

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION

FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES

Departamento de Silvicultura



DETERMINACION DE LA PATOGENICIDAD DE *Cylindrocarpon*  
*destructans* SOBRE PLANTAS DE *Pinus radiata* D. Don

Por

SONIA PAOLA HERMOSILLA VERA

MEMORIA PARA OPTAR  
AL TITULO DE  
INGENIERO FORESTAL.

CONCEPCION - CHILE  
1998

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION

FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES

Departamento de Silvicultura

DETERMINACION DE LA PATOGENICIDAD DE *Cylindrocarpon*  
*destructans* SOBRE PLANTAS DE *Pinus radiata* D. Don



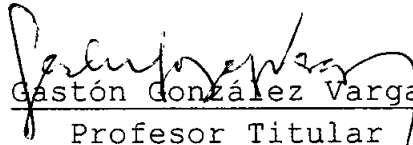
SONIA PAOLA HERMOSILLA VERA

MEMORIA PARA OPTAR  
AL TITULO DE  
INGENIERO FORESTAL.

CONCEPCION - CHILE  
1998

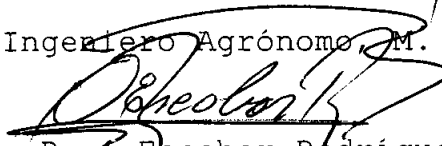
DETERMINACION DE LA PATOGENICIDAD DE *Cylindrocarpon destructans* SOBRE PLANTAS DE *Pinus radiata* D. Don

Profesor Asesor

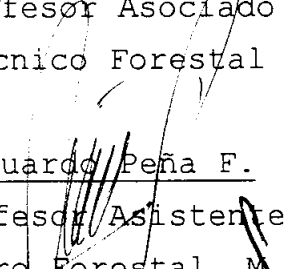
  
Gastón González Vargas  
Profesor Titular

Ingeniero Agrónomo M. Sc.

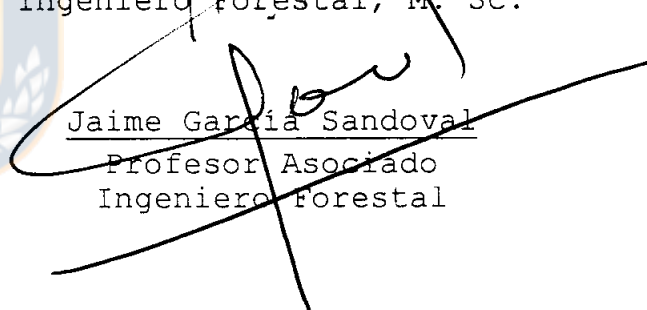
Profesor Asesor

  
René Escobar Rodríguez  
Profesor Asociado  
Técnico Forestal

Director Departamento  
Silvicultura

  
Eduardo Peña F.  
Profesor Asistente  
Ingeniero Forestal, M. Sc.

Decano Facultad de Ciencias  
Forestales

  
Jaime García Sandoval  
Profesor Asociado  
Ingeniero Forestal

Calificación de la memoria de título:

Gastón González Vargas: 96 puntos (Noventa y Seis puntos)

René Escobar Rodríguez: 96 puntos (Noventa y Seis puntos)

A Dios

A mis Padres

A mi hermano Richard

A mi hermana Karen

A mis amigas



## AGRADECIMIENTOS

A mis padres y hermanos por su apoyo incondicional y confianza depositada en mí durante estos años.

A mis amigas y compañeras de carrera por su comprensión, apoyo, paciencia y por sobre todo su amistad.

A mi profesor asesor, Sr. Gastón González Vargas por su apoyo y enseñanza.

A mi profesor coasesor, Sr. René Escobar Rodríguez por su apoyo y recomendaciones.

A mis amigas de convivencia diaria por su impagable ayuda y compañerismo.



## INDICE DE MATERIAS

CAPITULOS	PAGINA
I	INTRODUCCION ..... 1
II	REVISION BIBLIOGRAFICA ..... 4
2.1	Distribución geográfica..... 4
2.1.1	En el mundo..... 4
2.1.2	En Chile..... 5
2.2	Huéspedes de <i>Cylindrocarpon destructans</i> .. 6
2.3	Huéspedes de <i>Cylindrocarpon</i> spp..... 7
2.4	Predisposición..... 9
2.5	Asociaciones bióticas..... 10
2.6	Características reproductivas y crecimiento..... 11
2.7	Control..... 12
III	MATERIALES Y METODO ..... 15
3.1	Caracterización de <i>Cylindrocarpon</i> sp. sobre plantas provenientes del vivero... 15
3.2	Caracterización del crecimiento de <i>Cylindrocarpon destructans</i> en medios de cultivo artificiales..... 15
3.3	Efecto del medio de cultivo en la velocidad de crecimiento de <i>C.</i> <i>destructans</i> ..... 16
3.4	Inoculación directo a raíces. Crecimiento de raíces sobre agar-hongo..... 17
3.4.1	Evaluación de síntomas..... 19
3.4.2	Efecto de <i>C. destructans</i> en el crecimiento de raíces..... 19
3.4.3	Efecto de <i>C. destructans</i> en el incremento en crecimiento en altura de plantas..... 20

3.4.4	Efecto de <i>C. destructans</i> en el incremento en crecimiento en diámetro de cuello de plantas.....	20
3.5	Inoculación de suelo con y sin lesión en raíces de plantas de pino.....	20
3.5.1	Evaluación de síntomas.....	23
3.5.2	Efecto de <i>Cylindrocarpon</i> sp. en el crecimiento de raíces.....	24
3.5.3	Efecto de <i>C. destructans</i> en el incremento en crecimiento en altura de plantas.....	24
3.5.4	Efecto de <i>C. destructans</i> en el crecimiento en el diámetro de cuello de plantas.....	24
3.5.5	Porcentaje de colonización.....	24
IV	RESULTADOS Y DISCUSION .....	25
4.1	Caracterización de <i>Cylindrocarpon</i> sp. proveniente del vivero.....	25
4.2	Caracterización del crecimiento de <i>Cylindrocarpon destructans</i> en medios de cultivo artificiales.....	25
4.2.1	Crecimiento en Czapek-Dox-agar.....	25
4.2.2	Crecimiento en agar extracto de malta (AEM).....	26
4.3	Efecto del medio de cultivo en la velocidad de crecimiento de <i>Cylindrocarpon destructans</i> .....	26
4.4	Inoculación directa a raíces. Crecimiento de raíces sobre agar-hongo.....	27
4.4.1	Evaluación de síntomas.....	27
4.4.2	Efecto de <i>C. destructans</i> en el crecimiento de raíces.....	28
4.4.3	Efecto de <i>Cylindrocarpon</i> sp. en el incremento en crecimiento en altura de plantas.....	29

4.4.4	Efecto de <i>C. destructans</i> en el crecimiento en diámetro de cuello de plantas.....	29
4.5	Inoculación de suelo con y sin lesión a raíces de plantas de pino.....	30
4.5.1	Evaluación de síntomas.....	30
4.5.2	Efecto de <i>Cylindrocarpon destructans</i> en el crecimiento de raíces.....	31
4.5.3	Efecto de <i>C. destructans</i> en el incremento en crecimiento en altura de plantas.....	31
4.5.4	Efecto de <i>C. destructans</i> en el diámetro de cuello de plantas.....	32
4.5.5	Porcentaje de colonización de raíces....	33
V	CONCLUSIONES .....	35
VI	RESUMEN. ....	36
VII	SUMMARY. ....	37
VIII	BIBLIOGRAFIA .....	38
IX	APENDICE .....	44



## INDICE DE TABLAS

TABLA N°	PAGINA
----------	--------

En el texto

Tabla 1. Pesos promedio de raíces (g) con <i>C. destructans</i> creciendo en AEM, Czapek y Control. ....	28
Tabla 2. Incremento promedio en altura por tratamiento (cm) .....	29
Tabla 3. Incremento promedio en diámetro por tratamiento.....	30
Tabla 4. Crecimiento promedio en longitud de raíces por tratamiento. ....	31
Tabla 5. Incremento promedio en altura de plantas (cm) por tratamiento. ....	32
Tabla 6. Diámetros de cuello de plantas medidos al final del ensayo (mm). ....	33
Tabla 7. Número de plantas en que fueron detectados conidióforos y conidias. ....	33

En el Apéndice

Tabla 1. Longitud de conidias de <i>Cylindrocarpon</i> sp. con 40X ( $\mu\text{m}$ ). Origen: Provenientes de raíces de plantas del vivero Bio-Bio (Fecha 30-08-96). ....	44
Tabla 2. Medición de conidias de <i>Cylindrocarpon</i> sp. ( $\mu\text{m}$ ). .....	45
Tabla 3. Crecimiento radial (mm) de <i>C. destructans</i> en dos medios de cultivo artificial. ....	45
Tabla 3a. Incremento en crecimiento radial de colonias de <i>C. destructans</i> en medios de cultivo artificiales. .....	46

Tabla 4. Análisis de Varianza para peso de raíces (g) por tratamiento. ....	46
Tabla 5. Altura inicial, final e incremento (cm) en altura por tratamiento. ....	47
Tabla 5a. Análisis de varianza para incremento en altura de plantas por tratamiento. ....	47
Tabla 6. Diámetro de cuello inicial, final e incremento por tratamiento. ....	48
Tabla 6a. Análisis de varianza para incremento en diámetro de cuello por tratamiento. ....	48
Tabla 7. Longitud promedio y total de raíces por tratamiento (cm) ....	49
Tabla 7a. Análisis de varianza para longitud de raíces por tratamiento. ....	49
Tabla 8. Incremento promedio y total en altura por tratamiento (cm) ....	50
Tabla 8a. Análisis de varianza para incrementos (cm) en altura de plantas por tratamiento. ....	50
Tabla 8b. Test de Intervalos múltiples de Duncan para incremento promedio (cm) en altura de plantas por tratamiento. ....	51
Tabla 9. Diámetro promedio y total (mm) de cuello de plantas por tratamiento. ....	51
Tabla 9a. Análisis de varianza para diámetro final de cuello de plantas. ....	52

## INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°	PAGINA
<u>En el texto</u>	
FIGURA 1. Colonias de <i>C. destructans</i> en Czapek y AEM. ...	15
FIGURA 2. Líneas de medición de crecimiento de <i>C. destructans</i> en Czapek y AEM. ....	16
FIGURA 3. Plantas creciendo sobre tubetes, dispuestos, a su vez, dentro de envases que contienen cultivos puros de <i>C. destructans</i> en el fondo.....	17
FIGURA 4. Esquema de inoculación directa a raíces con <i>Cylindrocarpon destructans</i> creciendo en AEM. ..	18
FIGURA 5. Esquema de inoculación directa a raíces con <i>Cylindrocarpon destructans</i> creciendo en Czapek. 18	
FIGURA 6. Extracción de plantas de los envases. ....	19
FIGURA 7. Esquema de inoculación de raíces con suspensión de <i>Cylindrocarpon destructans</i> .....	21
FIGURA 8. Esquema de inoculación de raíces con granos de trigo inoculado. ....	21
FIGURA 9. Plantas testigo, sin inoculación, sin poda. ...	22
FIGURA 10. Extracción de plantas de las macetas. ....	23

## I INTRODUCCION

La reducción de las pérdidas económicas por muerte de plantas en el proceso de viverización es un aspecto importante tanto para empresas como para productores particulares de plantas vinculados al sector forestal. Por esta razón, es necesario estudiar las causas de nuevos problemas que reduzcan la cantidad y calidad de la producción para, de este modo, diseñar medidas de control y disminuir las pérdidas asociadas.

