

EFFECTE DEL CLORUR D'HEXAMETILPARAROSANILINA SOBRE EL CREIXEMENT "IN VITOR" DE CRYPHONECTRI PARASITICA

Moret, A.;Nadal, M; López, S; Martínez, Y.
Secció de Fitopatologia del Departament de Biologia Vegetal,
Fac. de Biologia, Univ. de Barcelona.
Av. Diagonal, 654. 080028 Barcelona.

RESUM

S'estudia l'efecte del clorur d'hexametilparasanilina sobre el creixement vegetatiu de *Cryphonectria parasitica*, responsable del càncer del castanyer (*Castanea sativa*). Es determina la taxa de creixement del fong en medi de cultiu a base de patata-dextrosaagar (PDA), que conté diferents concentracions de matèria activa (0, 5, 10, 20, 40, 90, 140, 160, 180 i 200 ppm) observant-se que a concentracions baixes (5 ppm) s'inhibeix fortament el creixement (2,41 vegades inferior al control) i aquest va disminuint progressivament a mesura que augmenta la concentració, fins que a 200 ppm la taxa de creixement és 42,46 vegades més petita. Malgrat aquesta dràstica inhibició s'ha comprovat que, fins i tot, a les concentracions més altes, el clorur d'hexametilparasanilina actua com a fungistàtic.

RESUMEN

Se estudia el efecto del cloruro de hexametilparasanilina sobre el crecimiento vegetativo de *Cryphonectria parasitica*, responsable del cáncer del castaño (*Castanea sativa*). Se determina la tasa de crecimiento del hongo en medio de cultivo a base de (0, 5, 10, 20, 40, 90, 140, 160 i 200 ppm) observándose que a bajas concentraciones (5 ppm) se manifiesta una fuerte inhibición del crecimiento (2,41 veces inferior al control) y este va disminuyendo progresivamente a medida que aumenta la concentración hasta que a 200 ppm la tasa de crecimiento se reduce 42,46 veces. A pesar de esta drástica inhibición se ha comprobado que, incluso a las concentraciones mas elevadas, el cloruro de hexametilparasanilina actúa como fungistático.

INTRODUCCIÓ

Cryphonectria parasitica (Murrill) Bar. (= *Endothia parasitica* [Murrill] Anderson & Anderson) és un fong ascomicet respnsable de la malaltia coneguda com "càncer del castanyes (*Castanea sativa* Mill.)", no obstant, això també afecta altres espècies forestals com el castanyer americà (*Castanea dentata*) [Marxh.] Borkh.), l'alzina (*Quercus ilex* L.), el roure martinenc (*Quercus humilis* Mill.), el roure de fulla gran (*Quercus petraea* [Matt.] Liebl.) i el faig (*Gagus sylvatica* L.) (Roane, M.et al., 1.986).

Aquesta malaltia és originària d'Àsia (Xina i Japó) on és poc agressiva pels seus hostes. Actualment és present a Europa (Bèlgica, Espanya, França, Portugal, Grècia, Hongria, Itàlia, ex Iugoslàvia i Suïssa) i Amèrica de Nord on ha extingit pràcticament el castanyer americà.

Els símptomes inicials de la malaltia són fulles groguenques i pansides dels brots i branquillons que es troben per damunt dels xancre. Els càncers joves de superfície llisa i color groc marronós s'esdevenen rogosos i de color fosc, al principi són el·líptiques, després s'esquerden i entre els teixits s'hi desenvolupa el miceli i les estructures reproductores del fong de color ataronjat o marró vermellós. En temps humit, especialment durant la primavera i la tardor els picnidis alliberen masses d'espores en forma de cirrus que són dispersades per insectes, àcars, aus, pluges, etc.; ala tardor-hivern es desenvolupa la fase meiospòrica i dins dels peritecis es formen les ascospores que propaguen la infecció a grans distàncies en ser disseminades principalment pel vent (Smith, I,M, et al.) 1.992.

El control d'aquesta malaltia és molt difícil, per una banda és difícilós entrar al bosc la maquinària per fer les aplicacions i per altra, la majoria dels fungicides convencionals són poc efectius. Per això, a més del control químic s'ha assajat altres formes com el control biològic bassat en la utilització de soques hipovirulents

del mateix fong que requereixen menys aplicacions, però els seus efectes són a llarg termini i els tractaments es limiten a grups reduïts d'arbres; a més aquestes soques no tendeixen a dispersar-se als arbres de l'entorn atès que la seva taxa de reproducció és baixa. Per aquests motius, el control químic continua essent important, i actualment, sovint s'apliquen mesclades de diferents productes fitofàrmacs entre els quals considerem que s'hi podria incloure el clorur d'hexametilpararosaniolina.

L'objectiu del present treball és determinar l'activitat del clorur d'hexametilpararosaniolina sobre el creixement de *C. parasitica*.

MATERIAL I MÈTODES

Es recol·lectaren branques i escorces de troncs de castanyer, aparentment infectats per *C. parasitica*, en el massís de Montseny, després es procedí a l'aïllament del fong en el laboratori a partir de discs d'escorça d'uns 5 mm de diàmetre que es sembraren en càpsules de Petri (90mm de diàmetre) amb patata-dextrosa-agar (pda COMERCIAL) com a medi de cultiu, enriquit amb una solució nutritiva mineral (Ca (NO₃)₂: 1,6g; K N O₃: 0,4g; KH₂PO₄: 0,4g; MgSO₄ · 7H₂O: 0,4g; H₂O: 100ml).

