



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

Análisis de *Cryphonectria parasitica* en sotos de *Castanea sativa* de la Sierra de Béjar.

Analysis of *Cryphonectria parasitica* in *Castanea sativa* groves of the Sierra de Bejar.

Autor: Víctor Sánchez González.

GRADO EN BIOLOGÍA

Febrero, 2021

ÍNDICE

1	Intr	oducción1
	1.1 El	castaño europeo1
	1.2.2 1.2.2	ancro del castaño
2	Obj	etivos8
3	Me	todología8
	3.1 Ár	ea de estudio8
	3.2	Muestreo
	3.3 An	álisis estadístico11
4	Res	ultados y discusión 12
	4.1 Est	ado actual de afección de <i>C. parasitica</i> en la zona de estudio12
	4.2	Relación del grado de afección con los factores ambientales14
	4.3	Relación con la proximidad a las localidades15
	4.4	Presencia de brotes epicórnicos16
	4.5	Relación con la situación del castaño dentro del soto17
	4.6	Diámetro del tronco del castaño
	4.7	Relación con la altitud19
	4.8	Afección en función de la orientación y pendiente de la ladera20
	4.9	Afección en función de la orientación de las zonas afectadas del castaño21
	4.10.	Relación con el uso y manejo del suelo21
	4.11	Medidas de actuación
5	Con	clusiones26
6	Bib	liografía27
7	Ма	terial complementario31
	7.1 An	exo I
	7.2 An	exo II32
	7.3 An	exo III35

Resumen

En el último decalustro, la densidad poblacional del castaño europeo (*Castanea sativa* Miller, 1768) se ha visto drásticamente disminuida principalmente por agentes fitopatógenos. El objetivo de este trabajo es evaluar el estado de sotos de castaños afectados por *Cryphonectria parasitica* (Murr.) pertenecientes a 2 localidades salmantinas. Para ello se analizó: su distribución actual en la zona, el grado de afección de los sotos y los daños provocados en el castaño. También se comprobó la eficiencia de las medidas de control que realizadas por los castañicultores. En las zonas seleccionadas para el estudio se encontró un valor medio porcentual de afección por *C. parasitica* del 13,27 %. Los castaños jóvenes y localizados en la periferia de los sotos son más vulnerables al patógeno, siendo el tronco la parte del árbol más dañada. La formación de brotes epicórnicos parece tener relación con la defensa del castaño. Parece existir un mayor porcentaje de castaños afectados en suelos manejados frente a abandonados, lo cual lleva a pensar, que las medidas de control realizadas por los castañicultores son insuficientes o se realizan de una manera deficiente. Se postula el control biológico, como la medida con mayores expectativas de cara a una lucha eficaz frente a *C. parasitica*.

Palabras clave: Castanea sativa, castañicultores, Cryphonectria parasitica, fitopatógenos.

Abstract

In the last decaluster, the population density of the European chestnut (*Castanea sativa* Miller, 1768) has been drastically decreased, mainly by phytopathogens. The objective of this work is to evaluate the state of chestnut groves affected by *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Belonging to 2 localities from Salamanca. For this, the following were analyzed: its current distribution in the area, the degree of affectation of the groves, the damage caused to the chestnut tree. The efficiency of the control measures being carried out by the chestnut growers will also be checked. In the areas selected for the study, a mean percentage value of *C. parasitica* affection of 13.27% was found. Young chestnut trees located on the periphery of groves are more vulnerable to the pathogen, with the trunk being the most damaged structure. The formation of epicorn shoots seems to be related to the defense of the chestnut tree. There seems to be a higher percentage of affected chestnut trees in managed versus abandoned soils, which leads us to think that the control measures carried out by chestnut growers are insufficient or carried out in a poor way. Biological control is postulated as the measure with the highest expectations for an effective fight against *C. parasitica*.

Key words: Castanea sativa, chestnut growers, Cryphonectria parasitica, phytopathogens.

Abreviaturas.

- C.M.A.: Castaños Muestrados Afectados.
- **P.C.M.A.**: Porcentaje de castaños muestreados afectados.

1 Introducción

1.1 El castaño europeo

El castaño europeo (*Castanea sativa* Miller, 1768) es una especie monoica perteneciente a la familia Fagaceae y cuyo origen se ha tornado difuso durante mucho tiempo. No obstante, existe un mayor consenso que sitúa la aparición de las especies de castaño en el este de Asia (Pereira-Lorenzo *et al.*, 2012). Para un correcto desarrollo, el castaño requiere de precipitaciones superiores a los 600 mm/m² y un clima templado (Álvarez *et al.*, 2000) sin períodos de sequía estival o con un periodo como máximo de 3 meses (Fernández y Alía, 2008). Al ser una especie heliófila, requiere de una intensidad de luz mínima para el mantenimiento y la renovación de sus partes vegetativas e inducción floral (Grau Beretta, 2009) no prosperando bien en bosques cerrados (Vieitez *et al.*, 1996). Aparecen en rangos altitudinales entre los 400-900 m. sobre el nivel del mar, pudiendo existir puntualmente en cotas superiores. Muestra preferencia por suelos neutros o ácidos con una cantidad relativamente elevada de materia orgánica (5-8 %) (Berrocal *et al.*, 1998).

Actualmente *C. sativa* ocupa una superficie de 1.700.000 ha al sur de Europa (Fernández y Alía, 2008). Aun teniendo estos datos tan prolíferos, durante las últimas glaciaciones, la especie sobrevivió en Europa gracias a la existencia de refugios cuaternarios en las diferentes Penínsulas del Mediterráneo (Krebs *et al.*, 2004). A partir de ellos, recolonizó el continente (Mattioni *et al.*, 2013). No obstante, su distribución actual se debe en mayor grado a la actividad humana que a la migración y colonización natural (Fineschi *et al.*, 2000). Esta especie ha resultado de gran importancia económica para el hombre, siendo cultivada desde la época romana (Jarman *et al.*, 2017) por sus múltiples usos. Por esta razón, su área de distribución natural ha sido altamente modificada (Conedera *et al.*, 2004) estando íntimamente ligada a las economías rurales (Álvarez *et al.*, 2000).

En España, el castaño europeo ocupa una superficie de 1.100.000 ha, siendo especie principal en unas 227.000 ha según los datos del Tercer Inventario Forestal (MARM, 2010). Se trata de una especie predominante en el norte peninsular (Pereira-Lorenzo *et al.*, 2001a, Pereira-Lorenzo *et al.*, 2001b), presente también en las provincias de Cáceres, Salamanca y Ávila (Vieitez *et al.*, 1996).

La densidad poblacional de *C. sativa* en España se ha visto disminuida drásticamente en el último siglo. Actualmente en Castilla y León, las masas de castaño puras suponen entorno a las 17.126 ha según el Segundo Inventario Forestal Nacional (Zamora, 2015). Esta cifra puede

fluctuar por el efecto de los incendios, abandono de cultivos, ataques de tinta y chancro, así como por las nuevas plantaciones para producción de fruto (Aguín *et al.*, 2011). La disminución poblacional de esta especie en España corresponde por un lado a elementos abióticos como los incendios, las actividades de tala, los cambios en los usos del suelo para la agricultura y ganadería y, de manera colateral, la aceleración del cambio climático. Por otro lado, tenemos los factores bióticos: competencias intra o interespecíficas por el nicho ecológico, el parasitismo de pequeños invertebrados o las distintas especies de fitopatógenos.

Por todo ello, este trabajo se centrará en uno de los patógenos forestales más agresivos para esta especie arbórea, provocando la enfermedad conocida como chancro del castaño. Desde su aparición en la Península Ibérica, la producción de esta especie forestal se ha visto mermada en calidad y cantidad (Fernández *et al.*, 1993).

1.2 Chancro del castaño

1.2.1 Historia y expansión del chancro

El agente causante de esta enfermedad es un hongo originario en el este de Asia (Myburg et al., 2004; Lee et al., 2005) perteneciente a la división Ascomycota y al orden de los Diaphortales (Baidyaroy y Bertrand, 2001) recogido bajo el nombre de *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr. Se trata de un saprófito facultativo considerado uno de los patógenos más agresivos que afecta al castaño (Zamora, 2015). Sin embargo, no sólo se encuentra en este género. Stipes y sus colaboradores (1978) mencionaron que puede aparecer en diversas especies de géneros como *Quercus*, *Fagus*, *Acer*, *Liriodendrum* o *Corylus*.

Este hongo comenzó infectando a los castaños autóctonos de la región asiática (*Castanea crenata* Siebold & Zucc y *Castanea mollissima* Blume) que, aun siendo portadores, raramente presentaban la enfermedad; considerándose resistentes a la misma (Flórez *et al.*, 2001). Por ello, apenas se realizaron medidas de control frente a este emergente patógeno.

Son una extraordinaria capacidad de dispersión junto al gran poder virulento y la facilidad de propagación que presenta *C. parasitica* (favorecida por causas antropocéntricas) los motivos de la aparición de esta enfermedad en el continente americano sobre sus castaños autóctonos (*Castanea dentata* (Marsh) Borkh.), más susceptibles a la enfermedad, por lo que esta especie. ha dejado de ser la especie dominante en los bosques de Norte América (Chaloux, 2000). Finalmente, este patógeno pudo saltar la barrera del Atlántico y penetrar en Europa (Vieitez *et al.*, 1996). En este nuevo continente fue reconocido y aislado en 1938 en Génova (Aguín *et al.*, 2011) y rápidamente continúo su expansión hacia otros territorios europeos. En España, la

presencia de *C. parasitica* fue citada por primera vez en 1947 por el fitopatólogo italiano Biraghi sobre castaños japoneses (*Castanea crenata* Siebold & Zucc) de viveros de los Servicios Forestales de Vizcaya y Guipúzcoa (Vieitez *et al.*, 1996). Desde este punto, comenzará su propagación y trasmisión por todo el país. En la actualidad, este hongo afecta gravemente a las masas de castaños del norte de la Península Ibérica (Homs *et al.*, 2001). Las graves consecuencias del chancro en los castaños europeos justifican que *C. parasitica* esté considerado un patógeno de cuarentena, incluido en la lista A2 de la Organización Europea y Mediterránea para la Protección de las Plantas (EPPO, 2005).

1.2.2 Ciclo biológico y dispersión del chancro

Debido a la incapacidad de las hifas de *C. parasitica* para penetrar la corteza (Flórez *et al.*, 2001), este hongo requiere de heridas frescas o grietas de crecimiento en la corteza para introducirse en el tejido del hospedador (Roane *et al.*, 1986). El tejido leñoso moribundo generado por la sequía, los incendios, la competencia natural o la tala de árboles también podría servir como punto de entrada (Prospero *et al.*, 2006). Recientemente, se ha demostrado que *C. parasitica* también puede infectar las agallas abandonadas de la avispa del castaño (*Dryocosmus kuriphilus*; Yasumatsu, 1951). Esto representa una nueva forma para que el patógeno penetre en el tejido del hospedador (Meyer *et al.*, 2015). En cuanto a la trasmisión de la enfermedad, se diferencian dos tipos de dispersión dependiendo de su modo de reproducción: sexual o asexual.

En la reproducción asexual, el hongo forma picnidios globosos, de color de amarillo anaranjado (Figura 1.a), con un tamaño que oscila entre los 100-300 µm de diámetro, pudiendo aparecer aislados o agregados. En condiciones de humedad elevada, los picnidios liberan a través de un ostiolo las esporas asexuales (conidios) englobadas en un material viscoso que forma cadenas retorcidas de color amarillo denominadas cirros (Aguín *et al.*, 2011) (Figura 1.b). Los conidios no presentan dispersión aérea, y son transportados por la lluvia o en las patas, plumas, pelo, etc. de pequeños animales e insectos (Mansilla *et al.*, 2000).

