

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN**  
**CAMPUS LOS ÁNGELES**  
**ESCUELA DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA**  
**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA VEGETAL**



**EFFECTO DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN EL CONTROL DEL REBROTE DE**  
***Cytisus scoparius* (L.) Link Y *Ulex europaeus* (L)**

**MEMORIA DE TÍTULO PARA**  
**OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO**  
**EN BIOTECNOLOGÍA VEGETAL**

**VALERIA PAZ FARIÑA REBOLLEDO**  
**LOS ÁNGELES – CHILE**  
**2023**

**“EFECTO DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN EL CONTROL DEL REBROTE DE  
*Cytisus scoparius* (L.) Link Y *Ulex europaeus* (L) ”**

**Estudiante**

Valeria Paz Fariña Rebolledo  
*Ingeniera en Biotecnología Vegetal*

**Profesor Guía**

Dr. Eugenio Sanfuentes Von Stowasser  
*Profesor Titular*  
Ingeniero Forestal

**Jefe de Carrera**

Dr. Pedro Lindor Quiroz Hernández  
*Jefe de Carrera*  
Ingeniero Forestal

**Directora de  
Departamento**

Dra. Marely Cuba Díaz  
*Profesora Titular*  
Bióloga

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

|   |    |
|---|----|
| RESUMEN   | 1  |
| ABSTRACT  | 2  |
| INTRODUCCIÓN  | 3  |
| 1 MARCO TEÓRICO   | 4  |
| 1.1 Malezas en plantaciones forestales.   | 4  |
| 1.2 Control de malezas en plantaciones forestales.  | 5  |
| 1.3 Malezas: <i>Ulex europaeus</i> y <i>Cytisus scoparius</i> en plantaciones forestales. | 6  |
| 1.4 Sistema de manejo integrado de control de malezas.                                    | 9  |
| 1.4.1 Control Cultural.   | 9  |
| 1.4.2. Control Químico.   | 10 |
| 1.4.3 Control Biológico.  | 11 |
| 1.5 Bioherbicidas en el mundo.  | 13 |
| 2 HIPÓTESIS.  | 14 |
| 3 OBJETIVOS.  | 14 |
| 3.1 Objetivo General.   | 14 |
| 3.2 Objetivos Específicos.  | 14 |
| 4 MARCO METODOLÓGICO.   | 15 |
| 4.1 Fitopatógenos aislados.   | 15 |
| 4.2 Producción de inóculo de patógenos.   | 15 |
| 4.2.1 Producción de biomasa de cepas de hongos.   | 16 |
| 4.2.2 Preparación del inóculo.  | 17 |
| 4.3 Establecimiento del ensayo de control de malezas.                                     | 17 |
| 4.4 Diseño experimental del ensayo y procesamiento de datos.                              | 18 |
| 5 RESULTADOS.   | 21 |
| 6 DISCUSIÓN.  | 25 |
| 7 CONCLUSIÓN.   | 29 |
| 8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.   | 30 |
| 9 ANEXO.  | 42 |
| 9.1.1 Género <i>Fusarium</i> .  | 42 |
| 9.1.2 Género <i>Diaporthe</i> .   | 43 |
| 9.1.3 Género <i>Chondrosterum</i> .   | 44 |
| 9.1.4 Género <i>Alternaria</i> .  | 46 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|           |  |    |
|-----------|--|----|
| Figura 1  | Morfología de las malezas <i>Cytisus scoparius</i> y <i>Ulex europaeus</i> .   | 8  |
| Figura 2  | Esquema anual de aplicación de herbicidas.   | 11 |
| Figura 3  | Colonias de los hongos fitopatógenos usados en el ensayo de control de rebrote.  | 16 |
| Figura 4  | Esquema de preparación de caldo de papa CP e inoculación de medio líquido.   | 17 |
| Figura 5  | Procedimiento para producción de biomasa de hongos.  | 19 |
| Figura 6  | Lugares de establecimiento de ensayos de control biológico.  | 19 |
| Figura 7  | Ensayo en predio San Javier.   | 19 |
| Figura 8  | Ensayo en predio Santo Domingo.  | 20 |
| Figura 9  | Severidad de canchros en tocones de las malezas <i>Ulex europaeus</i> (a) y <i>Cytisus scoparius</i> (b).              | 21 |
| Figura 10 | Canchros y rebrote desde tocón.  | 21 |
| Figura 11 | Efecto de hongos patógenos en la severidad de canchros en <i>Cytisus scoparius</i> .                                   | 23 |
| Figura 12 | Efecto de hongos patógenos en la severidad de canchros en <i>Ulex europaeus</i> .                                      | 24 |
| Figura 13 | Esquema de sistema epidemiológico  | 28 |
| Figura A1 | Características morfológicas microscópicas del género <i>Fusarium</i> .  | 42 |
| Figura A2 | Características morfológicas de <i>Diaporthe foeniculina</i> .   | 43 |
| Figura A3 | Características morfológicas de <i>Chondrostereum purpureum</i> .  | 44 |
| Figura A4 | Conidias de <i>Alternaria alternata</i> .  | 45 |
| Figura A5 | Esquema de distribución de los tratamientos en los bloques de cada asentamiento del ensayo en terreno.                 | 45 |
| Figura A6 | Distribución comparativa de los principales compuestos, en el género <i>Diaporthe</i> y su anamorfo <i>Phomopsis</i> . | 51 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|          |   |    |
|----------|---|----|
| Tabla 1  | Hongos fitopatógenos utilizados en los ensayos, indicando rol como patógeno en <i>Cytisus scoparius</i> y/o <i>Genista monspessulana</i> (retamilla). | 15 |
| Tabla 2  | Escala de severidad lesión necrótica en tocones de <i>Cytisus scoparius</i> y <i>Ulex europaeus</i> .   | 20 |
| Tabla A1 | Micelio filtrado de cada aislado incubado en medio líquido de caldo de papa con dextrosa.   | 47 |
| Tabla A2 | Información y estado a noviembre 2019 de los bioherbicidas con fitopatógenos.   | 48 |
| Tabla A3 | Datos obtenidos en el ensayo de patogenicidad en espinillo en el Predio San Javier.   | 49 |
| Tabla A4 | Datos obtenidos en el ensayo de patogenicidad en <i>Cytisus scoparius</i> en el Predio Santo Domingo Predio Santo Domingo.                            | 50 |

## ABREVIATURAS y SÍMBOLOS

|                                 |  |
|---------------------------------|--|
| <b>ACB</b>                      | : agente de control biológico  |
| <b>ANOVA</b>                    | : análisis de varianza   |
| <b>CMC</b>                      | : carboximetilcelulosa   |
| <b>COVs</b>                     | : compuestos orgánicos volátiles   |
| <b>g</b>                        | : gramo  |
| <b>h</b>                        | : hora   |
| <b>L</b>                        | : litro  |
| <b>LSD</b>                      | : Least significant difference (inglés) Contraste de la mínima diferencia significativa (español) Prueba estadística de Fisher |
| <b>mg</b>                       | : milígramo  |
| <b>min</b>                      | : minuto (s)   |
| <b>ml</b>                       | : mililitro  |
| <b>mm</b>                       | : milímetro  |
| <b>nm</b>                       | : nanómetro $10^{-9}$ m  |
| <b>PB</b>                       | : Potato broth (inglés) Caldo de papa (CP) (español)   |
| <b>PDA</b>                      | : Potato dextrose agar (inglés) Agar papa dextrosa (español)   |
| <b>rpm</b>                      | : revoluciones por minuto  |
| <b><math>\mu\text{m}</math></b> | : micrómetro ( $1 \times 10^{-6}$ m)   |
| <b>% p/v</b>                    | : concentración en g soluto/100 ml disolución  |
| <b><math>\emptyset</math></b>   | : diámetro   |

## **AGRADECIMIENTOS**

Primero quiero agradecer a mi madre, Iris Rebolledo Ortiz (Q.E.P.D), por darme fuerzas en su debilidad, por sus enseñanzas de vida; perseverancia, tenacidad, alegría y optimismo frente a su enfermedad.

A Adolfo, mi compañero de vida, por compartir incontables momentos de felicidad, por darme un hogar lleno de paz, amor y ternura, por ser mi refugio y siempre tener una palabra de aliento para cuando el camino se tornó difícil, pero sobre todo por nunca dejar de creer en mí.

A mi profesor guía, Dr. Eugenio Sanfuentes Von Stowasser por recibirme en su laboratorio, por su dedicación y esmero en la revisión de esta memoria, por mostrarme el camino de la fitopatología y ser mi referente en este mundo de conocimiento.

A todos mis formadores del campus Los Ángeles y campus Concepción de la Universidad de Concepción. Al profesor Pedro Quiroz por sus consejos de desarrollo profesional, calidez en sus palabras e interés por ayudarme en todo momento, al profesor Dr. Carlos Schneider, por creer en mí y ayudarme en todo cuanto pudo mientras fue jefe de carrera para trasladarme de campus. Finalmente, agradezco al Dr. Mauricio Rondanelli Reyes, mi gran maestro de vida, por enseñarme que la calidad de las personas es inmutable en el tiempo, sus sabios consejos me acompañan y acompañarán el resto de mi vida.

Y por último al proyecto **Fondef ID16I1034** y al Laboratorio de Patología Forestal de la Universidad de Concepción, por proporcionar los recursos económicos y dependencias para desarrollar mi memoria de título.

## RESUMEN

*Cytisus scoparius* L (Link) y *Ulex europaeus* L., son arbustos de la familia de las *Fabaceae* introducidos a Chile en el siglo XIX con fines ornamentales, y que actualmente son importantes malezas en cultivos agrícolas y plantaciones forestales, la capacidad invasiva de estas malezas es debido a poseer eficaces estrategias reproductivas, características de resistencia de sus semillas y propágulos, sumados a su elevada capacidad de rebrote, asegurando su persistencia en el ambiente. La presencia de malezas arbustivas y arbóreas, además de interferir en el establecimiento de las plantaciones forestales, dificultan actividades silviculturales como podas, raleos, tránsito de trabajadores y de cosecha aumentando los costes de producción forestal. A nivel de ecosistema, estas malezas interfieren en el normal desarrollo de otras plantas, al ejercer un efecto alelopático y competir por los recursos abióticos del sector. Dentro de las estrategias de control de malezas se encuentra el control biológico inundativo, que utiliza microorganismos presentes en el lugar de asentamiento para reducir el grado de invasión y que en el caso de utilizar hongos se les denomina micoherbicidas. A partir de una investigación realizada previamente en el laboratorio de Patología Forestal de Facultad de Ciencias Forestales, fueron identificados una serie que demostraron su capacidad como patógenos en *C. scoparius* y *U. europaeus* en condiciones controladas. El objetivo del estudio fue determinar la capacidad de hongos en el control del rebrote de *C. scoparius* y *U. europaeus* en condiciones de campo. Fueron utilizados aislados de los géneros *Diaporthe*, *Clonostachys*, *Fusarium*, *Alternaria* y *Chondrostereum*. Los ensayos fueron conducidos en dos predios forestales, donde se procedió a inocular tocones de las malezas en la forma de una pasta micelial con carboximetilcelulosa. Después de 60 días de la aplicación de los hongos fue evaluada la longitud de lesión en los tocones y el número de rebrotes producidos. Los resultados obtenidos fueron analizados mediante programa INFOSTAT y la comparación de medias con la prueba LSD Fisher. Varios aislados provocaron necrosis en los tocones de las malezas espinillo y bautro, sin embargo, solo los aislados que redujeron los rebrotes fueron; *A. alternata* y *D. viticola* en bautro y espinillo, respectivamente, demostrando algún potencial para desarrollar un bioherbicida.

## ABSTRACT

*Cytisus scoparius* L (Link) and *Ulex europaeus* L. are *Fabaceae* family shrubs introduced to Chile in the 19th century for ornamental purposes and are currently significant weeds in agricultural crops and forest plantations. The invasive capacity of these weeds is attributed to effective reproductive strategies, seed and propagule resistance characteristics, and a high resprouting ability, ensuring their persistence in the environment. The presence of these shrub and tree weeds not only disrupts the establishment of forest plantations but also hinders silvicultural activities such as pruning, thinning, worker transit, and harvesting, thereby increasing forest production costs. At the ecosystem level, these weeds interfere with the normal development of other plants by exerting allelopathic effects and competing for abiotic resources in the sector.

Within weed control strategies, inundative biological control employs microorganisms present in the settlement area to reduce the degree of invasion, and when fungi are used for this purpose, they are termed mycoherbicides. Based on prior research conducted in the Forest Pathology Laboratory of the Faculty of Forest Sciences, a series of fungi were identified that demonstrated their capacity as pathogens on *C. scoparius* and *U. europaeus* under controlled conditions. The study aimed to determine the potential of fungi in controlling the regrowth of *C. scoparius* and *U. europaeus* under field conditions. Isolates from the genera *Diaporthe*, *Clonostachys*, *Fusarium*, *Alternaria* and *Chondrostereum* were utilized. Trials were conducted in two forest sites, where stumps of the weeds were inoculated with a mycelial paste containing carboxymethyl cellulose. After 60 days of fungal application, the length of the lesion on the stumps and the number of regrowth shoots were evaluated. The obtained results were statistically analyzed using the INFOSTAT program, and mean comparisons were performed with the LSD Fisher test. Several isolates induced necrosis in the stumps of the weeds espinillo and bautro; however, only the isolates that reduced regrowth were *A. alternata* and *D. viticola* in broom and gorse, respectively, demonstrating some potential as bioherbicides.



## INTRODUCCIÓN

La invasión de especies exóticas es un problema a nivel mundial (Macdonald et al., 1989), dañando procesos básicos de los ecosistemas vegetales e impactando en componentes como la hidrología, ciclos de nutrientes y espacio, pudiendo cambiar sustancialmente el ecosistema, comunidad y estructura de una población vegetal y animal en las áreas invadidas, en algunos casos irreversiblemente (Vitousek, 1990). La clave biológica de las malezas para perpetuarse en una zona reside en las características de elevada producción de semillas o propágulos junto a largo período de viabilidad, germinación escalonada, adaptabilidad fisiológica y riqueza genética (Villarías, 2015).

Distintas estrategias se desarrollan en las malezas para sobrevivir a las aplicaciones sucesivas de un mismo herbicida. Harper (1956), sugiere que los herbicidas pueden inducir cambios fenológicos en especies susceptibles como un mecanismo de escape, mencionando entre ellos la selección por germinación tardía y ciclo corto (Harper, 1956), generando una reducción en el ciclo de especies anuales (Kott, 1971) .

En el caso de la agricultura, diversas malezas que fueron controladas por herbicidas específicos evolucionaron originando biotipos actualmente tolerantes, ya que la capacidad de adaptabilidad genética y elevado potencial de recombinación les permite desarrollar genotipos resistentes a algunos herbicidas, como el caso de la *Avena* spp (Villarías, 2015) que, como consecuencia de la aplicación de un mismo herbicida durante años sucesivos y en casos de aplicaciones sucesivas de s-triazinas en cultivos agrícolas (Gressel et al., 1982; LeBaron y Gressel, 1982; Gressel, 1984).

Las malezas en su conjunto son plantas altamente competidoras de factores abióticos, limitando la disponibilidad de éstos hacia las plantas de interés. Se caracterizan por agotar las reservas de agua y nutrientes, están dotadas de características biológicas comunes tales como su fácil dispersión, gran capacidad de persistencia en el ambiente y su capacidad de competencia y adaptación a las condiciones del cultivo que invaden (Villarías, 2015).

## 1. MARCO TEÓRICO

Se denomina “maleza” a toda aquella planta que no se encuentra en su centro de origen o que se asienta donde el ser humano no la desea, perturbando el normal desarrollo de las zonas destinadas para el cultivo (Kogan, 1992) En algunos sectores, una misma especie puede tener una importancia económica y puede ser perjudicial en otro (Kogan, 1992; Ramírez et al., 1992), siendo el hombre el principal responsable de la propagación de estas especies (Valverde, 2004).

Estudios ecofisiológicos de malezas de la familia Fabaceae, por parte del Laboratorio de Invasiones Biológicas (LIB) de la Universidad de Concepción, indica que arbustos leñosos del orden Fabales tienen la capacidad de acumular bancos de semillas que se mantienen en el mismo sitio, año tras año debido a la dormancia y latencia de las semillas en el suelo (Gianessi y Sankula, 2003) y cuya germinación es estimulada por el fuego, ya sea por altas temperaturas, humo o combinación de ambos, lo que no ocurre con las especies nativas chilenas (Figueroa et al., 2009; Gómez-González y Cavieres, 2009).

Muchas de las plantas invasoras emiten compuestos orgánicos volátiles (COVs), similares a los encontrados en procesos de combustión incompleta de hidrocarburos (Kim et al., 1999), concretamente *Ulex europaeus* L (Link) emite isoprenos, que junto con otras emisiones antrópicas (NO<sub>x</sub>, N<sub>2</sub>O), reaccionan formando compuestos con efecto invernadero o tóxicos para la salud humana y vegetal favoreciendo, además, la deposición atmosférica de nitrógeno, en compuestos del smog fotoquímico (Kim et al., 1999; Boissard et al., 2001).

### 1.1 Malezas en las plantaciones forestales

Los ecosistemas forestales, incluso los más simples incluyen diferentes especies vegetales, algunas de ellas que pueden tener comportamiento de malezas, derivando en problemas de sobrepoblación de especies herbáceas, arbustivas y/o arbóreas, con interrelaciones que complican el manejo silvícola. Las malezas arbustivas y arbóreas, además de interferir en el desarrollo inicial de la plantación, dificultan otras actividades silviculturales como podas, raleos, tránsito, cosecha, entre otras actividades asociadas (Venegas y Palazuelos, 1999; Pezzuti y Caldato, 2004; Fernández et al., 2014).

La presencia de malezas en las plantaciones forestales condiciona efectos negativos sobre la plantación, que se expresan en las primeras etapas de crecimiento debido a la competencia (Lauer y Glover, 1988; Kogan, 1992). Competencia puede entenderse como una demanda activa para obtener un factor de crecimiento por dos o más organismos (Kogan y Figueroa, 1999). Los daños potenciales de las malezas hacia los cultivos forestales pueden ser directos como la mortalidad de plantas, reducción del crecimiento debido a la competencia por los factores abióticos y espacio entre las especies involucradas o indirectos representando incrementos en los costos operativos al tratar de controlarlas. Además, a las malezas se les considera hospederas de plagas y enfermedades, las que se pueden transmitir a especies de interés económico, crear las condiciones apropiadas para la multiplicación de enemigos naturales y generar un ambiente más propicio para la propagación de incendios (INFOR, 2011).

Las especies de malezas que pueden interferir con el crecimiento de las especies forestales destacan la vegetación herbácea y leñosa. Dentro de las malezas leñosas arbustivas, las perennes, son las más difíciles de controlar ya que poseen mayor cantidad de biomasa, capacidad de rebrote y reservas nutricionales, comparadas con las malezas herbáceas y el control mecánico de éstas no siempre provee un efecto permanente (Herrera et al., 2016). En las malezas arbustivas los rebrotes crecen a partir de diferentes puntos desde los tocones que quedan posterior al raleo, conformando una agrupación de nuevas varas. Las raíces son muy desarrolladas y con reservas energéticas suficientes para lograr un rápido crecimiento (INFOR, 2011).

