

Alina Greslebin¹ y Everett Hansen²

1 CONICET - Área de Protección Forestal, CIEFAP, Esquel, Chubut, Argentina.

2 Department of Botany and Plant Pathology, Oregon State University, Corvallis, Oregon, USA.

La causa del “mal del ciprés”

El hallazgo del patógeno

Como se ha mencionado en notas anteriores (Greslebin & Hansen, 2006; Hennon & Rajchenberg, 2000; La Manna et al., 2001), se llamó “mal del ciprés” a la mortalidad sufrida por el ciprés de la cordillera que, si bien fue detectada por primera vez hace más de 50 años, su causa permaneció desconocida a pesar de los numerosos estudios realizados para encontrarla.

Recientemente se halló una especie de *Phytophthora* (género perteneciente al grupo de los “mohos acuáticos”), desconocida hasta el momento, que mostró estar claramente asociada con el “mal del ciprés” (Greslebin & Hansen 2006, Greslebin et al. 2007). Una vez aislada e identificada *Phytophthora austrocedrae* fue necesario determinar si se trataba de un patógeno primario para el ciprés, o bien de un agente secundario que ingresa en los tejidos una vez que éstos se encuentran debilitados por otra causa. Para establecer si un agente es el causante de una determinada enfermedad debe cumplir con los denominados “postulados de Koch”, que pueden resumirse de la siguiente manera:

- ▶ El agente debe estar presente en cada caso de la enfermedad y ausente en los individuos sanos.
- ▶ El agente debe ser aislado en un cultivo puro a partir de las lesiones producidas por la enfermedad.
- ▶ El agente debe provocar la enfermedad al ser inoculado en un individuo susceptible.
- ▶ El agente debe ser nuevamente aislado de las lesiones producidas en el individuo en que fue inoculado.

Phytophthora austrocedrae cumple con los dos primeros postulados ya que: a) se ha registrado en individuos enfermos en todos los bosques afectados con sintomatología típica de “mal del ciprés” que se visitaron; b) se la ha aislado en cultivo puro a partir de las lesiones necróticas presentes en los tejidos (cambium y floema) de los árboles afectados.

Para evaluar el cumplimiento del tercer y cuarto postulado de Koch se realizaron ensayos de

patogenicidad donde *P. austrocedrae* se inoculó en individuos sanos para determinar si se comportaba como patógeno primario, si provoca la sintomatología descrita para la enfermedad, y también su agresividad. Se realizaron ensayos de inoculación a campo en individuos adultos de ciprés de la cordillera y, en el laboratorio, en plantas de 5 años y en plántulas de 15-30 días.

PATOGENICIDAD EN ÁRBOLES ADULTOS

Se inocularon raíces y fustes de árboles adultos a campo y, luego de 4 meses, se evaluó el resultado. Al finalizar el ensayo, todas las raíces habían desarrollado lesiones necróticas marrones con el mismo aspecto que las observadas en los árboles afectados por el “mal del ciprés”. Las lesiones afectaban al floema en todo su grosor llegando hasta la albura, que también se encontraba afectada, mostrando un color marrón en los tejidos superficiales.

Las lesiones causadas por *P. austrocedrae* en las raíces de cipreses adultos (Fig. 1 y 4), alcanzaron un largo total promedio de 28 cm, mientras que en las inoculaciones de control (en las que no se había introducido el patógeno), el largo total promedio alcanzado fue de 2,4 cm. También se

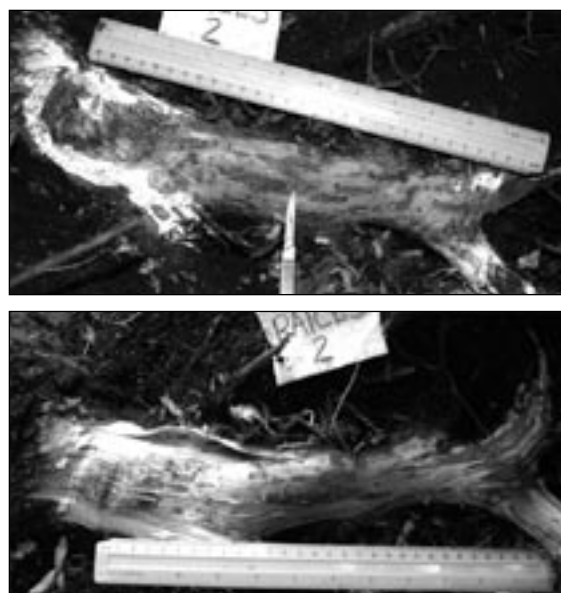


Fig. 1: Lesión causada por *P. austrocedrae* en raíces. Arriba: lesión en floema. Abajo: lesión en albura (el floema se ha removido para exponer la albura)