Entre las numerosas especies de hongos que se asocian a raíces deterioradas o podridas, en plantas de vivero, una especie frecuentemente encontrada es *Cylindrocarpon destructans*, la que según Andrade (1996)<sup>1</sup> y France (1997)<sup>2</sup> podría estar ocasionando pérdidas significativa de plantas de vivero.

González (1997)<sup>3</sup>, considera que especies del género *Cylindrocarpon* son frecuentemente aisladas u observadas sobre raíces con grados variables de necrosis, pero que su rol como patógeno primario no estaría bien precisado, y, si bien son organismos muy frecuentemente observados, su acción sería principalmente como saprótrofos.

En las últimas temporadas de producción de los viveros Bio-Bio y Renaico, propiedad de Forestal Mininco, Quelen-Quelen de Bosques Arauco S. A. y Cato de Forestal Bio- Bio, se han observado síntomas de decoloración de acículas, marchitamiento y muerte de plantas asociada a sistemas

---

<sup>1</sup> O. Andrade, Ing. Agr., Ph. D. INIA, Carillanca. Com. Personal

<sup>2</sup> A. France, Ing. Agr., Ph. D. INIA, Quilamapu. Com. Personal

<sup>3</sup> G. González, Ing. Agr., M. Sc. Com. Personal

radiculares pobres, con raíces muertas y diferentes grados de necrosis en el tallo a nivel del cuello. Igualmente, en plantaciones efectuadas con el material proveniente de los viveros Bio- Bio y Renaico, se ha observado marchitamiento y muerte de plantas durante los dos primeros años de plantación, asociadas igualmente a deterioro de los sistemas radiculares.

Muestras de plantas enviadas en 1996 a los laboratorios de INIA, Carillanca, permitieron identificar a *Cylindrocarpon destructans* asociado a las pudriciones de raíces tanto en viveros como en plantaciones y la presencia de *Nectria* sp. en algunas plantas de vivero fue determinada en INIA, Quilamapu, en 1997.

Sin embargo, sobre muestras del mismo origen, el Centro de Diagnóstico de Sanidad de Bosques y Productos Primarios (CDS) de la Facultad de Ciencias Forestales, Universidad de Concepción, encontró una especie de *Phytophthora* junto a *Cylindrocarpon* sp., siendo este último bastante más frecuente. Todas las especies del género *Phytophthora* son patógenos y su presencia en raíces permite asociarlas a las pudriciones como organismo causal. Sin embargo, no ocurre lo mismo para el género *Cylindrocarpon*.

Kunstmann et al. (1986) quienes aislaron *Cylindrocarpon* sp. junto a otras especies de hongos desde plantas de *Pseudotsuga menziesii*, no indican su grado de patogenicidad. Pero Hart (1965) citado por Hepting (1971) muestra a *Cylindrocarpon destructans* como pudridor de raíces de coníferas y latifoliadas.

Esta especie de hongo corresponde al estado anamorfo de *Nectria radiculicola*, con distribución cosmopolita y que habita en suelos, sobre raíces de plantas y sobre desechos leñosos y herbáceos (Samuels y Brayford, 1990).

Sutherland et al. (1989) presentan a *C. destructans* como patógeno débil. Mientras que James (1988) citado por Landis et al. (1989), señala que sería patógeno sólo cuando hay condiciones de estrés. Unestam et al. (1989) citados por Kope et al. (1996) mostraron que *C. destructans* pudo matar raíces de *Pinus sylvestris* L. cuando las plantas fueron estresadas por factores tales como baja intensidad de luz, medio de crecimiento saturado y tratamiento con fungicidas. Wall y Shamoun (1990) citados por Lèvesque y Rahe (1992) señalan que algunas plantas de *Rubus parviflorus* murieron cuando se usó *C. destructans* combinado con bajas concentraciones de glifosato.

Debido a que los niveles de pérdida de plantas por pudrición de raíces en los viveros, especialmente en el vivero Bio-Bio, aumentaron de año en año, se hizo evidente la necesidad de controlar el problema. Sin embargo, no se tenía en claro si las medidas de control debían incluir solamente a *Phytophthora* o a especies de ese género y aquellas en *Cylindrocarpon*, básicamente porque el rol de éstos últimos no es conocido en el país en viveros de pino radiata.

La investigación que se propone tiene como objetivo central establecer la patogenicidad de *C. destructans* y determinar su asociación al cuadro de síntomas observados en los viveros de pino.

## II REVISION BIBLIOGRAFICA

### 2.1 Distribución geográfica.

2.1.1 En el mundo. Hongos del género *Cylindrocarpon* han sido a menudo aislados desde raíces de *Pseudotsuga menziesii* o *Picea* spp. creciendo a raíz cubierta en Norte América (Landis, 1989; Sutherland et al., 1989; Hamm et al., 1990) y en Europa (Galaaen y Venn, 1979; Perrin y Gómez, 1991) señalan que *Cylindrocarpon* ha sido aislado desde raíces de plántulas de Pino Oregón y *Picea* sp. a raíz cubierta en Columbia Británica, Canadá, y que, sin embargo, poco se sabe acerca de como su incidencia se relaciona con viveros específicos, prácticas culturales o huéspedes.

En un trabajo de Kope et al. (1996), relacionado con frecuencia de colonización de *Cylindrocarpon* sobre diferentes huéspedes en viveros forestales del Oeste de Canadá, se encontró que, para la temporada 1990, los porcentajes más altos de colonización ocurrieron en un vivero de la costa Sur de Columbia Británica sobre *Picea glauca* (73%) y Pino Oregón costero (57%), mientras que para la temporada 1991 la colonización más alta se produjo en un vivero del interior del Norte sobre *Picea engelmannii* + Híbrido (100%) y Pino Oregón (83%).

Soukup (1994) señala a *Picea pungens* como una especie exótica usada en plantaciones en áreas montañosas de la República Checa expuesta a altos niveles de contaminación, y en donde se encontró *Cylindrocarpon* sp.

En CAB International Mycological Institute (IMI) hay numerosos registros de *C. destructans* aislados desde plántulas huéspedes en Nueva Zelanda, Australia y Tasmania (Samuels y Brayford, 1990). En ese trabajo se muestra también la distribución conocida para *C. destructans*, la cual es cosmopolita, mientras que *C. destructans* var. *coprosmae* (C. Booth) Brayford y Samuels, comb. nov. se encuentra tanto en la Isla del Norte como del Sur en Nueva Zelanda, para *C. macroconidialis* Brayford y Samuels, sp. nov. estaría solamente en la Isla del Norte.

Elouard (1989), señala que *C. destructans* es uno de los hongos patógenos de Dipterocarpaceas en Sumatra y Oeste de Java. Potter et al. (1988), señalan que plantas de *Pinus strobus* y *Picea glauca* al Sur de Ontario han sido objeto de seria muerte regresiva asociada a malformación de raíz, muerte apical y eventual mortalidad, donde un nemátodo (*Paratrichodorus* sp.), *Fusarium* y *Cylindrocarpon* estarían involucrados. En un estudio sobre los patógenos de la enfermedad del "tizón pudridor de raíz" de *Panax quinquefolius* en Shaanxi, China, *C. destructans*, junto a otras especies, fue aislado desde semillas, raíces enfermas y muestras de suelo (Zhang et al., 1991).

Algunas especies de *Cylindrocarpon* fueron aisladas desde plantas de soya en el Suroeste de Francia (Forbes y Davet, 1991). De Maeseneer (1964) citado por Ruehle, (1973) aisló *C. radicolica* desde plántulas coníferas en Bélgica.

**2.1.2 En Chile.** *Cylindrocarpon* sp. fue encontrado por primera vez en el país sobre plantas de Pino Oregón del vivero Frutillar (X Región) (Kunstmann et al., 1986).



## 2.2 Huéspedes de *Cylindrocarpon destructans*

Varios autores han encontrado a *Cylindrocarpon* en diversos sustratos. El detalle se presenta a continuación:

Coníferas y latifoliadas	Hart (1965) citado por Hepting (1971)
<i>Freycinetia baueriana</i> Endl.	Samuels y Brayford (1990)
<i>sub.sp.banksii</i> (A. Cunn.) Stone	
<i>Hopea mengarawuan</i>	Elouard (1989)
Huevos de nemátodos ( <i>Heterodera spp.</i> )	Tribe (1977) citado por Mankau (1980)
<i>Juglans regia</i> L.	Montecchio y Causin (1995)
<i>Panax quinquefolius</i>	Zhang et al. (1991) Reeleder y Brammall (1994)
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Samuels y Brayford (1990)
<i>Pinus radiata</i> D. Don	Oscar Andrade (1996) (Com. Pers.)
<i>Pinus sylvestris</i> L.	Unestam et al. (1989) citado por Kope et al. (1996)
Plántulas de manzanas	Lèvesque y Rhae (datos no publicados) citados por Lèvesque y Rhae (1992)
<i>Prunus armeniaca</i>	Traquair y White (1992)
<i>Prunus persica</i>	
<i>Pyrus communis</i>	
(en almacenaje en frío)	



<i>Pseudotsuga menziesii</i>	(Mirb.) Bloomberg	(1968)
Franco	citado por Hepting	(1971)
<i>Quercus coccinea</i>	Hart (1965) citado por	Hepting (1971)
<i>Quercus ellipsoidal</i>	Hart (1965) citado por	Hepting (1971)
<i>Quercus relutina</i> Lam.	Hart (1965) citado por	Hepting (1971)
<i>Quercus robur</i>	Kessler	(1988)
Raíces de árboles semilleros y plantas herbáceas, también desechos leñosos y herbáceos.	Samuels y Brayford	en (1990).
<i>Rhopalostylis sapida</i> Wendl. y Drude	Samuels y Brayford	(1990)
<i>Rubus parviflorus</i>	Wall y Shamoun (1990)	citado por Lèvesque y Rhae (1992)
<i>Shorea pinanga</i>	Elouard	(1989)
<i>Trifolium repens</i> L.	Samuels y Brayford	(1990)

### 2.3 Huéspedes de *Cylindrocarpon* spp.

Coníferas del Noroeste	Landis et al.	(1989)
<i>Glicine max</i>	Forbes y Davet	(1991)
<i>Larix occidentalis</i> Nutt.	James et al.	(1995)
<i>Picea abies</i> Karst.	Lilja et al.	(1992)
<i>Picea engelmannii</i> Engelm.	Sutherland et al.	(1989)

- Picea glauca* (Moench.) Voss. Potter et al. (1988)  
Sutherland et al. (1989)  
Kope et al. (1996)
- Picea pungens* Engelm. Soukup (1994)
- Picea sitchensis* (Bong.) Carr. Sutherland et al. (1989)
- Picea* spp. Landis (1989), Sutherland et al. (1989), Hamm et al. (1990), Galaaen y Venn (1979), Perrin y Gómez (1991). Citados por Kope et al. (1996)
- Pinus banksiana* Lam. Vaartaja y Cram (1956) citado por Hepting (1971)
- Pinus contorta* Loud. Sutherland et al. (1989)
- Pinus monticola* D. Don. Landis et al. (1989); James y Gilligan (1990)
- Pinus strobus* L. Potter et al. (1988); Sutherland et al. (1989)
- Pinus sylvestris* L. Vaartaja y Wilner (1956) citado por Hepting (1971)  
Chakravarty y Unestam (1987)  
Lilja et al. (1992)
- Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco Kunstmann et al. (1986); Sutherland et al. (1989); Denis (1988) citado por Landis et al. (1989); Garret (1970) citado por Kope et al. (1996)
- Rubus cuneifolius* Dorworth (1990)

Semillas de coníferas Sutherland et al. (1987) y James y Genz (1982) citados por Kope et al. (1996).  
*Tsuga heterophylla* (Raf.) Sutherland et al. (1989)  
Sarg.