En la reproducción sexual, el hongo forma peritecios globosos de 300 a 400 μm de diámetro, apareciendo en grupos de 5 a 50 unidades (Aguín *et al.*, 2011). Se caracterizan por un cuello cilíndrico largo terminado en un ostiolo (Rigling y Prospero, 2018). Dentro de los peritecios se forman las ascas, que contienen 8 ascosporas de vida relativamente corta (7-12 días), elipsoidales (Figura 1.c) y uniseptadas (EPPO, 2005). Las ascosporas son liberadas a través de

una pequeña abertura del ostiolo. Su dispersión es facilitada por el viento, lluvia o animales.

Tanto las esporas sexuales como asexuales de *C. parasitica* pueden causar infección (Rigling y Prospero, 2018). Ambos tipos de cuerpos fructíferos pueden coexistir muy cerca en la misma porción de corteza (Prospero *et al.*, 2006) observándose picnidios y peritecios simultáneamente (Mansilla *et al.*, 2000) recogidos bajo el nombre de "estroma" (Figura 1.a).







Figura 1. Imágenes de la esporulación de *C. parasitica*. a) Vista a lupa del estroma producido en la corteza de un castaño infectado por este hongo. En las pústulas naranja-rojizas albergan los cuerpos fructíferos sexuales o asexuales (Fuente propia) b) Vista a lupa de los cuerpos fructíferos asexuales (picnidios) de donde se extruyen las esporas asexuales (conidios) como zarcillos o cirros de esporas (Fuente propia). c) Vista a microscopio óptico de un asca formada que contiene 8 ascosporas. (Fuente: https://gd.eppo.int/taxon/ENDOPA/photos).

1.2.3 Sintomatología del chancro en el castaño.

La intrusión de *C. parasitica* en su huésped viene facilitada por fenómenos climáticos, las heridas naturales o causadas por la poda o insectos vectores (Benavides y Vázquez, 2005). La edad de una herida en la corteza parece influir fuertemente en la probabilidad de que *C. parasitica* se establezca (Rigling y Prospero, 2018). Los autores Bazzigher y Schmid (1962) encontraron que, en el castaño europeo, las lesiones más grandes se desarrollaron después de la inoculación de heridas de 1 día, sin embargo, en heridas de 4 días *C. parasitica* ya no pudo establecerse. La manifestación de síntomas en los huéspedes susceptibles al chancro (*C. sativa* y *C. dentata*) se exhiben de manera distinta dependiendo de la edad del individuo afectado y de la virulencia de la cepa responsable de la infección (Prospero y Rigling, 2013).

La invasión comienza a través de las esporas generadas por el hongo (ascosporas y conidios) que rodean y estrangulan los tejidos de transporte y de crecimiento del árbol (floema, cambium y xilema), provocando la destrucción de los mismos. Bajo la corteza y el cambium se

puede apreciar el crecimiento del micelio del hongo en forma de abanico (Heiniger y Rigling, 1994) de color marrón-blanquecino (Figura 2 y 3.a).

El modo que tiene *C. parasitica* de instalarse en el castaño que afecta, es infectar las partes de los árboles por encima del suelo (Figura 3), es decir, tallos y las ramas (Rigling y Prospero, 2018). Para que la infección se lleve a cabo, el inóculo debe penetrar dentro de la planta (Flórez *et al.*, 2001) aprovechándose de las lesiones de la corteza del castaño.

En la corteza, como consecuencia de la reacción de la planta frente a la desecación de los tejidos infectados por el hongo, se originan áreas deprimidas con coloraciones rojizo-anaranjadas (Figura 3.b, 3.c y 3.d) que irán agrietando la corteza (Figura 3.c y 3.d) y formando el típico síntoma del chancro que da nombre a la enfermedad (Trapiello, 2017). En estas "pústulas" encontramos las estructuras de reproducción sexual y asexual comentadas anteriormente. También es común es la proliferación de brotes epicórnicos (Anagnostakis, 1987), como posible respuesta del castaño frente a la infección del hongo (Figura 3.f).

Otro síntoma característico es la marchitez de sus partes vegetales aéreas adquiriendo tonalidades amarillas o marrones (Figura 3.g) que pueden permanecer colgando en las ramas muertas e infectadas, produciendo el llamado efecto "bandera" (Figura 3.h) siendo el síntoma temprano más pronunciado de una infección por *C. parasitica* (Rigling y Prospero, 2018). Cuando el follaje presenta estos síntomas, en las ramas pueden aparecer chancros elipsoidales hundidos con la madera expuesta en el centro (Benavides y Vázquez, 2005).

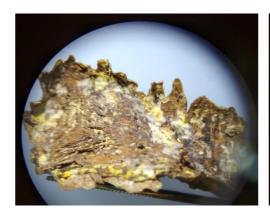




Figura 2. Imágenes de dos vistas realizadas en el laboratorio con ayuda de una lupa (a menor y mayor aumento) del micelio de *C. parasitica* en la parte interna de la corteza de un castaño infectado. (Fuente propia).

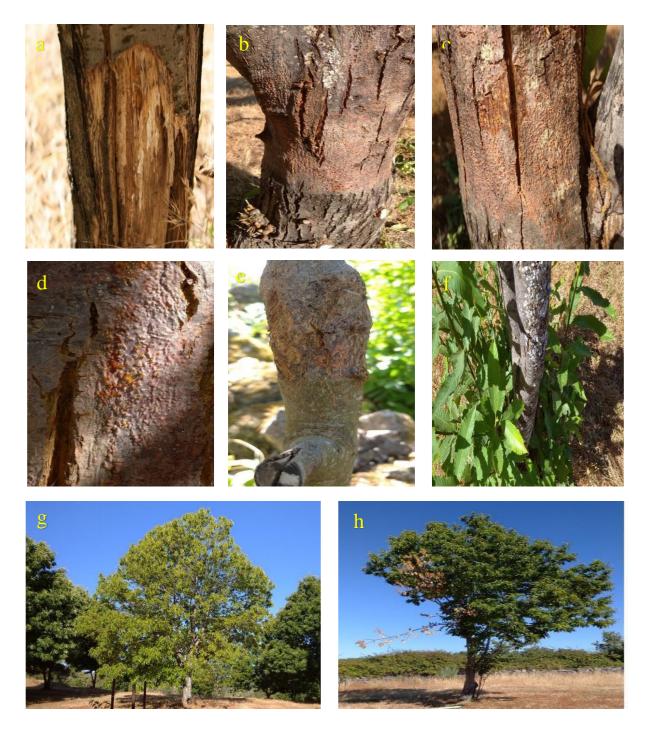


Figura 3. Imágenes de la sintomatología (apreciable a simple vista) causada por *C. parasitica* sobre *C. sativa*. a) *C. parasitica* forma abanicos miceliales que avanzan intercelularmente en la corteza y el cambium del castaño. b) c) y d) Presencia de "pústulas" anaranjadas donde encontramos las estructuras de reproducción asexual y sexual en la corteza del castaño afectado, la cual se irá agrietando. e) Inflamación producida por cepas hipovirulentas de chancro pasivo. f) Presencia de brotes epicórnicos en las partes inferiores de un tronco. g) Amarilleo de las hojas en las ramas de un castaño afectado h) Castaño europeo que gradualmente comienza a perder sus hojas de las partes distales y secarse sus ramas. También se aprecie el llamado efecto "bandera" con hojas secas entre hojas de colores aún vivos. (Fuente propia).

1.2.4 Medidas de actuación contra el chancro

El hombre no ha sido insensible a esta tragedia, protagonizando una ejemplar reacción de defensa frente a este implacable agresor. Por ello, agricultores y científicos, han llevado a cabo una serie de medidas culturales, preventivas y de control para intentar paliar los efectos devastadores producidos por este patógeno. Dichas actuaciones se han mantenido y mejorando a lo largo del tiempo, pudiendo clasificarlas en tres grupos: culturales, químicas y biológicas.

- Medidas culturales: son aquellas que ayudan a mantener el buen estado de las masas forestales y sirven como prevención frente a la propagación de la enfermedad.
- Medidas químicas: mediante inyección o riego con funguicidas. Actualmente, los productos fungicidas recomendados para aplicar directamente sobre una lesión son: derivados del bencimidazol, inhibidores de ergosterol o uso de antibióticos (Flórez et al., 2001).
- Medidas biológicas. El único tratamiento efectivo actual contra el chancro del castaño es la
 aplicación del control biológico mediante el uso de cepas hipovirulentas, dando resultados
 muy satisfactorios en países como Italia, Francia y Suiza. (Colinas et al., 2009).

Este fenómeno es causado por un micovirus de doble cadena de RNA perteneciente a la familia Hypoviridae, ubicado en el citoplasma del hospedador fúngico (Choi y Nuss, 1992). El virus se trasmite por anastomosis hifal, produciendo la conversión de la cepa virulenta en hipovirulenta (Anagnostakis, 1988). Para ello es necesario que ambas pertenezcan al mismo grupo de compatibilidad. Estas cepas infectadas se denominan hipovirulentas (Colinas *et al.*, 2009) e inducen un fenotipo que reduce el crecimiento parasitario y la capacidad de esporulación del patógeno. La transmisión vertical del hipovirus se da a través de los conidios (Homs *et al.*, 2001). Por el contrario, las ascosporas no son capaces de transmitir el hipovirus (Milgroom y Cortesi, 2004; Prospero *et al.*, 2006). El género *Hypovirus* comprende actualmente cuatro especies bien caracterizadas (Hillman y Suzuki, 2004; Turina y Rostagno, 2007) siendo el CHV-1 la mejor estudiada y la que actualmente se utiliza como control biológico en Europa.

Por todo lo citado anteriormente se realiza el siguiente trabajo. El cuál se centrará en analizar la problemática de la aparición de *C. parasitica* en sotos de la provincia de Salamanca, donde esta especie arbórea presenta una gran importancia, no sólo a nivel paisajístico, sino también sociocultural y económico.

2 Objetivos

El objetivo general de este trabajo es analizar el estado de los sotos de castaños europeos (*C. sativa*) muestreados en la comarca de la Sierra de Béjar, centrándonos en el análisis de la presencia de chancro del castaño (*C. parasitica*) en esta zona. Para ello, estableceremos como objetivos parciales:

- Analizar la distribución de este hongo en los sotos de castañas de esta comarca, localizados entre las localidades de El Cerro y Lagunilla.
- Conocer el grado actual de afección de *C. parasitica* en los sotos muestreados.
- Analizar los daños producidos en los castaños afectados y la manera de distribuirse en los mismos.
- Obtener información de las posibles medidas culturales o químicas que puedan estar llevando a cabo los castañicultores de esta zona para combatir este problema.
- Analizar la efectividad de las medidas que los castañicultores estén realizando.
- Proponer posibles tratamientos o medidas correctoras de cara a una lucha más eficaz frente a este patógeno.

3 Metodología

3.1 Área de estudio

El área de estudio se encuentra ubicada en la comarca de la Sierra de Béjar (Figura 4) localizada en el cuadrante sureste de la provincia de Salamanca, limitando con las provincias de Ávila y Cáceres. Constituye el macizo occidental del conjunto montañoso de Gredos, en el Sistema Central de la Península Ibérica. Biogeográficamente pertenece al sector Bejarano-Gredense (subsector Bejarano Tormantino), dentro de la provincia Carpetano-Ibérico-Leonesa (Rivas-Martínez, 1986). Esta comarca se caracteriza por presentar un clima mediterráneo, con inviernos relativamente cortos, no muy fríos y veranos largos, calurosos y secos. Otra particularidad son sus abundantes precipitaciones en otoño y primavera. Estos valores compensan la baja capacidad de retención de agua de los suelos, los cuáles, presentan un pH generalmente ácido.

Concretamente, dentro de esta comarca, se han elegido 10 zonas para el muestreo (Figura 4 y Anexo I). Estas parcelas fueron elegidas por corresponderse con explotaciones frutales de castaños (abandonadas o con manejo actual de uso agrícola) afectadas por *C. parasitica*. Dichas parcelas están ubicadas entre dos municipios, conocidos bajo el nombre de El Cerro y Lagunilla.