Fig. 2: Lesión causada por *P. austrocedrae* en fuste.



realizaron inoculaciones con otra especie de *Phytophthora* (*P. syringae*), que se encuentra presente en los bosques de ciprés sin mostrar una clara asociación con la enfermedad. En este caso, las lesiones alcanzaron un largo total promedio de 2,4 cm, sin diferir de las inoculaciones de control.

Los resultados de las inoculaciones en fuste fueron muy similares: las lesiones causadas por *P. austrocedrae* alcanzaron un largo total promedio de 21,5 cm (Fig. 2 y 4), mientras que las inoculaciones de control alcanzaron un largo total promedio de 2,4 cm y las de *P. syringae* de 3,2 cm, sin diferir de las inoculaciones de control (Fig. 3 y 4).

Se logró aislar nuevamente a *P. austrocedrae* en el 78 % de las lesiones y se detectó su presencia por medio de técnicas serológicas (Inmunotest ELISA) en el 100 % de las lesiones.

PATOGENICIDAD EN PLANTAS DE 5 AÑOS

Se inoculó el patógeno en el tallo de plantas de ciprés de 5 años de edad. El ensayo tuvo una duración de dos meses. Al finalizar el mismo, todas las plantas inoculadas habían desarrollado lesiones necróticas marrones a lo largo del tallo que afectaban todo el floema, llegando hasta la albura. El 20 % de las plantas mostraba síntomas externos (hojas rojas) al finalizar el ensayo. Sin embargo,

Fig. 3: Izquierda: control. Derecha: inoculación de *P. syringae*

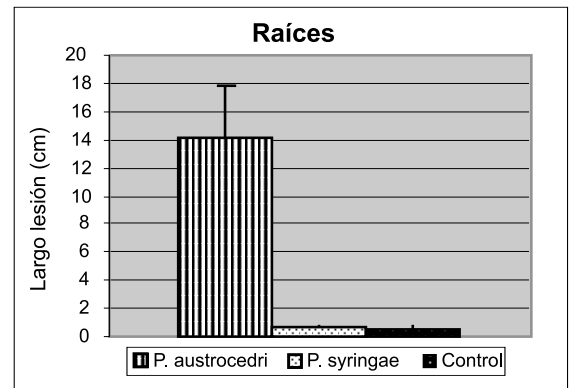
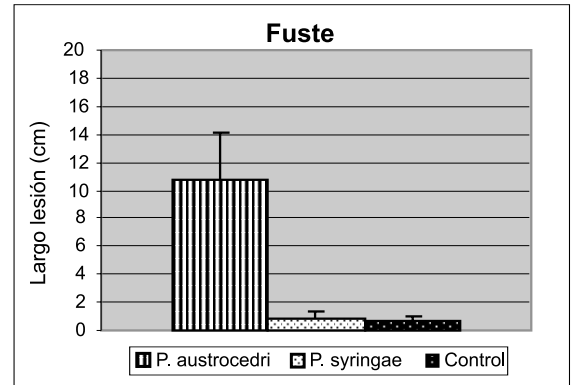
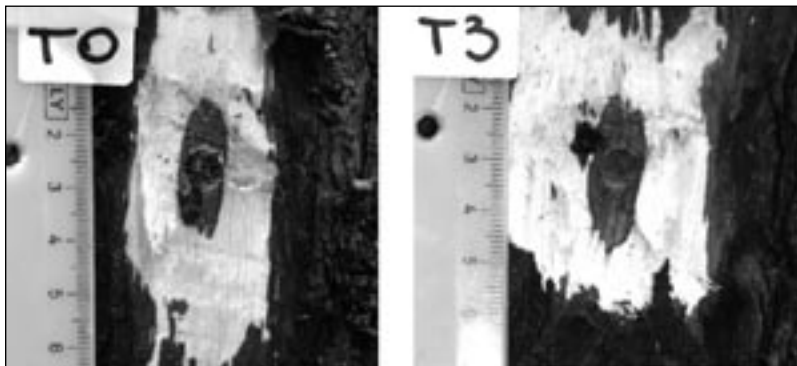


