

Cancro do castanheiro – prós e contras da luta biológica

O cancro do castanheiro é um dos principais problemas que afeta soutos e castinçais em Portugal. A luta biológica pode ser uma “ferramenta” com potencial para o controlo da doença, no entanto, só deve ser aplicada em condições determinadas e com autorização.

Helena Bragança . INIAV, I.P.



A doença: história e situação atual

O cancro do castanheiro é uma doença que afeta o castanheiro (tronco e ramos) e cujo agente causal é o fungo *Cryphonectria parasitica*. O fungo penetra no hospedeiro através da germinação dos esporos, desenvolve-se na planta e, quando os vasos condutores são atingidos, a planta/ramo seca. Este fungo ainda é considerado um organismo de quarentena pela legislação europeia, embora esteja presente na maior parte dos países da Europa.

A doença foi detetada pela primeira vez em 1904, nos Estados Unidos, afetando castanheiro-americano (*Castanea dentata*). O fungo foi introduzido naquele país através da importação de plantas de viveiro de castanheiros asiáticos (*Castanea crenata* e/ou *Castanea mollissima*, espécies de castanheiro pouco suscetíveis à doença), o fungo, uma vez transmitido ao castanheiro-americano (muito sensível à doença), em poucas décadas levou à sua quase extinção. Na Europa, a doença foi descoberta em 1938, no norte de Itália, provavelmente através de plantas provenientes dos EUA que entraram no porto de Génova (Biraghi, 1946). Em Portugal, apesar do fungo ter sido identificado muitos anos antes, só no final dos anos 80 começam a surgir alertas de plantas sintomáticas no nordeste do país (Abreu, 1992). A situação na Europa nunca atingiu os níveis de gravidade dos Estados Unidos, quer pelo facto de o castanheiro europeu ser mais tolerante à doença, quer pela existência de cicatrização natural dos cancros. Descobriu-se que este facto estava associado a um fenómeno de hipovirulência natural, em que o fungo se torna menos agressivo para a planta, os cancros cicatrizam e esta recupera. Foi com base no estudo deste fenómeno natural que,

mais tarde, foi possível a implementação de luta biológica para o controlo do cancro, através da aplicação nos cancros de uma pasta com fungo hipovirulento (o bioproduto). Em Portugal, durante anos, o impacte do cancro foi relativamente minimizado quando comparado com a “doença da tinta” (doença que afeta as raízes funcionais da planta e é causada por espécies de *Phytophthora*). Pensava-se que o problema estaria muito localizado em Trás-os-Montes, onde aliás se iniciaram, nos anos 90, os trabalhos de caracterização das populações fúngicas. Havia registos da ocorrência da doença nessa zona, mas praticamente nada se sabia sobre o que se passava no resto do país. Na primeira década de 2000 foi feito um mapeamento nacional da sua distribuição e também da genética do fungo em todo o país. Estes trabalhos abrangentes, liderados pela Estação Florestal Nacional (instituição entretanto integrada no INIAV), foram desenvolvidos no âmbito de vários projetos e trabalhos académicos e tiveram a colaboração de várias instituições públicas e privadas, nacionais e internacionais e também de alguns produtores. Os resultados revelaram que a doença estava amplamente disseminada e acompanhava toda a distribuição do castanheiro em Portugal (Bragança et al., 2008). Estes trabalhos de investigação trouxeram adicionalmente boas notícias, quer porque havia hipovirulência natural, quer porque os estudos da genética do fungo revelaram que, em geral, tínhamos condições para aplicar luta biológica (Bragança et al., 2007). Mais recentemente, no âmbito de projetos liderados pela ESAB, em colaboração com a UTAD, INIAV, UM e associações de produtores, iniciaram-se os ensaios experimentais de luta biológica em Trás-os-Montes. Atualmente, no âmbito de um novo projeto coordenado pelo CNCFS (PDR2020-“BioChestnut – Implementar estratégias de luta eficazes contra doenças do castanheiro e amendoeira”), estes ensaios estão a ser alargados a novas áreas no norte e Alentejo.