## 1.2 Control de malezas en plantaciones forestales

Las pérdidas de productividad que ocasionan las malezas en los cultivos forestales hacen obligatorio su control como parte importante del manejo de plantaciones. El uso combinado de diferentes métodos de control de malezas como el agronómico-forestal, físico, mecánico, químico y control biológico, forman parte del Sistema de Manejo Integrado de Malezas (Fernández et al., 2014; Pannaci et al., 2017). Bajo las exigencias de sustentabilidad de la silvicultura moderna, la tendencia es integrar los diferentes sistemas de control disponibles de manera de realizar un control eficaz desde el punto de vista económico, ambiental y social, bajo un concepto de control integrado (INFOR, 2011).

En Chile, Kogan y Figueroa (1999), demostraron que no controlar malezas al segundo año de crecimiento del pino (*Pinus radiata*), redujo en 65% la biomasa útil, en el secano interior de la Región del Biobío (estimador  $D^2H$ , de diámetro fustal). Las malezas también impactan negativamente en la absorción de nitrógeno por los árboles, y de esta manera puede agravar una deficiencia por este elemento (Smethurst y Nambiar, 1989). En Nueva Zelanda, evaluándose parcelas experimentales en plantaciones de pino insigne, el control de malezas herbáceas significó 50% mayor volumen fustal a los 11 años, que aquellas sin control (Maclaren, 1993).

Toro (2004) encontró que las respuestas del pino al control de malezas dependen de la textura del suelo. De esta forma, el control químico de las malezas en suelos de texturas areno-limosas y francas significó un crecimiento del diámetro, mientras que, en las texturas arcillosas, en especial aquellas muy densas, afectó negativamente el diámetro del pino *radiata*.

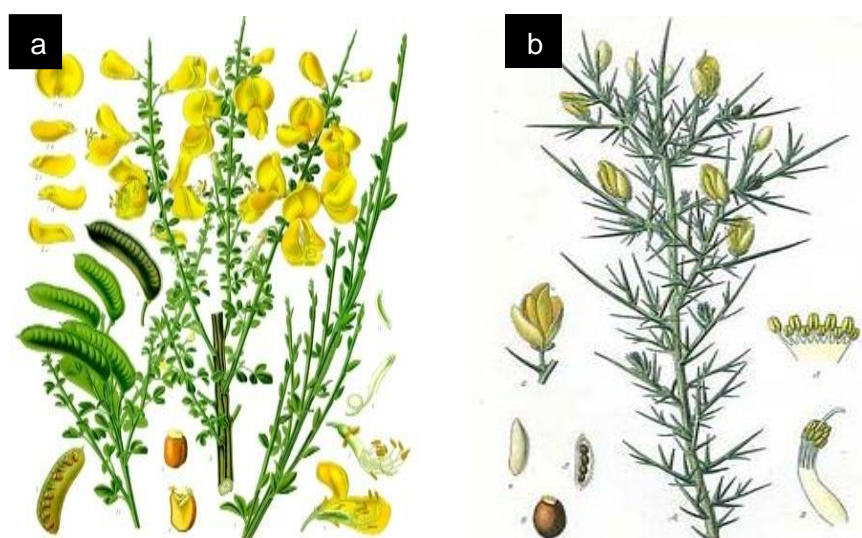
### 1.3 Malezas: bautro y espinillo en plantaciones forestales

Desde la familia Fabaceae, las malezas perennes *Ulex europaeus* L. y *Cytisus scoparius* (L.) Link., bautro y espinillo, respectivamente, son especies nativas de la región Atlántica. El espinillo es nativo de la costa oeste de Europa continental y las Islas Británicas, mientras que el bautro está ampliamente distribuido en toda Europa (Basanta et al., 1989; Núñez et al., 2004; Haveman et al., 2017). Fuera de su rango de distribución natural son consideradas malezas altamente invasivas (Peterson 1998; Richardson 1998; Clements et al., 2001). El espinillo es considerado una de las 100 especies invasoras más dañinas (GISD, 2019), y fue introducido en Chile en principios del siglo XIX, para ser usada como vegetación forrajera y cerco vivo, una de las malezas arbustivas de mayor importancia en las regiones del Biobío, la Araucanía y los Ríos (Matthei, 1995). Su follaje denso impide el paso de luz a las ramas centrales, las que al secarse facilitan la combustión y propagación de los incendios. El fuego, dependiendo de la temperatura alcanzada puede destruir las semillas o estimular su germinación. Se ha intentado controlar biológicamente, pero sin éxito (Espinoza, 2017).

*Ulex europaeus* es una planta leñosa perenne que se conoce en nuestro país con los nombres comunes de espino alemán, yáquil, aliaga, maticorena, corena o espinillo (Matthei 1995). Su hábito es arbustivo perenne, pertenece al orden Fabales, familia Fabaceae, subfamilia Faboideae, Tribu Genisteae (Celestino-Mutis, 2008). Se propaga principalmente por semillas, aunque además posee reproducción asexual (Fuentes et al., 2013). Las ramas principales poseen tallos hirsutos, verdosos y angulares con hojas aciculares que son generalmente más cortas que sus espinas conspicuas de entre 25 a 30 mm (Gleason y Cronquist, 1991). Sus ramas son leñosas de 1 a 2 metros de altura, de hasta 10 cm de diámetro, densamente ramificada en las partes más jóvenes y descubierto en la base; las ramas jóvenes son pubescentes, de 70 a 100 cm (Gleason y Cronquist, 1991), desarrollándose las espinas posteriormente (Espinoza, 2017). Sus hojas maduras están reducidas a peciolo espinoso. Las flores son de color amarillo y se disponen axilarmente en grupos de 1 a 3, posee dos floraciones, una principal en primavera y otra menos intensa en otoño e invierno. El fruto es una legumbre comprimida dehiscente de 2 cm de largo y velluda (Espinoza, 2017). Contiene 1 a 3 semillas oscuras, de 2-3 mm de largo, redondas y más anchas en un extremo, con una pequeña ranura sobre la cual va ubicada un apéndice que es de un color más claro, siendo la semilla de un tono café o verde-oliva con una carúncula amarilla. La superficie de la semilla es suave y brillante (Matthei, 1995). Estas semillas son tóxicas por la presencia de alcaloides del tipo quinolizidínicos, como en el caso del espinillo (Máximo et al., 2006). La dispersión ocurre principalmente por explosión de los frutos propagándose varios metros. Se reproduce mediante semillas, rizomas y rebrotes. Es capaz de colonizar suelos sin nutrientes debido a su capacidad de fijar nitrógeno. Además, es alelopática ya que produce un mantillo que acidifica el suelo y disminuye la capacidad de intercambio catiónico porque inmoviliza calcio, magnesio y sodio, cambiando la dinámica de nutrientes y empobrece el suelo (Herrera et al., 2016).

*Cytisus scoparius*, denominado comúnmente como bautro, es un arbusto perenne de 1-3 m de alto, tallos erectos, ramas estriadas, glabras o con pequeños pelos cuando joven. Hojas obovadas a oblongo-lanceoladas, cuneadas y digitado-trifolioladas, de 6,5-16,5 x 3-6,5 mm, dimorfas, sésiles o subsésiles, con folíolos elípticos a lanceolados, de 6-11 x 2-4 mm, levemente apiculados, cuneados, pubescentes. Flores axilares, solitarias o en pares. Cáliz de 5-7 mm de largo, bilabiado, glabro. Corola de 16-20 mm de largo, amarilla. Legumbre

oblonga, de 25-40 x 8-10 mm, plana, pubescente en los márgenes. Semillas elipsoides a ovoides, de 3-4 mm de largo (Figura 1) originario de Europa introducida intencionalmente a Chile el año 1847 (Matthei, 1995). Fue cultivado originalmente como planta ornamental para la formación de cercos vivos y actualmente en Chile crece silvestre entre las regiones del Maule y Los Lagos y el 2013, investigadores del Laboratorio de Invasiones Biológicas UdeC reportaron su aparición en la región de Magallanes (Fuentes et al., 2013). La maleza también se encuentra frecuentemente en el sotobosque de las plantaciones de pino, formando extensos matorrales en áreas abiertas o degradadas, en taludes y claros del bosque. Prefiere zonas húmedas y suelos ácidos, así como suelos arenosos, a orillas de camino (Espinoza, 1996).



**Figura 1** Morfología de las malezas *Cytisus scoparius* (a) y *Ulex europaeus* (b).

El grado de invasión de estas especies está vinculado directamente a su capacidad de rebrotar y regenerar rápidamente, al cortar o quemar se regenera rápidamente y crece con mayor densidad de vástagos. Normalmente se desarrolla formando setos, pero al invadir potreros abandonados, crece profusamente formando matorrales muy espesos que impiden el uso agrícola o ganadero del terreno (Altamirano et al., 2016).

En tanto la dificultad de erradicación a su alto potencial de generar semillas y a su resistencia al fuego (Fogarty y Facelli, 1999; Rees, 2001, Altamirano et al., 2016). Sin embargo, otros factores subyacen a la capacidad competitiva de estas plantas, son incluso mecanismos

clave para establecerse exitosamente, incluyendo la interferencia contra otras especies. Uno de estos mecanismos modelados por la evolución es la alelopatía, mediante la liberación de compuestos bioactivos con acción aleloquímica, la volatilización, degradación y exudación desde las raíces o descomposición de residuos vegetales (Nascimento et al., 2017), como los COVs, los cuales han ganado significancia recientemente por la explicación del éxito de las invasiones vegetales (Venegas y Palazuelos, 1999).

#### 1.4 Sistema de Manejo Integrado de Malezas.

El manejo integrado de malezas es una estrategia que considera todas las técnicas disponibles de control y las combina para suministrar un manejo económico y sostenible. El manejo integrado de malezas no se basa solo en el uso de herbicidas, sino que también incluye técnicas tales como las medidas preventivas de quema de residuos vegetales del cultivo anterior, la labranza, la competencia de cultivos, los controles biológicos, la fertilización y el riego. Los cultivos tolerantes a herbicidas son una herramienta adicional poderosa y relativamente nueva para el conjunto de herramientas con la que cuenta el manejo integrado de malezas (INFOR, 2011).

##### 1.4.1 Control Cultural.

Se efectúa a través de medidas o acciones que favorecen el crecimiento de las especies deseadas y así competirán mejor con las malezas. Por ejemplo, el establecimiento de plantas sanas, vigorosas y uniformes, la plantación en la época adecuada, la preparación adecuada del suelo, además de fertilización inicial, contribuyen a la competencia de las especies deseadas con las malezas (INFOR, 2011). Los impactos generados por la presencia de especies alóctonas con un comportamiento invasor varían según la especie de la que se trate y sus interacciones con el ecosistema invadido (Capdevila-Argüelles et al., 2013).

Una de las razones de la menor eficacia del control mecánico o manual para eliminar malezas como espinillo y bautro, es el crecimiento múltiple desde los tocones, puesto que el rebrote se presenta de igual forma, obligando a efectuar controles futuros con el costo que eso significa para la industria forestal.

##### 1.4.2 Control Químico.

Los herbicidas generalmente se emplean para efectuar barbechos y controlar rebrotes en la preparación del sitio o durante los primeros dos años post-plantación (Figura 2). En comparación con los herbicidas destinados a la agricultura, hay pocos principios activos registrados para los cultivos forestales: paraquat y cletodim para plantaciones en general; isoxaflutole y oxifluorfen para *Eucalyptus grandis* y glifosato, imazapir, isoxaflutole y oxifluorfen para *Pinus* spp (INFOR, 2011). Esta escasez de opciones en el mercado, junto con la categorización toxicológica de algunos productos como el Oxifluorfen 24%, dificultan la adecuación de los tratamientos químicos a las normativas ambientales vigentes, así como las pautas que establecen los protocolos de la certificación forestal internacional (INFOR, 2011; Fernández et al., 2014).

Para estos casos, es necesario complementar con la aplicación de herbicidas, los que deben ser de acción sistémica para lograr un control adecuado, herbicidas como el glifosato, la dicamba y el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) han sido aplicados para controlar la germinación y crecimiento de malezas, pero generalmente no son tan efectivos debido al desarrollo de germoplasmas de malezas resistentes (Green y Owen, 2011). La vida media de los herbicidas químicos en las variedades de suelo es de tres días en el caso de cletodim, para el control herbáceo a tres meses, en el caso de flumetsulam, selectivo para gramíneas y leguminosas, los que a su vez se ven afectados por el tipo de suelo (arena o arcilla, pH, concentración de O<sub>2</sub>) y la actividad microbiana, pero en general no sobrepasa los 20 días de vida media (Vencill, 2002). Dentro de las diferentes técnicas de aplicación de herbicidas post-plantación se evalúan aspersiones al follaje, al tocón, basales y al suelo (mediante granulados) (Venegas y Palazuelos, 1999).

Aunque los herbicidas para controlar algunas malezas leñosas no son selectivos a *P. radiata*, la aplicación debe hacerse con "técnicas de mínimo riesgo" (Venegas y Palazuelos, 1999).



| Año 0<br>Plantación   | Año 1  | Año 2  |
|---|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Febrero-Abril: Roce Químico</li> <li>• Julio-Agosto: Pre-plantación</li> <li>• Agosto-Septiembre: Post-plantación</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Enero-Marzo: Mantenimiento de verano</li> <li>• Agosto-Octubre: Mantenimiento de primavera</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Agosto-Octubre: Mantenimiento de primavera</li> </ul> |

**Figura 2** Esquema anual de aplicación de herbicidas, en el control de malezas en plantaciones de *Pinus radiata* y *Eucalyptus globulus* (Fuente: Arauco, 2012).

#### 1.4.3 Control biológico.

De acuerdo con la definición acuñada por Waterhouse (1978) el control biológico se define como el uso de enemigos naturales, denominados agentes de control biológico (ACB) (Rodríguez et al., 2010), para mantener el número e incidencia de acción de los organismos que causan daño en el cultivo, en este caso malezas, por debajo de los niveles cuyo efecto se vuelve económicamente significativo (Waterhouse, 1978). Los ACB se pueden categorizar en cuatro grupos: macroorganismos (ej. depredadores, insectos parasitoides y nemátodos), microorganismos (ej. bacterias, hongos y virus), mediadores químicos (ej. feromonas) y sustancias naturales originadas desde plantas o animales (Villaverde et al., 2014), y los que atacan la formación y propagación de malezas, se denominan bioherbicidas, usando hongos fitopatógenos como ingrediente activo (Tabla A2) (Moris, 2020).

En el caso del control biológico clásico o inoculativo, corresponde al uso de organismos predadores naturales o patógenos, traídos desde la zona de origen de las malezas, y en el caso del control biológico aumentativo o inundativo corresponde al uso de organismos que se encuentran en el mismo sitio afectado por las malezas y que se requiere controlar (Dane y Shaw, 1996; TeBeest, 1996; Shaw et al., 2009).

El método de control biológico clásico se presenta como necesidad cuando las malezas no cuentan con sus propios controladores en el lugar de su asentamiento. A su vez, el control biológico aumentativo o inoculativo se debe a la necesidad de incrementar la presencia de agentes de control biológico en determinado sitio, porque su escasa presencia o

imposibilidad de mantener poblaciones suficientes dificulta el efecto controlador, por lo que se incrementa su presencia de forma artificial (Rodríguez et al., 2010).

Particularmente, los bioherbicidas son un grupo dentro de los biopesticidas, que incluyen aquellos compuestos basados microorganismos, pero excluyen a las fitotoxinas y/o metabolitos secundarios (Ash, 2010). El modo de acción de los bioherbicidas es similar a los mecanismos de interacción planta-patógeno y alelopatía (Harding y Raizada, 2015), que se basa en la dinámica natural de interacción biológica para así ejercer su efecto controlador. Luego, esta definición fue evolucionando en sustancias o productos de origen natural para el control de malezas, dichos productos pueden formularse a partir de organismos vivos y más específicamente microorganismos o productos derivados de organismos vivientes, incluyendo los metabolitos naturales producidos por estos organismos en el transcurso de su crecimiento y desarrollo (Bailey, 2014).

En la mayoría de los casos, los bioherbicidas incluyen organismos fúngicos como ingrediente activo, los hongos con potencial y actividad biocontroladora de malezas, se denominan micoherbicidas (Hoagland et al., 2007) y en este caso, al ser de origen natural no suponen riesgo al ambiente ni a otros organismos presentes en el ecosistema, ya que se apunta hacia la generación de un producto específico, de espectro reducido de acción, disminuyendo el impacto en especies no objetivo (Imaizumi et al., 1997, 1999; Anderson y Gardner, 1999; De Valerio y Charudattan, 1999; Daigle et al., 2002; Weissmann et al., 2003). De esta forma, son considerados productos de control con menos riesgo del convencional encontrado en los herbicidas de origen sintético (Bailey et al., 2010).

Específicamente, el control biológico de malezas con microorganismos se sustenta en la introducción de ACB que produzcan enfermedades y/o en la modificación del escenario para potenciar su ocurrencia a un nivel en que la maleza no sea una competidora eficaz en el ambiente (TeBeest, 1991). Dentro de las investigaciones en control biológico de malezas con fitopatógenos se ha demostrado la viabilidad del método (TeBeest, 1991, 1996; Charudattan, 2001; Ash, 2010, 2011; Bailey, 2014; Pannaci et al., 2017). Mientras se busca reducir el uso de químicos para el control de plagas por considerarse riesgosos para el ambiente. Los bioherbicidas poseen al menos tres ventajas sobre los herbicidas químicos:

son específicos para cada maleza, los residuos o toxicidad asociada se degradan y eliminan por completo y, por último, no se acumulan en el suelo ni en aguas subterráneas. En conjunto, estas ventajas posicionan a los bioherbicidas por sobre los herbicidas químicos en la reducción de malezas (Triolet et al., 2019).

### 1.5 Bioherbicidas en el mundo

En 1982 fue registrado Collego™ en USA, una forma comercial de bioherbicida con *Colletotrichum gloeosporioides* f.sp cepa *aeschynomene* (Bowers, 1986) , para cultivos de arroz y soya, (Hoagland et al., 2007; Bailey et al., 2014; Cordeau et al., 2016). Entre los agentes microbianos fúngicos registrados como bioherbicidas, se menciona a especies de los géneros *Alternaria*, *Chondrostereum*, *Diaporthe*, *Fusarium* y *Phomopsis* (Charudattan, 2001), entre otras especies de bacterias y hongos que han demostrado tener actividad bioherbicida contra poblaciones de malezas (Hintz, 2007; Hoagland et al., 2007).