Fig. 4: Largo medio de las lesiones producidas por *P. austrocedrae* en fuste y raíces de árboles adultos.

el 80 % de las plantas no evidenciaba síntomas, a pesar de haber desarrollado importantes lesiones que no diferían de las de aquellas que sí mostraban síntomas externos. Las lesiones causadas por *P. austrocedrae* en tallos de plantas de 5 años alcanzaron un largo total promedio de 20 cm (Fig. 5) y afectaban todo el perímetro del tallo, mientras que en las inoculaciones de control, el largo total alcanzado por las lesiones fue de hasta 1 cm.

Se logró aislar nuevamente a *P. austrocedrae* sólo en el 10 % de las lesiones. No obstante, la detección por técnicas serológicas (Inmunotest ELISA) fue positiva en el 100 % de las lesiones.

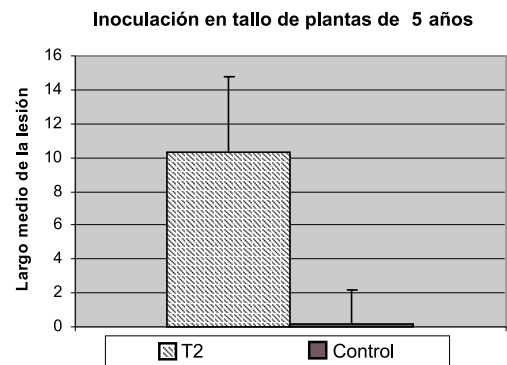


Fig. 5: Largo medio de las lesiones producidas por *P. austrocedrae* en plantas de 5 años.

PATOGENICIDAD EN PLÁNTULAS

Resultados preliminares de ensayos de patogenicidad en plántulas de 15-30 días mostraron una mortalidad del 95 % de las mismas a los 20 días de sembradas en suelo infestado con *P. austrocedrae*, y luego de haber sido sometidas a dos períodos de anegamiento de 48 hs cada uno. El patógeno no pudo ser reaislado de las plántulas muertas pero fue detectado con técnicas serológicas (Inmunotest ELISA).

El “mal del ciprés”: una enfermedad forestal causada por *Phytophthora*

Los resultados de los ensayos de patogenicidad son muy claros: *P. austrocedrae* es un patógeno primario para *Austrocedrus chilensis*. Inoculado en individuos sanos provoca la sintomatología de la enfermedad y puede ser aislado nuevamente a partir de los árboles inoculados. Tanto los árboles adultos como la regeneración y las plántulas son susceptibles al ataque. Aparentemente, la agresividad del ataque y la rapidez de la muerte es mayor cuanto más joven es la planta. Esto no es sorprendente considerando que el volumen de tejidos de conducción está en directa relación con el tamaño de la planta, y que la muerte se producirá una vez que se encuentren afectados los tejidos en todo su perímetro. *P. austrocedrae* ha sido detectada en bosques afectados a lo largo del área de distribución del ciprés (Fig. 6), mostrando que es un patógeno ampliamente distribuido y claramente asociado a la enfermedad denominada “mal del ciprés”.

Con la evidencia reunida hasta el momento se puede confirmar que *P. austrocedrae* es el organismo que produce la enfermedad denominada “mal del ciprés”. Esto representa un avance significativo para combatir el problema ya que, conocer su cara y su nombre, permitirá determinar la mejor forma de combatirlo.

Que el causante sea un agente biológico es un hecho altamente positivo ya que, si bien *Phytophthora* es un patógeno efectivo y difícil de controlar, una vez conocida su biología y la dinámica de la enfermedad se pueden establecer medidas de control. Por el contrario, si la causa estuviera relacionada exclusivamente con características del ambiente, sería imposible pensar en medidas de control puesto que dichas características difícilmente podrían ser modificadas.

