NOVOS PORTA-ENXERTOS DE CASTANHEIRO COM RESISTÊNCIA À DOENÇA DA TINTA, PARA IMPULSIONAR O MERCADO DA CASTANHA

Por: Rita Lourenço Costa
Investigadora Doutorada e Habilitada
Unidade de Sistemas Agrários Florestais e Sanidade Vegetal do INIAV I.P.

De acordo com os dados oficiais, a área de castanheiro em Portugal em 2016 era de 35.718 hectares e a produção de castanha de 26.780 Toneladas.

O valor das exportações, ainda segundo as estatísticas Agrícolas de 2016, foi de 18.041 Toneladas em 2015, com o valor de 40.575M€ transacionados. No entanto, de acordo com a informação recolhida junto dos elementos pertencentes à fileira da castanha em Portugal, os valores oficiais apresentados para a produção de castanha em Portugal e Espanha ficam aquém dos valores reais, por força do peso do mercado paralelo, do autoconsumo e da não divulgação de toda a informação disponível.

Acresce ainda a falta de um inventário rigoroso ao território, para determinar com exatidão a área ocupada por castanheiro. Com base nesta informação e na análise da produtividade registada pelas principais associações do sector, é possível estimar que a produção de castanha em Portugal se possa situar entre as 35.000 e as 45.000 toneladas/ano. (in: Estudo Económico do Desenvolvimento da Fileira da Castanha – Fórum Florestal).

A área de colheita de castanha, e respetiva produção, têm vindo a aumentar consistentemente ao longo dos últimos anos, a nível mundial. A análise da evolução da produção e da área de colheita permite constatar que o ritmo de crescimento da produção em Toneladas (5,6%) foi superior ao da área (3,4%) em hectares o que é revelador de um aumento da produtividade, que passou de 3,35 toneladas/hectare em 2006 para 3,73 em 2010. Portugal, apesar de apresentar a 5ª maior área de colheita é apenas o 7º maior produtor, o que reflete uma produtividade muito inferior à dos restantes países analisados (in: Estudo Económico do Desenvolvimento da Fileira da Castanha – Fórum Florestal).

Figura 1 – cruzamentos controlados de castanheiro. Aspeto de ouriço formado após polinização

A produtividade/hectare em Portugal é menos de metade do valor potencial, para o que muito contribui o elevado défice em materiais vegetais melhorados para a resistência às principais doenças, tanto no mercado nacional, como no internacional: a doença da tinta, o cancro do castanheiro e recentemente a vespa das galhas. A tinta, provocada por *Phytophthora* spp continua a ser a principal ameaça para o castanheiro. A luta química, que foi sendo utilizada nas últimas décadas, tem provado não ser nem eficaz, nem ambientalmente aceitável. Por outro lado, não existe controlo biológico disponível, como existe para o cancro, provocado pelo fungo *Cryphonectria parasítica* (Murrill) M.E. Barr, através da hipovirulência, ou para a praga da vespa das galhas do castanheiro, provocada por *Dryoscomus kuryphilus* Yasumatsu, através do parasitoide *Torymus sinensis* Kamijo. No que respeita à doença da tinta, o mercado europeu revela um elevado défice de materiais vegetais melhorados para plantação, com resistência melhorada ao agente patogénico. As doenças provocadas por agentes patogénicos exóticos constituem um problema mundial, devido aos movimentos de mobilidade e comércio intercontinental. Um melhor conhecimento da base genética e dos mecanismos moleculares das interações planta: patogénio são, portanto, fundamentais e críticos, para o desenvolvimento de estratégias de gestão, que minimizem as perdas económicas e ecológicas relativas a doenças já estabelecidas, bem como as relacionadas com novas doenças emergentes.