A pesar de que el total del número de pesticidas registrados a nivel mundial ha aumentado, los bioherbicidas aún constituyen una pequeña fracción de estos productos de control de plagas (Ash, 2010; Bailey et al., 2010; Kabaluk et al., 2010; Glare et al., 2012). Entre los años 1973-2018, los géneros más estudiados como bioherbicidas dentro de publicaciones científicas fueron *Colletotrichum*, *Alternaria*, *Puccinia*, *Phoma* y *Fusarium*. La recopilación bibliográfica además menciona específicamente que la búsqueda que incluyen los conceptos “micoherbicida” y “control de malezas”, arrojan un total de 100 publicaciones, de las cuales 28 de ellas corresponden a bioherbicidas en Fabaceae, constituyendo la tercera familia más representada en estudios científicos de bioherbicidas, concluyendo que los hongos candidatos, apropiados para el control de malezas son aquellos aislados desde plantas con síntomas de las partes aéreas (Triolet et al., 2020) como en el caso de este ensayo de memoria de título.

En Chile, la mayoría de los productos biológicos desarrollados son para el control de hongos, bacterias, insectos y nemátodos (Montealegre y Pérez, 2013) y no para malezas, sin embargo en una revisión de Morrin (2020), se encontró el registro de 17 bioherbicidas (Tabla A2), dentro de los cuales 15 de ellos se desarrollaron con hongos, excepto Camperico™ y

SolviNix™, los cuales están basados en una bacteria y en un virus, respectivamente (Morrin,2020)

Durante el periodo 2017-2018, en el Laboratorio de Patología Forestal (LPF) de la Universidad de Concepción, se ejecutó el proyecto FONDEF ID16I1034 relacionado con el desarrollo de bioherbicidas para las malezas forestales usando hongos fitopatógenos, bajo la estrategia de control inundativo. En el estudio, algunos hongos demostraron ser patógenos en las malezas *U. europaeus* y *C. scoparius* en condiciones controladas, los cuales serán probados en el presente estudio de control biológico.

## **2. HIPÓTESIS.**

Al menos uno de los hongos patógenos inoculados en tocones de *C. scoparius* y *U. europaeus* causa necrosis en tallo y reduce la capacidad de rebrote de estas malezas.

## **3. OBJETIVOS**

### 3.1 Objetivo general

- Evaluar el efecto de hongos fitopatógenos en la reducción del rebrote de malezas de bautro (*C. scoparius*) y espinillo (*U. europaeus*)

### 3.2 Objetivos específicos

- Determinar el efecto de hongos patógenos en causar canchales en tocones de *C. scoparius* y *U. europaeus*.
- Determinar el efecto de hongos fitopatógenos en la reducción del rebrote en tocones de *C. scoparius* y *U. europaeus*.

## 4. MARCO METODOLÓGICO

### 4.1 Fitopatógenos aislados.

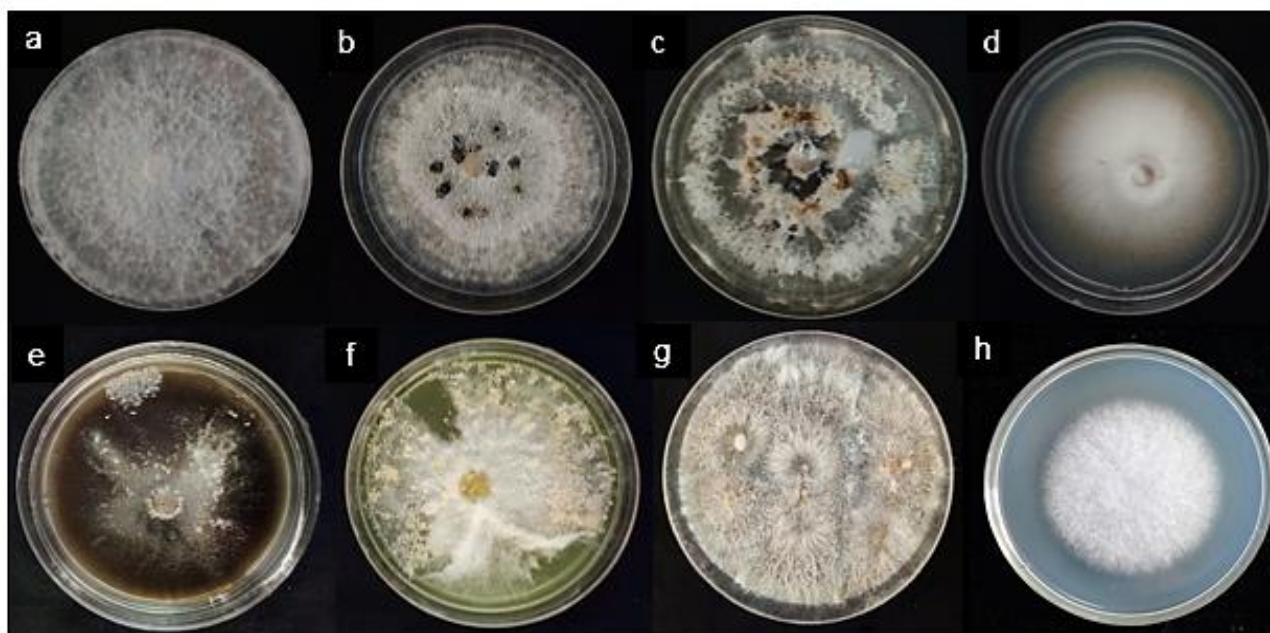
Fueron utilizados hongos que fueron patógenos en plantas de *C. scoparius* y/o *U. europaeus*, y que se encuentran almacenados en el Laboratorio de Patología Forestal de la Universidad de Concepción (Balocchi, 2016). Los aislados seleccionados pertenecen a los géneros; *Alternaria*, *Fusarium*, *Diaporthe*, *Clonostachys* y *Chondrostereum* (Tabla 1)

### 4.2 Producción del inóculo de patógenos.

Los aislados fueron repicados desde el cepario del LPF, a medio de cultivo PDA DIFCO® al 50% (PDA/2), esterilizado previamente a 121°C durante 30 min. Los hongos seleccionados fueron incubados durante 14 días a 25°C, con fotoperiodo 12 h luz y 12 h oscuridad (Figura 3).

**Tabla 1** Hongos fitopatógenos utilizados en los ensayos, indicando rol como patógeno en *Cytisus scoparius* y/o *Genista monspessulana* (retamilla) en ensayos en condiciones controladas.

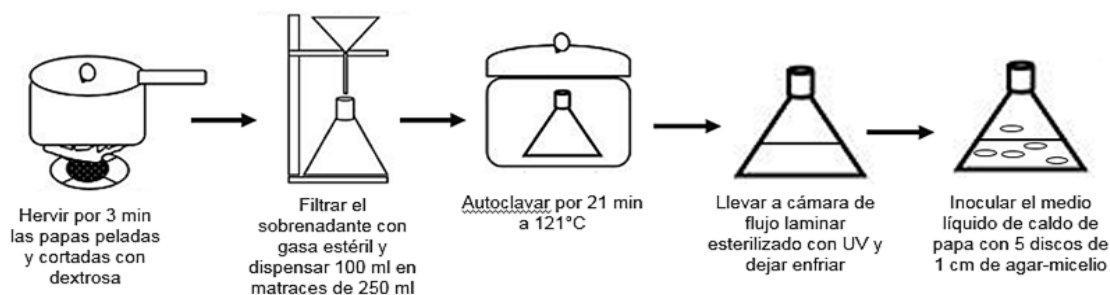
| Tratamiento | Código  | Especie                            | <i>C. scoparius</i> | <i>G. monspessulana</i> |
|-------------|---------|------------------------------------|---------------------|-------------------------|
| T1          | FB-25   | <i>Diaporthe foeniculina</i>       | X                   | -                       |
| T2          | PMR-154 | <i>Fusarium tricinctum</i>         | X                   | X                       |
| T3          | FB-76   | <i>Diaporthe viticola</i>          | X                   | -                       |
| T4          | PMR-301 | <i>Clonostachys rosea</i>          | X                   | -                       |
| T5          | PMR-300 | <i>Alternaria alternata</i>        | X                   | -                       |
| T6          | PMU-104 | <i>Fusarium avenaceum</i>          | X                   | X                       |
| T7          | PMR-42  | <i>Diaporthe passiflorae</i>       | X                   | X                       |
| T8          | FB-137  | <i>Chondrosterum<br/>purpureum</i> | X                   | X                       |
| T9          | Control | ADE                                | -                   | -                       |



**Figura 3** Colonias de los hongos fitopatógenos usados en el ensayo de control de rebrote en *Cytisus scoparius* y *Ulex europaeus*, en medio PDA/2 (25°C- fotoperiodo 12 h luz y 12 h oscuridad, por 30 días. *Chondrosterum purpureum* (a), *Diaporthe foeniculina* (b), *Diaporthe viticola* (c), *Fusarium tricinctum* (d), *Alternaria alternata* (e), *Chlonostachys rosea* (f), *Diaporthe passiflorae* (g) y *Fusarium avenaceum* (h).

#### 4.2.1 Producción de biomasa de cepas de hongos.

Las cepas fueron cultivadas en medio líquido de caldo de papa (CP) sin agar y enriquecido con dextrosa para la obtención de biomasa en forma de micelio. Para la preparación del caldo de papa se utilizó la proporción de 200 g de papa pelada por cada litro de agua destilada, se hirvió por 3 min y se agregó 20 g de dextrosa granulada (Figura 4). En cada matraz de 250 ml, se vertió 100 ml de CP, se esterilizó a 121°C por 21 min y luego se dejó enfriar en una cámara de flujo laminar esterilizada con UV, para finalmente inocular con cinco discos de agar-micelio de 10 mm. Cada matraz fue cerrado con papel aluminio estéril y ligas de goma, llevándose a cámara de cultivo bajo condiciones de  $24 \pm 2^\circ\text{C}$  de temperatura y agitación de 150 rpm, durante 15 días (Figura 5) para luego filtrar la masa de micelio obtenido.



**Figura 4** Esquema de preparación de caldo de papa CP e inoculación de medio líquido.

#### 4.2.2 Preparación del inóculo.

El micelio obtenido de cada cepa fue pesado en una balanza semianalítica y luego triturado con una procesadora de alimentos tipo Minipymer desinfectada previamente, por 20 segundos a velocidad media y luego fue resuspendido en agua destilada estéril (ADE), de acuerdo con el método de Bailey et al., (2011) con modificaciones. La concentración de inóculo se ajustó a 50 mg micelio/mL, y se agregándose carboximetilcelulosa (CMC 1% p/v, Sigma) (Musiet, 2015). Finalmente, el micelio se conservó en una botella de vidrio estéril con tapa a 4°C, hasta su uso en terreno al día siguiente.

#### 4.3 Establecimiento del ensayo de control de malezas.

Los ensayos fueron establecidos en dos predios forestales de la región de la Araucanía, ubicados cerca de la comuna de Lumaco. Predio San Javier (coordenadas S 38°, 17.611', W 72° 82.985') con infestación de espinillo y predio Santo Domingo (coordenadas S 38° 26.796', W 73°08.788'), camino a Tirúa con infestación de bautro (Figuras 6, 7 y 8). Ambos predios fueron facilitados por Forestal Mininco S.A. para el montaje del presente estudio.

Los bloques fueron ubicados en zonas con mayor densidad de malezas, con plantas de las cuya altura superaba los 150 cm. Se cortó los tallos de las plantas con desbrozadora y se limpió la zona circundante a cada tocón remanente, retirándose de la zona de ensayo todas las ramas. Los tocones seleccionados no presentaban síntomas o signos de patógenos. Durante la mañana siguiente, fueron aplicados los tratamientos formulados en suspensión del micelio con CMC 1%. El control negativo solo recibió la aplicación de agua destilada estéril (método modificado de Laine et al., 2020).

Se seleccionó cinco tocones de cada núcleo, los que tenían una altura variable debido al corte con la desbrozadora. Luego de cada aplicación, se cubrió con ramas de la misma especie cortadas durante la limpieza, para evitar la desecación del inóculo aplicado. La duración total del ensayo fue de 60 días, durante los meses de diciembre del año 2018 a febrero de 2019.

Al término del ensayo, se recolectaron los tocones cortando con una sierra desde el cuello de cada tallo e incluyendo los rebrotes, los que fueron dispuestos en bolsas de papel, separadas por tratamiento y repetición, rotuladas y transportadas en un cooler con hielo hacia el LPF para su procesamiento. Las variables evaluadas fueron longitud de lesión (cancro), medido desde la zona del corte hasta la base del tocón y número de rebrotes totales en cada tocón. La variable de longitud de lesión se tradujo a escala de severidad, considerando el porcentaje de lesión en cada tocón evaluado, asignándose una categoría entre 0 a 5 (Tabla 2).

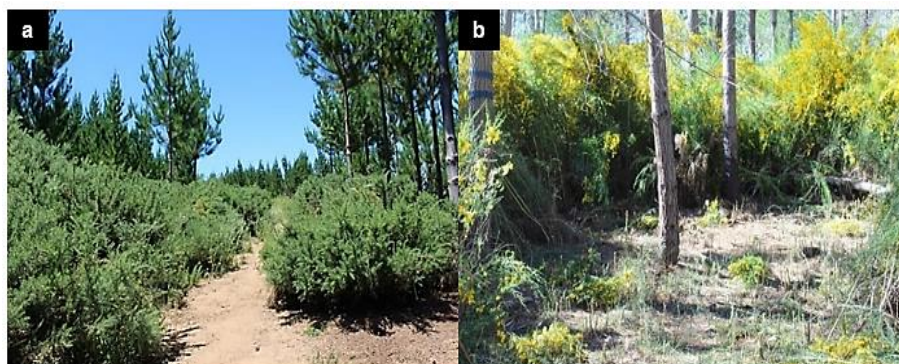
#### 4.4 Diseño Experimental del ensayo y procesamiento de datos

El ensayo fue conducido en un diseño de bloques completo al azar, con tres bloques nueve tratamientos (ocho cepas y un control) y cinco repeticiones (tocones) por cada tratamiento/bloque). La distribución espacial de los tratamientos se muestra en la figura A5. Los resultados fueron analizados mediante ANOVA y las comparaciones múltiples se realizaron mediante la prueba estadística de LSD (“least significant difference”) con un nivel de confianza de 95%, para finalmente analizar los datos en el software estadístico INFOSTAT versión 2008 (Di Rienzo et al., 2019). La escala de severidad se presentó en orden descendente y el número de rebrote en orden ascendente de medias.

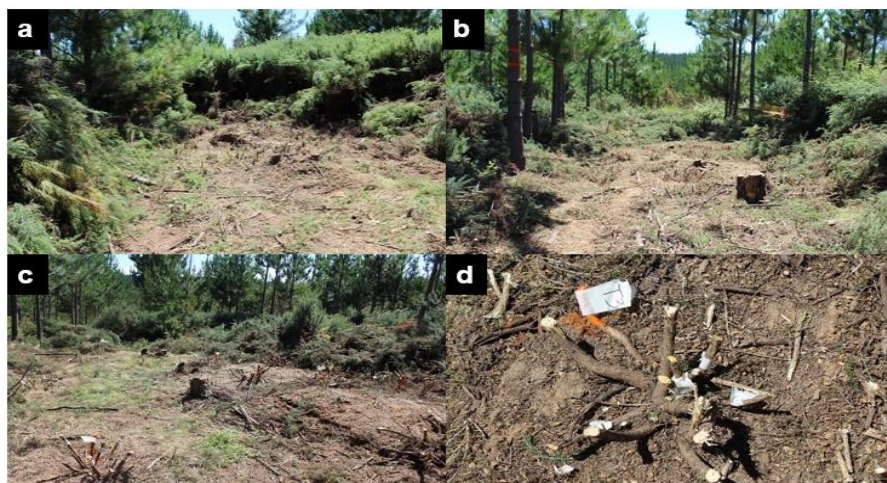




**Figura 5** Procedimiento para producción de biomasa de hongos. Repique de hongos a matraces con medio líquido (a), placa de cultivo en incubadora (25°C en oscuridad y agitación de 100 rpm) (b), crecimiento de colonias de *Diaporthe viticola* a partir de discos de agar-micelio (c).



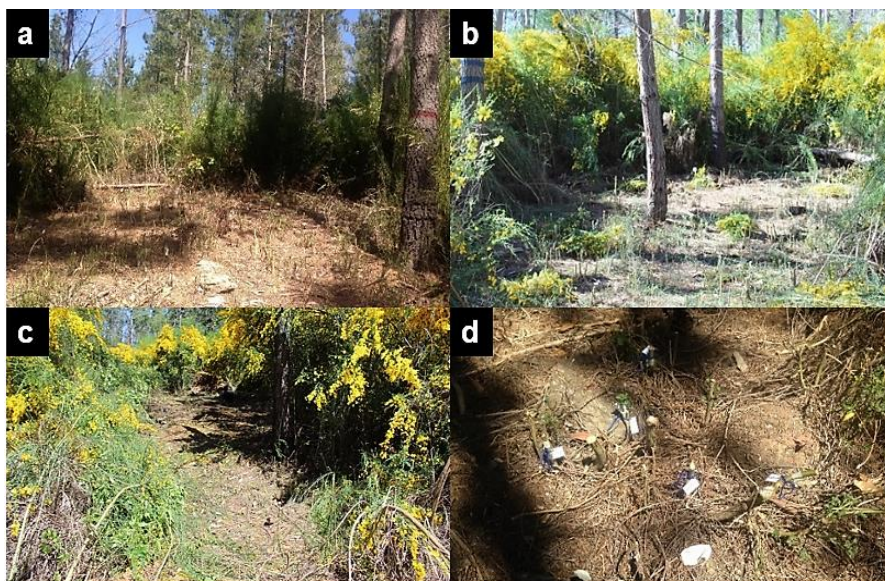
**Figura 6** Lugares de establecimiento de ensayos de control biológico en el predio San Javier con espinillo (a) y predio Santo Domingo con bautro (b).



**Figura 7** Ensayo de control en predio San Javier. Establecimiento de los bloques 1, 2 y 3 del ensayo (a-c) y núcleo de tocones de espinillo (d).