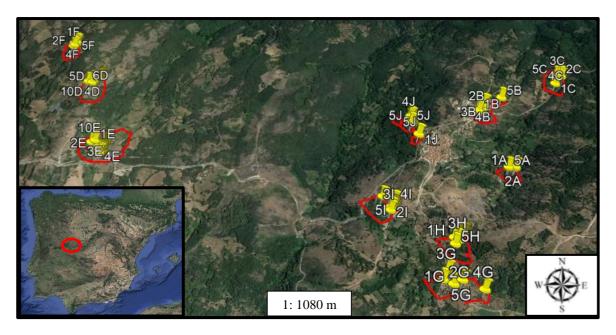


Figura 4. Vista a satélite (a escala 1:1080) de las 10 zonas seleccionadas para el estudio (A-J). En color rojo se muestra el perímetro de las zonas. En color amarillo, con aspecto de chincheta, se representa los castaños muestreados y usados a modo de réplicas para este trabajo. (Fuente Google Earth Pro).

Al situarse en altitudes similares, El Cerro a 955 m y Lagunilla a 910 m sobre el nivel del mar, las condiciones climáticas imperantes en las 2 zonas de estudio son muy parejas. Sin embargo encontramos un patrón en cuanto a la escala de temperaturas. La localidad de Lagunilla presenta valores superiores en cuanto en la temperatura media anual (13,12°C frente a 11,9°C), la temperatura media de las máximas (19,25°C frente a 17,5°C) y la temperatura media de las mínimas (7°C frente a 6,25°C) respecto a El Cerro. Por lo tanto, aun siendo dos municipios limítrofes con una separación de escasos kilómetros, Lagunilla presenta un clima algo más cálido que El Cerro. En cuanto a las precipitaciones, comprobamos que la localidad de El Cerro es más húmeda que Lagunilla. Observando la Tabla 1 comprobamos que las precipitaciones medias anuales del último año y las precipitaciones en los meses de sequía de El Cerro, siempre presenta valores superiores respecto a los de Lagunilla.

Tabla 1: Datos de la temperatura media anual (°C), temperatura media de las máximas (°C), temperatura media de las mínimas (°C), las precipitaciones anuales (mm/m²) y de las precipitaciones (mm/m²) en los meses de sequía (Julio, Agosto y Septiembre) de las dos localidades (Fuente Climate-Data.Org 2020).

	El Cerro	Lagunilla
Temperatura media anual (°C).	11,9	13,12
Temperatura media de las máximas (°C).	17,5	19,25
Temperatura media de las mínimas (°C).	6,25	7
Precipitaciones anuales (mm/m²).	521	394
Precipitaciones Julio (mm/m²).	11	7
Precipitaciones en Agosto (mm/m²).	11	11
Precipitaciones en Septiembre (mm/m²).	33	21

3.2 Muestreo

Una vez seleccionada el área de estudio, se eligieron 10 zonas donde los castaños ubicados en ellas presentaban un nivel de afección de *C. parasitica*. Estas 10 zonas se encontraban en un rango de proximidad, mayor o menor, de las localidades citadas; pudiendo estar formadas por más de un soto. Para ordenarlas, se designaron con letras del alfabeto a cada una (A-J). Dentro de las 10 zonas elegidas, se escogieron 5 castaños en 8 de las parcelas (A, B, C, F, G, H, I, J) y 10 en las otras 2 restantes (D y E). En estas dos últimas se muestreó un mayor número de castaños debido a que el perímetro donde se localizaban era superior respecto a las 8 anteriores. Todos los castaños muestreados se encontraban separados a una distancia mínima de 5 m entre cada individuo. Aparte, el muestreo fue realizado en los meses de verano más cálidos, concretamente durante los días finales de julio y principio de agosto. Los parámetros recogidos fueron los siguientes:

- Coordenadas de la ubicación del castaño (U.T.M.) y la altitud a la que se encuentra el plantón.
- Perímetro del soto muestreado (ha), número de sotos incluidos, conteo de árboles afectados y de árboles totales (sanos y afectados) en cada una de las zonas.
- Grado de proximidad a la localidad más cercana; en este caso, los pequeños municipios citados. Para ello, tras el muestreo, fueron divididos los 60 castaños muestreados en tres categorías diferenciadas por este parámetro: Grado alto (0-499 m), grado medio (500-999 m) y grado bajo (a más de 1 km) respecto a una de las localidades.
- Pendiente de la ladera donde se encontraba el castaño afectado con ayuda de un nivelador y, orientación de la misma en términos cardinales con ayuda de una brújula.

- Ubicación del castaño afectado en el propio soto. Para ello se realizó una diferenciación entre dos situaciones: periferia o en el centro del mismo. Entendemos como periferia las primeras dos filas de castaños que rodean el perímetro del soto.
- Diferenciación de los castaños muestreados en dos categorías en función del uso del suelo: si el suelo está actualmente utilizado para la producción y recolección de castañas por los agricultores (manejado) o no (abandonado).
- Diámetro del tronco (cm) del castaño muestreado con la ayuda de una cinta métrica.
- Existencia o no de brotes epicórnicos en la base de los fustes.
- Presencia o no de chancro en el castaño muestreado, considerando la orientación cardinal donde *C. parasitica* aparece en el tronco del mismo con ayuda de una brújula.
- Incidencia (en porcentajes y grados) de las partes en el castaño donde aparezca el hongo. Para ello, se dividirán los castaños en 3 partes: 1/3 inferior, 1/3 medio y 1/3 superior. Además, diferenciaremos 3 ubicaciones (tronco, ramas y renuevos) también aparece *C. parasitica*. Para medir la incidencia se realizaron valoraciones del grado de daño existente en los individuos afectados en 5 niveles distintos que sigue el siguiente intervalo: I: 1-10%, II: 11-25%, III: 26-50%, IV: 51-80% y V: >80%.
- Entrevistas realizadas a los castañicultores y forestales de la zona acerca de las medidas de control y culturales que estén realizándose actualmente en esta zona.

3.3 Análisis estadístico

Los castaños muestreados y afectados (C.M.A) elegidos en cada una de las zonas estudiadas hacen un total de 60 individuos que actuarán a modo de réplicas. De esta manera podremos obtener unos resultados significativos y extraer las primeras ideas del grado de afección y de los daños provocados por *C. parasitica* en los castaños infectados.

Para comprobar si existen diferencias significativas entre los sitios muestreados, se realizó un análisis de varianza (ANOVA). Los parámetros sometidos a estas pruebas fueron: altitud, pendiente de ladera, diámetro del tronco, ubicación del castaño en el soto, proximidad a un medio urbano, uso del suelo, presencia de brotes epicórnicos, lugar del tronco afectado (1/3 inferior, 1/3 medio, 1/3 superior), grado de daño porcentual de tronco, grado de afección en tronco, porcentaje del grado de daño en ramas, grado de afección en ramas, presencia de chancro en renuevos, porcentaje de presencia en renuevos y orientación de la ladera.

En primer lugar, se efectúo la prueba de la normalidad para comprobar que la variable presente distribución normal, en caso contrario normalizarlos. Como n = 60, se recurrió al test de Kolmogorov-Smirnov. En segundo lugar se realizó la prueba de homogeneidad de varianzas con el test de Levene, para verificar si existen diferencias significativas entre los parámetros. A continuación, se realizó el ANOVA con el programa SPSS (IBM SPSS Statistics 26.0), de esta manera comprobamos si las medias de los grupos medidos son distintos. Cuando el análisis de varianza detectaba diferencias estadísticamente significativas (p<0,05), se utilizó el test de Tukey, con el fin de analizar si existen diferencias entre los sitios analizados.

4 Resultados y discusión.

Los resultados del muestreo se muestran en el apartado 7 (Anexos I, II y III).

4.1 Estado actual de afección de C. parasitica en la zona de estudio

Dentro de las 10 zonas muestreadas, además del conteo y manejo de los C.M.A utilizados a modo de réplicas en cada parcela (60 castaños), se efectuó un recuento de los castaños totales afectados por *C. parasitica* en cada zona (119 individuos) y de los castaños totales (afectados y sanos) de cada soto (950 ejemplares). Observando la Tabla 2 encontramos que el mayor porcentaje de C.M.A. lo encontramos en la zona B, donde el 28,00 % de los castaños presentaban algún estadio del hongo. La zona D también presenta un porcentaje de incidencia más elevado respecto al resto, con un valor del 20,25 %. Las zonas H y I son las zonas con menor incidencia porcentual del ascomiceto, con valores del 7,48 % y 8,14 % respectivamente.

Los C.M.A en las 10 zonas presentan una media porcentual de afección por *C. parasitica* del 13,27 %. El desarrollo de la enfermedad parece restringido, pero existe el riesgo de que la enfermedad pueda alcanzar cotas importantes (Benavides y Vázquez, 2005). Se comprueba que efectivamente existen síntomas de *C. parasitica* en la totalidad de las zonas muestreadas. Esto coincide con diferentes estudios realizados durante el verano de 2004 en castañares de Béjar, El Cerro y Lagunilla, indicando que existen síntomas de chancro en los bosques de la provincia de Salamanca (Benavides y Vázquez, 2005). En la Figura 5 podemos observar que en el tronco existe un mayor grado de afección frente a las ramas.

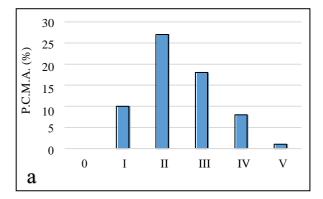
De los 60 C.M.A. que exhibían afección en el tronco, se puede comprobar que aparecen los 5 niveles de afección. Existen 2 picos en los grados II y III, representando al 27,00% y al 18,00% de los C.M.A respectivamente. Sin embargo, en las ramas observamos que el grado de afección

es menos importante y más irregular, no hallándose castaños que exhiban los grados más altos de afección (III, IV y V) y encontrando un pico en el grado I (71,67 % de los C.M.A).

Los resultados muestran la existencia de diferencias significativas de las medias de los C.M.A. localizados en la zona A y D respecto al resto de zonas, en cuestión del grado de afección del tronco. En cuanto al grado de afección de ramas, los resultados fueron bastantes homogéneos. Únicamente existieron diferencias significativas en las zonas D, F, H e I entre ellas mismas.

Tabla 2. Datos del número de castaños muestreados-afectados (C.M.A.), del número total de castaños afectados en las zonas estudiadas, del número de castaños totales (afectados y sanos) de la zona en cuestión y el porcentaje de incidencia de *C. parasitica* en cada una de las zonas de muestreo ordenadas alfabéticamente (A-J).

Zono	Castaños muestreados	Castaños afectados	Castaños totales	Porcentaje de incidencia de C.
Zona	y afectados	de la zona	de la zona	parasitica (%)
A	5	8	73	10,96
В	5	7	25	28,00
C	5	9	69	13,04
D	10	32	158	20,25
E	10	23	215	10,70
F	5	9	73	12,33
G	5	11	95	11,58
Н	5	8	107	7,48
I	5	7	86	8,14
J	5	5	49	10,20
Total	60	119	950	ж 13,27



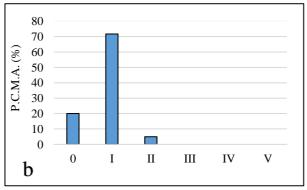
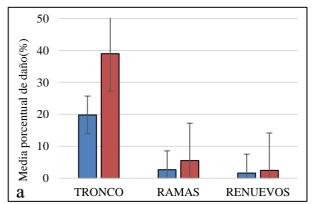


Figura 5. Representaciones gráficas del porcentaje de castaños muestreados-afectados (P.C.M.A.) por *C. parasitica* en función de si ubica en tronco (a) y ramas (b), diferenciando el grado de afección del castaño en 5 niveles: 0, I, II, III, IV y V.