O INIAV iniciou em 2006 um programa de melhoramento genético para a resistência à doença da tinta do castanheiro, causada pelo oomiceta *Phytophthora cinnamomi* Rands, baseado em cruzamentos controlados, entre a espécie europeia, *Castanea sativa*, muito sensível ao agente patogénico e as espécies asiáticas resistentes: *Castanea crenata* (castanheiro japonês) e *Castanea mollissima* (castanheiro chinês), com o objetivo de introgressão de genes de resistência das espécies Asiáticas na espécie Europeia (Costa *et al.*, 2011).

Este programa possui uma vertente aplicada, que tem como objetivo selecionar e produzir uma nova geração de porta-enxertos de castanheiro, com resistência melhorada à doença, com "pedigree" e identidade genética determinada, para impulsionar o setor produtivo da castanha.

Os novos porta-enxertos serão divulgados brevemente, através do projeto NEW Cast Rootstocks do Programa Alentejo 2020, que tem como objetivo a criação de uma unidade piloto de produção no Concelho de Marvão, distrito de Portalegre. A unidade piloto é genericamente constituída por uma estufa com 400m^2, zona de ensombramento de 400m^2 e campo de 1,2 hectares, para demonstração da técnica de produção dos novos porta-enxertos, recorrendo à Biotecnologia Vegetal, bem como avaliar a sua performance, em condições de campo, em comparação com os principais clones em comercialização, bem como a compatibilidade de enxertia com as principais variedades de castanha. https://projects.iniav.pt/NewCastRootstocks

Numa vertente de investigação mais fundamental, pretende-se conhecer e compreender os mecanismos moleculares e genéticos de resistência a *P. cinnamomi*, que as espécies Asiáticas possuem, em resultado de uma coevolução com o agente patogénico, para identificação de marcadores ligados à resistência. Este conhecimento permitirá a ulterior seleção precoce de genótipos melhorados, a partir do programa de melhoramento em curso, assistida por marcadores moleculares (MAS – Molecular Assisted Selection). Neste momento a seleção dos clones melhorados faz-se através da inoculação das raízes com o agente patogénico, que é um processo moroso e caro. Assim que estes marcadores estiverem disponíveis, conseguiremos saber, com uma simples extração de ADN, quais os genótipos mais resistentes, que vão sendo produzidos anualmente, a partir dos cruzamentos controlados, e, dessa forma, poderemos agilizar o processo de seleção. O objetivo

O objetivo a médio/ longo prazo é o desenvolvimento de diferentes clones com resistência melhorada e variabilidade genética, adaptados a diferentes regiões de produção.

Figura 2 – micropropagação de clones melhorados de castanheiro

a médio/ longo prazo é o desenvolvimento de diferentes clones com resistência melhorada e variabilidade genética, adaptados a diferentes regiões de produção. Neste momento os clones comercializados em Portugal, além de antigos, são provenientes dos programas de melhoramento genético dos anos sessenta do Século XX, têm baixa variabilidade genética, o que faz com que não estejam adaptados a condições atuais de clima, muito diferentes da época em que foram desenvolvidos Esta vertente de investigação fundamental tem sido desenvolvida em parceria com investigadores dos Estados Unidos da América, nomeadamente: The American Chestnut Foundation (TACF), Clemson University e The University of Kentucky. A TACF tem também em curso um programa de melhoramento genético para castanheiro americano, já com 35 anos, orientado para a resistência ao cancro e, mais recentemente, também para a resistência à tinta.

Do programa de melhoramento em curso, já com 12 anos, foram selecionados, até ao momento, sete genótipos que revelaram elevada resistência ao agente patogénico *P. cinnamomi*, após inoculação de raízes de réplicas de cada genótipo (clones). Os cruzamentos controlados foram realizados utilizando a espécie Europeia com progenitor feminino e as espécies Asiáticas como progenitores masculinos. As flores femininas foram isoladas com sacos, para evitar a contaminação com pólen estranho (Figura1). O pólen dos progenitores masculinos foi recolhido, limpo e testado, no que diz respeito à sua capacidade germinativa, sendo depois utilizado na polinização dos estigmas das flores femininas, quando recetivos. Duas semanas após a polinização, os sacos de papel foram substituídos por sacos de rede, para recolha dos ouriços provenientes da polinização.