**Tabla 2** Escala de severidad lesión necrótica en tocones de *Cytisus scoparius* y *Ulex europaeus*.

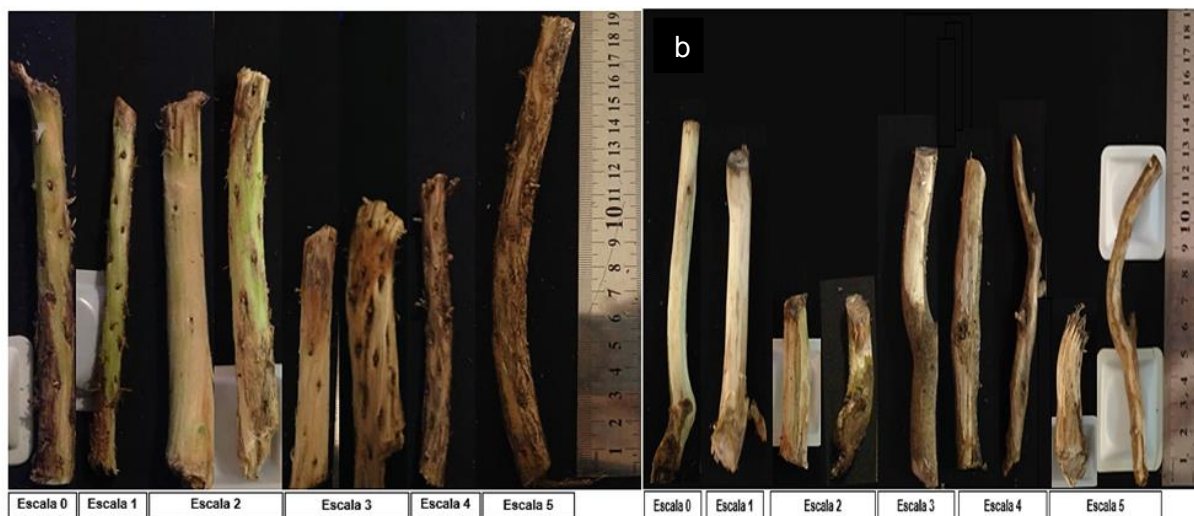
| Escala | Severidad       | %      |
|--------|-----------------|--------|
| 0      | Sin lesión      | 0      |
| 1      | Lesión leve     | 1-20   |
| 2      | Lesión Media    | 21-40  |
| 3      | Lesión Alta     | 41-60  |
| 4      | Lesión muy Alta | 61-80  |
| 5      | Lesión Severa   | 81-100 |



**Figura 8** Ensayo en predio Santo Domingo. Bloques 1, 2 y 3 (a-c) Grupos de tocones de bautro (d) .

## 5. RESULTADOS.

El principal síntoma observado en los tocones de espinillo y bautro fue la aparición de cancos (lesiones necróticas) originados desde el punto de inoculación (Figuras 9 y 10). Debido a una interacción significativa bloque x tratamiento, las comparaciones de medias fueron efectuadas dentro de cada bloque. La totalidad de los resultados obtenidos en el predio San Javier y Santo Domingo se incluyen en Anexo (Tablas A2 y A3, respectivamente)..



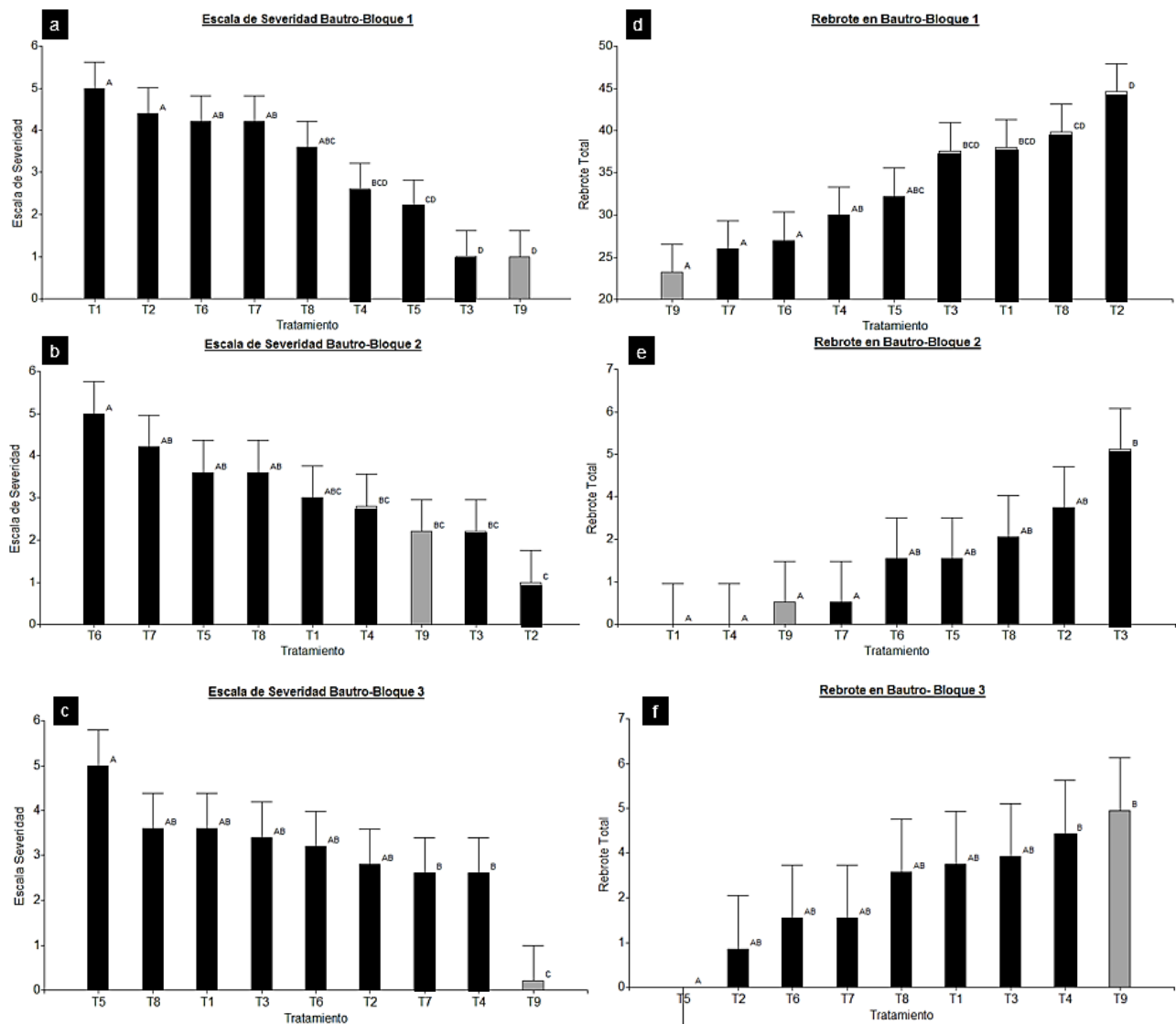
**Figura 9** Severidad de cancos en tocones de las malezas *Ulex europaeus* (a) y *Cytisus scoparius* (b) .



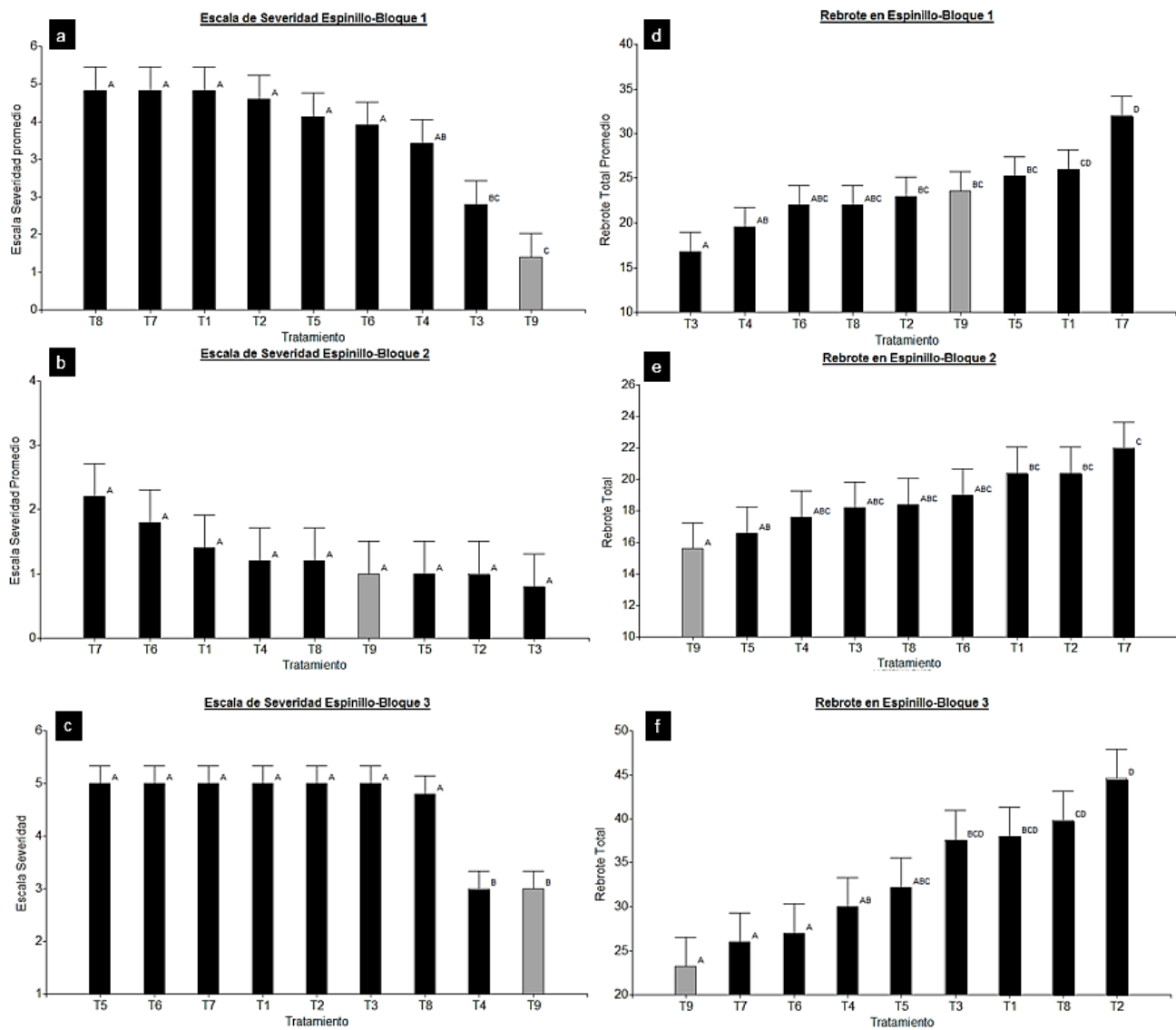
**Figura 10** Cancros y rebrote desde tocón, respuesta de *Ulex europaeus* a la aplicación de *Fusarium avenaceum* (T8) (a), y respuesta de *Cytisus scoparius* a la aplicación de *Diaporthe foeniculina* (T2) (b).

Referente a la severidad de canchros en los tallos de bautro (Figura 11), en el bloque 1 los hongos *D. foeniculina* (T1), *F. avenaceum* (T6), *D. passiflorae* (T7) y *C. purpureum* (T8) causaron lesiones mayores al control, de igual forma en el bloque 2 fueron los hongos *F. avenaceum* (T6), *D. passiflorae* (T7), *A. alternata* (T5) y *C. purpureum* (T8). Entretanto, en el bloque 3 todos los hongos ensayados causaron canchros más severos que el control. En la variable del número de rebrotes de los tocones, en el bloque 1, todos los tratamientos presentaron resultados mayores al control. En el bloque 2, *D. foeniculina* (T1) y *C. rosea* (T4) presentaron resultados menores a los registrados por el control. Por último el bloque 3, mostró que todos los hongos aplicados obtuvieron resultados menores al control.

Para espinillo (Figura 12), en el bloque 1 todos los hongos causaron canchros con severidad mayor que el control. En el bloque 2, se observa resultados mayores al control en los aislados de *D. passiflorae* (T7), *F. avenaceum* (T6), *D. foeniculina* (T1), *C. rosea* (T4) y *C. purpureum* (T8). Por último, en el bloque 3 se observa que todos los aislados presentaron canchros de igual o mayor severidad que el control. Sobre el efecto de reducir el rebrote de las malezas estudiadas, en el bloque 1 se muestra menor número de rebrote en los aislados *D. vitícola* (T3), *C. rosea* (T4), *F. avenaceum* (T6), *C. purpureum* (T8) y *F. tricinatum* (T2). En el bloque 2, los aislados *A. alternata* (T5), *C. rosea* (T4), *D. vitícola* (T3) y *C. purpureum* (T8) tuvieron un número de rebrotes totales igual que el control.



**Figura 11** Efecto de hongos patógenos en la severidad de canchros (a-c) y número de rebrote en tocones de *Cytisus scoparius* (d-f), obtenidos en los bloques 1, 2 y 3, respectivamente.



**Figura 12** Efecto de hongos patógenos en la severidad de cancros (a-c) y número de rebrote en tocones de *Ulex europaeus* (d-f), obtenidos en los bloque 1, 2 y 3, respectivamente.

## 6. DISCUSIÓN

En el presente estudio de control biológico de las malezas bautro y retamilla, se utilizaron diferentes cepas de hongos patógenos con la finalidad de causar necrosis en los tocones de las plantas, y reducir el rebrote desde los tocones. Los resultados mostraron diferencias en el comportamiento de los tratamientos entre bloques, los que podrían atribuirse a cambios en las condiciones microambientales, así como a la formulación del inóculo aplicado.

Algunos aislados mostraron capacidad para producir lesiones (cancros) en los tocones de las plantas tratadas, en comparación con el control, dentro de los que se puede mencionar; *F. avenaceum* (T6) , *D. passiflorae* (T7) , *C. purpureum* (T8) y *D. foeniculina* (T1), los que presentaron resultados similares de severidad tanto en bautro como en espinillo. La necrosis o cancos en los tejidos vegetales es provocada por fitotoxinas y la acción de algunas enzimas como; celulasas, hemicelulasas, pectinasas, proteasas, quitinasas y ligninasas (Kavanagh 2005), cuya acción conjunta conlleva la aparición de lesiones por la degradación de los compuestos principales de la pared celular y membrana plasmática planta huésped, desde la zona de corte en el tocón.

Los únicos aislados que redujeron el número de rebrotes en bautro y espinillo fueron *A. alternata* (T5) y *D. viticola* (T3), respectivamente. Especies del género *Diaporthe* y su anamorfo *Phomopsis* producen una gran cantidad de metabolitos secundarios bioactivos. Compuestos derivados de las xantonas, cromonas, cromanonas, benzofuranonas, quinonas, fenoles, oblongólidos, poliquétidos, monoterpenoides, sesquiterpenoides, triterpenoides, macrólidos, alcaloides y flavonoides (Xu et al., 2021; Wei et al., 2023). Especies del género *Diaporthe* demostraron actividad citotóxica y fitotóxica, los que podrían ser responsables de reducir los rebrotes en el presente estudio. También se ha demostrado efecto bioherbicida en *Vitis vinífera* (Reveglia et al., 2021) , en *Lolium multiflorum*, *Conyza* sp. y *Echinochloa* sp (Pes et al., 2016), en *Solanum americanum* (De Souza et al., 2015) y otras malezas de cultivos agrícolas.

*Alternaria alternata* ha demostrado efecto bioherbicida en malezas anuales de cultivos agrícolas, aplicando una suspensión de conidias en hojas de en *Chenopodium album* L. en un experimento de campo (Siddiqui et al., 2010). También en bioensayos empleando hojas

y plantas de *Parthenium hysterophorus* (Sanjai y Kumar 2010), en *Xanthium strumarium* L. en condiciones controladas y en campo (Abdessemed et al., 2020), y en plantas de *Rumex dentatus* y *Sonchus oleraceus* en aplicaciones in vitro e in vivo (Mohammed et al., 2020). El género *Alternaria* produce fitotoxinas específicas (HSTs) y no específicas de un huésped (NHSTs), las primeras son tóxicas sólo para las plantas objetivo y las segundas pueden afectar a varias plantas, contribuyendo al desarrollo de síntomas y la proliferación de patógenos vegetales, desencadenando efectos fitotóxicos. El ácido tenuazoico es un NHST que dentro de sus efectos fitotóxicos inhibe la biosíntesis de proteínas a nivel ribosomal, siendo el principal responsable de la actividad bioherbicida (Wang et al., 2022).

La formulación adecuada del inóculo, que promueva el crecimiento y la actividad de los hongos, adherencia y protección frente a factores ambientales puede favorecer la infección del tejido y por lo tanto, causar el efecto esperado de una reducción de los rebrotes. Shabana et al., (1997) evaluaron ocho polímeros hidrofílicos y determinaron que la goma gellan, alginatos y poliacrilamida mejoran la capacidad de infección del micelio de *A. eichhorneae*, en condiciones ambientales controladas (Auld et al., 2003). Las restricciones ambientales como temperatura y particularmente la humedad son reconocidos como los factores más importantes que influyen en la eficacia de los bioherbicidas (Auld et al., 2003), asegurando la infección de los tejidos (o más homogénea), al disminuir las barreras biológicas, físicas y bioquímicas de las especies que se desean controlar (Consonni et al., 2009).

En este ensayo de campo el inóculo fue aplicado directamente en la superficie del corte del tallo, lo que permitiría traspasar las barreras en el proceso de infección (Auld et al., 2003), asegurando el contacto directo del inóculo con el tejido cambial de las plantas. En este caso la formulación del inóculo fue muy básica, consistente solo en una suspensión micelio en agua conteniendo carboximetilcelulosa, lo que posiblemente no es suficiente para evitar la desecación del inóculo los primeros días después de la aplicación, lo que seguramente estaría asociado a la respuesta irregular de infección para un mismo tratamiento. La formulación de un compuesto involucra la unión de un ingrediente activo, como esporas fúngicas, o micelio como en el presente estudio, con un vehículo inerte como diluyentes y surfactantes, con el objetivo de alterar las características físicas del microherbicida a una forma deseable que se adapte a las condiciones ambientales a las que se somete (Boyette



et al., 1996). De esta manera, un inóculo de buena calidad (formulación adecuada) hubiese asegurado una adecuada colonización de los tocones y posterior desarrollo de lesiones, (Bejarano y Puopolo, 2020). La presentación de pasta (o suspensión) de micelio utilizada en este ensayo facilitó la aplicación y la distribución uniforme de los hongos en los tocones, pero no fue suficiente para mantener la humedad necesaria para la primera etapa de la interacción planta-patógeno.

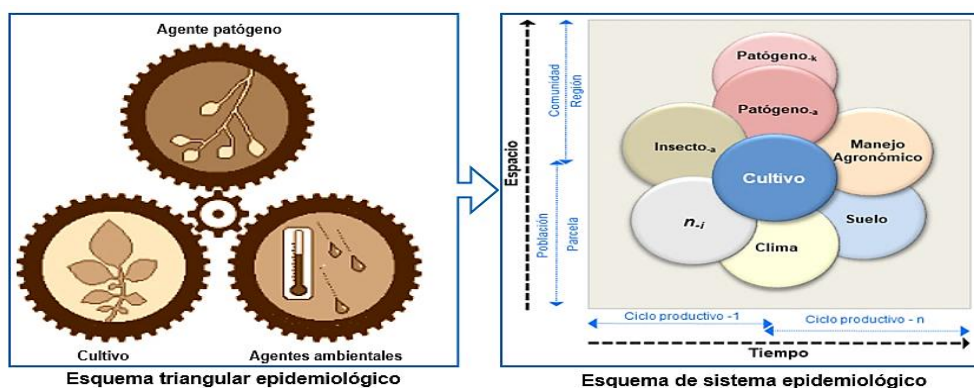
A nivel de reproducción asexual y rebrote de las plantas estudiadas, sobre todo del espinillo, se recomienda cortar los tallos vivos a 5-10 cm sobre el nivel del suelo, para luego tratar con el micoherbicida para aumentar la probabilidad de éxito en la reducción de rebrotes ya que a mayor longitud del tocón, el tallo es más vigoroso para producir rebrotes, considerando realizar este manejo en la mantención de primavera, que en Chile se realiza los meses de agosto y octubre los años 0, 1 y 2 de las plantaciones forestales (Rolston y Devantier, 1983; CONAF, 2013), mostrando la tendencia natural de la especie a generar rebrotes posterior al corte de tocón, como indica la bibliografía (Fogarty y Facelli, 1999; Rees 2001, Altamirano et al., 2016). Además, las plántulas son más fáciles de controlar que las plantas adultas y pueden ser erradicadas del suelo manualmente antes de que alcancen 50 cm de altura con herbicidas químicos o biológicos, aunque no siempre sería recomendable utilizar juntos herbicidas químicos y microorganismos de biocontrol.