#### 2.4 Predisposición

Yarwood (1959) citado por Atanasovici (1988) define predisposición como la tendencia no genética que actúa antes de la infección y que afecta la susceptibilidad de la planta a alguna enfermedad y señala que este término es usado generalmente para expresar una variación, aumento o disminución, en el grado interno de susceptibilidad que resulta de causas externas a la planta.

Schownweiss (1975) citado por Atanasovici (1988) señala que los factores de estrés pueden influir en las enfermedades a través de efectos sobre el patógeno, sobre la susceptibilidad del huésped o en la interacción patógeno-huésped y que la predisposición implica un efecto sobre el huésped antes que sobre el patógeno.

Unestam et al. (1989), citado por Kope et al. (1996) mostraron que *C. destructans* pudo matar raíces de *Pinus sylvestris* L. cuando las plantas fueron estresadas por factores tales como baja intensidad de luz, medio de crecimiento saturado y tratamiento con fungicidas. Otro autor coincide con lo anterior señalando que *Cylindrocarpon* se presenta en suelos mal drenados (Landis et al., 1989) y James (1988) citado por Landis et al. (1989) señala que aunque *Cylindrocarpon* es un habitante normal de la

rizósfera, puede ser patógeno cuando la planta huésped es estresada.

Lévesque y Rahe (1992), mencionan a Wall y Shamoun (1990) quienes señalan que algunas plantas se marchitaron, perdieron 60 a 90% de sus hojas o murieron cuando *C. destructans* fue usado en combinación con una baja dosis de glifosato.

## 2.5 Asociaciones bióticas

En un reconocimiento de viveros en Columbia Británica, Sutherland y Dunn (1970) citados por Ruehle (1973), encontraron *Xiphinema bakeri* consistentemente asociado con la "raíz corchosa"; una condición de la raíz tosca, engrosada y café en Pino Oregón (Bloomberg, 1968 citado por Ruehle, 1973).

Después de aislar *Cylindrocarpon radicum* desde raíces enfermas, Sutherland y Dunn (1970) citados por Ruehle (1973), estimaron que un complejo hongo-nemátodo estaría asociado al problema. Sin embargo, De Maeseneer (1964) citado por Ruehle (1973), aisló *C. radicum* y *Fusarium oxysporum* desde plantas coníferas infectadas por nemátodos en Bélgica, pero concluyó que nemátodos parasíticos fueron los patógenos primarios y expresó dudas de que un complejo hongo-nemátodo estuviese involucrado.

Sutherland et al. (1989) señalan también que *Cylindrocarpon* estaría asociado con el nemátodo *Xiphinema bakeri* en el daño de "raíz corchosa". Potter et al. (1988), mencionan a otro nemátodo, *Paratrichodorus* sp. (nemátodo achaparrador de raíz) asociado al complejo *Cylindrocarpon-Fusarium* sp.

También ha sido asociado con *Fusarium* en los trabajos presentados por Landis et al. (1989) y James et al. (1995).

## 2.6 Características reproductivas y crecimiento

El crecimiento micelial juega un rol principal en la sobrevivencia del hongo en el suelo y en su dispersión a nuevos substratos. También se producen conidias y clamidosporas (Sutherland et al., 1989). *Cylindrocarpon* es capaz de extenderse tanto en horizontes superficiales como hacia los más profundos, debido a que puede crecer a bajas concentraciones de oxígeno. Posee gran capacidad competitiva, rápida germinación de esporas y rápido crecimiento de micelio, junto a características fisiológicas tales como capacidad para usar tanto nitrógeno orgánico como inorgánico y crecer rápidamente cuando hay bajos niveles en la concentración de nutrientes (Sutherland et al., 1989). Es también común en suelos alcalinos. Este hongo además ha sido aislado desde suelos en medios de crecimiento basados en turba (Carter, 1988; citado por Landis et al., 1989).

Hart 1965, citado por Hepting (1971), ilustró los muy conspicuos esporodoquios formados sobre las áreas muertas, y también las conidias típicamente 1- 2 septadas. Bloomberg (1966), citado por Hepting (1971), señaló que sin excepción, los hongos *C. didimum* y *C. radicolola*, crecieron sobre semillas esterilizadas externamente colocadas sobre agar y secciones teñidas mostraron claramente hifas y clamidosporas dentro de los tejidos radicales, tallos y cubiertas seminales.

Katnelson et al. (1962), citado por Marx (1972), señalan que diferentes tipos de hongos fueron encontrados en varias

rizósferas; géneros que contenían patógenos de raíces alimentadoras (*Pythium*, *Fusarium* y *Cylindrocarpon*) predominaron en rizósferas no micorrízicas, mientras que raíces ectomicorrizas soportaron *Mycelium radicus*, *Penicillium* sp., y otros hongos de rápido crecimiento.

Macro y microconidias hialinas son formadas a partir de células conidiógenas sostenidas sobre conidióforos no ramificados, ramificados irregularmente o densamente ramificados (Samuels y Brayford, 1990). Clamidosporas globosas: 8-25  $\mu\text{m}$  de diámetro, de pared engrosada, discretas o agrupadas en cadenas, dependiendo de la raza, son formadas en abundancia en cultivos maduros (Samuels y Brayford, 1990).

Otras especies estudiadas, *C. faginatium* Booth y *C. candidium* (Link) Wollenw., producen tanto macro como microconidias. Microconidias, que pueden dispersarse en películas de agua, son producidas durante el crecimiento saprofítico sobre corteza infectada (Lonsdale, 1980; citado por Houston, 1994), mientras que las macroconidias son producidas sobre corteza muerta en pústulas esporodoquiales, las cuales rompen a través de la delgada corteza hacia afuera (Houston, 1994).

## 2.7 Control.

James et al. (1995), en su estudio de manejo de enfermedades fungosas de semillas y plántulas de *Larix occidentalis*, en las que estarían involucrados *Fusarium* y *Cylindrocarpon*, señala como medidas de control integrado la reducción del inóculo de los patógenos, el manejo de la resistencia del huésped, el mejoramiento de las condiciones

para los organismos competidores y antagónicos, y el mínimo uso de pesticidas químicos.

Litterick y Holmes (1994) proponen un esquema para el control integrado de enfermedades de raíz y cuello en ericáceas causadas por los patógenos *Rhizoctonia*, *Cylindrocarpon*, *Cylindrocladium*, *Pestalotiopsis*, *Fusarium*, *Pythium* y *Phytophthora* spp., basado en el entendimiento de las relaciones huésped/patógeno y las modernas prácticas de producción de plantas. Otros métodos de control de *Cylindrocarpon* spp. y *Fusarium* spp. son dados por James y Woollen (1989), ellos trataron bloques de poliestireno expandido con agua caliente (a 68 °C) y blanqueador diluido, con lo cual se redujo la población de estos hongos, pero no redujo *Phoma* o especies saprófitas como *Penicillium* y *Alternaria*.

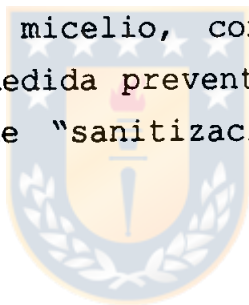
Métodos similares son mencionados por James y Gilligan (1988), para reducir la colonización de *Fusarium* y *Cylindrocarpon* de bloques de poliestireno expandido, aunque altos niveles de población de dichos hongos persistieron después del tratamiento con vapor.

Un método diferente a los anteriores fue desarrollado a partir de cultivos bacteriales obtenidos de la rizósfera y rizoplano de plántulas de Pino Oregón (*Pseudotsuga menziesii*) de viveros y localidades forestales en Columbia Británica, Canadá. De los 2000 aislamientos obtenidos 350 inhibieron el crecimiento de al menos un patógeno de raíces de plántulas de coníferas (*Fusarium*, *Cylindrocarpon* o *Pythium*), en ensayos de antibiosis in vitro (Axelrood y Radley, 1991).



En viveros de la Comisión Forestal de Perth (Tasmania), la cloración o filtración del agua de riego dio un efectivo control de pudrición superior de tallo causado por hongos acuáticos, principalmente *Phytophthora cactorum*, pero también *P. citricola*, *Pythium anandrum*, *Fusarium* spp. y *Cylindrocarpon* spp. (Wardlaw y Phillips, 1990), y la pudrición de raíz causada por *C. destructans* fue reducida por colonización endomicorrízica de raíces de *Prunus* sp. con *Glomus aggregatum* bajo condiciones de ambiente controlado (Traquair, 1995 ).

Sutherland et al. (1989), en viveros a raíz desnuda, aconsejan los barbechos descubiertos y aradura entre cultivos para exponer micelio, conidias y clamidosporas. Señalan además, como medida preventiva, mantención de buen drenaje y prácticas de "sanitización" en viveros a raíz desnuda y cubierta.



### III MATERIALES Y METODO

#### 3.1 Caracterización de *Cylindrocarpon* sp. sobre plantas provenientes del vivero.

Plantas de pino con presencia de síntomas asociados a *C. destructans* fueron traídas desde el vivero Bio-Bio, las raíces fueron lavadas en agua corriente por varias horas y luego colocadas en cultivo en agua por 48 horas, para finalmente ser observadas con el fin de detectar conidias y micelio de este hongo.