As castanhas foram germinadas no outono seguinte e as plantas obtidas foram todas genotipadas para descartar indivíduos que pudessem ter sido polinizados com pólen estranho, que não o dos progenitores Asiáticos. Assim, obtém-se uma geração F1 de irmãos completos. Todos os indivíduos foram depois inoculados com o agente patogénico sendo selecionados os indivíduos mais resistentes (Santos *et al.*, 2015). Os genótipos selecionados estão a ser propagados em massa, utilizando a técnica de micropropagacão (Figura 2) com a ulterior engorda em viveiro. A técnica de

Figura 3 – planta obtida por micropropagação com um ano no campo

Figura 4 – enxertia com variedade Martaínha

micropropagação consiste em várias etapas: estabelecimento *in vitro*, multiplicação, enraizamento e aclimatação. As etapas mais críticas são as de enraizamento e aclimatação. Estas etapas foram otimizadas, no decorrer do processo, tendo-se atingido taxas de sucesso, para cada uma delas, próximas dos 90%. A plantação dos primeiros campos de ensaio foi efetuada em janeiro de 2017, onde se testa a resistência em condições naturais, bem como vigor e compatibilidade com diferentes variedades de castanha.

A taxa de sucesso na plantação foi de 85% e as plantas apresentam excelente vigor e crescimento, ao fim de um ano após plantação (Figura 3). As primeiras enxertias, efetuadas com a variedade Martaínha, em campo, apresentam crescimentos muito vigorosos (Figura 4). Em resumo, pode-se concluir que os clones apresentam vigor e crescimentos bastante elevados, por se tratar de material híbrido muito jovem, obtido de cruzamentos efetuados em 2006. O material vegetal, obtido por micropropagação tem a vantagem de ser um material limpo de quaisquer contaminações por fungos ou bactérias e da vespa das galhas, o que se traduz em taxas de crescimento muito elevadas no campo. O investimento na produção, através desta tecnologia, tem um retorno muito interessante, em termos de qualidade do material produzido. O protocolo de micropropagação foi otimizado permitindo a obtenção de plantas com sistemas radiculares bem desenvolvidos e funcionais, uma das condições chave para uma boa adaptação a condições de campo (Figura 5). No futuro próximo as plantas serão enxertadas em viveiro, como acontece com outras espécies fruteiras. Desta forma evitam-se os stresses inerentes à enxertia no campo, que potenciam a entrada de agentes patogénicos. Em conclusão, poderemos referir que a entrada destes novos clones no mercado, prevista para 2019-2020, vai impulsionar o setor da castanha, tanto a nível nacional como Europeu. A produção de material vegetal de castanheiro de qualidade e com diversidade genética, adaptado a diferentes condições de solo e clima das regiões de produção, é condição essencial para o aumento da produtividade dos soutos nacionais, aproximando-os das produtividades dos soutos de outros países europeus. ■

Figura 5 – sistema radicular de porta-enxerto obtido por micropropagação, com nove meses de viveiro

BIBLIOGRAFIA

1. Costa, R., Santos, C., Tavares, F., Machado, H., Gomes-Laranjo, J., Kubisiak, T.,Nelson, C.D., 2011. Mapping and transcriptomic approches implemented forunderstanding disease resistance to *Phytophthora cinammomi* in *Castanea* sp.BMC Proceedings, http://dx.doi.org/10.1186/1753-6561-5-S7-O18, p. O18.
2. Santos C, Machado H, Correia I, Gomes F, Gomes-laranjo J, Costa R, 2015. Phenotyping Castanea hybrids for *Phytophthora cinnamomi* resistance. Plant Pathology 64, 901–910.