De acuerdo a los resultados obtenidos, sería importante realizar nuevos ensayos de control en condiciones de campo, en diferentes épocas (otoño y primavera) usando mayores concentraciones de inóculo, y especialmente una formulación más adecuada que asegure la humedad y cobertura homogénea, para así maximizar la probabilidad de penetración de las hifas por medio de las yemas y fisuras de las heridas frescas. Klein et al (1995) evaluaron la suspensión emulsificada de esporas de *Colletotrichm orbiculare*, en el establecimiento de la enfermedad y la mortalidad de plantas en ensayos de campo, mostrando la eficacia de esta fase acuosa para la aplicación de micoherbicidas, luego Shabana (2005), utilizó micelio triturado formulado a base de aceites y demostró que una base oleosa proporcionó la humedad necesaria, permitiendo que los propágulos fúngicos germinen e infecten las plantas, esto bajo condiciones de escasez de humedad.

En estudios realizados por Pes et al (2016) se demostró el efecto del caldo de cultivo líquido, en el que se produjo biomasa de *Diaporthe* spp., alcanzando una disminución del 50% del peso seco de algunas malezas herbáceas persistentes, bajo condiciones controladas (Pes et al., 2016). Por otra parte, la interacción positiva del inóculo compuesto por dos hongos o un metabolito más un hongo, podría presentar un mayor efecto en el control de malezas (Willsey et al., 2017).

El tratamiento control en bautro en general mostró la tendencia esperable, con una menor escala de severidad de lesión y mayor número de rebrotes. En espinillo en tanto, se observó que el tratamiento control un mayor nivel de severidad de lesiones en el tallo, sin embargo, se presentó un menor número de rebrotes comparado con algunos tratamientos con los hongos patógenos.

Los aislados usados en este ensayo de patogenicidad en bautro y espinillo, fueron probados previamente en invernadero, bajo condiciones controladas de sustrato, riego, luz y temperatura (Balochi, 2016). En terreno las condiciones ambientales son variables y a veces extremas, así como la posible interferencia de animales y de otras especies de plantas que pueden generar variaciones en los resultados, como en el caso del predio San Javier (espinillo), que contaba con tránsito de ganado y personas al encontrarse cerca de un paso no habilitado. Motivo por el cual se debe considerar en el diseño experimental los diversos factores involucrados tanto directa e indirectamente en el ensayo, bajo un esquema de sistema epidemiológico (Figura 13) (Mora-Aguilera et al., 2021)



**Figura 13** Esquema de sistema epidemiológico (Fuente: Modificado de Mora-Aguilera et al., 2021).

## 7. CONCLUSIÓN

Varios aislados de hongos causaron canchros en los tocones de ambas especies de malezas, sin embargo, solo *A. alternata* y *D. vitícola* redujeron el número de rebrotes desde los tocones de espinillo y bautro, respectivamente, evidenciado algún potencial para continuar desarrollando un micoherbicida.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Abdessemed, N., Bahet, Y. A., Zermane, N (2020) Mycoherbicide potential of *Alternaria alternata* (Fries.) Kiessler and its formulations on the host weed *Xanthium strumarium* L. *Biocontrol Science and Technology*, 30(12), 1300-1315.
- 2) Altamirano, A., Cely, J. P., Etter, A., Miranda, A., Fuentes-Ramirez, A., Acevedo, P., Vargas, R (2016) The invasive species *Ulex europaeus* (Fabaceae) shows high dynamism in a fragmented landscape of south-central Chile. *Environmental monitoring and assessment*, 188, 1-15.
- 3) Anderson, R.C., Gardner, D.E (1999) An evaluation of the wilt-causing bacterium *Ralstonia solanacearum* as a potential biological control agent for the alien kahili ginger (*Hedychium gardnerianum*) in Hawaiian forests. *Biological Control* 15, 89-96.
- 4) ARAUCO (2012) Guía para el manejo de la vegetación competidora en Forestal Arauco. Disponible en [http://www.arauco.cl/\\_file/file\\_6702\\_21\\_guia\\_manejo\\_vegetaci%C3%B3n\\_competidora\\_sep\\_t\\_2012\\_%5Bbiof%5D.pdf](http://www.arauco.cl/_file/file_6702_21_guia_manejo_vegetaci%C3%B3n_competidora_sep_t_2012_%5Bbiof%5D.pdf) (Revisado el 20/01/2019).
- 5) Ash, G.J (2010) The Science, Art and Business of Successful Bioherbicides. *Biological Control*, 52, 230-240.
- 6) Ash, G. J (2011) Biological control of weeds with mycoherbicides in the age of genomics. *Pest Technology*, 5 (Special 1), 41-47.
- 7) Auld, B. A., Hetherington, S. D., Smith, H. E (2003) Advances in bioherbicide formulation. *Weed Biology and Management*, 3(2), 61-67.
- 8) Balochi, F (2016) Hongos patógenos asociados a *Genista monspessulana* (L.) L.A.S Johnson y *Cytisus scoparius* (L.) Link. y su potencial como agentes de control biológico (tesis de magíster) Universidad de Concepción, Concepción.
- 9) Bailey, K.L., Boyetchko, S.M., Längle, T (2010) Social and economic drivers shaping the future of biological control: A Canadian perspective on the factors affecting the development and use of microbial biopesticides. *Biol. Control* 52, 221-229.

10) Bailey KL, Falk S (2011) Turning research on microbial bioherbicides into commercial products: a Phoma story. *Pest Technol.* 5:73–79.

11) Bailey, K. L., Pitt, W. M., Leggett, F., Sheedy, C., Derby, J (2011) Determining the infection process of *Phoma macrostoma* that leads to bioherbicidal activity on broadleaved weeds. *Biological Control*, 59(2), 268-276.

12) Bailey, K. L (2014) The bioherbicide approach to weed control using plant pathogens. In *Integrated Pest Management* (pp. 245-266) Academic Press.

13) Basanta, M., Vizcaino, E. D., Casal, M., Morey, M (1989) Diversity measurements in shrubland communities of Galicia (NW Spain) *Vegetatio*, 105-112.

14) Bejarano, A., Puopolo, G (2020) Bioformulation of Microbial Biocontrol Agents for a Sustainable Agriculture. In: De Cal, A., Melgarejo, P., Magan, N (eds) *How Research Can Stimulate the Development of Commercial Biological Control Against Plant Diseases*. *Progress in Biological Control*, vol 21. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-53238-3\\_16](https://doi.org/10.1007/978-3-030-53238-3_16).

15) Bigwood, J (2006) Repeating mistakes of the past: another mycoherbicide research bill. Drug Policy Alliance. [Drugpolicy.org](http://www.drugpolicy.org/docUploads/Mycoherbicide06.pdf). Recuperado de: <http://www.drugpolicy.org/docUploads/Mycoherbicide06.pdf>.

16) Boissard, C., Cao, X. L., Juan, C. Y., Hewitt, C. N., Gallagher, M (2001) Seasonal variations in VOC emission rates from gorse (*Ulex europaeus*) *Atmospheric Environment*, 35(5), 917-927.

17) Boyette, C. D., Quimby, P. C., Caesar, A. J., Birdsall, J. L., Connick, W. J., Daigle, D. J., Jackson, M. A., Egley, G., Abbas, H. K (1996) Adjuvants, formulations, and spraying systems for improvement of mycoherbicides. *Weed Technology*, 10(3) , 637-644.

18) Bowers RC (1986) Commercialization of Collego™: an industrialist's view. *Weed Sci.* 34:24–25.

19) Capdevila-Argüelles, L., Zilletti, B., Suárez-Álvarez, V. Á (2013) Causas de la pérdida de biodiversidad: Especies Exóticas Invasoras. *Memorias Real Sociedad Española de Historia Natural*. 2a. época, 10, 55-75.

20) Celestino-Mutis, J (2008) Flora de la Real Expedición Botánica del Nuevo Reino de Granada. Ediciones Cultura Hispánica 2008 Madrid, España.

21) Charudattan, R (2001) Biological control of weeds by means of plant pathogens: significance for integrated weed management in modern agro-ecology. *BioControl*, 46(2) , 229-260.

22) Charudattan R, Hiebert E. (2007) A plant virus as a bioherbicide for tropical soda apple, *Solanum viarum*. *Outlooks Pest Manag.* 18:167–71.

23) Clements, D. R., Peterson, D. J., Prasad, R (2001) The biology of Canadian weeds. 112. *Ulex europaeus* L. *Canadian Journal of Plant Science*, 81(2), 325-337.

24) Cordeau, S., Triolet, M., Wayman, S., Steinberg, C., Guillemain, J. P (2016) Bioherbicides: Dead in the water?: A review of the existing products for integrated weed management. *Crop protection*, 87, 44-49.

25) Consonni, C., Humphry, M., Panstruga, R (2009) Defence Responses in Plants. In: Deising, H.B (eds) *Plant Relationships. The Mycota*, vol 5. Springer, Berlin, Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-87407-2\\_18](https://doi.org/10.1007/978-3-540-87407-2_18).

26) Daigle, D. J., Connick, W. J., Boyetchko, S. M (2002) Formulating a weed-suppressive bacterium in “Pesta”. *Weed Technology*, 16(2), 407-413.

27) Dane, F., Shaw, J. J (1996) Survival and persistence of bioluminescent *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* on host and non-host plants in the field environment. *Journal of Applied Bacteriology*, 80(1), 73-80.

28) De Souza, A. R. C., Baldoni, D. B., Lima, J., Porto, V., Marcuz, C., Ferraz, R. C., Kuhn, R.C., Jacques, R.J., Guedes, J.V., Mazutti, M. A (2015) Bioherbicide production by *Diaporthe* sp. isolated from the Brazilian Pampa biome. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4(4), 575-578.

29) DeValerio, J. T., Charudattan, R (1999) Field testing of *Ralstonia solanacearum* [Smith] Yabuuchi et al., as a biocontrol agent for tropical soda apple (*Solanum viarum* Dunal) In *Weed Science Society of America Abstracts* (Vol. 39, p. 70).

30) Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W (2019) InfoStat versión 2019. Centro de Transferencia InfoStat, FCA., Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>

31) Du, Z., Fan, X. L., Hyde, K. D., Yang, Q., Liang, Y. M., Tian, C. M (2016) Phylogeny and morphology reveal two new species of *Diaporthe* from *Betula* spp. in China. *Phytotaxa*, 269(2), 90-102.

32) Espinoza, N (1996) Malezas presentes en Chile. 219 p. Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA, Centro Regional de Investigación Carillanca, Temuco, Chile.

33) Espinoza, N (2017) Malezas en Chile. Temuco. Chile. 484 pp.

34) Fernández, O. A., Leguizamón, E. S., Acciaresi, H. A (Eds.) (2014) Malezas e invasoras de la Argentina: descripción y reconocimiento. Editorial de la Universidad Nacional del Sur.

35) Figueroa-Rivera, M. G., Rodríguez-Guerra, R., Guerrero-Aguilar, B. Z., González-Chavira, M. M., Pons-Hernández, J. L., Jiménez-Bremont, J. F., Ramírez-Pimentel, J.G., Andrio-Enríquez, E., Mendoza-Elos, M (2010) Caracterización de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición de raíz de maíz en Guanajuato, México. *Revista mexicana de fitopatología*, 28(2), 124-134.

36) Figueroa, J. A., Cavieres, L. A., Gómez-González, S., Montenegro, M. M., Jaksic, F. M (2009) Do heat and smoke increase emergence of exotic and native plants in the matorral of central Chile? *Acta ecológica*, 35(2), 335-340.

37) Fogarty, G., Facelli, J. M (1999) Growth and competition of *Cytisus scoparius*, an invasive shrub, and Australian native shrubs. *Plant Ecology*, 144(1), 27-35.

38) Fuentes, N., Pauchard, A., Sánchez, P., Esquivel, J., Marticorena, A (2013) A new comprehensive database of alien plant species in Chile based on herbarium records. *Biological Invasions*, 15(4), 847-858.

39) García-León, E., Leyva-Mir, S. G., Villaseñor-Mir, H. E., Rodríguez-García, M. F., Tovar-Pedraza, J. M (2013) Identificación e incidencia de tres hongos fitopatógenos, de

reporte nuevo, en avena (*Avena sativa* L.) en la meseta central de México. *Agrociencia*, 47(8), 815-827.

40) Gianessi L.P Y Sankula S (2003) The Value of Herbicides in U.S. Crop Production. National Centre For Food and Agriculture Policy (NCFAP).

41) Glare, T., Caradus, J., Gelernter, W., Jackson, T., Keyhani, N., Köhl, J., Stewart, A (2012) Have biopesticides come of age? *Trends in biotechnology*, 30(5), 250-258.

42) Gleason, H. A. y Cronquist A (1991) Manual of vascular plants of northeastern United States and adjacent Canada. The New York Botanical Garden, Bronx, NY.

43) Gómez-González, S., Cavieres, L. A (2009) Litter burning does not equally affect seedling emergence of native and alien species of the Mediterranean-type Chilean matorral. *International Journal of Wildland Fire*, 18(2), 213-221.

44) Gressel, J (1984) The evolution of herbicide resistant weeds. In: *Origins and Development of Adaptation*. Ciba Symp. NQ 102. Pitman, London. p.73

45) Gressel, J., Ammon, H. U., Fogelfors, H., Gasquez, J., Kay, Q. O. N., Kees, H (1982) Discovery and distribution of herbicides resistant weeds outside North America. In: LeBaron, H. M. y Gressel, J. *Herbicide Résistance in Plants*. Ed. John Wiley Sons. New York. p. 9-17

46) Green, J. M., Owen, M. D (2011) Herbicide-resistant crops: utilities and limitations for herbicide-resistant weed management. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(11) , 5819-5829.

47) Harding, D. P., Raizada, M. N (2015) Controlling weeds with fungi, bacteria and viruses: a review. *Frontiers in plant science*, 6, 659

48) Harper, J. L (1956) The evolution of weeds in relation to resistance to herbicides. *Proc. Br. Weed Conf.*, 3:179-188

49) Haveman, R., de Ronde, I., Schaminée, J. H (2017) Retamoid scrubs of *the Cytisus scoparius-striati* in the Netherlands: a new approach to classify marginal associations. *Tuexenia*, 37, 143-161.

50) Herrera, I., Goncalves, E., Pauchard, A., Bustamante, R. O (Eds.) (2016) Manual de plantas invasoras de Sudamérica. IEB Chile, Instituto de Ecología y Biodiversidad.



51) Hintz W (2007) Development of *Chondrostereum purpureum* as a mycoherbicide for deciduous brush control. In *Biological Control: A Global Perspective*, ed. C Vincent, MS Goettel, G Lazarovits, pp. 284–90. Wallingford, UK: CABI.

52) Hoagland, R. E., Boyette, C. D., Weaver, M. A., Abbas, H. K (2007) Bioherbicides: research and risks. *Toxin Reviews*, 26(4), 313-342.

53) Imaizumi, S., Nishino, T., Miyabe, K., Fujimori, T., Yamada, M (1997) Biological Control of Annual Bluegrass (*Poa annua* L.) with a Japanese Isolate of *Xanthomonas campestris* pv. *poae* (JT-P482) *Biological control*, 8(1), 7-14.

54) Imaizumi S, Honda M, Fujimori T (1999) Effect of temperature on the control of annual bluegrass (*Poa annua* L.) with *Xanthomonas campestris* pv *poae* (JT-P482) *Biol. Control* 16:13–17.

55) Instituto Forestal (2011) Control de malezas en plantaciones forestales en Chile y sus consideraciones ambientales. Ed. Santiago Barros Arana. Instituto Forestal. Concepción, Chile.

56) Kabaluk, J. T., Svircev, A. M., Goettel, M. S., y Woo, S. G (Eds.) (2010) The use and regulation of microbial pesticides in representative jurisdictions worldwide (p. 99) *International Organization for Biological Control of Noxious Animals and Plants (IOBC)*.

57) Kavanagh, K (2005) *Biology and Applications*. John Wiley and Sons Ltd.

58) Kharwar, R. N., Mishra, A., Gond, S. K., Stierle, A., Stierle, D (2011) Anticancer compounds derived from fungal endophytes: their importance and future challenges. *Natural product reports*, 28(7), 1208-1228.

59) Klein, T. A., Auld, B. A., Fang, W (1995) Evaluation of oil suspension emulsions of *Colletotrichum orbiculare* as a mycoherbicide in field trials. *Crop Protection*, 14(3), 193-197.

60) Kim, J., Verma, S. B., Billesbach, D. P (1999) Seasonal variation in methane emission from a temperate Phragmites-dominated marsh: Effect of growth stage and plant-mediated transport. *Global Change Biology*, 5(4), 433-440.

61) Kogan, A (1992) *Herbicides: avances en la tecnología de herbicidas y estrategias de control*.

62) Kogan, M (1992) Malezas: ecofisiología y estrategias de control, Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Agronomía, Santiago Chile. 402 p

63) Kogan, M., Figueroa, R (1999) Interferencia producida por las malezas durante los dos primeros años en *Pinus radiata* D. Don. Bosque, 20(1), 57-64.

64) Kott, S. A (1971) Evolutionary trends in the formation of biotypes of field weeds. Vestn. Skh. Nauki (Moscow), 16: 64-70.

65) Laine, T., Hamberg, L., Saarinen, V. M., Saksa, T (2020) The efficacy of *Chondrostereum purpureum* in sprout control of birch during mechanized pre-commercial thinning. BioControl, 65, 13-24.

66) Lauer, D., Glover, R (1988) Pine and competing vegetation response to levels of shrub control and herbaceous weed control in the flatwoods. Research Note 94-6. Auburn University. 7p

67) Lawrence, D. P., Travadon, R., Baumgartner, K (2015) Diversity of *Diaporthe* species associated with wood cankers of fruit and nut crops in northern California. Mycologia, 107(5), 926-940.

68) LeBaron, H. M.; Gressel, J (1982) Herbicide Résistance in Plants. John Wiley Sons. New York. 401 p.

69) Leslie, J. F., Summerell, B. A (2008) The *Fusarium* laboratory manual. John Wiley Sons.