A más de 50 años de su primera detección, finalmente entendemos el origen de la enfermedad e iniciamos el camino para llegar a combatirla. Esto no habría sido posible sin

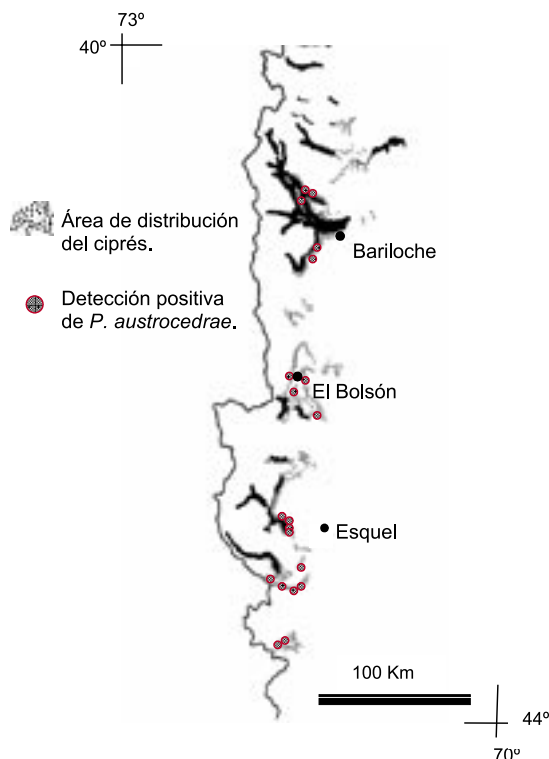


Fig. 6: Áreas inspeccionadas donde se ha detectado *P. austrocedrae*.

el trabajo incansable de los numerosos investigadores que han estudiado distintos aspectos del problema, sin el apoyo de las instituciones que financiaron, avalaron y/o colaboraron de distintas maneras con las investigaciones, y sin la colaboración invaluable de los propietarios de tierras con bosques de ciprés.

De todas maneras, todavía queda mucho camino por recorrer: debemos entender la dinámica de la enfermedad y del patógeno en el bosque, cómo se produce la infección, qué factores ambientales lo favorecen y cuáles lo perjudican, si se trata de un patógeno introducido o nativo, cómo se dispersa, etc.

El “mal del ciprés” es el primer caso conocido de una enfermedad causada por *Phytophthora* en bosques nativos de América del Sur. De las enfermedades forestales en bosques nativos de otras partes del mundo, la mortalidad de *Chamaecyparis lawsoniana* causada por *Phytophthora lateralis* en el noroeste de Estados Unidos es muy similar al “mal del ciprés” en cuanto a la sintomatología. La enfermedad se inicia en las raíces donde ocasiona la mortalidad de los tejidos activos (cambium y floema), y se dispersa hacia el cuello y el fuste produciendo lesiones necróticas marrones del tipo de las observadas en el ciprés de la cordillera pero, a diferencia del “mal del ciprés”, produce la mortalidad de los árboles más rápidamente, y presenta un comportamiento más agresivo. Esta enfermedad fue detectada por primera vez en 1923 y su agente causal fue conocido a inicios de la década del 40. Desde ese momento se han llevado a cabo numerosos estudios con el fin de delinear y poner en práctica medidas de control

eficientes. A fines de la década del '80 se estableció la existencia de individuos con resistencia genética a la enfermedad en poblaciones naturales de *C. laesoniaca*. Al presente, la reforestación con individuos genéticamente resistentes, conjuntamente con acciones de control tendientes a evitar la dispersión del patógeno, son las principales medidas de control desarrolladas para la protección y conservación de los bosques de esta especie nativa en Estados Unidos.