4.2 Relación del grado de afección con los factores ambientales

Vistas las diferencias de temperatura y precipitaciones existentes en las 2 localidades comentadas en el apartado 3.1 de este trabajo, resulta interesante comprobar si las disconformidades de esos parámetros guardan alguna relación para explicar la presencia y el mayor/menor desarrollo de *C. parasitica* en las zonas de estudio. Los chancros pueden crecer rápidamente, rodeando y estrangulando el tallo o rama, provocando la muerte de las partes distales de la planta (Benavides y Vázquez, 2005). Sabiendo que *C. parasitica* ataca principalmente, al tronco y ramas del árbol (Goidanich, 1990) y para comprender mejor cuáles son las porciones del individuo que presentan una mayor incidencia a la aparición de este patógeno, se anotaron los puntos donde se manifestaba el hongo en su huésped.

En la Figura 6.a observamos que los troncos de castaños gunilleros (castaños ubicados en el término municipal de Lagunilla) presentan una media porcentual del daño en los C.M.A. del 38,96 %, en comparación con el 19,88 % en los castaños cerrúos (castaños ubicados en el término municipal). En cuanto a ramas y renuevos vemos que los datos son muy similares y menos significativo, siempre con la tendencia de tener valores superiores en Lagunilla. Si atendemos a la Figura 6.b vemos que continúa la tendencia de aparecer valores similares entre C.M.A. de ambas localidades, con datos algo superiores en Lagunilla. Sin embargo, aparece la otra diferencia, donde 31,43 % de los C.M.A gunilleros presentaban *C parasitica* en el 1/3 superior frente al 8,42 % de los C.M.A. cerrúos.



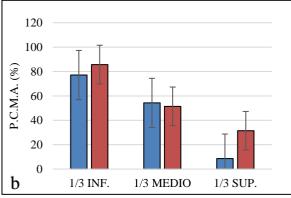


Figura 6. a) Representación gráfica de la media porcentual del daño en los C.M.A. (%) por *C. parasitica* dependiendo de la zona afectada (en rojo Lagunilla y en azul El Cerro), dividiendo entre: tronco, ramas y renuevos. b) Representación gráfica del P.C.M.A. (%) por *C. parasitica* dependiendo de la parte área del castaño afectada, diferenciando entre: 1/3 inferior, 1/3 medio y 1/3 superior.

Los resultados del ANOVA muestran diferencias significativas de las medias de los C.M.A. localizados en la zona D y F respecto al resto de zonas, en cuestión de la media

porcentual de daño en los C.M.A en el tronco, ramas. En cuanto a los renuevos, no se encontraron diferencias significativas entre ninguna zona. Respecto al P.C.M.A. según la parte de área del castaño afectado, el 1/3 medio se encontró la existencia de desigualdades significativas en las zonas A y G comparándolas con el resto de zonas. Si hablamos del 1/3 superior, las diferencias significativas residen en la zona D con respecto al resto. Sin embargo, en el 1/3 inferior las medias de los grupos son homogéneas.

Estas diferencias están relacionados con los distintos valores de precipitaciones y temperaturas que encontramos en las dos localidades. Para los autores Guérin y Robin (2003), la susceptibilidad del castaño europeo a *C. parasitica* muestra un patrón estacional, presentando un mínimo en otoño e invierno y un máximo en primavera y verano. Los autores propusieron que esta variación podría estar relacionada con el valor nutricional, el contenido de agua de la corteza y la temperatura. Anagnostakis y Aylor (1984) coincidieron en que uno de estos factores era la temperatura del aire, demostrando que a una temperatura diaria promedio de 20°C los chancros se expanden 1 mm por día. La sequía de verano aumenta la incidencia del chancro del castaño japonés en Japón (Roane *et al.*, 1986), por lo que unas condiciones más cálidas y secas podrían incrementar la incidencia en el castaño europeo. Waldboth y Oberhuber (2009) probaron que la sequía de verano aumentaba la mortalidad de castaños europeos infectados.

A la vista de los resultados obtenidos, podríamos confirmar que los diferentes datos recogidos de los municipios relacionando las diferencias de temperaturas y precipitaciones podrían guardar relación con una mayor incidencia de *C. parasitica* en los castaños gunilleros frente a los cerrúos al presentar temperaturas más elevadas que favorecerían la expansión del patógeno en estos sotos.

4.3 Relación con la proximidad a las localidades

Observando la Figura 7 podemos apreciar una notoria diferencia entre los 3 grados cuantificados. Los valores porcentuales van disminuyendo a medida que nos acercamos a alguna de las 2 localidades. Es interesante comprobar que los grados bajo y medio de proximidad representan el 66,67% y 25,00% de los C.M.A. Esto supone que prácticamente la totalidad de estos castaños muestreados se encuentran a una distancia de 500-900 m y más de 1 km de algún núcleo semiurbano, respecto al 8,33% de los castaños que se situarían a menos de 499 m. de cercanía a alguna localidad.

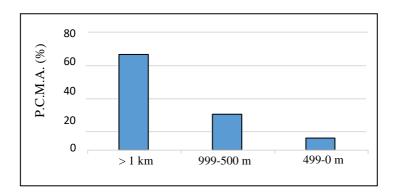


Figura 7. Representación gráfica de la distribución del P.C.M.A. (%) por *C. parasitica* en función de la proximidad a alguna de las dos localidades dividiéndolo en 3 categorías: grado bajo (>1 km), grado medio (500 999 m) y grado alto (499-0 m).

Los resultados obtenidos en el análisis ANOVA señalan que no existen diferencias significativas entre las medias comparadas de los C.M.A. de las zonas muestreadas, por lo que el comportamiento es semejante en los diferentes sitios muestreados. Por lo tanto, puede resultar obstinado concretar que la distancia a núcleos urbanos guarda una relación directa con un mayor o menor incidencia de *C. parasitica*. Es posible que causas inherentes a la proximidad de estos núcleos de población puedan guardar relación con este parámetro como puede ser la falta de especies florísticas o tolerancia de la especie a la contaminación.

4.4 Presencia de brotes epicórnicos.

Los castaños reaccionan a una infección produciendo numerosos brotes epicórmicos debajo de los chancros (Rigling y Prospero *et al.*, 2018) que aparecen en las zonas más basales del fuste. Siendo un posible bioindicadores para poder realizar un diagnóstico prematuro de un castaño infectado por este hongo, se anotaron los C.M.A. que presentaban esta sintomatología.

Observando la Figura 8 se ha podido comprobar que el 48,33 % de los C.M.A. presentaban este síntoma frente al 51,67 %, donde no aparecían estos brotes basales. Llama la atención que prácticamente la mitad de los castaños que presentaban *C. parasitica*, se encontrará la existencia de este indicio de defensa. Por ello, esta sintomatología parece adquirir la connotación de ser un parámetro importante no sólo de la manifestación de la enfermedad del chancro en un individuo, sino de ser una posible señal para llevar a cabo un tratamiento prematuro antes de la infección sea irremediable en el mismo individuo o que la enfermedad se pueda propagar a otros castaños cercanos.

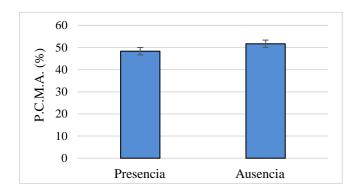


Figura 8. Representación gráfica del P.C.M.A. (%) por *C. parasitica*, frente a la presencia o la ausencia de brotes epicórnicos en la base del tronco del castaño.

Los resultados del ANOVA indican diferencias significativas de las medias de los C.M.A. de la zona A con respecto a la B e I, el resto de zonas muestreadas se comportan de una manera homogénea.

4.5 Relación con la situación del castaño dentro del soto

Resulta interesante comprobar si la disposición de los castaños, dentro del soto, guarde alguna relación con un mayor o menor porcentaje de este hongo. Para ello se dividieron los 60 C.M.A. en 2 grupos según su localización: centro del soto o periferia del mismo (Figura 9). Los resultados obtenidos muestran que el 66,67 % de los C.M.A. por *C. parasitica* se localizaban en la periferia de los sotos, frente al 33,33 % que se localizaban en las partes céntricas de los mismos.

Llama la atención el porcentaje tan elevado de castaños que presenten algún estadio de *C. parasitica*, se hallen localizados en los castaños de los límites del soto. Los castaños más expuestos a las inclemencias climáticas son los localizados en la periferia, encontrándose menos protegidos frente a factores como el viento o lluvía. De esta forma, *C. parasitica* encuentra un medio idóneo para colonizar castaños limítrofes, pudiendo dirigir el foco de infección hacia el centro del soto o propagarse a castaños vulnerables de sotos cercanos. El principal agente de propagación de *C. parasitica* es el viento, que puede transportar las ascosporas a gran distancia (Aguín *et al.*, 2011). Los conidios sin embargo, aunque también dan lugar a la enfermedad, no presentan dispersión aérea al encontrarse englobados en una sustancia viscosa que se lo impide; siendo transportados por la lluvia o en las patas, plumas, pelo, etc. de pequeños animales e insectos (Mansilla *et al.*, 2000).

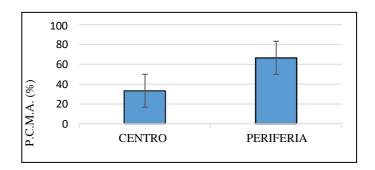


Figura 9. Representación gráfica del P.C.M.A. (%) por *C. parasitica* en función de la ubicación del castaño en el soto donde se encuentra plantado diferenciando entre: centro y periferia.

No se observa diferencias significativas entre las medias comparadas de los C.M.A. de las distintas zonas, lo que indica el mismo comportamiento independientemente de la localidad muestreada.

4.6 Diámetro del tronco del castaño

Para comprobar en que rango de edad la incidencia de *C. parasitica* era más acusada, se anotaron los diámetros de los troncos en centímetros (cm). Consultando los resultados obtenidos en la Figura 10, podemos hacernos una idea de que los castaños porcentualmente más afectados por *C. parasitica* son los individuos más jóvenes, aquellos que presentan troncos con diámetros menores

Los troncos con diámetros comprendidos entre 10- 19 cm y 20-29 cm representan el 35,00 % de los C.M.A. respectivamente, que sumados forman el 70,00 % de los C.M.A. Cuanta más edad tiene el individuo, éste presentará un diámetro del tronco mayor. El valor porcentual de C.M.A. disminuye en troncos entre 30-39 cm y 40-49 cm de diámetro, con valores de 20,00 % y el 10,00 % respectivamente. Esto puede guardar relación con las capas de corteza de los castaños que, como toda especie arbórea, generan durante su vida, propiciando que castaños con un diámetro de tronco mayor (adultos) la penetración de las hifas de *C. parasitica* a las partes más internas del árbol no tenga un porcentaje tan exitoso como el de castaños jóvenes, explicando una mayor incidencia de este hongo en castaños con diámetros menores de tronco.

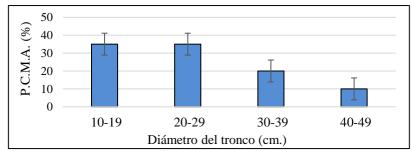


Figura 10. Representación gráfica del P.C.M.A. (%) por *C. parasitica* en función del diámetro del tronco en centímetros (cm).

Los resultados obtenidos en el análisis ANOVA indican la existencia de diferencias significativas entre las medias del grupo de castaños muestreados de la zona F y D. El resto de las zonas que presentan un comportamiento homogéneo entre sí.

4.7 Relación con la altitud

Comprobando los resultados obtenidos en la Figura 11, podemos apreciar que el 55,00 % de los C.M.A. se encuentran en altitudes entorno a los 900-949 m sobre el nivel del mar. Desde este pico, los valores porcentuales de *C. parasitica* en C.M.A. bajan significativamente en cuanto aumenta la altitud. En cotas situadas entre los 950-999 m, 1.000-1.049 m y 1.050-1.099 m se observa un P.C.M.A con valores del 20,00 %, 10,00 % y 15,00 %. En una misma masa, la orientación y la altitud son factores fundamentales ya que condicionan la humedad y temperatura, determinantes en el desarrollo y dispersión del patógeno. También el régimen de vientos y la precipitación relacionados con la altitud, juegan un papel esencial en la propagación del hongo y en su capacidad infectiva (Valdezate *et al.*, 2001).