70) Linares, F (2017) Setas y hongos de Tineo. Recuperado de: <http://setasyhongosdetineo.blogspot.com/2017/12/chondrostereum-purpureum-pers-pouzar.html> (Revisado 15.03.2019).

71) Maclaren J (1993) Radiata pine grower's manual. Forest Research Institute Bulletin N° 184. Rotorua. New Zealand. 140 p.

72) Matthei O.J (1995) Manual de malezas que crecen en Chile. Alfabetá Impresores, Santiago, Chile.

73) Máximo, P., Lourenço, A., Tei, A., Wink, M (2006) Chemotaxonomy of Portuguese *Ulex*: quinolizidine alkaloids as taxonomical markers. Phytochemistry, 67(17), 1943-1949.

74) Mohammed, Y. M., Badawy, M. E (2020) Potential of phytopathogenic fungal isolates as a biocontrol agent against some weeds. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30(1), 1-9.

75) Montealegre A, J. R., Pérez Roepke, L. M (2013) Control biológico de las enfermedades de las plantas en Chile.

76) Musiet Soto, D. N (2015) Eficacia de diferentes formulaciones de *Clonostachys rosea* en el control del moho gris (*Botrytis cinerea*) en condiciones operacionales de plantas de *Eucalyptus* spp.

77) Nascimento, F., Rubido-Bará J. D., Horjales-Luaces M., Reigosa, M. J (2017) Allelopathy between seeds of the *Ulex* L. and *Genista* L. Genera. *Journal of Allelochemical Interaction* 3 (2) : 9-17

78) Núñez-Regueira, L., Proupín-Castiñeiras, J., Rodríguez-Anón, J. A (2004) Energy evaluation of forest residues originated from shrub species in Galicia. *Bioresource Technology*, 91(2), 215-221.

79) Pannacci, E., Lattanzi, B., Tei, F (2017) Non-chemical weed management strategies in minor crops: A review. *Crop protection*, 96, 44-58.

80) Peterson, D. J., Prasad, R (1998) The biology of Canadian weeds. 109. *Cytisus scoparius* (L.) Link. *Canadian journal of plant science*, 78(3), 497-504.

81) Pes, M. P., Mazutti, M. A., Almeida, T. C., Curioletti, L. E., Melo, A. A., Guedes, J. V., Kuhn, R. C (2016) Bioherbicide based on *Diaporthe* sp. secondary metabolites in the control of three tough weeds. *African Journal of Agricultural Research*, 11(42), 4242-4249.

82) Pezzuti, R. V., Caldato, S. L (2004) Efecto del control de malezas en el crecimiento de plantaciones de *Pinus taeda*, *Pinus elliottii* var. *elliottii* y *Pinus elliottii* var. *elliottii* x *Pinus caribaea* var. *hondurensis*. *Bosque (Valdivia)*, 25(2), 77-87.

83) Phatak S.C., Sumner D.R., Wells H.D., Bell D.K., Glaze N.C (1983) Biological control of yellow nutsedge with the indigenous rust fungus *Puccinia canaliculata*. *Science* 219:1446–47.

84) Piontelli, E (2011) Manual de microhongos filamentosos comunes I. Escuela de Medicina, Universidad de Valparaíso. Valparaíso, Chile, 462.

85) Ramírez C. San Martín C. Verdugo M. Flores L (1992) Malezas en plantaciones forestales de la Cordillera Costera del centro-sur de Chile. Ciencias Forestales. Vol. 8, No 1-2: 27-46.

86) Ravnskov, S., Jensen, B., Knudsen, I. M. B., Bødker, L., Jensen, D. F., Karlinski, L., y Larsen, J (2006) Soil inoculation with the biocontrol agent *Clonostachys rosea* and the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* results in mutual inhibition, plant growth promotion and alteration of soil microbial communities. Soil Biology Biochemistry, 38(12), 3453-3462. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.06.003>.

87) Rees M, Hill R.L (2001) Large-scale disturbances, biological control and the dynamics of gorse populations. JAppl Ecol. 2001; 38: 364-377

88) Reveglia, P., Pacetti, A., Masi, M., Cimmino, A., Carella, G., Marchi, G., Mugnai, L., Evidente, A (2021) Phytotoxic metabolites produced by *Diaporthe eres* involved in cane blight of grapevine in Italy. Natural product research, 35(17), 2872-2880.

89) Richardson, R.G., Hill, R.L (1998) The biology of Australian weed *Ulex europaeus* L. Plant Prot Q. 1998; 13: 46-58.

90) Rodríguez, A., Guillén, C., Uva, V., Segura, R., Laprade, S., y Sandoval, J (2010) Aspectos a considerar sobre el control biológico. Proyecto demostrativo con implementación de Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) en el cultivo de banano. Recuperado de: <http://cep.unep.org/repcar/proyectos-demostrativos/costa-rica-1/publicacionescorbana/HOJA%20DIVULGATIVA%20Nb02-2010> (Revisado 10.02.2019).

91) Rolston M., Devantier B. P (1983) Alternative herbicides to 2,4,5-T for gorse control, New Zealand Journal of Experimental Agriculture, 11:1, 91-94, DOI: 10.1080/03015521.1983.10427735.

92) Rossman, A.Y., Adams, G.C., Cannon, P.F., Castlebury, L.A., Crous, P.W., Gryzenhout, M., Jaklitsch, W.M., Mejía, L.C., Stoykov, D., Udayanga, D., Voglmayr, H., Walker, D.M (2015) Recommendations of generic names in Diaporthales competing for

protection or use. IMA Fungus 6: 145-154.  
<http://dx.doi.org/10.5598/imafungus.2015.06.01.09>.

93) Roy V, Dubeau D, Auger I (2010) Biological control of intolerant hardwood competition: silvicultural efficacy of *Chondrostereum purpureum* and worker productivity in conifer plantations. *Forest Ecol. Manag.* 259:1571–79.

94) Saharan, G. S., Mehta, N., Meena, P. D., Dayal, P (2016) *Alternaria* diseases of crucifers: biology, ecology and disease management. Springer Singapore.

95) Saxena, S., Kumar, M (2010) Evaluation of *Alternaria alternata* ITCC4896 for use as mycoherbicide to control *Parthenium hysterophorus*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 43(12) , 1160-1164.

96) Shabana, Y. M (2005) The use of oil emulsions for improving the efficacy of *Alternaria eichhorniae* as a mycoherbicide for waterhyacinth (*Eichhornia crassipes*) *Biological Control*, 32(1), 78-89.

97) Shaw, R. H., Bryner, S., and Tanner, R (2009) The life history and host range of the Japanese knotweed psyllid, *Aphalara itadori* Shinji: potentially the first classical biological weed control agent for the European Union. *Biol. Control* 49, 105-113. doi: 10.1016/j.biocontrol.2009.01.016.

98) Siddiqui, I., Bajwa, R., Javaid, A (2010) Mycoherbicidal potential of *Alternaria alternata* for management of *Chenopodium album* under field condition. *African Journal of Biotechnology*, 9(49), 8308-8312.

99) Smethurst, Q. y Nambiar, E (1989) Role of weeds in the management of nitrogen in young *Pinus radiata* plantation. *New Forest* 3, 203-224.

100) Sutton, J.; Peng, G (1991) Epidemiology and management of *Botrytis* leaf blight of onion and gray mould of strawberry: a comparative analysis. *Canadian Journal of Plant Pathology* 12: 100-110.

101) TeBeest, D. O (1991) *Microbial Control of Weeds*. D. O. TeBeest, ed. New York: Chapman and Hall. 284 p.

102) TeBeest, D. O (1996) Biological control of weeds with plant pathogens and microbial pesticides. *Advances in Agronomy*. Vol 56, ed. D. L. Sparks (San Diego: Elsevier Academic Press Inc) 115-137.

103) Teillier, S., Rodríguez R, y Serra M (2003) Lista preliminar de plantas leñosas, alóctonas, asilvestradas en Chile continental. *Chloris chilensis* 6(2) URL: <https://www.chlorischile.cl/leñosasaloc/lenosaloc.htm> (Revisada 05/09/2023)

104) Toro, J (2004) Alternativas silvícolas para aumentar la rentabilidad de las plantaciones forestales. *Bosque (Valdivia)* , 25(2) , 101-113. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002004000200010>

105) Triolet, M., Guillemain, J. P., Andre, O., Steinberg, C (2020) Fungal-based bioherbicides for weed control: a myth or a reality? *Weed Research*, 60(1) , 60-77.

106) Udayanga, D., Liu, X., McKenzie, E.H.C., Chukeatirote, E., Bahkali, A.H., Hyde, K.D (2011) The genus *Phomopsis*: biology, applications, species concepts and names of common phytopathogens. *Fungal Diversity* 50: 189-225. <http://dx.doi.org/10.1007/s13225-011-0126-9>.

107) Valverde, B. E (2004) Manejo de la resistencia a los herbicidas en los países en desarrollo. *Manejo de malezas para países en desarrollo* (Revisado: 14.10.2019).

108) Venegas, R., Palazuelos, R (1999) Control químico de malezas arbustivas y arbóreas en plantaciones de *Pinus radiata* D. Don. *R. Bosque*, 20(1) , 79-88.

109) Vencill, W. K (2002) *Herbicide handbook* (No. Ed. 8). Weed Science Society of America

110) Villarías, J.L (2015) *Gestión Integrada del control de las malas hierbas en los cultivos: Compendio de Malherbología*. Ediciones Agrotécnicas, S.L. Madrid. 35-92 pp.

111) Villaverde, J. J., Sevilla-Morán, B., Sandín-España, P., López-Goti, C., Alonso-Prados, J. L (2014) Biopesticides in the framework of the European Pesticide Regulation (EC) No. 1107/2009. *Pest management science*, 70(1), 2-5.

112) Vitousek, P. M (1990) Biological invasions and ecosystem processes: towards an integration of population biology and ecosystem studies. *Oikos*, 7-13.

113) Watson AK, Bailey KL (2013) *Taraxacum officinale* (Weber), dandelion (*Asteraceae*) In Biological Control Programmes in Canada, 2001–2012, ed. PG Mason, DR Gillespie, pp. 383–91. Wallingford, UK: CABI

114) Waterhouse D.F (1978) Biological control. CSIRO Information Service. Planilla No. 1-14.

115) Weissmann, R., Ugglá, C., Gerhardson, B (2003) Field performance of a weed suppressing *Serratia plymuthica* strain applied with conventional spraying equipment. *Biocontrol* 48, 725-742.

116) Willsey T, Chatterton S y Carcamo H (2017) Interactions of root-feeding insects with fungal and oomycete plant pathogens. *Frontiers in Plant Science* 8, 1-6.

117) Woudenberg, J. H. C., Groenewald, J. Z., Binder, M., Crous, P. W (2013) *Alternaria* redefined. *Studies in mycology*, 75, 171-212.

118) Xu, T-C.; Lu, Y-H.; Wang, J-F.; Song, Z-Q.; Hou, Y-G.; Liu, S-S.; Liu, CS.; Wu, S-H (2021) Bioactive Secondary Metabolites of the Genus *Diaporthe* and Anamorph *Phomopsis* from Terrestrial and Marine Habitats and Endophytes: 2010–2019. *Microorganisms* 2021, 9, 217. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020217>.

119) Zaldúa, S (2012) Caracterización de cepas de *Clonostachys rosea* para el control de *Botrytis cinerea* en viveros de *Eucalyptus globulus*. Tesis doctoral para Doctorado en Ciencias Forestales. Universidad de Concepción.

## 9. ANEXO

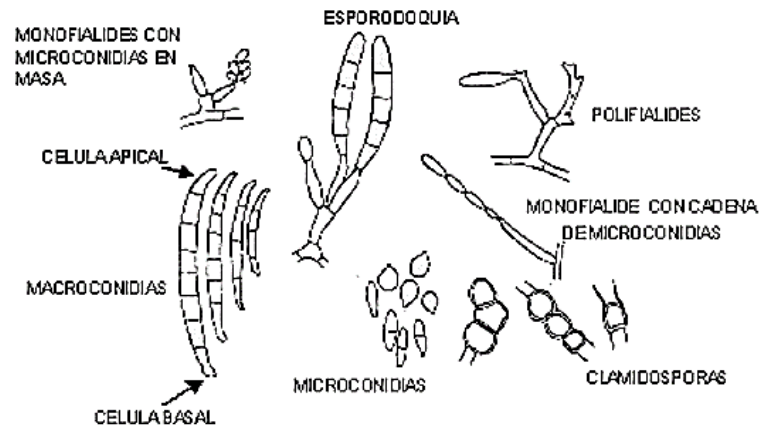
### 9.1 Género *Fusarium*

La taxonomía para este género es bastante compleja y ha sufrido diversos cambios desde las primeras descripciones hechas por Link en 1803. Al microscopio, la fiálide es generalmente fina, con forma de botella; simple o ramificada; cortas o largas; monofialídica (que emergen esporas de un poro de la fiálide) o polifialídica (de varios poros). Las macroconidias presentan forma de medialuna, hialinas y septadas. Para su correcta clasificación es importante el largo, ancho, curvatura, septos, agrupaciones mucoides (esporodoquios) y detalles de las células de los extremos (célula apical y pie). Las microconidias, ausentes en algunas especies, poseen variadas formas (fusiformes, ovales, clavadas, entre otras), además de agrupaciones estructurales mucoides llamadas “falsas cabezas”, dispuestas en cadenas largas o cortas; todas observables a la lupa (40X).

Otro tipo de conidias son las mesoconidias, que son similares, pero de menor tamaño que las macroconidias y nunca forman estructuras mucoides. Por último, pueden observarse las clamidosporas, que originan por modificación de un segmento de la hifa y son formas de resistencia ante ambientes adversos que garantizan la propagación y supervivencia del hongo (Figuroa-Rivera et al., 2010), son características con doble pared gruesa, lisa o rugosa; de manera aislada, en pareja o en grupo (Leslie y Summerell. 2008; Piontelli, 2011), las microconidias, son pequeñas, generalmente unicelulares y con forma variable (ovoides, elipsoidales, subglobosas o piriformes). Ocasionalmente tienen un tabique y la base puede ser redondeada, apiculada o truncada, las que encuentran en el micelio aéreo a partir de monofialídes o polifialídes. Por último, desarrolla esclerotias y estroma en condiciones ambientales desfavorables las primeras son masas de células duras (difícil de aplastar entre porta y cubreobjeto) y las segundas son estructuras vegetativas compactas dentro de la que se desarrollan cuerpos de fructificación (Figuroa-Rivera et al., 2010) (Figura A1).

Su morfología es la clave de la identificación de las distintas especies, ya que su forma es relativamente constante y estable cuando el hongo crece en substratos naturales y condiciones estándar.





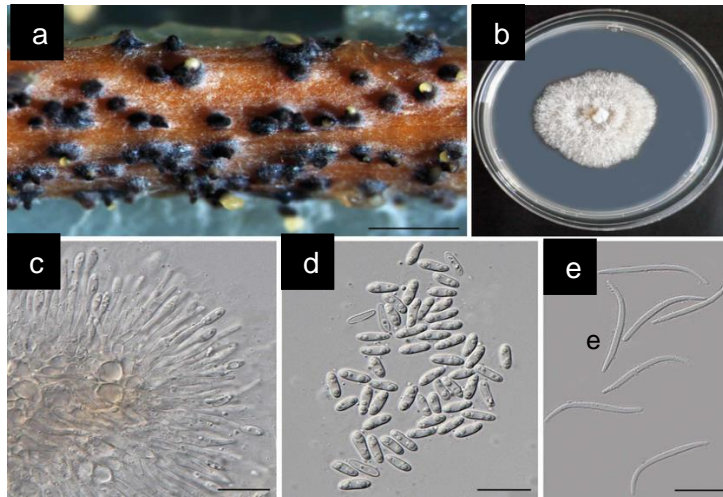
**Figura A1** Características morfológicas microscópicas del género *Fusarium*

Las especies del género *Fusarium* son hongos del tipo filamentosos, ampliamente distribuido en el suelo y en asociación con plantas. La mayoría de las especies son saprófitas y son miembros relativamente abundantes de la microbiota del suelo, se conocen por colonizar los tejidos internos de las plantas (Suryanarayanan et al., 2009; Kharwar et al., 2011), además de protegerlo contra los efectos de estrés biótico como abiótico (Suryanarayanan 2013). Algunas especies son fitopatógenas causando la enfermedad conocida como fusariosis en un gran número de cultivos, incluyendo tomates, pimentones, flores, maíz y vides. Las especies de *Fusarium* son más activas en suelos cálidos y pueden permanecer en el suelo por años (Bigwood 2006).

## 9.2 Género *Diaporthe*

Las especies del género pueden causar roya, canchales, decaimiento y marchitez, manchas foliares y pudriciones de raíz y frutos (Fan et al., 2015; Lawrence et al., 2015). Los nombres *Diaporthe* y *Phomopsis*, ya no son usados para diferentes morfotipos del mismo género, Rossman et al., (2015) sugiere que el antiguo nombre *Diaporthe* tiene prioridad por sobre *Phomopsis* y fue adoptado como nombre del género (Rossman et al., 2015). La forma sexual de *Diaporthe* está caracterizado por ascómatas inmersos, pseudoestroma interrumpido con cuellos del peritecio. Las ascas son unitunicadas, clavadas a cilíndricas y las ascosporas son hialinas uniseptadas y a veces con apéndices (Udayanga et al., 2011). La forma sexual está caracterizada por conidios ostiolados con fiálides cilíndricas produciendo tres tipos de

tipos de hialinas, conidias aceptadas y alfa conidias, las que son más frecuentemente (Udayanga et al., 2011) (Figura A2).



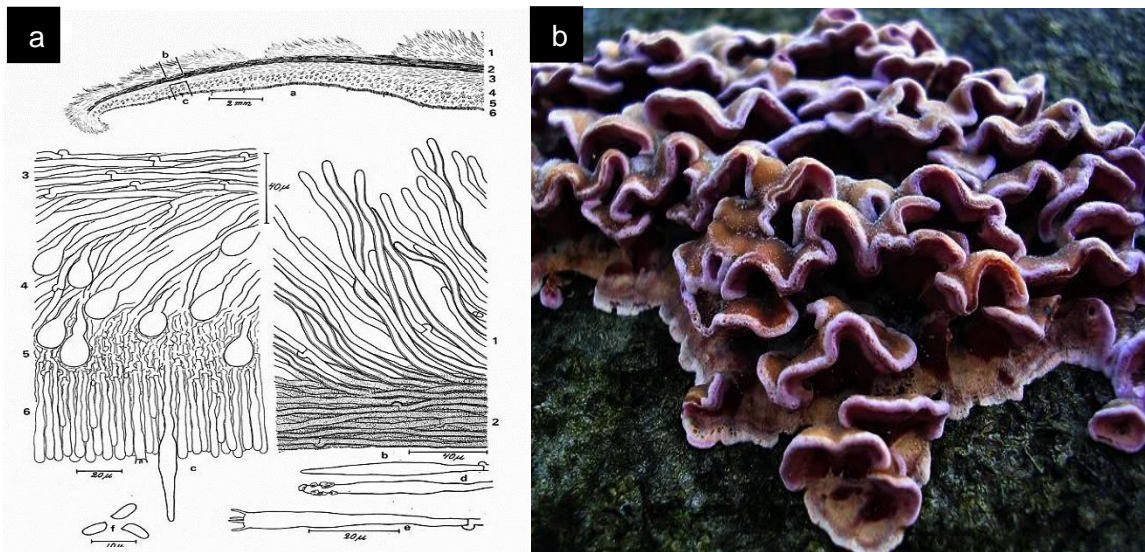
**Figura A2** Características morfológicas de *D. foeniculina*. Esporulación en tallos de alfalfa en medio de agar-agua (AA) (a), cultivo en agar papa dextrosa (APD) (25 °C, oscuridad, 7 días) (b), conidióforos (c), alfa-conidia (d), beta conidia (e) Escala: = 2000  $\mu\text{m}$  (a) y 10  $\mu\text{m}$ . (b-e)

El género *Diaporthe* está asociadas a un amplio rango de hospederos y se encuentran comúnmente como patógenos, endófito, o saprófitos de cultivos agrícolas, plantas ornamentales o árboles de interés forestal (Du et al., 2016). Las especies del género pueden causar roya, canchros, decaimiento y marchitez, manchas foliares y pudriciones de raíz y frutos (Fan et al., 2015; Lawrence et al., 2015).