A doença: características gerais

Sinais e sintomas:

- Ramos e folhas secos, sobressaindo muitas vezes de copas frondosas;
- Presença de cancros sobre o tronco e ramos, muitas vezes com pústulas amarelo-alaranjadas (Figura 1);
- Cirros de esporos em tempo húmido (filamentos enrolados com aspecto gelatinoso que contêm esporos do fungo);
- Inchamento do tronco, normalmente com fendilhamento longitudinal da casca (Figura 1);
- Tecido do fungo (micélio) creme ou castanho-claro, em forma de leque na parte interior da casca;
- Aparecimento de rebentação adventícia abaixo da zona afetada.

Disseminação:

- O fungo penetra no hospedeiro através de feridas (poda, cortes, cicatrizes) e fendilhamento natural;
- Os esporos do fungo podem ser disseminados por aves, ácaros, insetos, chuva, vento;
- Os garfos para enxertia provenientes de árvores infetadas são uma porta de entrada muito frequente;
- Ferramentas contaminadas.

Controlo

Não existem fungicidas eficazes para o combate ao fungo, pelo que o controlo passa, em grande medida, por boas práticas e cuidados preventivos:

- Podas sanitárias para remover zonas da planta afetadas e queima desse material (ou enterrar com cal);
- Extirpação de cancros localizados (raspando toda a zona afetada pelo fungo e um rebordo de segurança para além da periferia da zona afetada);
- Proteção das feridas (de poda e da extirpação) com pasta fungicida;
- Desinfecção de ferramentas/alfaias;
- Não obter material de enxertia em árvo-

res doentes ou em zonas muito afetadas por cancro;

- Se for necessário transportar lenha contaminada, de preferência, fazê-lo em curtas distâncias e com proteção para que chuva e vento não dispersem os esporos do fungo;
- Luta biológica em locais que reúnam condições para a sua aplicação;
- A obtenção de híbridos tolerantes à doença, através de programas de melhoramento genético, poderá ter aplicação a longo prazo.

Luta biológica: compreender a sua base e os prós e contras

Numa altura em que tanto se fala de luta biológica e em que parece não haver outra alternativa no curto e médio prazo, é natural que todos os que querem e podem cuidar bem dos seus soutos e castanheiros pensem nesta possibilidade. Porém, é importante perceber que não se pode aplicar bioproduto como se se tratasse de um fungicida, é necessário passar conhecimento para que os produtores possam decidir em segurança e com a consciência da maior ou menor probabilidade de sucesso deste tratamento, assim como da sua exequibilidade.

Se a hipovirulência é um fenómeno relativamente fácil de explicar, perceber as condicionantes da luta biológica, exige o domínio de conceitos científicos difíceis de traduzir em linguagem corrente. Mas em ciência, mesmo na mais fundamental, tudo é passível de ser transmitido em linguagem acessível. Neste caso, em que se trata de ciência aplicada, é ainda mais importante que sejam passados os conceitos e é nesse sentido que surge este artigo.

O que é a “hipovirulência” e a sua relação com “luta biológica”?

Hipovirulência é um fenómeno natural que consiste no facto de o fungo poder ficar naturalmente “infetado” com um vírus (neste caso um vírus de cadeia dupla de RNA-dsRNA a que se dá o nome de hipovírus). O fungo “engripado” torna-se, assim, praticamente inofensivo para a planta, os cancros vão cicatrizando e a planta recupera.

