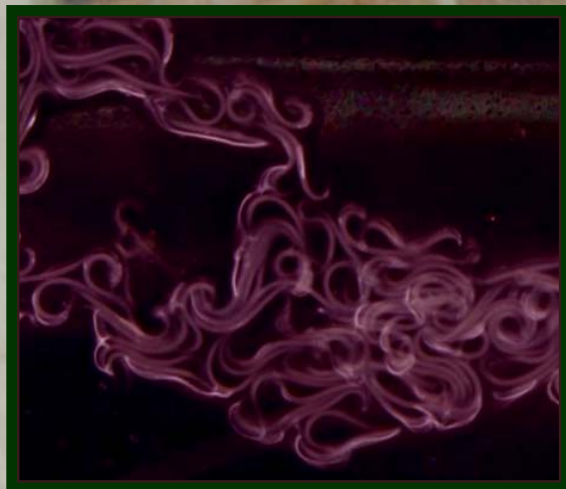


Xenorhabdus



Bacterias simbióticas
asociadas

Ciclo biológico de NEPs



Entrada de las formas infectivas



Muerte del insecto por acción de la bacteria



Desarrollo de los NEPs



Salida de las formas infectivas en busca de un nuevo hospedador

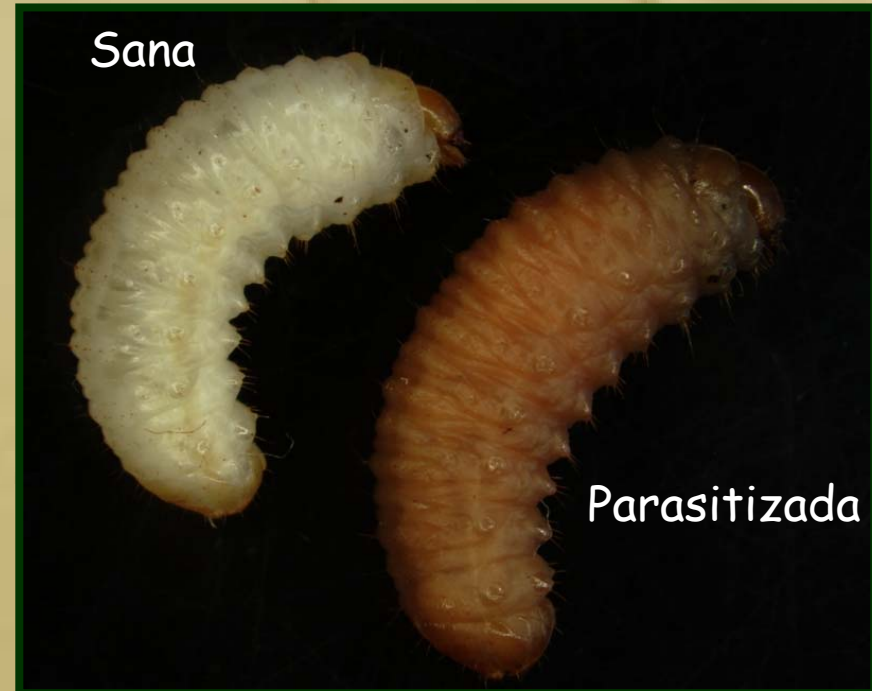
Aplicaciones de los NEPs

Control de tortricídeos



Larva de *Cydia splendana* parasitizada con *Heterorhabditis bacteriophora*

Control de curculiónidos



Larva de *Curculio elephas* parasitizada con *H. bacteriophora*

Objetivos

- ❖ Aislamiento, identificación y cría de NEPs en sotos gallegos
- ❖ Control biológico de carpófagos del castaño con los NEPs aislados