### 9.3 Género *Chondrosterum*

*Chondrostereum purpureum* (Pers.) Pouzar, sinonimia *Stereum purpureum* y *Auricularia persistens*, pertenece a la división Basidiomycota, subfilum Agaricomycotina, clase, Agaricomycetes, orden Agaricales, familia Cyphellaceae y género *Chondrostereum*. Es una especie xilófaga, de color púrpura que individualmente es de pequeño tamaño pero que se unen cubriendo grandes superficies. Su sombrero pequeño, de hasta 4 cm fino, ondulado, resupinado, color purpúreo a marrón o tonalidades grises, más pálida crema a blanquecino en tiempo seco, algo zonado y tomentoso, en ocasiones soldados varios ejemplares formando costras mayores redondeadas a aplanadas o sombreros imbricados y

concrecentes a modo de tejas. Himenio liso, ceroso, de color púrpura, marrón con la edad. Las estructura coriácea al corte con una línea negra separan la cutícula del sombrero de la carne, que es de color pardo púrpura, en la figura A3 se observa el borde superior ondulado y más pálido, formando sombrerillos o viseras salientes con borde redondeado o semicircular, imbricados (superpuestos como tejas) y confluentes. Al microscopio se observan basidios con esporas cilíndricas a alargadas, de 5-9  $\mu\text{m}$  x 3-4  $\mu\text{m}$ , lisas, hialinas, inamiloides, la esporada se presenta en masa de color blanco (Linares 2017).



**Figura A3** Características morfológicas de *C. purpureum*. Característica de la estructura microscópica de *C. purpureum* (a) y carpóforo resupinado (b).

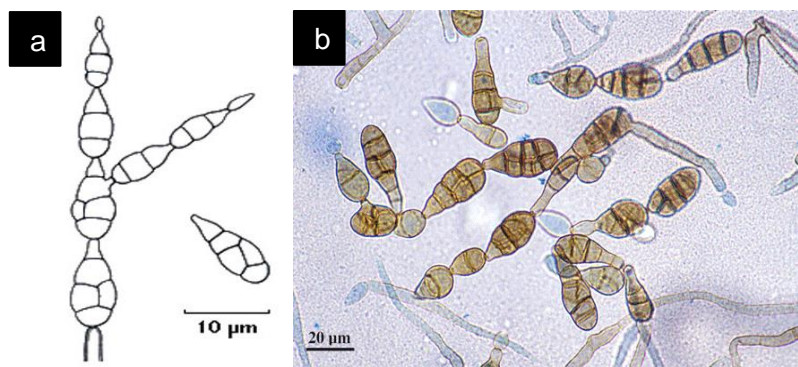
Se reconoce esta enfermedad cuando las ramas se vuelven poco vigorosas y frágiles, con cambios de color volviéndose paulatinamente grisáceas y plateadas, al igual que ocurre notablemente en las hojas. Este color plomizo de las hojas lo produce a través de una toxina que segrega el hongo, provocando que la epidermis de la hoja se separe del parénquima creando una cámara de aire, siendo el color un efecto óptico del paso de luz por esta cámara. A modo de confirmar la enfermedad si se toma una de estas hojas plateadas y se rasca la epidermis que se desprende fácilmente, mostrando el color verde normal de la hoja. Otro síntoma es que se observa necrosis de color marrón en la xilema de las ramas enfermas, delimitada al centro de la madera, irradiando desde el centro en anillos concéntricos. Es una enfermedad difícil de combatir ya que tiene un amplio rango de hospederos, con predilección por madera de álamo, pero entre otras se puede citar sauce, abedul, olmo, roble y encino.

La mera presencia de estas especies o restos madereros infectados por *C. purpureum* puede ser suficiente para que se transfiera a los frutales del huerto y bastaría una simple estaca o pequeñas virutas para que las esporas migrasen al nuevo hospedador, con la particularidad de que germinan casi de inmediato si las condiciones son favorables (Linares 2017).

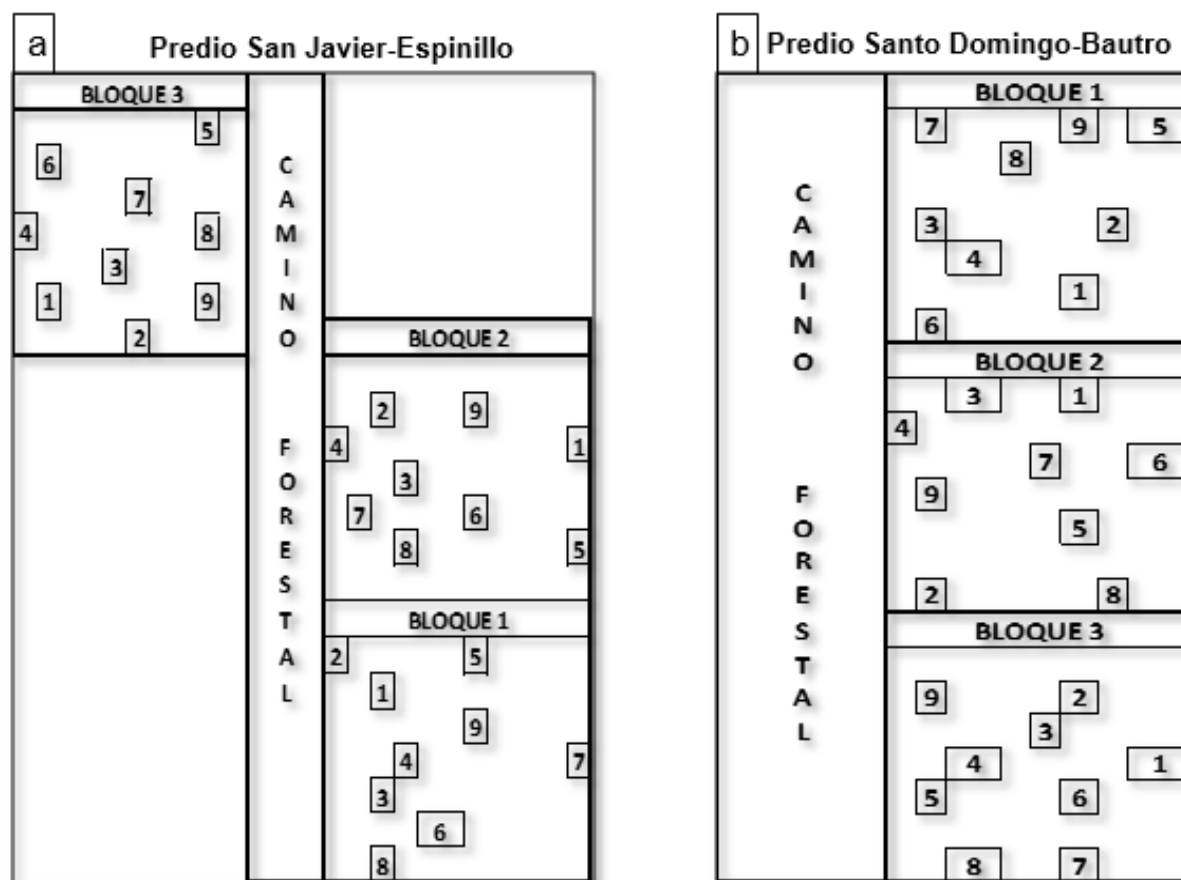
#### 9.4 Género *Alternaria*

*Alternaria alternata* es un hongo filamentoso, saprofita, perteneciente al filo Ascomycota y al grupo de los dematiáceos, caracterizados por presentar una coloración oscura. El análisis morfológico muestra conidióforos simples, erectos, color oliváceos-café claro, de 35 a 48x3 a 4 mm, con uno o varios poros apicales, conidios formados en cadena, elipsoidales a ovoides, septados transversalmente (4 a 6 septos) y con pocos o ningún septo longitudinal, de 15-35 x 6-11 mm (García-León et al., 2013).

Es un género de hongos ubiquo que incluye especies saprófitas, endofíticas y patógenas, está asociada a una amplia variedad de sustratos incluyendo semillas, plantas, productos agrícolas, animales, suelo y atmósfera. Sobrevive como microesclerocios, clamidosporas o como micelio en su fase saprofitaria en el invierno. Muy pocas especies del género *Alternaria* tienen un estado sexual (Pleospora) en su ciclo de vida (Saharan et al., 2016). En la Figura A4, se muestran conidias de *A. alternata*.



**Figura A4** Conidias de *A. alternata* (a-b) (Woudenberg et al., 2013).



**Figura A5** Esquema de distribución de los tratamientos en los bloques de cada asentamiento del ensayo en terreno.

**Tabla A1** Micelio filtrado de cada aislado incubado en medio líquido de caldo de papa con dextrosa.

| T <sub>x</sub> | Código ID | ID molecular de la cepa        | Peso filtrado (g) |
|----------------|-----------|--------------------------------|-------------------|
| T1             | FB-25     | <i>Diaporthe foeniculina</i>   | 63,29             |
| T2             | PMR-154   | <i>Fusarium tricinctum</i>     | 37,75             |
| T3             | FB-76     | <i>Diaporthe viticola</i>      | 69,45             |
| T4             | PMR-301   | <i>Clonostachys sp</i>         | 8,75              |
| T5             | PMR-300   | <i>Alternaria alternata</i>    | 2,56              |
| T6             | PMU-104   | <i>Fusarium avenaceum</i>      | 14,34             |
| T7             | PMR-42    | <i>Diaporthe passiflorae</i>   | 3,62              |
| T8             | FB-137    | <i>Chondrosterum purpureum</i> | 9,68              |

**Tabla A2** Información y estado a noviembre 2019 de los bioherbicidas con fitopatógenos como ingrediente activo, registrados a nivel mundial (Fuente: Modificado de Moris, 2020).

| <b>País de registro</b> | <b>Ingrediente activo</b>   | <b>Nombre del producto</b> | <b>Maleza objetivo</b>   | <b>Año de registro/Estado actual</b>                        | <b>Referencia bibliográfica</b> |
|-------------------------|---|----------------------------|--|---|---------------------------------|
| Australia               | <i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i> [NT039],<br><i>Neoscytalidium novaehollandiae</i> [NT094],<br><i>Macrophomina phaseolina</i> [QLD003] | Di-Bak®<br>Parkinsonia     | <i>Parkinsonia aculeata</i>  | 2018/ Registrado, disponible comercialmente                 | Galea y Goulter 2013            |
| USA                     | Virus del mosaico de tabaco [U2]  | SolviNix™                  | <i>Solanum viarum</i>  | 2014/ Registrado, disponible comercialmente                 | Charudattan y Hiebert 2007      |
| Canadá                  | <i>Phoma macrostoma</i> [94–44]   | Bio-Phoma™                 | Numerosas malezas de hoja ancha  | 2016/ Registrado  | Bailey y Falks 2011             |
| USA                     |   | Phoma™                     |  | 2012/ Registrado  |                                 |
| Canadá                  | <i>Sclerotinia minor</i> [IMI 344141]   | Sarritor®                  | <i>Taraxacum officinale</i> y otras malezas de hoja ancha                        | 2009/ Registrado  | Watson y Bailey 2013            |
| USA                     | <i>Alternaria destruens</i> [059]   | Smolder™                   | <i>Cuscuta</i> spp.  | 2005/ Registro caducado desde 2009                          | Bewick <i>et al.</i> , 2000     |
| Canadá, USA             | <i>Chondrostereum purpureum</i> [PFC2139, ATCC60854]  | Chontrol™                  | <i>Populus</i> y <i>Alnus</i> spp  | 2004/ Registrado  | Hintz 2007                      |
| Canadá                  | <i>C. purpureum</i> [HQ1]   | Myco-Tech™                 | <i>Acer</i> , <i>Alnus</i> , <i>Betula</i> , <i>Populus</i> y <i>Prunus</i> spp. | 2002/ Registro caducado en 2008                             | Roy <i>et al.</i> , 2010        |
| USA                     |   |                            |  | 2005/ Registro caducado en 2006                             |                                 |
| USA                     | <i>Puccinia thlaspeos</i> (cepa glasto)   | Woad Warrior™              | <i>Isatis tinctoria</i>  | 2002/ Registro caducado en 2007                             | Kropp <i>et al.</i> , 2022      |
| Japón                   | <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>poae</i> [JTP482]  | Camperico™                 | <i>Poa annua</i>   | 1997/ Registro posiblemente caducado                        | Imaizumi <i>et al.</i> , 1999   |
| República de Sudáfrica  | <i>Cylindrobasidium leave</i>   | Stumpout™                  | <i>Acacia mearnsii</i> , <i>Acacia pycnantha</i>                                 | 1997/ Registro caducado en 2005                             | Morris <i>et al.</i> , 1999     |
| Canadá                  | <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> f. sp. <i>malvae</i>  | BioMal™                    | <i>Malva pusilla</i> y otras <i>Malva</i> spp.                                   | 1992/ Registro caducado en 2006                             | Bovetchko <i>et al.</i> , 2007  |
| República de Sudáfrica  | <i>Colletotrichum acutatum</i> f. sp. <i>hakeae</i>   | Hakatak™                   | <i>Hakea sericea</i>   | Sólo un registro provisorio en 1990, el cual caducó en 1991 | Morris <i>et al.</i> , 1999     |
| USA                     | <i>Puccinia canaliculata</i> [ATCC40199]  | Dr. BioSedge™              | <i>Cyperus esculentus</i>  | 1987/ Registro caducó en 1999                               | Phatak <i>et al.</i> , 1983     |
| USA                     | <i>C. gloeosporioides</i> f. sp. <i>aeschynomene</i> [ATCC20358]  | Collego™                   | <i>Aeschynomene virginica</i>  | 1982/ Registro caducó en 2003                               | Bowers 1986                     |
|                         |   | LockDown™                  |  | 2006/ Registrado  |                                 |
| USA                     | Clamidosporas vivas de <i>Phytophthora palmivora</i>  | DeVine™                    | <i>Morrenia odorata</i>  | 1981/ Registrado en 2006                                    | Kenney 1986                     |

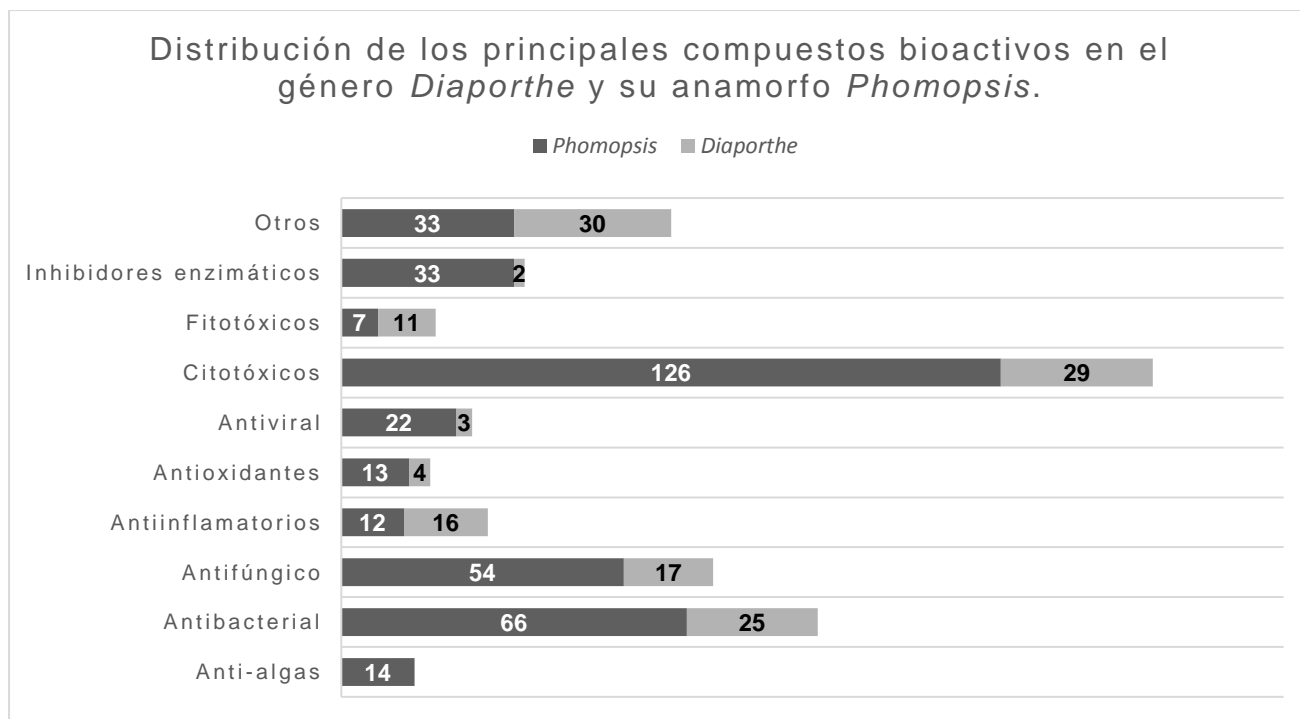
**Tabla A3** Datos obtenidos en el ensayo de patogenicidad en *Ulex europaeus* en el Predio San Javier.