Este fenómeno natural foi constatado, pela primeira vez, em Itália, através da observação de cancros cicatrizados (Figura 2 C). Ao investigar o fungo presente nestes cancros cicatrizados, os cientistas detetaram que as culturas fúngicas obtidas em laboratório (a partir dos tecidos recolhidos em campo), tinham algo de diferente. Em vez da cor laranja típica de *C. parasitica* (Figura 2A), eram



Figura 1 – Sintomas e sinais de cancro do castanheiro



Figura 2 – A) Cultura de *Cryphonectria parasitica*; B) Cultura de *C. parasitica* com hipovírus; C) Cancro cicatrizado

de uma cor esbranquiçada (Figura 2B), cresciam menos e tinham menos esporulação. Investigando depois o que estaria na base dessa singularidade, descobriram que as culturas fúngicas estavam infetadas com um vírus, o hipovírus. Foi possível também confirmar que era possível, em laboratório, passar o vírus de uma cultura hipovirulenta para uma cultura normal do fungo, desde que ambas pertençam a um mesmo Grupo de Compatibilidade Vegetativa (GCV) (Figura 3). Com base neste conhecimento, pensou-se que conseguindo “engripar” artificialmente culturas do fungo, ou obtendo culturas fúngicas com hipovirulência natural do fungo, poder-se-ia “tratar” com elas as árvores doentes. Pressupondo que o hipovírus se pudesse ir dispersando no campo, estaria descoberta uma ferramenta muito útil para tratar a doença, sem que houvesse necessidade de tratar todas as árvores de um local. De uma forma simplista, esta explicação ilustra a luta biológica, no entanto, o processo é mais complexo e tem condicionantes que ainda hoje não estão esclarecidas. A instalação destes ensaios implica, sempre, a introdução de culturas hipovirulentas do fungo (bioproduto), não se conhecendo outra forma de introduzir o vírus sem ser através de fungo. Requer também um conhecimento bastante aprofundado, quer da estrutura genética das populações fúngicas, quer dos mecanismos reprodutores do fungo.

Fatores muito importantes que influenciam a transmissão do vírus e consequentemente o sucesso da luta biológica são:

1. O tipo de reprodução do fungo que está a ocorrer no local;
2. A maior ou menor diversidade e qualidade dos “Grupos de Compatibilidade Vegetativa-GCV” que existem nesse lugar.
3. Os fungos têm dois tipos de reprodução, um “sexual” e outro “assexual” (podendo estes mecanismos ocorrer com proporções idênticas, ou um deles ter maior prevalência num determinado sítio). Como o hipovírus só pode ser transmitido pela via assexual, para que um programa de luta biológica funcione bem é necessário que esteja a ocorrer com maior predominância esse tipo de reprodução, pois caso contrário, o sucesso do tratamento pode ser muito baixo.

Através da observação de frutificações sexuadas do fungo (peritecas) nos tecidos do castanheiro afetado, confirma-se que ocorre reprodução sexual do fungo nesse local, mas não nos diz se é predominante. Para se saber o tipo de repro-