Los castaños en España se cultivan desde el nivel del mar hasta los 1100 m, pero son más frecuentes entre 200 y 800 m en vertientes orientadas al norte (Pereira-Lorenzo *et al.*, 2001a). Por ello, la altitud puede ser un parámetro un tanto ambiguo al tratarse de un factor limitante para la presencia y distribución de los castaños europeos. Su densidad irá disminuyendo a medida que aumentemos en altitud y las condiciones inherentes a este parámetro (temperatura, humedad, radiación solar, etc.) no permitan su supervivencia. Por lo tanto, encontraremos chancro donde pueda habitar un castaño que pueda hospedarlo. Sin embargo, es interesante que el chancro siga apareciendo en los castaños situados a mayores cotas.

Por consiguiente, sería apropiado para futuros estudios anotar la altitud de todos los castaños situados en la zona de estudio (tanto afectados y no muestreados como no infectados) y no únicamente de los C.M.A. por *C. parasitica*. De esta manera podremos tener la incidencia real de *C. parasitica* en función de la altitud al muestrear la totalidad de los castaños de una zona. Así podremos comprobar si un aumento o descenso de la altitud, con las condiciones que ello implica (temperatura, humedad, etc.), representa un valor significativo que frene el desarrollo de este patógeno.

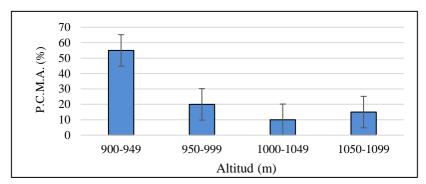
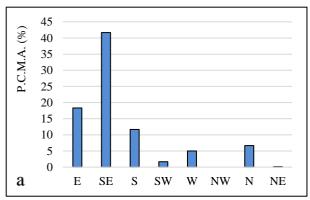


Figura 11. Representación gráfica del P.C.M.A. (%) respecto a la altitud sobre el nivel del mar (m.) donde se encuentre el mismo.

Los resultados del ANOVA indican la existencia de diferencias significativas entre las medias de los C.M.A de la unanimidad de las zonas. Las diferentes zonas, para este parámetro, presentan bastante heterogeneidad.

4.8 Afección en función de la orientación y pendiente de la ladera

Observando la Figura 12 podemos comprobar que los resultados obtenidos son bastante homogéneos, con valores muy similares. Sin embargo, aparece un pico correspondiente a los C.M.A. donde la pendiente se ubicaba hacia la cara sureste (SE.) de la ladera, con una representación del 41,67 % (Figura 12.a), siendo en términos porcentuales, la orientación con más incidencia. También se observó que los castaños con *C. parasitica* se encontraban mayoritariamente en laderas con pendientes entre los 5- 9, 10-14 y 15-19 grados de inclinación, representando el 26,67 %, 33,33 % y 28,33 % respectivamente del total de C.M.A. (Figura 12.b). Los resultados indican la existencia de diferencias significativas entre las medias de los C.M.A. de la zona F con respecto al resto de zonas.



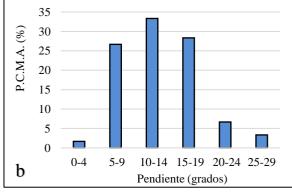
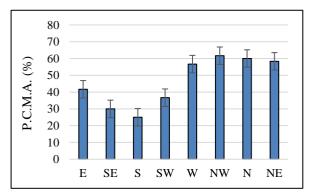


Figura 12. a) Representación gráfica del P.C.M.A. (%) por *C. parasitica* respecto a la orientación de la pendiente de la ladera. b) Representación gráfica del P.C.M.A. (%) por *C. parasitica* dependiendo de la inclinación de la pendiente de la ladera en grados.

En una misma masa, la orientación y la altitud son factores fundamentales, ya que condicionan la humedad y temperatura, determinantes en el desarrollo y dispersión del patógeno (Valdezate *et al.*, 2001). Entonces, la situación de la ladera, puede tener alguna relación con el aumento del valor porcentual de chancro en los individuos afectados. Por ejemplo, por la diferencia en la incisión de los rayos del sol, mayor o menor tiempo de exposición solar a circunstancias ambientales o polinizadores, etc.

4.9 Afección en función de la orientación de las zonas afectadas del castaño

Como la orientación es un factor fundamental que puede condicionar la dispersión del patógeno, se anotaron los puntos cardinales donde *C. parasitica* aparecía en los troncos de los C.M.A. Observando la Figura 13.a encontramos que existe una ligera tendencia a que los puntos cardinales con mayores índices los encontremos en las caras oeste (W), noroeste (NW), norte (N) y noreste (NE) de los castaños totales afectados con porcentajes del 56,67%, 61,67%, 60,00% y 58,33% respectivamente. Las orientaciones con menos densidad de *C. parasitica* parecen ser las caras sur (sureste, sur y suroeste) de los castaños. Cabe destacar que también fueron anotados los lugares donde este hongo presentaba una mayor densidad o incidencia (Figura 13.b). En esta figura, se vuelve a apreciar que hay mayor incidencia del ascomiceto en las caras norte frente a las caras sur, donde apenas hubo mediciones de tal grado.



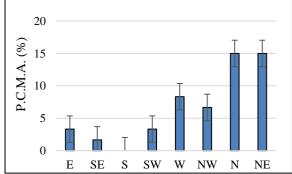


Figura 13. a) Representación gráfica del P.C.M.A (%) por *C. parasitica* dependiendo de la orientación cardinal de donde se encuentre el hongo en el castaño. b) Representación gráfica del P.C.M.A (%) por *C. parasitica* respecto a la orientación cardinal donde el hongo presente una mayor incidencia.

4.10. Relación con el uso y manejo del suelo

El manejo superficial del suelo trata de mantener el terreno limpio, reducir la competencia hídrica de determinadas especies de matorral y herbáceas (especialmente en verano),

incorporación de la hojarasca al suelo, incorporación de fertilizantes orgánicos y minerales, preparación del terreno para la cosecha anual, ruptura de costras superficiales de partículas finas para favorecerla aireación del suelo, etc. (Portela *et al.*, 2007).

Observando la Figura 14 llama la atención que el 65,00 % de los C.M.A. tengan una ubicación en suelos actualmente manejados frente al 35,00 % de los castaños dispuestos en suelos abandonados. Por ello, prestaremos atención a este parámetro para saber si puede ser significativo en la aparición de *C. parasitica* en los árboles infectados.

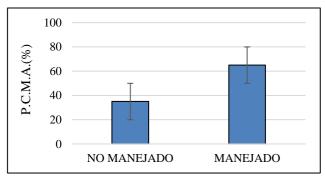


Figura 14. Representación gráfica del P.C.M.A. en función del tipo de suelo, diferenciando entre: no manejado (abandonado) y manejado.

Es posible que un mayor manejo del suelo guarde relación con la aparición del hongo. De acuerdo con algunos estudios (Portela *et al.*, 1999; Marcelino *et al.*, 2000; Raimundo *et al.*, 2001; Raimundo, 2003), esta movilización del suelo puede presentar inconvenientes: compactación del suelo, formación de costras superficiales, pérdida de materia orgánica, disminución de la biodiversidad, incremento de la erosión del suelo y riesgo de entrada de patógenos, como la tinta del castaño (Álvarez *et al.*, 2010). Además, este hongo subsiste como parásito benigno sobre otras especies o como un saprofito sobre materia orgánica muerta (Newhouse, 1990), desarrollándose incluso más rápidamente que sobre árboles vivos en pie (Zamora, 2015).

Los resultados indican que todas las zonas presentan una alta heterogeneidad de las medias comparadas de los C.M.A con respecto al resto.

4.11 Medidas de actuación.

En relación a lo comentado en el párrafo anterior, hay que recalcar la suma importancia de realizar unas correctas medidas de prevención y control que sirvan para proteger frente a prematuras infecciones o posibles focos y sirvan para disminuir los efectos de la propagación del chancro en estos cultivos. Es por ello necesario conocer el tipo de medidas que los

castañicultores de la zona están realizando durante los últimos años en la lucha contra *C. parasitica*. Para hacernos eco de esto último, se realizaron entrevistas a agricultores y forestales de la zona, recopilando toda la información posible y comprobar la veracidad del funcionamiento de las mismas a largo plazo. Entre otras, hemos podido constatar que las actuaciones que se realizan son las siguientes:

- "Observación anual para comprobar la existencia de focos de infección en poder actuar en los primeros estadios de la enfermedad". De manera inherente, conocer los mecanismos de propagación de la enfermedad y los síntomas de la misma por parte de los castañicultores (Flórez et al., 2001).
- "Aclareos de las masas de castaños, aumentando la distancia de unos castaños de otros" (Figura 15.a), evitando infecciones posteriores en los castaños (Fernandes, 1966).
- "Podas anuales de castaños afectados (Figura 15.b) por el patógeno o talas completas de árboles muy afectadas por este hongo (Figura 15.c) con su posterior quema" (Figura 15.d). En sotos infectados con chancro o con riesgo a ser infectados se recomienda la quema o la retirada de todo el material podado y, en caso de actuaciones severas, se recomienda una fertilización posterior (Portela et al., 2007). El empleo del fuego con el objetivo de eliminar los tejidos degradados por la acción de hongos parásitos resulta una excelente herramienta con efectos curativos, no exenta de base científica (Álvarez et al., 2010). Además, existe una acción protectora (acción fungicida) de las partes vivas por los productos de la combustión (Vieitez et al., 1996). Sin embargo, la quema de restos no debe hacerse debajo de los castaños ya que su corteza se agrieta con el calor, suponiendo una vía de entrada para el hongo (Zamora, 2015). Además, las heridas sin cicatrizar y la acumulación de restos de madera infectada en los sotos también suponen una vía de contagio (Martín et al., 2001).
- "Usos de productos de desinfección o fungicidas en el área del castaño donde se realizará el trabajo". Trapiello et al., (2015) demostraron que la aplicación de fungicidas de triazol (específicamente epoxiconazol) puede ser útil en condiciones de manejo. No obstante, los agricultores no suelen utilizar este tipo de acciones debido a que no les es económicamente rentable y se precisa de gran complejidad para su realización. También pueden ser fitotóxicos o inducir el desarrollo de resistencias (Rigling y Prospero, 2018). Aparte, en la mayoría de los países, el uso de productos químicos en los bosques está restringido o prohibido (Rigling y Prospero, 2018).
- "Raspados de las zonas infectadas, desinfección y sellado de las mismas para evitar posteriores infecciones" (Figura 15.e). Como el cambium se genera desde el interior hacia

el exterior, permitirá la completa cicatrización de la lesión (Flórez *et al.*, 2001). En esta práctica los castañicultores utilizan lejía diluida para la desinfección de esta zona afectada. No obstante, no es recomendable, ya que no impide que el chancro continúe su desarrollo en la mayoría de los casos y la lejía daña los tejidos del árbol provocando un secado de los mismos y una mala cicatrización. También citaron el uso de productos selladores, a pesar de ello, tampoco son adecuados al poder dañar los tejidos del castaño e impidiendo una correcta cicatrización de heridas (Zamora, 2015).

- "Desinfección de todas las heridas con motivo de la poda utilizando lejía comercial (hipoclorito sódico), soluciones de sulfato de cobre u otros fungicidas" (Figura 15.e) evitando la entrada del hongo a través de estas heridas abiertas. Para ello se pueden usar distinto tipos de cicatrizantes con acción fungicida (Zamora, 2015).
- "Desinfección de herramientas usadas para podas y talas con hipoclorito de sódico, tanto antes como después de realizar la actividad". Esta desinfección se puede llevar a cabo mediante una mezcla de lejía y agua al 50% o bien mediante alcohol y agua al 70% (Zamora, 2015).
- "Técnicas de injerto menos invasivas (teniendo en cuenta los puntos anteriores de desinfección)". Evitando que queden muñones que se van desecando o cortes que impidan la formación de un labio de cicatrización, ya que es la mejor barrera de entrada para cualquier enfermedad aérea (Zamora, 2015)
- "Acidificación de suelos con ceniza". Considerándose una medida de dudosa efectividad, debido a que *C. parasitica* se trata de hongo saprófito aéreo y no terrestre.
- "Compra de plantas con Pasaporte Fitosanitario C.E". En Europa, la EPPO todavía recomienda la regulación de C. parasitica como organismo de cuarentena A2 (EPPO, 2005).