| Espinillo-Predio San Javier |                |   |                 |          |          |                |   |                 |          |          |                |   |                 |          |
|-----------------------------|----------------|---|-----------------|----------|----------|----------------|---|-----------------|----------|----------|----------------|---|-----------------|----------|
| Bloque                      | T <sub>x</sub> | (%)<br>Proporción<br>longitud<br>lesión/tocón | E.<br>Severidad | RebTotal | Bloque   | T <sub>x</sub> | (%)<br>Proporción<br>longitud<br>lesión/tocón | E.<br>Severidad | RebTotal | Bloque   | T <sub>x</sub> | (%)<br>Proporción<br>longitud<br>lesión/tocón | E.<br>Severidad | RebTotal |
| BLOQUE 1                    | T1             | 100   | 5               | 29       | BLOQUE 2 | T1             | 25  | 2               | 22       | BLOQUE 3 | T1             | 100   | 5               | 33       |
| BLOQUE 1                    | T1             | 100   | 5               | 27       | BLOQUE 2 | T1             | 13  | 1               | 22       | BLOQUE 3 | T1             | 100   | 5               | 49       |
| BLOQUE 1                    | T1             | 100   | 5               | 26       | BLOQUE 2 | T1             | 0   | 0               | 14       | BLOQUE 3 | T1             | 100   | 5               | 30       |
| BLOQUE 1                    | T1             | 100   | 5               | 22       | BLOQUE 2 | T1             | 34  | 2               | 23       | BLOQUE 3 | T1             | 100   | 5               | 35       |
| BLOQUE 1                    | T1             | 100   | 5               | 26       | BLOQUE 2 | T1             | 38  | 2               | 21       | BLOQUE 3 | T1             | 100   | 5               | 43       |
| BLOQUE 1                    | T2             | 100   | 5               | 23       | BLOQUE 2 | T2             | 0   | 0               | 18       | BLOQUE 3 | T2             | 100   | 5               | 44       |
| BLOQUE 1                    | T2             | 100   | 5               | 22       | BLOQUE 2 | T2             | 19  | 1               | 22       | BLOQUE 3 | T2             | 100   | 5               | 27       |
| BLOQUE 1                    | T2             | 92  | 4               | 24       | BLOQUE 2 | T2             | 28  | 2               | 26       | BLOQUE 3 | T2             | 100   | 5               | 63       |
| BLOQUE 1                    | T2             | 100   | 5               | 23       | BLOQUE 2 | T2             | 20  | 1               | 21       | BLOQUE 3 | T2             | 100   | 5               | 36       |
| BLOQUE 1                    | T2             | 100   | 5               | 23       | BLOQUE 2 | T2             | 12  | 1               | 15       | BLOQUE 3 | T2             | 100   | 5               | 53       |
| BLOQUE 1                    | T3             | 30  | 2               | 14       | BLOQUE 2 | T3             | 13  | 1               | 19       | BLOQUE 3 | T3             | 100   | 5               | 35       |
| BLOQUE 1                    | T3             | 100   | 5               | 23       | BLOQUE 2 | T3             | 0   | 0               | 16       | BLOQUE 3 | T3             | 100   | 5               | 37       |
| BLOQUE 1                    | T3             | 20  | 1               | 13       | BLOQUE 2 | T3             | 23  | 2               | 21       | BLOQUE 3 | T3             | 100   | 5               | 42       |
| BLOQUE 1                    | T3             | 27  | 2               | 21       | BLOQUE 2 | T3             | 0   | 0               | 14       | BLOQUE 3 | T3             | 100   | 5               | 41       |
| BLOQUE 1                    | T3             | 33  | 2               | 13       | BLOQUE 2 | T3             | 11  | 1               | 21       | BLOQUE 3 | T3             | 100   | 5               | 33       |
| BLOQUE 1                    | T4             | 100   | 5               | 22       | BLOQUE 2 | T4             | 10  | 1               | 18       | BLOQUE 3 | T4             | 32  | 2               | 24       |
| BLOQUE 1                    | T4             | 22  | 2               | 16       | BLOQUE 2 | T4             | 7   | 1               | 17       | BLOQUE 3 | T4             | 100   | 5               | 42       |
| BLOQUE 1                    | T4             | 40  | 2               | 16       | BLOQUE 2 | T4             | 23  | 2               | 17       | BLOQUE 3 | T4             | 33  | 2               | 26       |
| BLOQUE 1                    | T4             | 100   | 5               | 22       | BLOQUE 2 | T4             | 6   | 1               | 19       | BLOQUE 3 | T4             | 49  | 3               | 29       |
| BLOQUE 1                    | T4             | 100   | 5               | 22       | BLOQUE 2 | T4             | 3   | 1               | 17       | BLOQUE 3 | T4             | 50  | 3               | 29       |
| BLOQUE 1                    | T5             | 23  | 2               | 18       | BLOQUE 2 | T5             | 8   | 1               | 16       | BLOQUE 3 | T5             | 100   | 5               | 41       |
| BLOQUE 1                    | T5             | 100   | 5               | 27       | BLOQUE 2 | T5             | 22  | 2               | 15       | BLOQUE 3 | T5             | 100   | 5               | 30       |
| BLOQUE 1                    | T5             | 100   | 5               | 33       | BLOQUE 2 | T5             | 0   | 0               | 17       | BLOQUE 3 | T5             | 100   | 5               | 28       |
| BLOQUE 1                    | T5             | 100   | 5               | 26       | BLOQUE 2 | T5             | 0   | 0               | 14       | BLOQUE 3 | T5             | 100   | 5               | 37       |
| BLOQUE 1                    | T5             | 100   | 5               | 22       | BLOQUE 2 | T5             | 28  | 2               | 21       | BLOQUE 3 | T5             | 92  | 5               | 25       |
| BLOQUE 1                    | T6             | 100   | 5               | 23       | BLOQUE 2 | T6             | 24  | 2               | 14       | BLOQUE 3 | T6             | 100   | 5               | 22       |
| BLOQUE 1                    | T6             | 100   | 5               | 17       | BLOQUE 2 | T6             | 25  | 2               | 16       | BLOQUE 3 | T6             | 100   | 5               | 26       |
| BLOQUE 1                    | T6             | 50  | 3               | 19       | BLOQUE 2 | T6             | 24  | 2               | 25       | BLOQUE 3 | T6             | 100   | 5               | 37       |
| BLOQUE 1                    | T6             | 41  | 3               | 17       | BLOQUE 2 | T6             | 21  | 2               | 19       | BLOQUE 3 | T6             | 100   | 5               | 22       |
| BLOQUE 1                    | T6             | 100   | 5               | 34       | BLOQUE 2 | T6             | 18  | 1               | 21       | BLOQUE 3 | T6             | 100   | 5               | 28       |
| BLOQUE 1                    | T7             | 100   | 5               | 32       | BLOQUE 2 | T7             | 64  | 4               | 24       | BLOQUE 3 | T7             | 100   | 5               | 34       |
| BLOQUE 1                    | T7             | 100   | 5               | 30       | BLOQUE 2 | T7             | 15  | 1               | 17       | BLOQUE 3 | T7             | 100   | 5               | 18       |
| BLOQUE 1                    | T7             | 100   | 5               | 38       | BLOQUE 2 | T7             | 69  | 4               | 29       | BLOQUE 3 | T7             | 100   | 5               | 22       |
| BLOQUE 1                    | T7             | 100   | 5               | 32       | BLOQUE 2 | T7             | 9   | 1               | 19       | BLOQUE 3 | T7             | 100   | 5               | 28       |
| BLOQUE 1                    | T7             | 100   | 5               | 28       | BLOQUE 2 | T7             | 5   | 1               | 21       | BLOQUE 3 | T7             | 100   | 5               | 28       |
| BLOQUE 1                    | T8             | 100   | 5               | 23       | BLOQUE 2 | T8             | 29  | 2               | 19       | BLOQUE 3 | T8             | 100   | 5               | 36       |
| BLOQUE 1                    | T8             | 100   | 5               | 21       | BLOQUE 2 | T8             | 13  | 1               | 19       | BLOQUE 3 | T8             | 100   | 5               | 42       |
| BLOQUE 1                    | T8             | 100   | 5               | 22       | BLOQUE 2 | T8             | 0   | 0               | 13       | BLOQUE 3 | T8             | 61  | 4               | 39       |
| BLOQUE 1                    | T8             | 100   | 5               | 26       | BLOQUE 2 | T8             | 10  | 1               | 18       | BLOQUE 3 | T8             | 100   | 5               | 40       |
| BLOQUE 1                    | T8             | 100   | 5               | 18       | BLOQUE 2 | T8             | 24  | 2               | 23       | BLOQUE 3 | T8             | 100   | 5               | 42       |
| BLOQUE 1                    | T9             | 3   | 1               | 18       | BLOQUE 2 | T9             | 0   | 0               | 19       | BLOQUE 3 | T9             | 31  | 2               | 23       |
| BLOQUE 1                    | T9             | 0   | 0               | 29       | BLOQUE 2 | T9             | 0   | 0               | 12       | BLOQUE 3 | T9             | 35  | 2               | 19       |
| BLOQUE 1                    | T9             | 0   | 0               | 18       | BLOQUE 2 | T9             | 82  | 5               | 22       | BLOQUE 3 | T9             | 100   | 5               | 33       |
| BLOQUE 1                    | T9             | 0   | 0               | 18       | BLOQUE 2 | T9             | 0   | 0               | 13       | BLOQUE 3 | T9             | 8   | 1               | 15       |
| BLOQUE 1                    | T9             | 100   | 5               | 35       | BLOQUE 2 | T9             | 0   | 0               | 12       | BLOQUE 3 | T9             | 100   | 5               | 26       |

**Tabla A4** Datos obtenidos en el ensayo de patogenicidad en *Cytisus scoparius* en el Predio Santo Domingo.

| Bautro-Predio Santo Domingo |    |              |   |    |          |    |                                  |              |          |          |                |                                  |              |          |
|-----------------------------|----|--------------|---|----|----------|----|----------------------------------|--------------|----------|----------|----------------|----------------------------------|--------------|----------|
| Bloc                        |    | 100%         |   |    |          |    | 100%                             |              |          | Bloque   | T <sub>x</sub> | 100%                             |              |          |
|                             |    | lesión/tocón |   |    |          |    | Proporción longitud lesión/tocón | E. Severidad | RebTotal |          |                | Proporción longitud lesión/tocón | E. Severidad | RebTotal |
| BLOQUE 1                    | T1 | 100          | 5 | 0  | BLOQUE 2 | T1 | 100                              | 5            | 0        | BLOQUE 3 | T1             | 100                              | 5            | 0        |
| BLOQUE 1                    | T1 | 100          | 5 | 4  | BLOQUE 2 | T1 | 100                              | 5            | 0        | BLOQUE 3 | T1             | 33                               | 2            | 7        |
| BLOQUE 1                    | T1 | 100          | 5 | 0  | BLOQUE 2 | T1 | 23                               | 2            | 0        | BLOQUE 3 | T1             | 100                              | 5            | 0        |
| BLOQUE 1                    | T1 | 100          | 5 | 0  | BLOQUE 2 | T1 | 17                               | 1            | 0        | BLOQUE 3 | T1             | 20                               | 1            | 9        |
| BLOQUE 1                    | T1 | 100          | 5 | 0  | BLOQUE 2 | T1 | 35                               | 2            | 0        | BLOQUE 3 | T1             | 100                              | 5            | 0        |
| BLOQUE 1                    | T2 | 25           | 2 | 0  | BLOQUE 2 | T2 | 8                                | 1            | 0        | BLOQUE 3 | T2             | 100                              | 5            | 1        |
| BLOQUE 1                    | T2 | 100          | 5 | 0  | BLOQUE 2 | T2 | 19                               | 1            | 3        | BLOQUE 3 | T2             | 100                              | 5            | 0        |
| BLOQUE 1                    | T2 | 100          | 5 | 0  | BLOQUE 2 | T2 | 2                                | 1            | 8        | BLOQUE 3 | T2             | 9                                | 1            | 4        |
| BLOQUE 1                    | T2 | 100          | 5 | 0  | BLOQUE 2 | T2 | 14                               | 1            | 5        | BLOQUE 3 | T2             | 40                               | 2            | 0        |
| BLOQUE 1                    | T2 | 100          | 5 | 0  | BLOQUE 2 | T2 | 19                               | 1            | 0        | BLOQUE 3 | T2             | 18                               | 1            | 0        |
| BLOQUE 1                    | T3 | 16           | 1 | 1  | BLOQUE 2 | T3 | 17                               | 1            | 6        | BLOQUE 3 | T3             | 45                               | 3            | 5        |
| BLOQUE 1                    | T3 | 0            | 1 | 2  | BLOQUE 2 | T3 | 14                               | 1            | 7        | BLOQUE 3 | T3             | 100                              | 5            | 0        |
| BLOQUE 1                    | T3 | 20           | 1 | 5  | BLOQUE 2 | T3 | 18                               | 1            | 2        | BLOQUE 3 | T3             | 55                               | 3            | 7        |
| BLOQUE 1                    | T3 | 17           | 1 | 0  | BLOQUE 2 | T3 | 52                               | 3            | 9        | BLOQUE 3 | T3             | 100                              | 5            | 0        |
| BLOQUE 1                    | T3 | 0            | 1 | 0  | BLOQUE 2 | T3 | 100                              | 5            | 0        | BLOQUE 3 | T3             | 12                               | 1            | 5        |
| BLOQUE 1                    | T4 | 26           | 2 | 12 | BLOQUE 2 | T4 | 42                               | 3            | 0        | BLOQUE 3 | T4             | 13                               | 1            | 1        |
| BLOQUE 1                    | T4 | 25           | 2 | 12 | BLOQUE 2 | T4 | 100                              | 5            | 0        | BLOQUE 3 | T4             | 100                              | 5            | 3        |
| BLOQUE 1                    | T4 | 100          | 5 | 2  | BLOQUE 2 | T4 | 38                               | 2            | 0        | BLOQUE 3 | T4             | 100                              | 5            | 4        |
| BLOQUE 1                    | T4 | 60           | 3 | 0  | BLOQUE 2 | T4 | 30                               | 2            | 0        | BLOQUE 3 | T4             | 20                               | 1            | 2        |
| BLOQUE 1                    | T4 | 15           | 1 | 5  | BLOQUE 2 | T4 | 28                               | 2            | 0        | BLOQUE 3 | T4             | 11                               | 1            | 10       |
| BLOQUE 1                    | T5 | 15           | 1 | 0  | BLOQUE 2 | T5 | 21                               | 2            | 6        | BLOQUE 3 | T5             | 100                              | 5            | 0        |
| BLOQUE 1                    | T5 | 27           | 2 | 2  | BLOQUE 2 | T5 | 17                               | 1            | 3        | BLOQUE 3 | T5             | 100                              | 5            | 0        |
| BLOQUE 1                    | T5 | 25           | 2 | 0  | BLOQUE 2 | T5 | 100                              | 5            | 0        | BLOQUE 3 | T5             | 100                              | 5            | 0        |
| BLOQUE 1                    | T5 | 5            | 1 | 0  | BLOQUE 2 | T5 | 100                              | 5            | 0        | BLOQUE 3 | T5             | 100                              | 5            | 0        |
| BLOQUE 1                    | T5 | 100          | 5 | 0  | BLOQUE 2 | T5 | 100                              | 5            | 0        | BLOQUE 3 | T5             | 100                              | 5            | 0        |
| BLOQUE 1                    | T6 | 90           | 5 | 0  | BLOQUE 2 | T6 | 100                              | 5            | 6        | BLOQUE 3 | T6             | 100                              | 5            | 0        |
| BLOQUE 1                    | T6 | 100          | 5 | 0  | BLOQUE 2 | T6 | 100                              | 5            | 3        | BLOQUE 3 | T6             | 20                               | 1            | 3        |
| BLOQUE 1                    | T6 | 100          | 5 | 0  | BLOQUE 2 | T6 | 100                              | 5            | 0        | BLOQUE 3 | T6             | 100                              | 5            | 2        |
| BLOQUE 1                    | T6 | 100          | 5 | 3  | BLOQUE 2 | T6 | 100                              | 5            | 0        | BLOQUE 3 | T6             | 0                                | 0            | 4        |
| BLOQUE 1                    | T6 | 10           | 1 | 0  | BLOQUE 2 | T6 | 100                              | 5            | 0        | BLOQUE 3 | T6             | 100                              | 5            | 0        |
| BLOQUE 1                    | T7 | 100          | 5 | 0  | BLOQUE 2 | T7 | 13                               | 1            | 2        | BLOQUE 3 | T7             | 17                               | 1            | 0        |
| BLOQUE 1                    | T7 | 100          | 5 | 0  | BLOQUE 2 | T7 | 100                              | 5            | 0        | BLOQUE 3 | T7             | 44                               | 3            | 3        |
| BLOQUE 1                    | T7 | 100          | 5 | 0  | BLOQUE 2 | T7 | 100                              | 5            | 0        | BLOQUE 3 | T7             | 21                               | 2            | 2        |
| BLOQUE 1                    | T7 | 100          | 5 | 3  | BLOQUE 2 | T7 | 100                              | 5            | 0        | BLOQUE 3 | T7             | 100                              | 5            | 4        |
| BLOQUE 1                    | T7 | 15           | 1 | 2  | BLOQUE 2 | T7 | 100                              | 5            | 1        | BLOQUE 3 | T7             | 33                               | 2            | 0        |
| BLOQUE 1                    | T8 | 100          | 5 | 0  | BLOQUE 2 | T8 | 10                               | 1            | 9        | BLOQUE 3 | T8             | 13                               | 1            | 8        |
| BLOQUE 1                    | T8 | 27           | 2 | 4  | BLOQUE 2 | T8 | 30                               | 2            | 1        | BLOQUE 3 | T8             | 100                              | 5            | 0        |
| BLOQUE 1                    | T8 | 4            | 1 | 0  | BLOQUE 2 | T8 | 100                              | 5            | 0        | BLOQUE 3 | T8             | 100                              | 5            | 1        |
| BLOQUE 1                    | T8 | 100          | 5 | 0  | BLOQUE 2 | T8 | 100                              | 5            | 0        | BLOQUE 3 | T8             | 21                               | 2            | 6        |
| BLOQUE 1                    | T8 | 100          | 5 | 0  | BLOQUE 2 | T8 | 100                              | 5            | 2        | BLOQUE 3 | T8             | 100                              | 5            | 0        |
| BLOQUE 1                    | T9 | 7            | 1 | 5  | BLOQUE 2 | T9 | 0                                | 0            | 3        | BLOQUE 3 | T9             | 0                                | 0            | 10       |
| BLOQUE 1                    | T9 | 11           | 1 | 0  | BLOQUE 2 | T9 | 100                              | 5            | 0        | BLOQUE 3 | T9             | 10                               | 1            | 2        |
| BLOQUE 1                    | T9 | 9            | 1 | 7  | BLOQUE 2 | T9 | 100                              | 5            | 0        | BLOQUE 3 | T9             | 0                                | 0            | 0        |
| BLOQUE 1                    | T9 | 18           | 1 | 3  | BLOQUE 2 | T9 | 5                                | 1            | 0        | BLOQUE 3 | T9             | 0                                | 0            | 9        |
| BLOQUE 1                    | T9 | 0            | 1 | 1  | BLOQUE 2 | T9 | 0                                | 0            | 0        | BLOQUE 3 | T9             | 0                                | 0            | 2        |





**Figura A6** Distribución comparativa de los principales compuestos bioactivos y su función, en el género *Diaporthe* y su anamorfo *Phomopsis* (Fuente: Modificado de Xu et al., 2021)