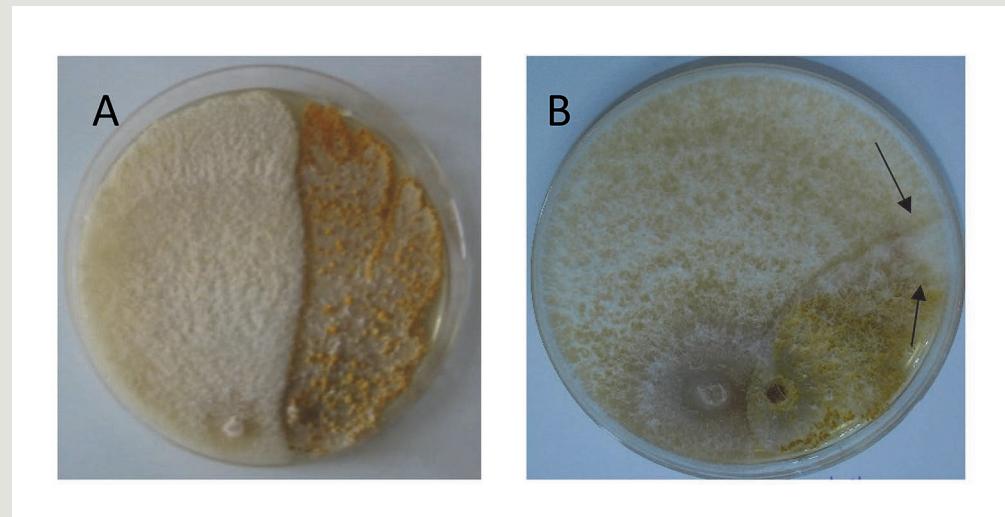


Figura 3 – Confrontações de culturas de *C. parasitica*: A) culturas pertencentes a diferentes GCV, não havendo, por isso, “passagem” do vírus da cultura hipovirulenta (branca) para a outra; B) culturas pertencem ao mesmo GCV, a cultura hipovirulenta consegue “passar” o vírus à outra (na imagem pode ver-se já um segmento da cultura laranja a ficar branca)

dução que predomina, é necessário fazer uma análise molecular para determinar a proporção de determinados genes (*MAT1* e *MAT2*). Quando as proporções dos dois genes são idênticas ocorre predominantemente a reprodução sexual, quando são muito diferentes (ou apenas há um dos *MAT*) ocorre a reprodução assexuada (a que é favorável para a luta biológica).

2. “Grupos de Compatibilidade Vegetativa-GCV” são originados por recombinação genética (reprodução sexual) e quanto mais diversidade genética maior a probabilidade de haver cada vez mais grupos. Os indivíduos de diferentes grupos não se fundem vegetativamente entre eles. Como o hipovírus só é propagado entre indivíduos que pertençam ao mesmo GCV, para fazer o tratamento é necessário que o bioproduto contenha os GCV presentes no local onde se vai aplicar. Quanto mais grupos houver mais difícil será o tratamento.

Juntando os fatores anteriormente descritos, para que o tratamento funcione num determinado local é importante que:

- Esteja a ocorrer predominantemente reprodução assexual do fungo;
- Existam pouca diversidade de GCV no local;
- O produto a aplicar contenha culturas hipovirulentas dos grupos GCV que existem em maior quantidade nesse local.

dsDNA viral em *C. parasitica* é transmitido preferencialmente entre indivíduos do mesmo grupo CV;
Necessário saber que grupos CV existem no local
A reprodução sexual do fungo é um obstáculo à dispersão do hipovírus porque:
- aumenta a diversidade genética
- dsDNA viral é propagado através da reprodução assexual
Necessário saber que tipo de reprodução existe no local

Nos EUA existem muito mais grupos do que na Europa e, provavelmente por isso, nunca houve grande sucesso nas experiências de luta biológica, ao contrário da Europa, onde há locais em que o tratamento resultou.

Em Portugal, ainda existem poucos grupos CV, o que é bom para o sucesso do tratamento. Existem, pelo menos, nove grupos CV no nosso país (Figura 4), sete são conhecidos noutras países da Europa (existe uma coleção de 72 GCV europeus) e dois deles (P-7 e P-9) não existiam até há pouco tempo na Europa, podendo ter origem noutro continente ou serem mesmo grupos novos. O grupo mais abundante em Portugal é o grupo cujo código na coleção europeia é EU-II. Não é o mais abundante noutras países da Europa, mas é o mais abundante em todas as regiões do nosso país, com exceção da Ilha da Madeira.

Relativamente ao tipo de reprodução do fungo, nas regiões portuguesas, verificou-se que há locais onde ocorre maioritariamente reprodução sexuada, e onde será mais difícil haver sucesso do tratamento, mas existem outras zonas onde há maior probabilidade de ocorrer reprodução assexual, sendo estes locais ou regiões aqueles onde o tratamento poderá funcionar melhor. Na Tabela 1 podem ser consultados os resultados relativamente a locais/regiões de Portugal, anteriormente prospetadas, com potencial para tratamento (reprodução assexual predominante) ou com menos hipóteses de sucesso (reprodução sexual predominante).