Es purificaren els cultius i es determinà la seva taxa de creixement; posteriorment es repicaren en el medi indicat al qual s'afegiren diferents dosis del producte assajat, clorur d'hexametilpararosaniolina, a les concentracions de 0, 5, 10, 20, 40, 90, 140, 160, 180 i 200 ppm (Moret, A. et al. 1.991). De cada concentració es feren 5 rèpliques i es mesurà el diàmetre de les colònies al cap de 5 dies de la sembra. La concentració 0 del producte servia per calcular la taxa de creixement del fong i comprovar que aquesta no havia canviat respecte a l'obtinguda amb els primers cultius; finalment es determinà el creixement mig diari de cada una de les restants concentracions i a partir de les dades obtingudes es calculà la CI₉₅ (concentració d'inhibició 95%).

Per esbrinar si el producte emprat era fungicida o fungistàtic, els discs de les càpsules amb les concentracions més altes de producte en les quals no hi havia hagut creixement, es ressempbraren en càpsules com les del control, concentració 0.

RESULTATS I DISCURSIÓ

La taxa de creixement del control (0ppm del producte assajat) és de 9.55 mm/dia; a la concentració de 5 ppm és 2,41 vegades inferior al control i a mesura que augmenta la concentració (10,20,40,90,140,160,180 i 200 ppm) s'observa una disminució gradual del creixement (Taula I) fins que a 200 ppm és 42,46 vegades inferior al control.

Taula I: Creixement "in vitro" de *Cryphonectria parasitica* a diferents concentracions de clorur d'hexametilpararosaniolina.

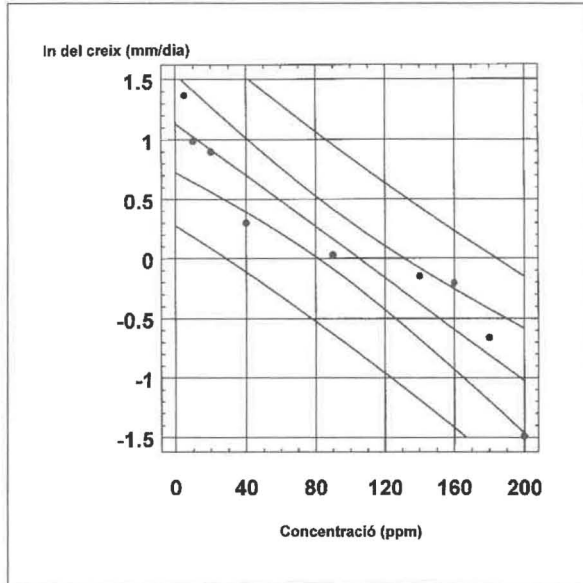
Concentracions de Clorur d'HM en ppm.	Creix. <i>Cryphonectria</i> (mm/dia)	Ln de Creix (mm/dia)	Inhibició respecte al control
0 (Control)	9,555	2,25	1
5 ppm	3,964	1,37	2,41
10 ppm	2,704	0,99	3,53
20 ppm	2,48	0,90	3,85
40 ppm	1,36	0,30	7,02
90 ppm	1,032	0,031	9,25
140 ppm	0,864	-0,1461	11,05
160 ppm	0,815	-0,2045	11,7
180 ppm	0,518	-0,6577	18,4
200 ppm	0,225	-1,4916	42,46

El creixement de *C. parasitica* "in vitro" en presència de clorur d'hexametilpararosaniolina segueix una exponencial negativa que mitjançant una linealització hem transformat en una recta per tal de simplificar la

relació entre la concentració de matèria activa i el creixement del fong. L'equació de la recta és: $Y = -0.0107815 X + 1.13349$, i té un coeficient de correlació de 0,94 (Gràfica 1).

La CI95 és de 173 ppm i el clorur d'hexametilpararosanilina actua com a fungistàtic ja que s'observa creixement de la colònia un cop traslladats els discos, fins i tot els procedents de les concentracions més altes, a un medi sense matèria activa.

Gràfica 1: Recta de Regressió de creix. de *C. parasitica* /Concentracions de clorur d'hexametilpararosanilina.



Concentració (ppm)

CONCLUSIONS

El clorur d'hexametilpararosanilina pot ser últim pel control de *C. parasitica* emprat amb altres mètodes de control atès que si bé redueix molt el creixement del fong (fungistàtic) no actua com a biocida.

BIBLIOGRAFIA

- Moret, A.; Nadal, M. i Puigsasloles, N.; 1.991. Taxes de creixement i assaig de control químic d'*Endothia parasitica*. Nutrifitos, 93-95.
- Roane, M.; Griffin, G. & Rush Elkins, J.; 1.986. Chesnut Blight APS
- Smith, I.M.; Dunez, J.; Ljelliot, R.A.; Phillips, D.H. & Archer, S.A.; 1.992. Manual de enfermedades de las plantas. Editorial Mundi-Prensa.