En el caso del "mal del ciprés" se están realizando estudios específicos para detectar resistencia genética a la enfermedad (El Mujtar, com. pers.). También se están desarrollando estudios sobre la dinámica de la enfermedad y su relación con las condiciones de sitio (La Manna, com. pers.), para contribuir a la toma de decisiones con respecto al manejo de los bosques de ciprés. Además, se abordará el estudio de la diversidad genética del patógeno para determinar si es nativo o introducido, y se estudiarán distintos aspectos de su biología con el fin de desarrollar medidas eficientes de control de la enfermedad. Si bien queda mucho trabajo por hacer, ahora sabemos hacia dónde orientar nuestros esfuerzos y esperamos que en los próximos años se puedan establecer medidas concretas de control. Mientras tanto se pueden tomar medidas que, aunque no logren revertir la situación, eviten que ésta empeore. Para ello es necesario el compromiso no sólo de las instituciones relacionadas con el bosque sino también de la población en general.

¿Qué podemos hacer?

Por el momento debemos concentrarnos en proteger y favorecer los sitios sanos y evitar la dispersión de la enfermedad. Como el patógeno habita en el suelo, es muy importante **no trasladar suelo de sitios enfermos a sitios sanos**. También es importante **evitar el traslado de material vegetal contaminado** ya que, dentro de los tejidos de la planta infectada, hay estructuras de resistencia del patógeno que pueden infectar a otros individuos sanos.

Algunas recomendaciones prácticas a tener en cuenta:

- ▶ No extraer plantas con tierra de sitios enfermos y llevarlas a otros sitios (ya sean bosques o jardines).
- ▶ Evitar transitar por sitios enfermos cuando el suelo se encuentra anegado o, de hacerlo, limpiar cuidadosamente el barro que se adhiera a zapatos, ruedas de vehículos, herramientas de trabajo etc. En condiciones de alta humedad hay gran cantidad de inóculo en el suelo, por lo tanto el barro que traslademos de un lugar a otro será una fuente de infección.
- ▶ No ingresar residuos de árboles enfermos (especialmente de la zona basal del tronco y raíces) en sitios sanos.
- ▶ Proteger los bosques sanos y favorecer su regeneración y crecimiento, especialmente en sitios que son desfavorables para el patógeno (suelos bien drenados, pendientes pronunciadas).
- ▶ Restaurar los bosques de ciprés especialmente en sitios que son desfavorables para el patógeno.

Agradecimientos

- A la Estación Experimental Agroforestal INTA Trevelin por su colaboración para la realización de los ensayos de patogenicidad y de tareas de campo.
- A la Administración de Parques Nacionales y al cuerpo de Guardaparques por su permanente disposición y colaboración en la realización de estudios en áreas de Parques Nacionales.
- A Dougy y Paloma Berwyn y, por su intermedio, a los propietarios de tierras con bosques de ciprés por su invaluable colaboración con las tareas de campo.
- A la Reserva Provincial Cascadas Nant y Fall por permitirnos trabajar en su jurisdicción.
- A las personas e instituciones que apoyaron y financiaron los estudios del "mal del ciprés": Agencia Nacional de Promoción Científica Técnica (ANPCyT, FONCYT), CONICET, ICSU-TWAS-UNESCO-UNU/IAS, Dr. Charles G. Shaw III y Dr. Paul Hennon (USDA Forest Service, Alaska Region, Forest Health Protection).
- Este trabajo es posible gracias a la colaboración entre grupos de investigación del Área de Protección Forestal del CIEFAP y del Departamento de Botánica y Patología de Plantas de la Universidad Estatal de Oregon (Oregon State University, Corvallis, Oregon) de Estados Unidos.

Bibliografía

Greslebin, A. G.; Hansen, E. M. 2006. Novedades sobre el "mal del ciprés". Patagonia Forestal 12(1): 11-14.

Greslebin, A. G.; Hansen, E. M.; Sutton, W. 2007. *Phytophthora austrocedrae* sp. nov., a new species associated with *Austrocedrus chilensis* mortality in Patagonia (Argentina). Mycological Research 11(3): 308-316.

Hennon, P. E.; Rajchenberg, M. 2000. El mal del ciprés. Algunas observaciones, comparaciones e ideas. Patagonia Forestal VI, Nº 2: 4-6.

La Manna, L.; Rajchenberg, M.; Taladriz, L. 2001. El "mal del ciprés" en el Valle 16 de octubre: ¿los suelos pueden decirnos algo? Patagonia Forestal VII, Nº 4: 11-12.