#### 3.2 Caracterización del crecimiento de *Cylindrocarpon destructans* en medios de cultivo artificiales.

Raíces dañadas fueron lavadas y esterilizadas superficialmente con NaOCl, transferidas a discos de Petri con Agar Extracto de Malta (A.E.M) y con Czapek para obtención de cultivos puros, permitiendo caracterizar conidias, clamidosporas y micelio de *C. destructans* (FIG. 1)

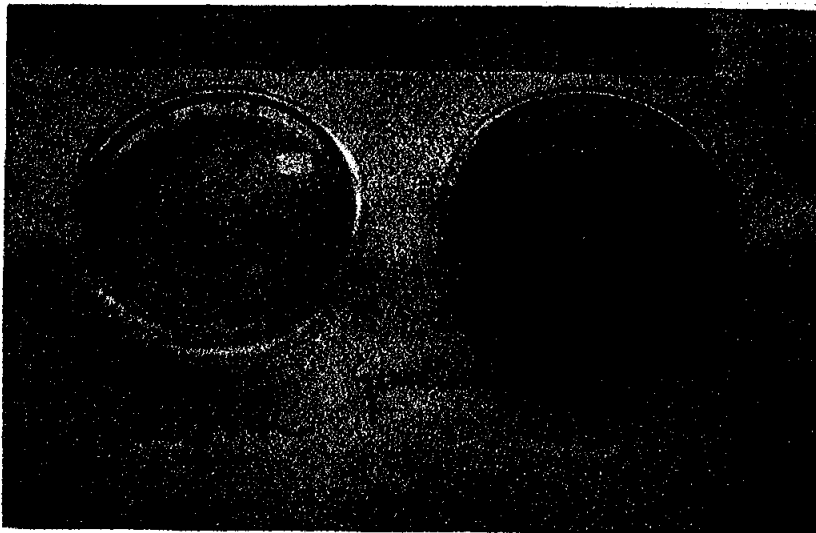


FIGURA 1. Colonias de *C. destructans* en Czapek y AEM.

### 3.3 Efecto del medio de cultivo en la velocidad de crecimiento de *C. destructans*.

Trozos de 5 mm de diámetro de cultivo en AEM fueron transferidos al centro de 5 discos de Petri con Czapek y 5 discos con AEM, marcados en el fondo con 2 ejes perpendiculares entre si (FIG. 2).



FIGURA 2. Líneas de medición de crecimiento de *C. destructans* en Czapek y AEM.

Los cultivos fueron incubados a 27 °C por 72 horas y el crecimiento radial se midió sobre los ejes marcados en el fondo de cada disco, al tercer y al séptimo día desde la inoculación. El crecimiento fue medido por diferencia de ambos y se calculó el valor promedio y la velocidad de crecimiento en mm/d.

### 3.4 Inoculación directo a raíces. Crecimiento de raíces sobre agar-hongo.

Colonias de *C. destructans* de 16 días creciendo en AEM y en Czapek fueron colocadas en el fondo de vasos de papel encerados y cubiertas con suelo estéril. Luego se depositó en cada vaso un tubete donde crecía una planta de pino sobre sustrato de corteza de la misma especie y se rellenó el vaso, de modo que el tubete quedara firme sobre la mezcla de suelo estéril y medio con *Cylindrocarpon*. De este modo, las nuevas raíces de la planta crecieron en la corteza sobre el medio de cultivo inoculado con *C. destructans* (FIG. 3)



FIGURA 3. Plantas creciendo sobre tubetes, dispuestos, a su vez, dentro de envases que contienen cultivos puros de *C. destructans* en el fondo.

Los tratamientos fueron: *C. destructans* en agar extracto de malta (FIG. 4), *C. destructans* en Czapek (FIG. 5) y sólo agar. El número de repeticiones: 3 y control: 4.

En el estudio se evaluó el efecto del hongo sobre el incremento en crecimiento de plantas de pino y ocurrencia de síntomas tales como clorosis, marchitamiento de acículas o necrosis de raíces y cuello.

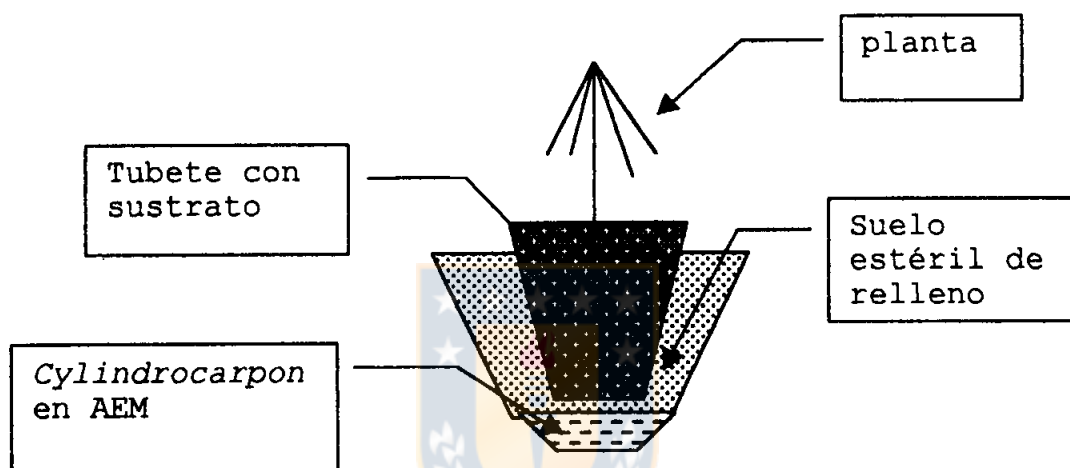


FIGURA 4. Esquema de inoculación directa a raíces con *Cylindrocarpon destructans* creciendo en AEM.

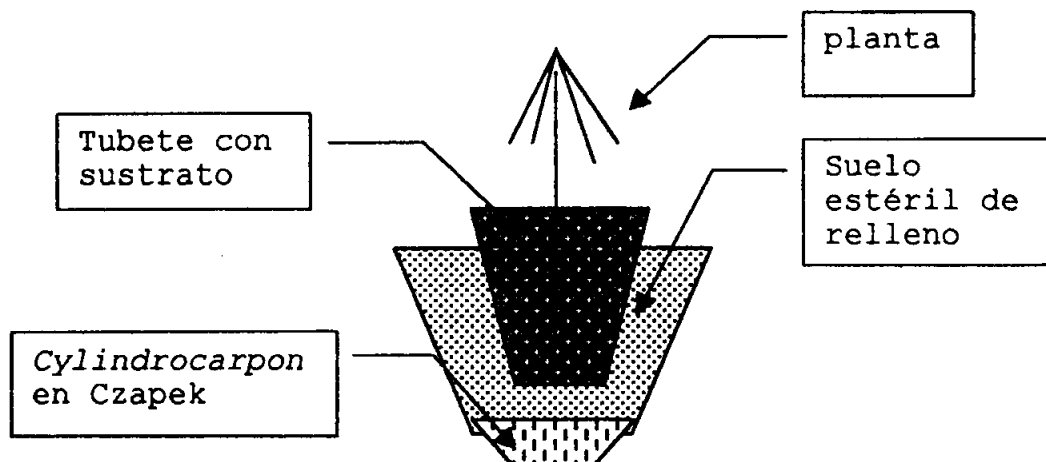


FIGURA 5. Esquema de inoculación directa a raíces con *Cylindrocarpon destructans* creciendo en Czapek.

### 3.4.1 Evaluación de síntomas.

La evaluación de síntomas se efectuó en forma visual, analizando posible decoloración y/o marchitez de follaje, deformación y necrosis de raíces.

### 3.4.2 Efecto de *C. destructans* en el crecimiento de raíces.

Transcurridos los 70 días desde la inoculación las plantas de pino fueron extraídas de los depósitos (FIG. 6) y lavadas en agua corriente cuidando de no dañar las raíces. Las raíces de nuevo crecimiento que lograron salir del tubete fueron empleadas para la determinación del crecimiento potencial de raíces (RGP) mediante el método de volumen gravimétrico (Harrington et al., 1994).



FIGURA 6. Extracción de plantas de los envases.

**3.4.3 Efecto de *C. destructans* en el incremento en crecimiento en altura de plantas.** La altura desde el cuello al ápice de plantas fue medida al inicio y final del ensayo. El incremento en crecimiento en el período fue calculado por diferencia de éstas. El análisis de los resultados se hizo utilizando la prueba F ( $\alpha = 0,05$ ).

**3.4.4 Efecto de *C. destructans* en el incremento en crecimiento en diámetro de cuello de plantas.** Esta variable fue medida también al inicio y final del ensayo. El incremento en crecimiento fue la diferencia de ambas mediciones y la significancia de los tratamientos se analizó con la prueba F ( $\alpha = 0,05$ ).

### **3.5 Inoculación de suelo con y sin lesión en raíces de plantas de pino.**

Plantas de pino provenientes de un vivero con producción en compost de corteza de pino y libre de *Cylindrocarpon* sp. (Vivero San Isidro de Forestal Millalemu) fueron transplantadas a macetas con tierra esterilizada, que se inoculó con suspensión de esporas y micelio preparadas desde Czapek y con *C. destructans* creciendo sobre trigo esterilizado, inoculado y humedecido. Por cada tratamiento de inoculación (16 plantas) en la mitad de las plantas se efectuó poda de raíces (8 plantas) antes del trasplante a las macetas.

Dieciséis plantas del primer tratamiento fueron inoculadas con suspensión de esporas, 8 sin poda y 8 con poda radicular. En los maceteros se colocó un volumen aproximado de 250 g. de suelo y sobre éste se roció el 50% (10 ml) del

volumen de inóculo destinado por planta. A continuación se depositó la planta con sustrato adherido a sus raíces, se agregó otro volumen similar de suelo alrededor de ella y se agregó el resto del volumen de inóculo. Finalmente se terminó rellenando el macetero con suelo (FIG. 7).

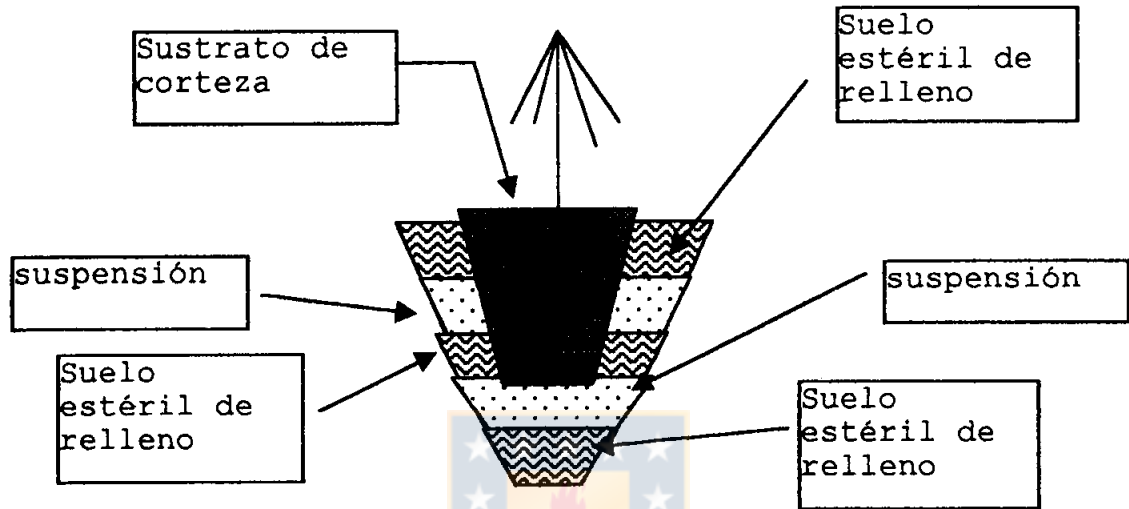


FIGURA 7. Esquema de inoculación de raíces con suspensión de *Cylindrocarpon destructans*

Las siguientes 16 plantas, con y sin poda, fueron inoculadas con granos de trigo colonizados por *C. destructans* distribuidos también a dos profundidades dentro de las macetas (FIG. 8).