Por lo que se han adoptado regulaciones y periodos de cuarentena, que afectan al comercio de madera, corteza de castaño, semillas y plantones vivos. Sin embargo, las regulaciones de cuarentena han demostrado ser ineficaces para detener la propagación del patógeno. En este sentido, un problema importante es la existencia de plantas infectadas asintomáticas, que no pueden detectarse mediante inspecciones visuales (Rigling y Prospero, 2018). Generalmente, tanto las medidas químicas como preventivas no surten el efecto deseado debido a la facilidad con la que el patógeno se propaga. Dada la ineficacia de métodos culturales y/o químicos, hace más de 25 años que la investigación sobre el control del chancro se ha centrado en el desarrollo

de métodos biológicos (Aguín *et al.*, 2011). Un hecho relevante es que ningún castañicultor era consciente o conocía, que el tratamiento más eficaz en la lucha frente al chancro del castaño es mediante control biológico usando el fenómeno de la hipovirulencia. Por una parte, no conlleva las consecuencias negativas del control químico y, por otra, sería un sistema autosostenible desde el momento en que la cepa hipovirulenta se puede propagar y además transmitir su hipovirus a otras cepas virulentas.



Figura 15. Medidas preventivas para el control de *C. parasitica*: a) Aclareos de sotobosque y/o de castaños, con el fin de tener más distancias entre los individuos. b) Poda de ramas y estructuras del castaño afectadas por el patógeno. c) Tala completa de árboles infectados. d) Quemas de castaños o partes del mismo afectadas por el hongo. e) Profilaxis de heridas naturales del castaño. (Fuente propia).

Sin embargo, este mecanismo que funciona muy bien a nivel experimental y sobre ejemplares concretos, tiene algunas limitaciones; y mucho más cuando se trata de un tratamiento en un entorno forestal (Milgroom y Cortesi, 2004). Esto es debido a la rápida reproducción de *C. parasitica* unido a unas altas tasas de mutación de este ascomiceto hace que sea complicado tener una cepa resistente que persista en el tiempo.

Otro problema es que para que se produzca la conversión de un chancro virulento en hipovirulento, es necesario que ambos pertenezcan al mismo grupo de compatibilidad, es decir,

que pertenezcan a la misma cepa. Este sistema de incompatibilidad vegetativa (vic) es un proceso de regulación genética que suele producir la muerte de las células hifales fusionadas en caso de no ser compatibles (Glass y Kaneko, 2003), aunque se conocen algunos casos en los que se ha producido cierta transmisión entre individuos incompatibles (Cortesi *et al.*, 2001). La incompatibilidad vegetativa entre cepas de *C. parasitica* puede limitar la diseminación del hipovirus (González y González, 2006) siendo uno de los factores que afecta significativamente al éxito del control biológico de *C. parasitica* en campo (Heiniger y Rigling, 1994). Por otro lado, no se produce transmisión del virus durante la reproducción sexual de manera que las ascosporas (esporas sexuales), libres de virus (Homs *et al.*, 2001; Gobbin *et al.*, 2003), darán lugar a nuevos chancros virulentos.

5 Conclusiones

- 1- En todas las zonas seleccionadas para el estudio se ha encontrado la presencia de *C. parasitica* independientemente del tamaño del soto y la densidad de *C. sativa* existente en él.
- 2- Se observa un aumento en la aparición de *C. parasitica* en suelos manejados (con utilidad agrícola para el fruto) frente a suelos que están actualmente abandonados. Esto lleva a pensar que las medidas de control y preventivas llevadas a cabo por los castañicultores son insuficientes, inexistentes o se están realizando de una manera deficiente. Siendo el control biológico, la medida con mayores expectativas de cara a una lucha eficaz contra el chancro del castaño.
- 3- Este ascomiceto presenta la tendencia de infectar castaños europeos más jóvenes, lo cual se traduce en un diámetro de tronco menor. Parece que la infección comienza por la base del fuste o tronco para poco a poco reproducirse e invadir las partes superiores del tronco y ramas.
- 4- La mayor presencia de *C. parasitica* en la periferia de los sotos estar relacionado con la dispersión y transmisión del hongo no sólo dentro del soto donde se localice el castaño dañado, sino en los sotos colindantes.
- 5- La formación de brotes epicórnicos en la base del tronco como método de defensa del castaño infectado por *C. parasitica* es una manifestación sintomatológica de un castaño afectado por este patógeno.
- 6- Sería necesario de cara a un futuro estudio más exhaustivo, muestrear un mayor número de castaños y de diferentes zonas. De esta manera se podrá contrastar de un modo más eficiente el conjunto de los parámetros medidos, en medios y condiciones distintas.

6 Bibliografía

- Aguín, O., Sainz, M. J., Montenegro, D. y Mansilla, J. P. (2011) "Biodiversidad e hipovirulencia de *Cryphonectria parasitica* en Europa: implicaciones para el control biológico del cancro del castaño", *Recursos Rurais*, (7), pp.35-47.
- Álvarez, P., Barrio, M., Castedo, F., Díaz Varela, R. A, Fernández, J., Mansilla, P. y Salinero, M. (2000) *Manual de selvicultura del castaño en Galicia*. Santiago de Compostela: Publicaciones Universidad de Santigao.
- Álvarez, P., Cámara, A., y Castedo, F. (2010). "Técnicas culturales y selvícolas de manejo de los sotos de castaño" en Fernández-Manso, A., Martínez, C. y Nespral, A. (eds.) *Un futuro para el castaño. Estudios sobre el castaño en la comarca de El Bierzo*. 1ª ed. El Bierzo: Asociación A Morteira, pp. 52-63.
- Anagnostakis, S. L. (1987). "Chestnut blight: the classical problem of an introduced pathogen", *Mycology*, 79(1), pp. 23-37.
- Anagnostakis, S. L. (1988) "Cryphonectria parasitica cause of chestnut blight", en Sidhu, G.S. (ed.) Advances in Plant Pathology, 6, EEUU: Academic press., pp. 123-136.
- Anagnostakis, S. L. y Aylor, D. E. (1984) "The effect of temperature on growth of *Endothia* (*Cryphonectria*) parasitica in vitro and in vivo". *Mycology*, 76, pp. 387–397.
- Baidyaroy, D. y Bertrand, H. (2001) "Biological control of the chestnut blight pathogen using mitochondrial agents", *Recent research developments in genetics*, 1, pp. 93-104.
- Bazzigher, G. y Schmid, P. (1962) "Methodik zur Prüfung der Endothia-Resistenz bei Kastanien", *Journal of Phytopathology*, 45(2), pp. 169-189.
- Benavides, P. G., y Vázquez, E. M. (2005) "Fitopatologia del Castaño: el chancro y la tinta en la provincia de Salamanca", Diputación de Salamanca, Departamento de Cultura.
- Berrocal, M., Gallardo, J. F. y Cardeñoso, J. M., (1998) El castaño. 1ª ed. Madrid: Mundi-Prensa.
- Chaloux, P.H. (2000). *Virulence of Cryphonectria hypoviruses from previous release sites*. Trabajo de fin de Máster. West Virginia University.
- Choi, G. H. y Nuss, D. L. (1992) "Hypovirulence of chestnut blight fungus conferred by an infectious viral cDNA", *Science*, 257(5071), 800–803.
- Colinas González, C., Rojo Sanz, M., Argemí Relat, J., Heras Dolader, J., Castaño Soler, C., Rotllan Puig, X. y Gómez Gallego, M. (2009). "El control biológico del chancro del castaño en Cataluña", 5º Congreso Forestal Español, pp. 2-14.
- Conedera, M., Krebs, P., Tinner, W., Pradella, M. y Torriani, D. (2004) "The cultivation of Castanea sativa (Miller) in Europe, from its origin to its diffusion on a continental scale" *Vegetation History and Archaeobotany*, 13(3), pp. 161-179.
- EPPO (2005) "Cryphonectria parasitica", Bull EPPO, 35, pp. 295–298.
- Fernández de Ana Magan, F. J., Puertas Tricas, F., Mansilla Vazquez, J. P., Traver, C., Pintos Varela, C., y Rodríguez Fernández, R. J. (1993) "Lucha integrada contra la enfermedad del "Chancro" del castaño". *En Proc. Congreso Forestal Español, Lourizan, Pontevedra, Spain*, pp. 357-362.
- Fernandes, C.T. (1966) "A doença da tinta dos casthanheiros". Dissertação de Concurso para Investigador em Patologia Florestal. Direcção Geral dos Serviços Florestais e Aquícolas. Alcobaça.

- Fernández López, J. y Alía Miranda, R. (2008) "Guía técnica para la conservación genética y utilización del castaño (*Castanea sativa*)" EUFORGEN.
- Fineschi, S., Taurchini, D., Villain, F. y Vendramin, G. G. (2000) "Chloroplast DNA polymorphism reveals little geographical structure in *Castanea sativa* Mill. (Fagaceae) throughout southern European countries", *Molecular ecology*, 9(10), pp. 1495–1503.
- Flórez Serrano, J., Santín Fernández, J. P., Sánchez Rodríguez, J. A., Del Pino Gutiérrez F. J. y Melcón Martínez, P. (2001) El castaño, manual y guía didáctica. 1ª ed. León: autor-editor.
- Glass, N. L., Kaneko, I. (2003) "Fatal Attraction: Nonself Recognition and Heterokaryon Incompatibility" in filamentous fungi" *Eucariotik Cell Minireview*, 2(1), pp. 1-8.
- Gobbin, D., Hoegger, P. J., Heiniger, U., Rigling, D (2003) "Sequence variation and evolution of *Cryphonectria hypovirus 1* (CHV-1) in Europe" *Virus Research*, 97, pp. 39-46.
- Goidànich, G. (1990) "Manuale di patologia vegetale". Edizioni Agricole.
- González Varela, G., y González Fernández, A. (2006) "El chancro del castaño en Asturias" *Tecnología Agroalimentaria*, 3, pp. 45-47.
- Grau Beretta, P. (2009) "Manual del castaño europeo". Ministerio de Agricultura. Instituto de Investigaciones Agropecuarias.
- Guérin, L. y Robin, C. (2003) "Seasonal effect on infection and development of lesions caused by *Cryphonectria parasitica* in *Castanea sativa*", *Forest. Pathology*, 33(4), pp. 223–235.
- Heiniger U. y Rigling D. (1994) "Biological control of chestnut blight in Europe". *Annual Review of Phytopathology*, 32(1), pp. 581-599.
- Hillman, B. I. y Suzuki, N. (2004) "Viruses of the chestnut blight fungus, *Cryphonectria parasitica*", *Adv. Virus Res*, 63(642), pp. 423–472.
- Homs, G., Rodríguez, J., Rigling, D y Colinas, C. (2001). "Caracterización de la población de *Cryphonectria parasitica* y detección de cepas hipovirulentas en 3 subpoblaciones de Cataluña", en *Montes para la sociedad del nuevo milenio. III Congreso Forestal Español. Ed. Junta de Andalucía. Granada.*
- IMB (2019) SPSS (Versión 26.0) [Programa de ordenador]. Lugar: Chicago. Empresa comercializadora: IBM.
- Jarman, R., Moir, A. K., Webb, J., y Chambers, F. M. (2017) "Sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Britain: its dendrochronological potential" *Arboricultural Journal*, 39(2), pp. 100–124. https://doi.org/10.1080/03071375.2017.1339478.
- Krebs, P., Conedera, M., Pradella, M., Torriani, D., Felber, M., y Tinner, W. (2004) "Quaternary refugia of the sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.): An extended palynological approach" *Vegetation History and Archaeobotany*", 13(3), pp. 145–160. https://doi.org/10.1007/s00334-004-0041-z
- Lee, S. H., Park, J. Y., Kim, K. H. y Lee, J. K. (2005) "Characteristics of hypovirulent strains of chestnut blight fungus, *Cryphonectria parasitica* isolated in Korea" *Proceedings of the Third International Chestnut Congress* 693, pp.611–616.
- Mansilla, J.P., Pintos, C. y Salinero, M.C. (2000). "Plagas y enfermedades del castaño en Galicia", Ed. Xunta de Galicia.