Considerações finais

Apesar de haver algum conhecimento (Tabela 1), antes de um ensaio de luta biológica, idealmente, deviam ser feitas análises ao

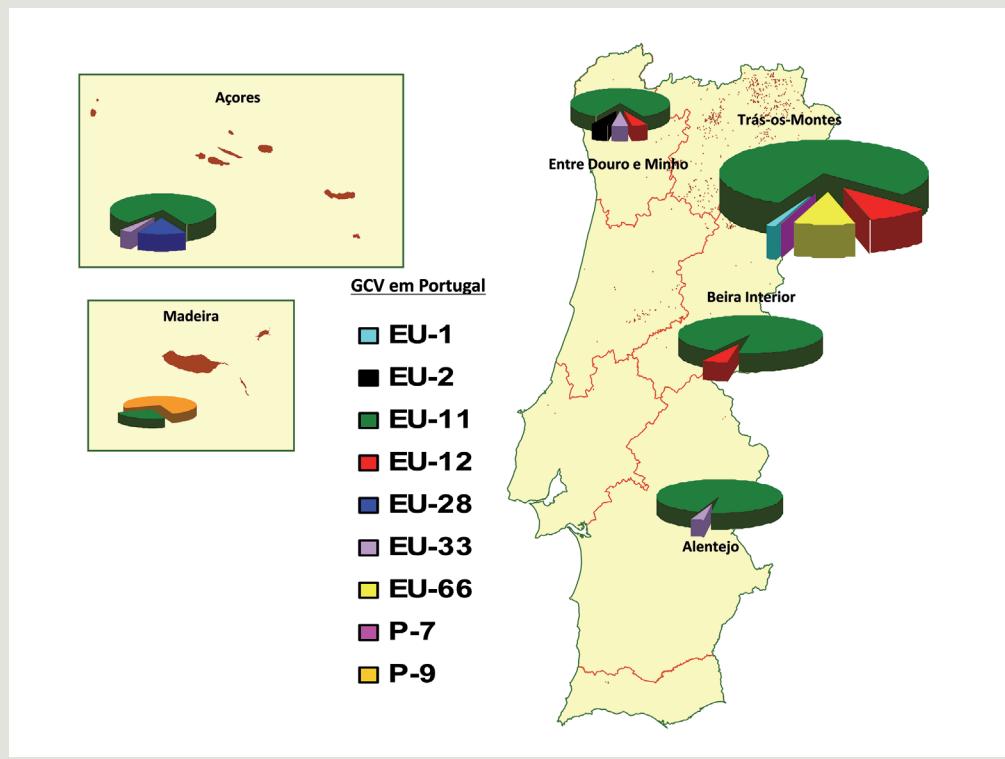


Figura 4 – Distribuição dos Grupos de Compatibilidade Vegetativa (GCV) do fungo *Cryphonectria parasitica* em Portugal

	Cancros com frutificações sexuadas					
	Nº Locais	Nº Isolados	MAT1	MAT2	Nº	%
Trás-os-Montes e Alto Douro						
Reprodução asexual						
1:1 (χ^2 test)						
1 - Serapicos/S.R.Alharris	9	5 0	0	3	4 1	1 7
2 - S.J.Corveira/Padrela *	1 7	1 1 9	4	1 6	8 4	1 2
3 - Corveira/Argemil *	4	9 0	8	2 0	9 0	2 7
4 - Carracedo Montenegro *	6	2 8	9	1 1	3 9	3 6
5 - Chaves	2	1 3	-	-	7	2 9
6 - Crouzais	1 0	4 3	8	0	-	-
7 - Espinhoso	5	3 9	0	2	-	-
8 - Bragança	1	4 0	4	2	-	-
9 - Tarouca	3	1 2	0	1	-	-
10 - Penedono	1	2	-	-	-	-
Reprodução Sexual						
1:1 (χ^2 test)						
11 - Minho *	4	1 9	3	3	2 9	3 1
12 - Beira Interior	6	3 5	3	1	-	-
13 - ALENTEJO	7	3 0	5	1	-	-
14 - S. Miguel *	1 6	3 8	1 3	9	4 7	5 3
15 - Terceira *	1 2	4 0	2 1	1 3	6 3	5 4
16 - Pico	2	3	1	2	2	5 0
17 - Madeira *	3	1 6	6	1	1 2	1 7
Total	1 0 8	6 1 7	8 5	8 5	4 1 4	3 1