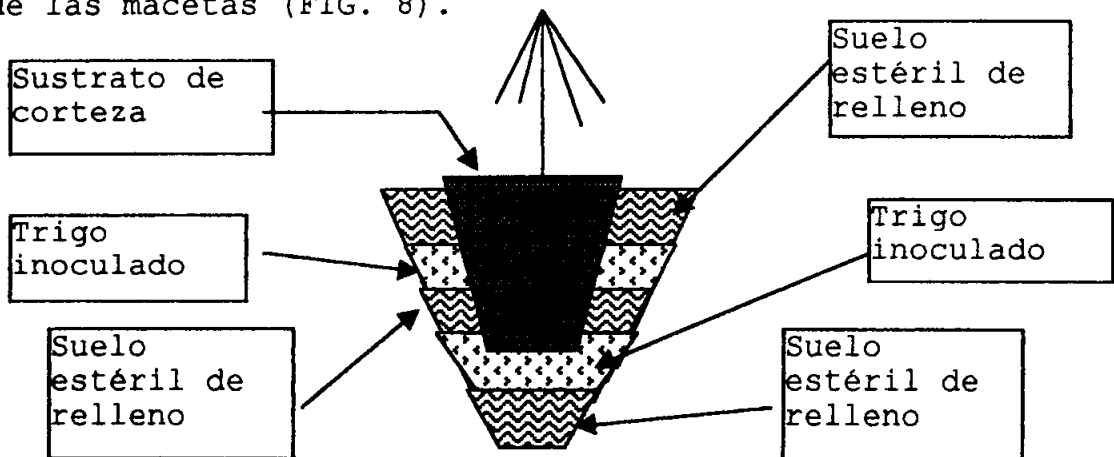


FIGURA 8. Esquema de inoculación de raíces con granos de trigo inoculado.



El inóculo se preparó agregando porciones de micelio de *C. destructans* creciendo en Czapek sobre trigo humedecido y esterilizado en autoclave en bolsa plástica hermética y mantenida en incubación a 25 °C. A las plantas testigos se les agregó sólo granos de trigo para homogeneizar las condiciones del ensayo, 8 sin poda y 8 con poda (FIG. 9).

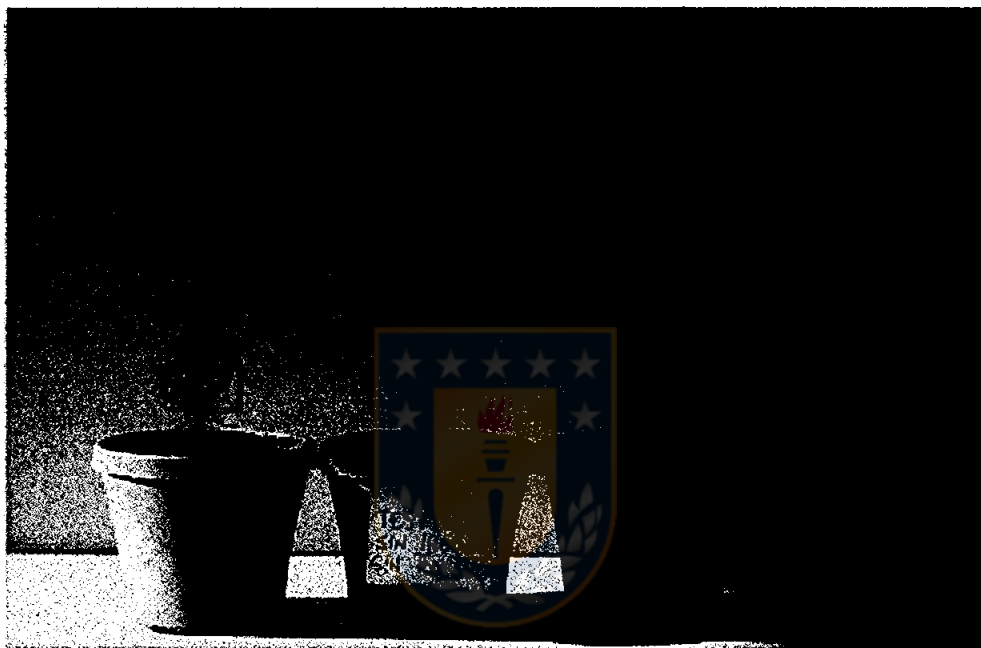


FIGURA 9. Plantas testigo, sin inoculación, sin poda.

Transcurridos 70 días desde el establecimiento del ensayo cada planta fue sacada de la maceta, lavada cuidadosamente con agua corriente y claramente identificada (FIG 10).

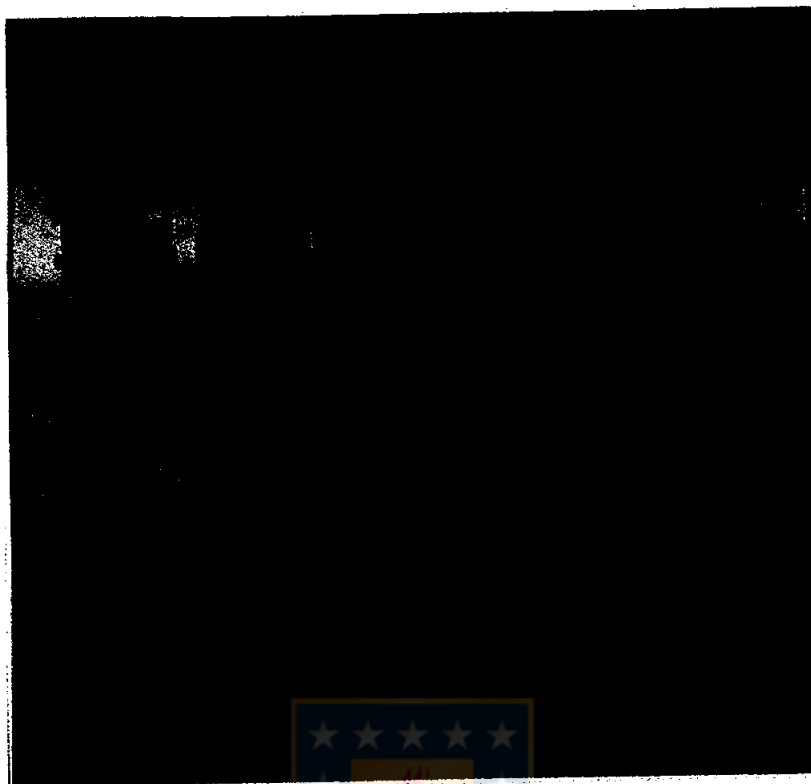


FIGURA 10. Extracción de plantas de las macetas.

Forbrig (1987), controló plantas de *Picea abies* infectadas con *Cylindrocarpon* sp. hasta los 53 días y obtuvo síntomas. Las raíces con nuevo crecimiento fueron dejadas en cápsulas estériles con agua, rotuladas y selladas para observar, al microscopio, crecimiento del hongo si lo hubiere en cultivo de agua.

**3.5.1 Evaluación de síntomas.** La evaluación de síntomas se realizó mediante la observación de cada planta y detección de clorosis y/o marchitez en follaje y necrosis en raíces o malformación de éstas.

**3.5.2 Efecto de *Cylindrocarpon* sp. en el crecimiento de raíces.** Las raíces fueron observadas y medidas bajo lupa. Las longitudes fueron presentadas como sumatoria de todas

las raíces medidas. La prueba F fue empleada en el análisis de varianza con  $\alpha = 0,05$ , para determinar diferencia significativa entre tratamientos.

**3.5.3 Efecto de *C. destructans* en el incremento en crecimiento en altura de plantas.** La altura de plantas total desde el cuello al ápice fue medida al inicio y final del ensayo, siendo la diferencia entre ambas el incremento en crecimiento logrado en el período. El análisis de resultados se realizó con la prueba F ( $\alpha = 0,05$ ).

**3.5.4 Efecto de *C. destructans* en el crecimiento en el diámetro de cuello de plantas.** Esta variable fue medida solamente al final del ensayo debido a la homogeneidad del material. Con la prueba F ( $\alpha = 0,05$ ) se analizaron los resultados.

**3.5.5 Porcentaje de colonización.** Las raíces mantenidas en agua fueron observadas al microscopio con aumento 10 X con el fin de detectar esporas o micelio de *Cylindrocarpon destructans*.

## **IV RESULTADOS Y DISCUSION**

### **4.1 Caracterización de *Cylindrocarpon* sp. proveniente del vivero.**

Según la clave de identificación para hongos de este género presentada por Samuels y Brayford (1990), la especie aislada desde las raíces traídas del vivero Bio-Bio corresponde a *C. destructans*.

Las mayores dimensiones de conidias se obtuvieron desde las raíces de plantas provenientes del vivero. La longitud promedio de macroconidias fue de 31,42 ( $\pm$  2,62) X 4  $\mu$ m (Tabla 1 del Apéndice), valor comprendido entre los datos por Samuels y Brayford (1990): (25-)29,4-36,3(-46) X (4-)5-7,5(-8)  $\mu$ m para macroconidias (1-7 septos) sobre tejido del huésped, pero mayoritariamente triseptadas en cultivo en agar.

### **4.2 Caracterización del crecimiento de *Cylindrocarpon destructans* en medios de cultivo artificiales.**

El crecimiento de *C. destructans* fue caracterizado en Czapek y AEM.

#### **4.2.1 Crecimiento en Czapek-dox-agar.** Cultivos realizados en Czapek presentaron una coloración del micelio entre blanco y blanco-amarillento con textura algodonosa.

Los esporodoquios se observaron a 35 días desde la inoculación y su tamaño medio fue de 60  $\mu$ m X 140  $\mu$ m.

La longitud promedio de microconidias fue de 12,27  $\mu$ m X 4  $\mu$ m (Tabla 2 del Apéndice). Las conidias se caracterizaron por ser cilíndricas, hialinas, generalmente 1-septadas.

Samuels y Brayford (1990) determinaron valores de 4-13 X 4-6  $\mu\text{m}$  para microconidias.

**4.2.2 Crecimiento en agar extracto de malta (AEM).** Desde un cultivo en AEM con 27 días desde la inoculación mantenido en incubación a 27 °C se realizaron observaciones de micelio y esporas de *Cylindrocarpon destructans* por comparación con la literatura. A 34 días desde la inoculación fueron observadas microconidias no septadas de *C. destructans* y clamidosporas, sin detectar presencia de macroconidias ni esporodoquios. Las características de las microconidias fueron similares a las presentadas por Samuels y Brayford (1990): cilíndricas, elipsoidales o globosas, 0-1 septa, hialinas. Cultivos realizados en AEM presentaron una coloración de micelio que varió entre lila y rosáceo.