- Marcelino, V.; Torres, N.; Portela, E. E.y Martins, A. (2000). "Soil physical properies and the occurrence of chestnut ink disease: a micromorphological study" *Ecología Mediterránea*, 26, pp. 129-135.
- MARM (Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino) (2010) Tercer Inventario Forestal Español [en línea]. Disponible en: http:// www.marm.es/ es/biodiversidad/ servicios/banco-de-datos-biodiversidad/ información-disponible/ifn3.aspx (Accedido: 18 de noviembre de 2020).
- Martín, A.; Domínguez, J. C.; Pérez, G. y Sierra, J. M. (2001) "Estado del castaño en Castilla y León". Informe 2001. La salud de los bosques de Castilla y León. Junta de Castilla y León, Consejería de Medio Ambiente. 179 pp.
- Mattioni, C., Angela Martin, M., Pollegioni, P., Cherubini, M., y Villani, F. (2013) "Microsatellite markers reveal a strong geographical structure in European populations of *Castanea sativa* (Fagaceae): Evidence for multiple glacial refugia", *American Journal of Botany*, 100(5), pp. 951–961. https://doi.org/10.3732/ajb.1200194.
- Meyer, J. B., Gallien, L. y Prospero, S. (2015) "Interaction between two invasive organisms on the European chestnut: does the chestnut blight fungus benefit from the presence of the gall wasp?", *FEMS Microbiol. Ecology*, 91(11), pp. fiv.122.
- Milgroom, M. G. y Cortesi, P. (2004) "Biological control of chestnut blight with hypovirulence: a critical analysis", *Annual review of Phytopathology*, 42, pp. 311-338.
- Myburg, H., Gryzenhout, M., Wingfield, B. D., Milgroom, M. G., Kaneko, S. y Wingfield, M. J. (2004) "DNA sequence data and morphology define Cryphonectria species in Europe, China, and Japan", *Canadian Journal of Botany*, 82(12), pp. 1730–1743.
- Newhouse, J.R. (1990) "Chestnut blight", Sci. Am, (263), pp. 106-111.
- Pereira-Lorenzo, S., Ballester, A., Corredoira, E., Vieitez, A. M., Agnanostakis, S., Costa, R., Bounous, G., Botta, R., Beccaro, G. L., Kubisiak, T. L., Conedera, M., Krebs, P., Yamamoto, T., Sawamura, Y., Takada, N., Gomes Laranjo, J. y Ramos-Cabrer, A. M. (2012). "Chestnut", en Badenes, M. L. y Byrne, D. H. (eds.) *Fruit breeding*, Boston: Springer: Science & Business, pp. 729-770.
- Pereira-Lorenzo, S., Ramos-Cabrer, A. M., Díaz-Hernández, B., Ascasíbar-Errasti, J., Sau, F. y Ciordia-Ara, M. (2001a) "Cultivares de castaño español", *HortScience*, *36* (2), pp. 344-347.
- Pereira-Lorenzo, S., Ramos-Cabrer, A. M., Rios, D., Perdomo, A., y González-Pérez, J. (2001b) "Update of the Spanish chestnut inventory of cultivars". *FAO-CIHEAM-Nucis-Newsletter*, 10, pp. 34-37.
- Portela. E. E.; Martíns, A., Pires, A. L.; Raimundo y F. E; Marques, G. (2007) "Practicas culturais no souto: o manejo do solo", en Gomes-Laranjo, J., Ferreira-Cardoso, J, Portela, E. y Abreu, C. G. (eds.) *Casthanheiros- Contributo para a difusão do conhecimentos das cultivares portuguesas do castanheiro*. Vila Real: Programa AGRO, código 499, pp. 207-264.
- Portela, E. E. y Pires, A. L. (1999) "Impact of intensive mangement practices on soil fertility parameters in chestnut groves" en 6th International Meeting on Soils with Mediterranean Type of Climate. Barcelona: J. Bech, pp. 666-668
- Prospero, S., Conedera, M., Heiniger, U. y Rigling, D. (2006) "Saprophytic activity and sporulation of *Cryphonectria parasitica* on dead chestnut wood in forests with naturally established hypovirulence", *Phytopathology*, 96(12), pp. 1337-1344.
- Prospero, S. y Rigling, D. (2013) "Chestnut blight", en Gonthier, P. and Nicolotti, G. (eds.) *Infectious Forest Diseases*, Wallingford: CAB International, pp. 318–338.
- Raimundo, F. (2003) Sistemas de mobilização do solo em soutos. Influência na productividade de castanha e nas características físicas e químicas do solo. Tesis doctoral. Universidade de Tras-os-Montes e alto Douro.

- Raimundo, F.; Branco, I.; Martíns, A. E y Madeira, M. (2001) "Efeito da intensidade de preparação do solo na biomasa radical, regime hídrico, potencial hídrico foliar e produção de castanha do Nordeste Transmontano", *Revista de Ciencias Agrarias*, 24(3), pp. 415-423.
- Rigling, D., y Prospero, S. (2018) "Cryphonectria parasitica, the causal agent of chestnut blight: invasion history, population biology and disease control", *Molecular Plant Pathology*, 19(1), pp. 7-20.
- Rivas-Martínez, S., Fernández-González, F. y Sánchez-Mata, D. (1986) "Datos sobre la vegetación del Sistema Central y Sierra Nevada". Cátedra de botánica de la Universidad Complutense, vol.2.
- Roane, M. K., Griffin, G. J. y Elkins, J. R. (1986) "Chestnut blight, other <u>Endothia</u>". Minnesota: The American Phytopathological Society.
- Stipes, R. J., Apple, D. N., y Roane, M. K., (1978) "Endothia species as pathogens of chestnut and oak", *Proc. American Chesnut Symposium. Morgantown*, W.Va. pp. 42-49.
- Trapiello, E., González-Varela, G., y González, A. J. (2015) "Chestnut blight control by agrochemicals in *Castanea sativa* under managed conditions" *Journal of Plant Diseases and Protection*, 122(3), pp. 120-124.
- Trapiello Vázquez, E. (2017) *Chancro en castaño: hongos implicados en la enfermedad y estrategias de control de <u>Cryphonectria parasitica</u>. Tesis doctoral. Universidad de León.*
- Turina, M. y Rostagno, L. (2007) "Virus-induced hypovirulence in *Cryphonectria parasitica*: still an unresolved conundrum", *Journal of Plant Pathology*, 89, pp. 165-178.
- Valdezate, C., Alzugaray, R., Landeras, E., y Braña, M. (2001) "Situación actual de *Cryphonectria parasitica* (Murril) Anderson, chancro cortical, en los castañares asturianos" *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, 27, pp. 401-410.
- Vieitez Cortijo, E.; Vieitez Madriñán, M. L. y Vieitez Madriñán F. J. (1996). *El castaño*. 1ª ed. León: Edilesa.
- Waldboth, M. y Oberhuber, W. (2009) "Synergistic effect of drought and chestnut blight (*Cryphonectria parasitica*) on growth decline of European chestnut (*Castanea sativa*)", *Forest Pathology*, 39(1), 43-55.
- Zamora Brauweiler, P. (2015) Control bilógico del chancro del castaño mediante el empleo de aislados hipovirulentos de <u>Cryphonectria parasitica</u> en Castilla y León. Tesis doctoral. Universidad de Valladolid.

En León, a 03 de Marzo de 2021.

El alumno.

Fdo. D/Dña.

7 Material complementario

7.1 Anexo I

Tabla 3. Exposición de los datos recogidos de los de las 10 zonas de muestreo ordenadas alfabéticamente (A-J) frente a los datos recogidos durante el muestreo en el campo correspondiente a cada una: perímetro muestreado (ha.), número de castaños muestreados afectados, castaños afectados, castaños totales y sotos que incluía la zona de estudio, grado de cercanía a la población más cercana, localidad a la que corresponde la zona y fecha de cuando se realizó el muestreo.

Zona	Perímetro muestreado (ha)	Árboles muestreados afectados	Árboles afectados	Castaños totales	Sotos	Grado de Cercanía	Localidad	Fecha
A	1,51	5	8	73	2	Medio	El Cerro	30/07/2020
В	2,97	5	7	25	3	Alto	El Cerro	30/07/2020
C	4,12	5	9	69	2	Medio	El Cerro	31/07/2020
D	4,23	10	32	158	1	Bajo	Lagunilla	31/07/2020
E	9,43	10	23	215	1	Bajo	Lagunilla	01/08/2020
F	2,33	5	9	73	1	Bajo	Lagunilla	01/08/2020
G	5,37	5	11	95	4	Bajo	El Cerro	02/08/2020
Н	3,12	5	8	107	2	Bajo	El Cerro	02/08/2020
I	3,47	5	7	86	4	Bajo	El Cerro	02/08/2020
J	2,14	5	5	49	3	Medio	El Cerro	02/08/2020

7.2 Anexo II

Tabla 4. Datos recogidos de los 60 castaños de las 10 zonas distintas (numerados y ordenados alfabéticamente) frente a los datos recogidos durante el muestreo en el campo correspondientes a cada uno: coordenadas geográficas (UTM), altitud (m.), pendiente de la inclinación de la ladera en grados, tipo del uso del suelo abandonado (Ab) o manejado (M), ubicación del castaño en el soto en la periferia (P) o el centro(C), presencia de sotobosque, diámetro del tronco (cm.) y presencia de brotes epicórnicos.

Castaño	Coordenadas	Altitud (m)	Pendiente (grados)	Tipo de suelo	Ubicación	Presencia sotobosque	Diámetro tronco (cm)	Brotes epicórnicos
1A	40°19′28,79′′N 5°55′35,13′′W	998	21	Ab	Р	No	32	Si
2A	40°19′28.47′′N 5°54′35.63′′W	999	15	Ab	С	No	42	Si
3A	40°19′28.47N 5°54′36.51′′W	995	9	Ab	С	No	21	Si
4A	40°19′28.30N 5°54′37.33′′N	994	9	Ab	Р	Si	22	Si
5A	40°19′28.95′′N 5°54°37.24′′W	991	29	Ab	P	No	28	Si
1B	40°19′47.52′′N 5°54′41.75′′W	976	14	М	P	No	17	Si
2B	40°19′47.59′′N 5°54′42.04′′W	977	16	М	P	No	22	No
3B	40°19′48.54′′N 5°54′39.74′′W	973	8	М	P	No	26	No
4B	40°19′49.47′′N 5°54′39.42′′W	970	16	Ab	Р	Si	21	No
5B	40°19′51.94′′N 5°54′32.77′′W	965	11	М	Р	Si	31	No
1C	40°19′57.67′′N 5°54′11.70′′W	920	15	Ab	Р	Si	32	Si
2C	40°20′0.35′′N 5°54′08.62′′W	926	12	М	Р	Si	28	Si
3C	40°20′00.91′′N 5°54′′09.18′′W	926	19	М	С	No	28	No
4C	40°20′00.34′′N 5°54′09,95′′W	924	17	М	С	No	11	No
5C	40°20′00.59′′N 5°54′10.42′′W	926	17	М	С	Si	18	No
1D	40°19′59.10′′N 5°56′55.49′′W	927	8	М	Р	No	26	Si
2D	40°20′00.36′′N 5°56′54.15′′W	925	18	М	P	No	31	Si
3D	40°20′00.67′′N 5°56′53.56′′W	932	11	М	Р	No	36	Si