Tabela 1 – Tipos de reprodução de *Cryphonectria parasitica* em Portugal: com potencial para tratamento (reprodução asexual); menos hipóteses de sucesso (reprodução sexual)

local para verificar qual o tipo de reprodução e, principalmente, quais os grupos CV de fungo aí existentes. Se não houver conhecimento sobre os GCV e for aplicado o bioproduto podem ser introduzidos GCV diferentes dos que lá existem e o tratamento não resultará. Mas mais grave do que gastar dinheiro em vão, é o facto de ao introduzir novos grupos num local se estar aí a criar cada vez mais dificuldades a médio e longo

prazo, quer ao tratamento induzido, quer à dispersão da hipovirulência natural, podendo até mesmo haver um risco de se intensificar a gravidade da doença.

Em Portugal, já foram detetados casos em que os proprietários trataram soutos com bioproduto que adquiriram em França, e que provavelmente continha grupos do fungo que não existiam no nosso país. Alguns produtores aplicaram mesmo bioproduto

importando, sem sequer terem a doença do cancro nos seus soutos. Fizeram essas aplicações pensando que assim estariam a prevenir a doença, não fazendo ideia de que estavam sim a introduzir o fungo onde ele não existia. Ainda que menos ativo (por ser hipovirulento) não deixa de ser o fungo *Cryphonectria parasitica*. Há sempre um risco de a doença se desenvolver, porque há casos em que o fungo deixa de estar infectado com o vírus e se torna novamente um parasita muito ativo para a planta.

A luta biológica ainda não é um tratamento fácil de pôr em prática, nunca há garantias de ser 100% eficaz e as análises para garantir algum sucesso são trabalhosas e poderão ser caras. O bioproduto é produzido em pequena escala no Laboratório de Sanidade Vegetal – IPB ao abrigo de um “Programa de luta biológica para o cancro do castanheiro”, através de protocolo entre o IPB e a DGAV. O produto tem autorização especial da DGAV para aplicação na zona Norte (Minho, Trás-os-Montes e Beira Alta) e Alentejo. Também no âmbito do novo projeto BioChestnut, a comunidade académica está a apoiar os serviços de agricultura e florestais, associações e produtores, na implementação de novos ensaios experimentais. Apesar do grande esforço que todos temos feito e de haver alguns bons resultados com a luta biológica, é importante que haja consciência de que as boas práticas continuam a ser “a ferramenta” mais acessível e indispensável para o controlo do cancro do castanheiro. ☺

Bibliografia

- Abreu, C. (1992) A hipovirulência como forma de luta natural contra o cancro do castanheiro. *Revista das Ciências Agrárias*, 15:167-171.
- Biraghi, A. (1946) Il cancro del castagno causato da *Endothia parasitica*. *L'Italia Agricola*, 7:1-9.
- Bragança, H.; Simões, S.; Onofre, N.; Tenreiro, R.; Rigling, D. (2007) *Cryphonectria parasitica* in Portugal – Diversity of vegetative compatibility types, mating types, and occurrence of hypovirulence. *Forest Pathology*, 37:391-402.
- Bragança, H.; Sofia, S.; Capelo, M.; Marcelino, J.; Santos, N. (2008) Geographic distribution of chestnut blight disease in Portugal. *Revista das Ciências Agrárias*, Vol 31(2):148-158.