### **4.3 Efecto del medio de cultivo en la velocidad de crecimiento de *Cylindrocarpon destructans*.**

Cultivos realizados en AEM alcanzaron 4,9 cm de incremento en diámetro y aquellos creciendo en Czapek alcanzaron los 5,4 cm en 4 días. La velocidad de crecimiento fue de 1,225 cm/d en AEM y 1,35 cm/d para Czapek (Tablas 3 y 3a del Apéndice). Valores similares obtuvo Taylor (1964), citado por Griffin (1972). Samuels y Brayford (1990), utilizaron PDA, CMA y Czapek para controlar crecimiento de los cultivos de *C. destructans*. Ellos lograron 30-70 mm en PDA en 10 días a 25 °C. Las diferencias en crecimiento de *C. destructans* en estos dos medios artificiales no fueron significativas.

#### 4.4 Inoculación directa a raíces. Crecimiento de raíces sobre agar-hongo.

**4.4.1 Evaluación de síntomas.** En observaciones realizadas a los sistemas radicales y follaje de las plantas no se detectaron síntomas asociados a la presencia de *C. destructans*: no se observó clorosis ni decoloración, necrosis o malformaciones en las raíces. En otros estudios de inoculación, como Montecchio y Causin (1995), sobre *Juglans regia*, lograron inducir síntomas sobre follaje: clorosis, marchitamiento y muerte. Los síntomas aparecieron sobre hojas más externas, pero eventualmente todo el follaje fue afectado. No hubo síntomas aparentes sobre ramas, tronco o cuello, pero extensa necrosis se desarrolló sobre las raíces.

Traquair y White (1992), observaron oscurecimiento y necrosis de la corteza interna y tejido cambial de árboles frutales infectados con *C. destructans*. Algunos autores señalan que las raíces se tornan de color café (Sutherland et al., 1989; Landis et al., 1989) y se produce deterioro de éstas (Landis et al., 1989; James y Gilligan, 1990) o pudrición de ellas (Hart, 1965 citado por Hepting, 1971; Sutherland et al., 1989; Zhang et al., 1991; y Gerlach, 1961, Booth, 1967 y Domsch et al., 1980 citados por Samuels y Brayford, 1990).

Otros autores señalan que *C. destructans* causó deformación de raíces (Sutherland et al., 1989) daño (James et al., 1995) y reducción de la capacidad de regeneración de éstas (Sutherland et al., 1989; Landis et al., 1989). Hart (1965), citado por Hepting (1971), señala que las raíces fueron gradualmente circundadas y muchas tuvieron zonas

necróticas de 2 a 4 pulgadas bajo la superficie de la tierra. El mismo autor cita a Bloomberg (1968), quién señala que la raíz pivotante es abultada y hay escasez de raíces laterales, acompañada de falta de crecimiento. Reeleder y Brammall (1994), lograron pudrición de raíces de plantas de ginseng de color café-anaranjado, después de inocular con *C. destructans*.

#### 4.4.2 Efecto de *C. destructans* en el crecimiento de raíces.

Los pesos promedio de raíces inoculadas con *C. destructans* se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Pesos promedio de raíces (g) con *C. destructans* creciendo en AEM, Czapek y Control.

Medio de cultivo	Peso promedio de raíces
AEM	1,89
Czapek	1,94
Control	2,48

Estos valores fueron obtenidos empleando la técnica del desplazamiento de volumen (Harrington et al., 1994), y no fueron afectados por los tratamientos de inoculación con el hongo *C. destructans*. El análisis estadístico de los datos es presentado en la Tabla 4 del Apéndice.

Se observa un menor crecimiento de raíces cuando éstas crecieron en presencia de *Cylindrocarpon destructans*, sin embargo este efecto no es estadísticamente diferente con el crecimiento de las raíces en ausencia del hongo y tampoco se observó síntomas en las raíces atribuibles a éste, aún cuando su presencia fue observada, sobre raíces de estas plantas, como micelio septado característico de *Cylindrocarpon* sp., con presencia de microconidias (4-6  $\mu\text{m}$ )

en aquellas sobre medio Czapek o como micelio septado y microconidias abundantes en AEM.

**4.4.3 Efecto de *Cylindrocarpon* sp. en el incremento en crecimiento en altura de plantas.** El incremento promedio en altura de plantas inoculadas con *C. destructans* en AEM y Czapek varió entre 7,5 cm y 8,7 cm respectivamente (Tabla 2).

Tabla 2. Incremento promedio en altura por tratamiento (cm)

Tratamiento de Inoculación	Incremento en altura (cm)
AEM	7,5
Czapek	8,7
Control	9,0

Aquellas en medio sin inocular crecieron 9,0 cm durante el período en estudio. Las diferencias alcanzadas no fueron significativas.

Los datos de altura inicial, final e incremento en crecimiento de plantas creciendo directamente sobre cultivos de *Cylindrocarpon* en AEM, Czapek y sobre sustrato no inoculado son presentados en la Tabla 5 del Apéndice y el respectivo análisis de varianza en la Tabla 5a.

**4.4.4 Efecto de *C. destructans* en el crecimiento en diámetro de cuello de plantas.** El incremento en crecimiento promedio es presentado en la Tabla 3.



Tabla 3. Incremento promedio en diámetro por tratamiento.

Tratamiento de Inoculación	Incremento en diámetro (mm)
AEM	0,233
Czapek	0,233
Control	0,225

Los incrementos en el crecimiento de diámetro de cuello fueron estadísticamente similares entre los tratamientos de inoculación con *C. destructans* y el testigo, indicando que esta variable no fue afectada por el hongo. Los diámetros de cuello inicial, final e incremento en crecimiento (mm) del mismo ensayo son presentados en la Tabla 6 del Apéndice y el respectivo análisis estadístico en la Tabla 6a.

#### 4.5 Inoculación de suelo con y sin lesión a raíces de plantas de pino.

##### 4.5.1 Evaluación de síntomas.

No se observaron síntomas asociados a la presencia de *C. destructans* en el follaje, raíces ni tallo.

Garret (1970), citado por Kope et al. (1996), señala que *Fusarium*, *Cylindrocarpon* y *Pythium* son conocidos por tener especies que son patógenos menores o parásitos facultativos, los cuales colonizaron raíces sin afectar adversamente el crecimiento en vástagos. Justificando la no presencia de síntomas asociados a la colonización por *C. destructans*.

Salt (1979), citado por Kope et al. (1996), determinó que esta especie sobrevive indefinidamente sobre raíces

jóvenes, pelos radicales y células corticales superficiales sin afectar adversamente la salud de las plantas. Esto es confirmado por los resultados obtenidos por Kope et al. (1996) y por el presente estudio.

**4.5.2 Efecto de *Cylindrocarpon destructans* en el crecimiento de raíces.** En la Tabla 4, se presentan los crecimientos promedios de las raíces inoculadas con *C. destructans*.

Tabla 4. Crecimiento promedio en longitud de raíces por tratamiento.

Tratamiento	Crecimiento Promedio en Longitud de Raíces (cm)
Susp. s/poda	7,44
Susp. c/poda	5,86
Trigo inoc. s/p.	7,16
Trigo inoc. c/p.	5,50
Control s/poda	6,44
Control c/poda	6,72

El crecimiento de raíces no fue afectado significativamente por la inoculación con *C. destructans*. En las Tablas 7 y 7a del Apéndice se presenta el análisis estadístico de los resultados.

**4.5.3 Efecto de *C. destructans* en el incremento en crecimiento en altura de plantas.** En la Tabla 5 se presentan los incrementos en crecimiento promedio en altura obtenidos por las plantas inoculadas con *C. destructans*.

Tabla 5. Incremento promedio en altura de plantas (cm) por tratamiento.

Tratamiento	Incremento en Altura Promedio (cm)
Susp. s/poda	12,54 a
Susp. c/poda	11,52 a
Trigo inoc. s/p.	9,68 a
Trigo inoc. c/p.	9,19 b
Control s/poda	10,21 a
Control c/poda	10,80 a

El incremento en altura fue afectado por la colonización de *C. destructans*. Al aplicar el Test de Intervalos múltiples de Duncan (Tabla 8b del Apéndice), la altura promedio obtenida con suspensión de inóculo, sin poda, fue significativamente mayor a la obtenida con trigo inoculado con poda de raíces. Para los dos tratamientos a raíces, con poda y sin poda, no hubo diferencia significativa. Los datos y su respectivo análisis estadístico son presentados en las Tablas 8, 8a y 8b del Apéndice.

**4.5.4 Efecto de *C. destructans* en el diámetro de cuello de plantas.** El diámetro de cuello de las plantas no fue afectado por la inoculación con *C. destructans* (Tabla 6).

Tabla 6. Diámetros de cuello de plantas medidos al final del ensayo (mm).

Tratamiento	Diámetro de cuello Promedio Final (mm)
Susp. s/poda	2,844
Susp. c/poda	2,838
Trigo inoc. s/p.	2,575
Trigo inoc. c/p.	2,425
Control s/poda	2,506
Control c/poda	2,838

El diámetro de cuello medido al final del ensayo es presentado en la Tabla 9 del Apéndice y el respectivo análisis estadístico en la Tabla 9a.

**4.5.5 Porcentaje de colonización de raíces.** El registro del número y porcentaje de plantas con presencia de conidióforos y aquellas con conidias de *C. destructans* es presentado en la Tabla 7.

Tabla 7. Número de plantas en que fueron detectados conidióforos y conidias.

Tratamiento	Nº plantas(*)	%	Nº plantas(**)	%
Susp. s/p	3	6,25	0	0
Susp. c/p	4	8,3	1	2,083
Tr.inoc.s/p	6	12,5	3	6,25
Tr.inoc.c/p	4♣	8,3	2	4,17
Control s/p	5♣	10,4	3	6,25
Control c/p	3♣	6,25	2	4,17

\*: con presencia de conidióforos

\*\* : con presencia de conidias de *C. destructans*.

♣ : con presencia de conidias de *Fusarium sp.*

Casi la totalidad de las plantas del ensayo presentaron conidias de *Cylindrocarpon destructans*, incluso aquellas sin inoculación, debido a que el material pudo haber sido contaminado durante el montaje del ensayo. Se observó, además, presencia de conidias de *Fusarium* sp. en las raíces.

El porcentaje de plantas colonizadas fue calculado dividiendo el número de plantas infectadas por el número total de plantas (Kope et al., 1996). Un 52% de ellas exhibieron conidióforos y un 23% presentaron conidias de *C. destructans*. La presencia de conidias de *Fusarium* sp., en algunas plantas, explica que en el tratamiento con suspensión de inóculo sin poda se hallaron conidióforos y no se detectaron conidias de *Cylindrocarpon* (Tabla 7).