	40°19′59.51′′N								
4D	40°19′39.31° N 5°56′56.11′′W	932	9	M	P	No	38	No	
5D	40°19′58.63′′N 556′56.56′′W	931	8	M	C	No	41	Si	
	40°19′58.89′′N								
6D	40°19 38.89 N 5°56′57.94′′W	929	8	M	P	No	29	No	
7D	40°19′58.33′′N	927	17	M	P	No	31	No	
	5°56′58.44W								
8D	40°19′58.56N	931	10	M	С	No	13	No	
	5°56′57.42W								
9D	40°19′57.85′′N	931	6	M	C	No	42	Si	
	5°56′57.49′′W								
10D	40°19′57.85′′N	930	19	M	P	No	34	Si	
	5°56′57.49′′W								
1E	40°19′39.02′′N	928	11	M	P	No	23	Si	
	5°56′52.12′′W								
2E	40°19′36.21′′N	923	14	M	P	No	27	Si	
	5°56′51.71′′W								
3E	40°19′35.35′′N	920	5	M	P	No	12	No	
	5°56′50.93′′W								
4E	40°19′35.48′′N	917	12	M	P	No	11	Si	
	5°56′50.05′′W								
5E	40°19′35.80′′N	918	9	M	P	No	26	Si	
	5°56′48.60′′W								
6E	40°19′35.80′′N	919	15	M	P	No	17	No	
02	5°56′48.60′′W	717				- 10			
7E	40°19′37.39′′N	919	4	M	P	Si	24	No	
, 12	5°56′49.14′′W	717	4	141	1	51	24	110	
8E	40°19′38.55′′N	920	13	M	P	No	28	Si	
OL.	5°56′49.15′′W	720	13	141	1	110	20		
0.77	40°19′39.71′′N	04.5	12		ъ	G.	22	G:	
9E	5°56′48.25′′W	916	12	Ab	P	Si	23	Si	
1077	40°19′38.39′′N	0.00	0		G		10		
10E	5°56′53.31′′W	929	8	M	С	No	19	No	
	40°20′13.59′′N								
1F	5°57′05.88′′W	919	18	M	С	No	29	Si	
	40°20′12.95′′N				_				
2F	5°57′06.33′′W	921	8	M	С	No	41	No	
	40°20′13.90′′N				_				
3F	5°57′04.68′′W	920	10	M	P	No	49	No	
	40°20′14.21′′N				~				
4F	5°57′06,28′′W	918	7	M	С	No	44	No	
	40°20′14.92′′N								
5F	5°57′05.20′′W	918	13	M	P	No	39	Si	
	40°18′56.74′′N								
1G	5°55′02.85′′W	1074	12	M	P	No	32	No	
	40°18′57.86′N								
2G	40°18 37.86 N 5°55′05.54′′W	1060	13	M	P	No	21	Si	
	40°18′59.93′′N								
3G		1062	9	M	C	No	23	No	
	5°55′03.80′′W								

4G	40°18′55.17′′N	1083	11	M	С	No	24	Si			
	5°54′54.77′′W 40°18′57.62′′N										
5G	5°55′00.22′′W	1071	12	M	С	No	18	No			
1H	40°19′08.05′′N	1058	21	Ab	P	No	14	No			
	5°55′00.11′′W										
2Н	40°19′08.26′′N 5°54′58.87′′W	1062	6	Ab	P	Si	26	No			
	40°19′07.43′′N	1051	4.4			.,	10	a:			
3H	5°54′58.94′′W	1064	14	Ab	С	No	12	Si			
4H	40°19′09.03′′N	1069	15	Ab	P	Si	19	Si			
	5°54′57.33′′W										
5 H	40°19′06.44′′N	1039	11	Ab	C	No	14	No			
	555′00.20′′W 40°19′17.24′′N				_	~.					
11	5°55′15.78′′W	1021	16	Ab	P	Si	16	No			
21	40°19′16.95′′N	1019	12	Ab	С	Si	17	No			
	5°55′16.98′′W										
31	40°19′16.16N 5°55′17.21′′W	1017	9	Ab	P	Si	12	No			
47	40°19′18.55′′N	1024	12	4.1	D.	a.	10	a.			
41	5°55′15.56′′W	1024	13	Ab	P	Si	18	Si			
5I	40°19′20.07′′N	1017	22	Ab	С	Si	12	No			
	5°55′19.06′′W										
1J	40°19′39.32′′N 5°55′03.96′′W	977	26	Ab	P	Si	32	No			
	40°19′44.39′′N	0.52	1.5	A.1	n	a.	25	N			
2J	5°55′04.62′′W	952	15	Ab	P	Si	35	No			
3J	40°19′45.18′′N	939	21	M	С	No	14	Si			
	5°55′06.07′′W										
<i>4J</i>	40°19′46.10′′N 5°55′05.23′′W	936	19	M	P	No	12	No			
51	40°19′43.69′′N	947	17	Λħ	C	c:	20	C:			
5J	5°55′05.46′′W	947	17	Ab	С	Si	28	Si			
	l					l					

7.3 Anexo III

Tabla 5. Datos recogidos de los 60 castaños de las 10 zonas distintas (numerados y ordenados alfabéticamente) frente a los datos recogidos durante el muestreo en el campo correspondientes a cada uno: localización fisiológica del daño en el castaño (1/3 inferior, 1/3 medio y 1/3 superior), porcentajes y grado del daño ocasionado por *C. parasitica* en tronco, porcentajes y grados del daño ocasionado por *C. parasitica* en ramas, presencia de renuevos con chancro y porcentaje de daño, orientación del plantón del castaño, orientación de C. parasitica infectando el castaño en puntos cardinales (en rojo, donde la incidencia era mayor) y presencia de otros hongos en el castaño.

		LO	CALIZA	.CIÓN (
		sición de		Tr	onco	Ra	amas	Renuevos		Orientación		Otros hongos
	1/3 inf.	1/3 nedio	1/3 sup.	(%)	Grado	(%)	Grado	Presencia	(%)	Ladera	Chancro	Presen cia
1A	X			8%	I	0%	0	SI (4/11)	5%	Е	NE	No
2A	х			2%	I	8%	I	NO	0%	SE	NW/W	Si
<i>3A</i>	X			6%	I	1%	I	NO	0%	SE	N/NW	No
<i>4A</i>	х			10%	I	1%	I	SI (2/8)	2%	Е	NW	No
5A	X			11%	II	2%	I	SI (3/9)	1%	SE	NW/W	No
1B	х	Х		22%	II	7%	I	NO	0%	NE	N/NE	No
2B	X	Х		26%	III	8%	I	NO	0%	Е	NE/E	No
3B	х	Х	х	31%	III	6%	I	NO	0%	Е	N/NE/NW/S/SE/SW/E/W	No
4B	X	Х		18%	II	3%	I	SI (2/7)	0%	S	NE	No
5B				11%	II	0%	0	NO	0%	SE	W	No
1C	x			12%	II	2%	I	SI (2/10)	1%	NE	NE/E	No
2C	х			28%	III	8%	I	SI (2/6)	2%	S	SE/E	No
3C	X		X	33%	III	6%	I	SI (2(8)	3%	S	SE/E	No
4 C	х	х		41%	III	4%	I	NO	0%	Е	NE	No
5C		X		8%	I	0%	0	NO	0%	SE	NW/W	No
1D	х	Х	х	80%	V	11%	II	NO	0%	S	N/NE/NW/S/SE/SW/E/W	No
2D	x	X		65%	IV	5%	I	SI (1/3)	4%	SE	N/NE/NW/SE/E/W	No
3D	х	Х	х	70%	IV	20%	II	NO	0%	Е	N/NE/NW/S/SE/SW/E/W	No
4D		Х	x	55%	IV	5%	I	SI (1/7)	2%	SE	N/NE/NW/S/SE/SW/E/W	No
5D		х	х	60%	IV	4%	I	NO	0%	SE	N/NE/NW/SW/E/W	No
6D		Х	x	30%	III	7%	I	SI (1/3)	5%	SE	N/NE/NW/S/SE/SW/E/W	No
7D	х	х	х	70%	IV	11%	II	NO	0%	SW	N/NE/NW/S/SE/SW/E/W	No
8D	х	Х	x	55%	IV	8%	I	SI (1/1)	2%	SE	N/NE/NW/S/SE/SW/E/W	No
9D	х	х	х	40%	III	10%	I	SI (1/6)	1%	SE	N/NE/NW/S/SE/SW/E/W	No
10D	х	Х	x	38%	III	8%	I	NO	0%	SE	N/NE/NW/S/SE/SW/E/W	No
1E		х	х	25%	II	5%	I	SI (5/5)	15%	NE/E	N/NE/NW/S/SW/W	No

2E	X	X		18%	II	2%	I	NO	0%	S/SE	N/NW	No
3E	X	X		26%	III	3%	I	NO	0%	SE	N/NW/SW/W	No
4E	X	X		15%	II	0%	0	NO	0%	SE	N/NW/S/SE/SW/W	No
5E		Х		15%	II	1%	I	NO	0%	SE	NW/W	No
6E	Х	Х		20%	II	5%	I	SI (2/3)	2%	SE	N/NW/W	No
7E		х	х	30%	III	2%	I	SI (4/5)	8%	SE	N/NE/NW/SE/SW/W	No
8E	X	X	х	35%	III	2%	I	SI (1/1)	11%	SE	N/NW/SW/W	No
9E	Х	Х		22%	II	2%	I	SI(3/5)	5%	SE	NE/NW/SW	Si
10E		Х		15%	II	0%	0	NO	0%	SE	N/NE/NW/E	No
1F		Х		35%	III	10%	II	SI (1/3)	2%	N	N/NE	No
2F	Х	Х		25%	II	2%	I	NO	0%	N	NE/E	No
3F	X			15%	II	2%	I	NO	0%	N	N/NE/NW/SW/W	No
4F		X	х	60%	IV	3%	I	SI (2/3)	5%	NE	N/NE/NW/S/SE/SW/E/W	No
5 F		Х	х	55%	IV	10%	II	NO	0%	N	N/SW/W	No
1G	Х			30%	III	5%	I	NO	0%	W	N/NE/NW/SE/E/W	No
2G	X			20%	II	5%	I	SI (1/4)	5%	W	N/NE/E	No
3G	X			15%	II	5%	I	SI (3/6)	5%	W	Е	No
4G		Х		28%	III	1%	I	NO	0%	S	NE/E	No
5G	Х			15%	II	0%	0	NO	0%	Е	NW/W	No
1H	Х			25%	III	2%	I	NO	0%	NE	N/NW/ <mark>SW</mark> /W	No
2H	Х	Х		15%	II	0%	0	SI (2/6)	5%	NE	NW/W	No
3H	Х	Х	X	50%	III	5%	I	SI (1/1)	10%	SE	N/NE/SE/SW/E/W	No
4H	X	Х		27%	III	3%	I	SI (1/4)	4%	SE	N/NE/E	Si
5H		Х		12%	II	0%	0	NO	0%	SE	N/NE	No
11	Х	Х		25%	II	3%	I	NO	0%	Е	N/NE/NW	No
21	X	Х		15%	II	0%	0	SI (2/2)	5%	Е	SW/W	No
<i>3I</i>	X			12%	II	1%	I	NO	0%	Е	NW/W	No
4I		Х		10%	I	0%	0	NO	0%	NE	NW/W	No
5I	X			18%	II	0%	0	SI (1/6)	5%	SE	Е	No
1J		Х		22%	II	1%	I	NO	0%	S	N/NW/W	Si
2J	X	X		20%	II	2%	I	NO	0%	Е	NE/E	Si
3 J		X		24%	II	0%	0	SI (2/5)	2%	SE	N/NE/NW	No
<i>4J</i>	X	X		14%	II	1%	I	SI (2/4)	2%	NE	NE/SE/E	No
5 J		X		30%	III	4%	I	NO	0%	NE	N/NE/NW/S/SE/E	No