Aislamiento, identificación y cría de NEPs en sotos gallegos

Muestreo de NEPs en sotos gallegos



Muestreos { 4 provincias gallegas

Extracción { Nematodos del suelo

Insecto modelo para técnicas de extracción y cría de NEPs



*Cría **Galleria mellonella** L.*



Técnicas extracción de NEPs



Trampa cebo con
larvas de *G. mellonella*

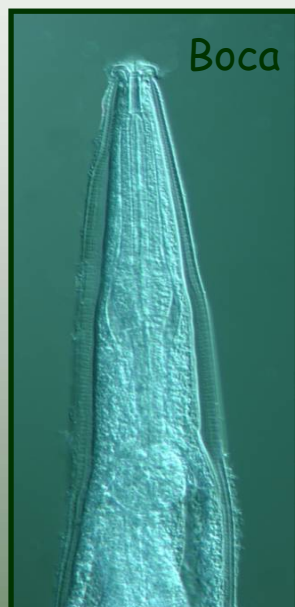


Trampa White modificada

Recuperación de NEPs para su identificación

Identificación de NEPs

Identificación morfológica y morfométrica



Boca



Parte anterior IJ

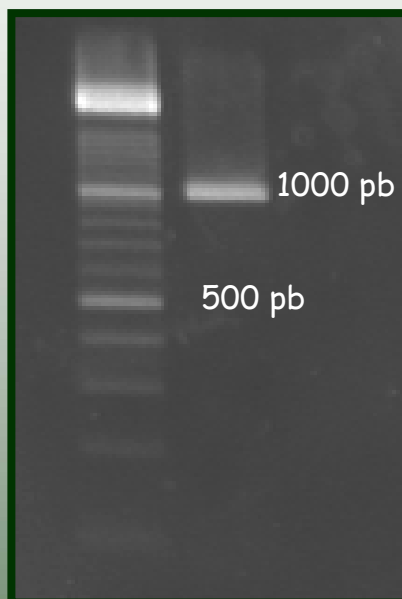


Cola *Steinernema*

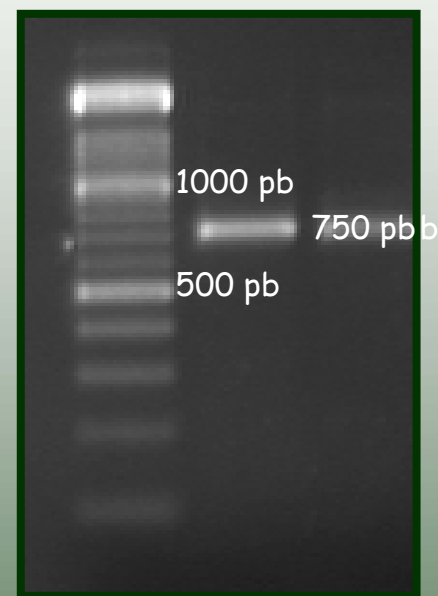


Cola *Heterorhabditis*

Identificación molecular



Amplificación
región ITS ADNnr
(*Steinernema* sp.)

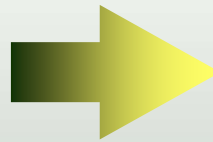


Amplificación
gen *cox1* ADNm
(*Steinernema* sp.)

Cría *in vivo* de NEPs



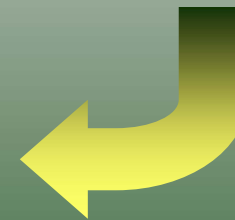
Inoculación IJ en *G. mellonella*



1ª generación de adultos



IJ emergiendo de larva de *G. mellonella*

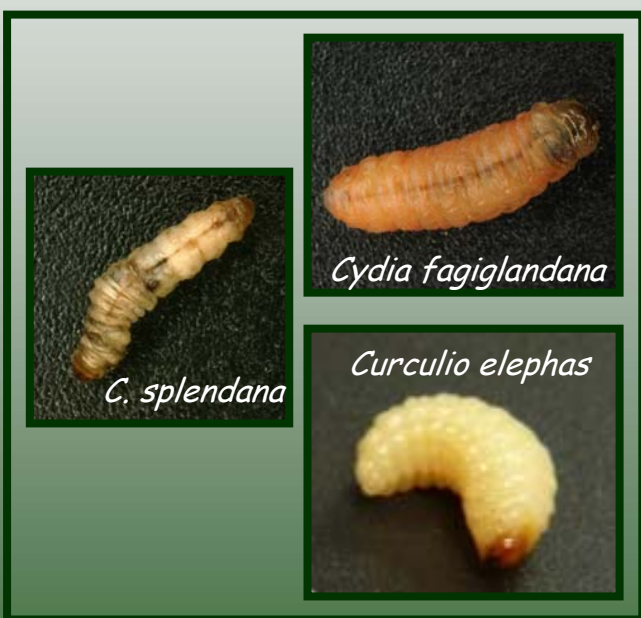


Control biológico de carpófagos del castaño con los NEPs aislados

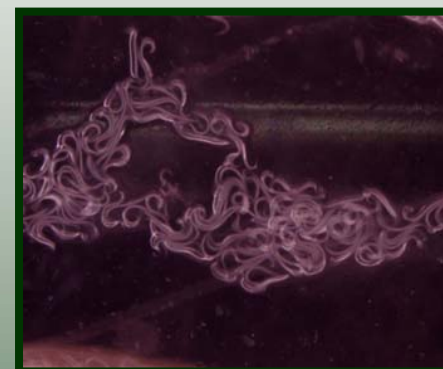


Control biológico de carpófagos del castaño con los NEPs aislados

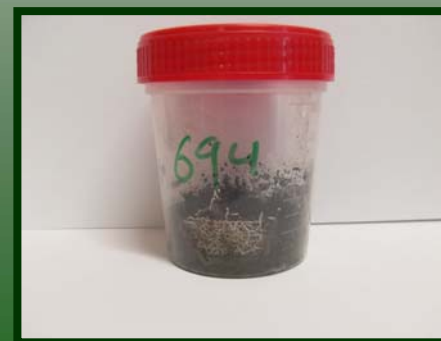
Ensayos de eficacia en laboratorio



Distintas
concentraciones
de inóculo de IJs



Diferentes
temperaturas de
incubación



Control biológico de carpófagos del castaño con los NEPs aislados

Ensayos en campo

Ensayos de eficacia

Ensayos de persistencia



Equipo de investigación

Coordinador J. Pedro Mansilla Vázquez

Adela Abelleira Argibay

Olga Aguin Casal

Susana Canosa Rodríguez

Miguel Hermida Alvarez

Paula Moital Pérez

Dolores Montenegro Gregorio

Ana Picoaga Montoussé

Susana Rodríguez Varela

Estas líneas de investigación están
siendo realizadas gracias al Convenio
de Colaboración entre la Xunta de
Galicia-Consellería do Medio Rural y la
Deputación de Pontevedra

Gracias