Griffin (1972), señala que no existe una relación estrecha entre el crecimiento in vitro y en el suelo, debido a que existen organismos que interactúan entre si. Este es el caso de *Fusarium oxysporum* y *C. radícolica* en la colonización saprofítica de raíces.

## V CONCLUSIONES

1. *Cylindrocarpon destructans* se asocia a raíces pero, bajo las condiciones del ensayo, no fue capaz de producir síntomas asociados con la colonización de dicha especie en viveros forestales.
2. *C. destructans* no es el organismo causal responsable de la pérdida de plantas en los viveros.
3. El crecimiento en diámetro de cuello, peso de raíces y longitud de éstas, no fue afectado significativamente por la presencia de *C. destructans* en las plantas.



## VI RESUMEN

*Cylindrocarpon destructans* ha sido frecuentemente observado sólo o en asociación con una especie de *Phytophthora* sobre raíces deterioradas de plántulas muertas de *Pinus radiata* o sobre plántulas mostrando síntomas como clorosis, marchitez o falta de crecimiento.

*C. destructans* fue aislado desde raíces de pino y su crecimiento ensayado sobre AEM y Czapek Dox agar.

Dos ensayos fueron realizados con el objeto de probar la patogenicidad de *C. destructans*. En el primer ensayo, plantas de *Pinus radiata* creciendo en tubetes con corteza de pino fueron colocadas dentro de macetas conteniendo un cultivo puro del hongo en forma tal que las nuevas raíces desarrolladas crecieran sobre los cultivos. En un segundo ensayo, plantas de pino sanas creciendo en tubetes fueron transplantadas a macetas con suelo previamente esterilizado e inoculado ya sea con granos de trigo colonizado con *C. destructans* o suspensión de micelio y conidias.

Los ensayos fueron evaluados midiendo los sistemas radiculares, crecimiento aéreo y síntomas. El crecimiento no fue afectado y síntomas a raíces o tallos no fueron observados, aún cuando *C. destructans* fue reaislado desde las nuevas raíces.

## VII SUMMARY

*Cylindrocarpon destructans* has been frequently observed, either alone or in association with a species of *Phytophthora*, on decayed roots of dying radiata pine seedlings or on seedlings showing symptoms like chlorosis, wilting or stuning.

*C. destructans* was isolated from pine roots and its growth assessed on AEM and CzapekDA.

Two trials were carried out in order to assess the pathogenicity of *C. destructans*. In the first trial radiata pine seedlings growing in tubes filled with pine bark media were put inside pots bearing a pure culture of the fungus inside in such a way that new developed pine roots grew on the cultures. In a second trial healthy pine seedlings growing in containers were transplanted to pots filled with previously sterilized soil and inoculated either with wheat colonized with *C. destructans* or mycelium and conidia suspension.

Trials were evaluated by measuring root systems, aerial growth and symptoms. Growth was not affected and no root or shoot symptoms were observed, even though *C. destructans* was reisolated from small roots.



## VIII BIBLIOGRAFIA

- Atanasovici, G. (1988). Evolución y desarrollo de la enfermedad "muerte apical" en *Pinus radiata* D. Don. Tesis de Grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales. Universidad de Concepción. Chillán. Chile.
- Axelrood, P.E.; Radley, R. 1991. Biological control of *Fusarium* on Douglas fir seedlings. Bulletin-SROP. 14(8): 85-87. [CAB Abstr. in CD Rom: 1991, password: *Cylindrocarpon*].
- Chakravarty, P.; Unestam, T. 1987. Mycorrhizal fungi prevent disease in stressed pine seedlings. J. of Phytopathol. 118(4): 335-340. [Forestry Abstr. 49:1129. 1988]
- Dorworth, C.E. 1990. Mycoherbicides for forest weed biocontrol- the P.F.C. enhancement process. F.R.I. Bulletin N° 155, 116-119. IN Proceedings of an International conference held at the Forest Research Institute, 25-27 July 1989, Rotorua, New Zealand. [CAB Abstr. in CD Rom: 1990, password: *Cylindrocarpon*].
- Elouard, C. 1989. Notes on some *Fusarium* and *Cylindrocarpon* on Dipterocarpaceas of Indonesia. Biotropia N° 3. 25-40. [CAB Abstr. in CD Rom: 1990, password: *Cylindrocarpon*].
- Forbes, G.A. and Davet, P. 1991. Association of soyabean root mycoflora with root nodulation, root necrosis and plant fresh weight. Annals of Applied Biology 118(3):

533-541. [CAB Abstr. in CD Rom: 1991, password: *Cylindrocarpon*].

Forbrig, R. 1987. Anatomical and histological investigation on Norway spruce seedlings infected by fungi. *Allgemeine Forst-und Jagdzeitung*. 158(11-12): 222-229. [Forestry Abstr. 49:5415. 1988]

Griffin, O.M. 1972. Other soil physical factors. pp 144-145. En: *Ecology of soil fungi*. London: Chapman and Hall Ltd. 193 pp.

Harrington, J.T.; Mexal, J.G.; and Fisher, J.T. 1994. Volume displacement provides a quick and accurate way to quantify new root production. *Tree Planters' Notes* 45(3): 121-124.

Hepting, G.H. 1971. Diseases of forest and shade trees of the United States. *Agric. Handbook N° 386*. USDA Forest Service. Washington, D.C. 658 p.

Houston, D.R. 1994. Major new tree disease epidemics: beetch bark disease. *Annual Review of Phytopathology* 32: 75-87.

James, J.K.; Dumroese, R.K.; Wenny, D.L.; Schmidt, W.C. (Ed.); McDonald, K.J. 1995. Management of fungal diseases of western larch seed and seedlings. General Technical Report Intermountain Research Station, USDA Forest Service, N°. INT-GTR-319, 300-306; 63 ref. [CAB Abstr. in CD Rom: 1995, password: *Cylindrocarpon*].

- James, R.L.; Gilligan, C.J. 1988. Fungal colonization of styroblock containers, Plum Creek Nursery, Pablo, Montana. Report Northern Region, USDA Forest Service. 88(10). 8p. [CAB Abstr. in CD Rom: 1992, password: *Cylindrocarpon*].
- James, R.L.; Gilligan, C.J. 1990. Root decay of container-grown white pine seedlings, Plum Creek Nursery, Pablo, Montana. Forest Pest Management Report Northern Region, USDA Forest Service. 90(10). 18 p. [CAB Abstr. in CD Rom: 1993-1994, password: *Cylindrocarpon*].
- James, R.L.; Woollen, R.L. 1989. An evaluation of the efficacy of hot water-chemical treatments to clean styroblock containers, Champions Timberlands Nursery, Plains, Montana. Report Northern Region, USDA Forest Service. 89(5). 8 p. [CAB Abstr. in CD Rom: 1992, password: *Cylindrocarpon*].
- Kessler, W. 1988. Root rot in young plants on oak and beech caused by *Cylindrocarpon destructans*. Sozialistische Forstwirtschaft. 38(4): 110-111. [Forestry Abstr. 51:6512. 1990].
- Kope, H.H.; Axelrood, P.E.; Sutherland, J. and Reddy, M.S. 1996. Prevalence and incidence of the root-inhabiting fungi, *Fusarium*, *Cylindrocarpon* and *Pythium*, on container-growth Douglas-fir and spruce seedlings in British Columbia. New Forests 12: 55-67.
- Kunstmann, E.; Osorio, M.; Peredo, H. 1986. Mycological identifications in forest nurseries in region X of Chile. Bosque 7(1): 51-56.

- Landis, T.D.; Tinus, R.W.; McDonald, S.E.; Barnett, J.P. 1989. The biological component: Nursery Pest and Micorrhizae. Volumen 5, The container tree nursery manual. Agriculture handbook 674. Washington, D.C: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, 171 p.
- Lévesque C.A. and Rahe J.E. 1992. Herbicide interactions with fungal root pathogens, with special reference to glyphosate. Annual Review of Phytopathology 30: 579-602.
- Lilja, A.; Lilja, S.; Poteri, M.; Ziren, L. 1992. Conifer seedlings root fungi and root dieback in Finnish nurseries. Scandinavian Journal of Forest Research 7(4): 547-556. [CAB Abstr. in CD Rom: 1993-1994, password: *Cylindrocarpon*].
- Litterick, A.M.; Holmes, S.J. 1994. Integrated control of root diseases on ornamental ericaceous plants. Brighton Crop Protection conference, Pests and Diseases. Vol. 2: 807-810. [CAB Abstr. in CD Rom: 1993-1994, password: *Cylindrocarpon*].
- Mankau, R. 1980. Biological control of nematode pest by natural enemies. Annual Review of Phytopathology 18: 415-40.
- Marx, D.H. 1972. Ectomycorrhizae as biological deterrents to pathogenic root infections. Annual Review of Phytopathology 10: 429-454.

- Montecchio, L.; Causin, R. 1995. First report of *Cylindrocarpon destructans* on English Walnut in Italy. *Plant Dis.* 79(9): 967.
- Potter, J.W.; Wainman, L.I.; Juzwik, J. 1988. Nematode management in conifer seedling nurseries: a progress report. In: Proceedings of the 34th Annual Meeting of the Canadian Pest Management Society, August 24-26, 1987, London, Ontario. 1988, 92-97. [CAB Abstr. in CD Rom: 1992, password: *Cylindrocarpon*].
- Reeleder, R.D.; Brammall, R.A. 1994. Pathogenicity of *Pythium* spp, *Cylindrocarpon destructans*, and *Rhizoctonia solani* to seedlings in Ontario. *Can. J. Plant. Pathol.* 16: 311-316. (Abstract de Internet).
- Ruehle, J.L. 1973. Nematodes and forest trees- types of damage to tree roots. *Annual Review of Phytopathology* 11: 99-118.
- Samuels, G.J. and Brayford, D. 1990. Variation in *Nectria radiculicola* and its anamorph, *Cylindrocarpon destructans*. *Mycol. Res.* 94(4): 433-442.
- Soukup, F. 1994. Fungal pathogens of *Picea pungens* in the Czech Republic. *Zpravy LesnickehoVyzkumu* 39(1): 15-18, 1994 [CAB Abstr. in CD Rom: 1993-1994, password: *Cylindrocarpon*].
- Sutherland, J.R.; Shrimpton, G.M.; Sturrok, R.N. 1989. Diseases and insect in British Columbia forest seedling nurseries. Province of British Columbia, Ministry of Forest and Forets, Canadá, Vancouver, B.C. 85 p.

- Traquair, J.A. 1995 Fungal biocontrol of root diseases: endomycorrhizal suppression of *Cylindrocarpon* root rot. Can. J. Bot. 73 (suppl. 1): in press. (Abstract de Internet)
- Traquair, J.A.; White, G.P. 1992. *Cylindrocarpon* rot of fruit trees in cold storage. Canadian J. Plant Pathology 14: 310-314. (Abstract de Internet).
- Wardlaw, T.; Phillips, T. 1990. Nursery diseases and their management at the Forestry Commission Nursery, Perth. Tasforests. 2(1): 21-26, 1990. [CAB Abstr. in CD Rom: 1991, password: *Cylindrocarpon*].
- Zhang, T.Y.; Li, G.M.; Chen, W.Q.; Chen, J.H.; Qian, X.C. 1991. Aetiological study of root rust rot in *Panax quinquefolius*. Acta Universitatis Agriculturae Boreali Occidentalis. 19(1): 43-48, 1991. [CAB Abstr. in CD Rom: 1992, password: *Cylindrocarpon*].

## IX APENDICE

Tabla 1. Longitud de conidias de *Cylindrocarpon* sp. con 40X ( $\mu\text{m}$ ). Origen: Provenientes de raíces de plantas del vivero Bio-Bio (Fecha 30-08-96).

N°	Longitud ( $\mu\text{m}$ )	N°	Longitud ( $\mu\text{m}$ )	N°	Longitud ( $\mu\text{m}$ )
1	30	11	32	21	31
2	34	12	32	22	35
3	26	13	28	23	33
4	32	14	30	24	32
5	30	15	32	25	38
6	31	16	30	26	34
7	34	17	34	27	34
8	31	18	28	28	33
9	33	19	30	29	35
10	36	20	33	30	33

N°	Longitud ( $\mu\text{m}$ )	N°	Longitud ( $\mu\text{m}$ )
31	30	41	32
32	28	42	28
33	27	43	33
34	30	44	28
35	28	45	30
36	28	46	29
37	33	47	30
38	32	48	28
39	30	49	34
40	32	50	37

Promedio: 31,42

Desv. estándar: 2,6733

Tabla 2. Medición de conidias de *Cylindrocarpon* sp. ( $\mu\text{m}$ ).  
 Fecha: 19-11-96. Cultivo: M1-9-9-96 C

N°	Longitud ( $\mu\text{m}$ )	N°	Longitud ( $\mu\text{m}$ )	N°	Longitud ( $\mu\text{m}$ )
1	12	11	12	21	12
2	6	12	16	22	14
3	8	13	18	23	16
4	6	14	14	24	6
5	16	15	16	25	8
6	16	16	14	26	18
7	8	17	14	27	6
8	16	18	12	28	8
9	10	19	12	29	14
10	14	20	10	30	16

Promedio: 12,267

Desv. estándar: 3,814

Tabla 3. Crecimiento radial (mm) de *C. destructans* en dos medios de cultivo artificial.

Fecha de inoculación. 09/09/96

Fecha de Medición: 12/Septiembre/1996	
AEM	Czapek
17	15,5
12,75	12,25
10,5	15,5
14,25	17,25
16,25	17,25

Fecha de Medición: 16/Septiembre/1996	
AEM	Czapek
36	44
40,25	45,5
39,25	43,75
40,25	42,25
37,75	38



Tabla 3a. Incremento en crecimiento radial de colonias de *C. destructans* en medios de cultivo artificiales.

Crecimiento	AEM	Czapek
1	19,0	28,5
2	27,5	33,25
3	28,75	28,25
4	26,0	25,0
5	21,5	20,75
Total (mm)	122,75	135,75
Promedio (mm)	24,55	27,15
Diámetro. (cm)	4,9	5,4
Velocidad (cm/d)	1,225	1,35

F. de V.	SC	gl	MSC	Fm	Ft (0,05)
Tratamiento	16,9	1	16,9	0,876	5,32
EE	154,375	8	19,3		
Total	171,275	9			

Nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$ .

Tabla 4. Análisis de Varianza para peso de raíces (g) por tratamiento.

Tratamiento	AEM	Czapek	Control	
	2,13	2,0	3,13	
	1,63	2,0	2,23	
	1,93	1,83	1,97	
			2,6	
Total (g)	5,69	5,83	9,93	21,45

F. de V.	SC	gl	MSC	Fm	Ft (0,05)
Tratam.	0,7626	2	0,3813	2,9489	4,74
EE	0,9054	7	0,1293		
Total	1,668	9			

Nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$ .

Tabla 5. Altura inicial, final e incremento (cm) en altura por tratamiento.

	Alt. Inicial (Ai) (cm)	Alt. final (Af) (cm)	Incremento (cm)
Tratamiento	1/10/96	3/12/96	Af-Ai
AEM	24,0	33,0	9,0
AEM	24,5	31,0	6,5
AEM	23,5	30,5	7,0
Czapek	28,5	35,0	6,5
Czapek	21,0	30,0	9,0
Czapek	23,0	33,5	10,5
Control	23,0	31,5	8,5
Control	26,0	36,0	10,0
Control	24,0	33,0	9,0
Control	26,5	35,0	8,5

Tabla 5a. Análisis de varianza para incremento en altura de plantas por tratamiento.

Tratamiento	Total (cm)
AEM	22,5
Czapek	26,0
Control	36,0
	84,5

F. de V.	SC	Gl	MSC	Fm	Ft(0,05)
Tratamiento	4,0583	2	2,029	1,078	5,32
EE	13,1667	7	1,881		
Total	17,225	9			

Nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$ .

Tabla 6. Diámetro de cuello inicial, final e incremento por tratamiento.

Tratam.	Diám.inicial (mm) (Di)	Diám.final (mm) (Df)	Incremento (mm)
	1/10/96	3/10/96	Df-Di
Czapek	4,3	4,3	0
Czapek	3,4	4,0	0,6
Czapek	3,9	4,0	0,1
AEM	3,5	4,1	0,6
AEM	3,4	3,5	0,1
AEM	3,5	3,5	0
Control	4,1	4,3	0,2
Control	4,2	4,3	0,1
Control	3,8	4,0	0,2
Control	4,1	4,5	0,4

Tabla 6a. Análisis de varianza para incremento en diámetro de cuello por tratamiento.

Tratamiento	Total (mm)
AEM	0,7
Czapek	0,7
Control	0,9
	2,3

F. de V.	SC	gl	MSC	Fm	Ft (0,05)
Trat.	0,00017	2	0,000085	0,001291	4,74
EE	0,46083	7	0,06583		
Total	0,461	9	0,5122		

Nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$ .

Tabla 7. Longitud promedio y total de raíces por tratamiento (cm)

Trigo inoculado		Suspensión		Control	
S/P	C/P	S/P	C/P	S/P	C/P
6,67	4,12	4,63	2,2	7,88	4,53
8,35	6,93	6,18	5,72	6,66	5,88
6,38	4,96	7,22	9,48	7,86	5,64
7,96	5,25	9,33	4,36	5,35	7,36
8,12	5,82	10,02	5,79	4,13	6,12
6,68	4,79	4,90	6,02	3,52	7,40
9,74	6,12	7,32	7,20	11,06	7,42
5,62	8,93	7,71	3,20	5,08	9,37
<b>59,52</b>	<b>46,92</b>	<b>57,31</b>	<b>43,97</b>	<b>51,54</b>	<b>53,72</b>

Tabla 7a. Análisis de varianza para longitud de raíces por tratamiento.

	a1	a2	a3	Tot.
b1	59,52	57,31	51,54	168,37
b2	46,92	43,97	53,72	144,61
Tot.	106,44	101,28	105,26	312,98

F. de V.	SC	gl.	MSC	Fm	Ft (0,05)
Trat.	22,2555	5	4,4511	1,2585	2,44
A	0,9137	2	0,4569	0,1292	3,22
B	11,7612	1	11,7612	3,3253	4,07
AB	9,5806	2	4,7903	1,3544	3,22
EE	148,5479	42	3,5369		
Tot.	170,8034	47			

Nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$ .

Tabla 8. Incremento promedio y total en altura por tratamiento (cm)

Suspensión		Trigo inoculado		Control	
S/P	C/P	S/P	C/P	S/P	C/P
6,5	8,5	8,5	5,0	8,5	9,0
15,0	11,5	7,0	7,0	14,0	9,8
13,0	13,0	12,0	14,5	9,5	13,0
17,5	12,5	13,5	11,0	10,7	13,5
10,3	8,1	9,5	11,5	12,0	7,5
14,0	15,5	10,3	12,0	9,0	10,5
13,0	10,3	8,6	6,0	10,5	12,1
11,0	12,8	8,0	6,5	7,5	11,0
<b>100,3</b>	<b>92,2</b>	<b>77,4</b>	<b>73,5</b>	<b>81,7</b>	<b>86,4</b>

S/P: sin poda

C/P: con poda

Tabla 8a. Análisis de varianza para incrementos (cm) en altura de plantas por tratamiento.

	a1	a2	a3	Total
b1	100,3	77,4	81,7	259,4
b2	92,2	73,5	86,4	252,1
Total	192,5	150,9	168,1	511,5

F. de V.	SC	gl	MSC	Fm	Ft(0,05)
Tratam.	61,052	5	12,2104	1,7288	2,44
A	54,62	2	27,31	3,8666	*3,22
B	1,1102	1	1,1102	0,1572	4,07
AB	5,3218	2	2,6609	0,3767	3,22
EE	296,646	42	7,063		
Total	357,698				

Nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$ .

Tabla 8b. Test de Intervalos múltiples de Duncan para incremento promedio (cm) en altura de plantas por tratamiento.

	y1	y2	y6	y5	y3
y4	3,35*	2,3375	1,6125	1,025	0,4875
y3	2,8625	1,85	1,125	0,5375	
y5	2,325	1,3125	0,5875		
y6	1,7375	0,725			
y2	1,0125				
y1					

\* Significativo a un nivel de confianza de  $\alpha= 0,05$ .

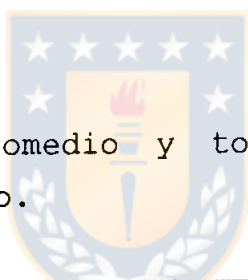


Tabla 9. Diámetro promedio y total (mm) de cuello de plantas por tratamiento.

Suspensión		Trigo inoculado		Control	
S/P	C/P	S/P	C/P	S/P	C/P
2,5	2,5	2,65	2,65	2,95	2,6
2,4	2,35	1,8	2,5	2,5	2,85
3,6	2,85	3,05	3,05	2,0	2,55
2,8	2,4	2,8	2,55	2,4	3,65
2,65	2,9	2,95	2,2	2,8	2,9
2,5	3,5	2,6	2,25	2,45	2,1
3,35	3,7	2,4	2,35	2,55	3,25
2,95	2,5	2,95	1,85	2,4	2,8
<b>22,75</b>	<b>22,7</b>	<b>21,2</b>	<b>19,4</b>	<b>20,05</b>	<b>22,7</b>

Tabla 9a. Análisis de varianza para diámetro final de cuello de plantas.

	a1	a2	a3	Total
b1	22,75	21,2	20,05	64
b2	22,7	19,4	22,7	64,8
Total	45,45	40,6	42,75	128,8

F. de V.	SC	gl	MSC	Fm	Ft (0,05)
Tratamiento	1,3798	5	0,27596	1,594	2,44
A	0,7382	2	0,3691	2,1323	3,22
B	0,01333	1	0,01333	0,077	4,07
AB	0,6283	2	0,31415	1,8148	3,22
EE	7,2719	42	0,1731		
Total	8,6517	47			

Nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$ .

