



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES  
INGENIERÍA FORESTAL

**PATOGENICIDAD DE ESPECIES RIBEREÑAS DE *Phytophthora* EN  
PLANTAS DE *Nothofagus dombeyi* (Mirb).**

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad de  
Concepción para otorgar al título profesional de Ingeniera Forestal

Por: Paulina Alejandra Tabilo Moraga

Profesor Guía: Eugenio Alfredo Sanfuentes Von Stowasser

Agosto, 2024

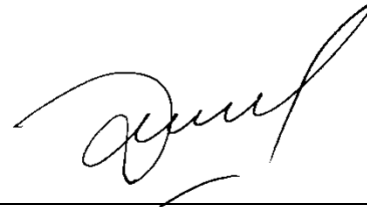
Concepción, Chile

© 2024, Paulina Alejandra Tabilo Moraga

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento

**PATOGENICIDAD DE ESPECIES RIBEREÑAS DE *Phytophthora*  
EN PLANTAS DE *Nothofagus dombeyi* (Mirb).**

Profesor Guía



---

Eugenio Alfredo Sanfuentes Von Stowasser

Profesor Titular

Ingeniero Forestal, Dr.



Profesor Co-Guía

---

Valeria Loreto Arriagada González

Colaboradora Docente

Bioingeniera, Dra (c).

## **DEDICATORIA**

A mis padres y familia

que me apoyaron en este recorrido académico.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco de todo corazón a mis padres, Alejandro y Cecilia, cuyo apoyo incondicional fue fundamental para alcanzar este logro. A mis hermanos, cuya preocupación y cariño siempre me acompañaron en este camino.

A mis queridos abuelos, Manuel y Rosa, quienes, a pesar de la distancia, me brindaron su cálido hogar y amor incondicional. A mi tío Esteban, por su amabilidad y disposición para ayudarme en las labores manuales que surgieron durante el proceso.

A mi pareja, cuya presencia, fue un gran apoyo durante el desarrollo de esta investigación.

Agradezco al profesor Eugenio por permitirme formar parte de su equipo en el laboratorio de Patología Forestal y por su constante guía y apoyo en momentos clave.

A Angella, Milena y Valeria, les agradezco infinitamente por su paciencia, dedicación y valiosa enseñanza durante todo el proceso de la investigación.

Finalmente, quiero agradecer el apoyo de todas las personas que de una u otra manera contribuyeron a la culminación de este importante logro.

## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	ix
ABSTRACT	1
I. ¡Error! Marcador no definido.	
II. ¡Error! Marcador no definido.	
III. ¡Error! Marcador no definido.	
IV. 16	
V. 20	
VI. ¡Error! Marcador no definido.	

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tratamientos empleados para ensayo de patogenicidad en plantas de <i>Nothofagus dombeyi</i> .	3
Tabla 2. Fecha de actividades realizadas durante el ensayo de patogenicidad en plantas de <i>Nothofagus dombeyi</i> .	5
Tabla 3. Volumen de las raíces de plantas de <i>Nothofagus dombeyi</i> en substrato infestado con diferentes especies de <i>Phytophthora</i> .	12
Tabla 4. Incidencia y colonización de raíces por <i>Phytophthora</i> spp. en plantas de <i>Nothofagus dombeyi</i> .	13
Tabla 5. Incidencia y colonización de raíces por <i>Pythium</i> sp. en plantas de <i>Nothofagus dombeyi</i> .	15

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Figura 1. Escala diagramática de severidad de necrosis en follaje de las plantas de *Nothofagus dombeyi*: (G1) 0%, (G2) 1-25%, (G3) 26-50%, (G4) 51-75% y (G5) 76-100%. 7

Figura 2. Síntomas en plantas de *Nothofagus dombeyi*. Clorosis y amarillamiento, en tratamiento de sustrato infestado con *Phytophthora chlamydospora* (A); Decoloración y necrosis marginal asociado al ataque por Trips (B y C). 9

Figura 3. Índice de severidad de síntomas foliares en plantas de *Nothofagus dombeyi*, con infestación de sustrato con *Phytophthora* spp y controles, después de 10 semanas de ensayo. Barras indican error estándar de la media. 10

Figura 4. Síntomas en follaje y raíces en plantas de *Nothofagus dombeyi* a la décima semana de la infestación del sustrato con *Phytophthora* spp., y en controles. Síntomas en follaje (primera fila) y en la raíz de las plantas (segunda fila). Control absoluto (A y H); control positivo *Phytophthora cinnamomi* (B y I), *P. gonapodyides* (C y J), *P. amnicola* (D y K), *P. aysenensis* (E y L), *P. chlamydospora* (F y M) y *P. thermophila* (G y N). 11

Figura 5. *Phytophthora gonapodyides*. (A) Colonias en forma de roseta en medio PDA; (B) hinchazones hifales, (C) esporangio no papilado, con forma elipsoidal y (D) esporangio vacío con proliferación interna. 13

Figura 6. *Phytophthora thermophila*. (A) Colonia en forma de petaloide en medio PDA; (B) hinchazones hifales globosas e hifas principales onduladas. 14

Figura 7. *Pythium* sp. (A) Colonia algodonosa en medio PDA; (B) clamidosporas y micelio cenocítico. 15

## RESUMEN

Especies de *Phytophthora* son conocidas por causar enfermedades devastadoras en ecosistemas forestales a nivel mundial. En Chile, se ha identificado especies de *Phytophthora* afectando especies forestales nativas, siendo frecuente la detección en bosques de *Nothofagus dombeyi* (coihue). En recientes estudios, han sido colectadas diferentes especies de *Phytophthora* desde cursos de agua, designadas como “ribereñas”, en predios donde se observa mortalidad en arboles de coihue, desconociendo su rol como posibles agentes patógenos. Este grupo de oomicetos tienen la capacidad de diseminarse fácilmente por medios acuáticos. El objetivo de la investigación fue determinar la patogenicidad de especies ribereñas de *Phytophthora* spp., en plantas de *Nothofagus dombeyi*.

El ensayo de patogenicidad se llevó a cabo en plantas de *N. dombeyi* de un año de edad. La inoculación se realizó mediante infestación de substrato con aislados de *P. amnicola*, *P. aysenensis*, *P. chlamydospora*, *P. gonapodyides* y *P. thermophila*. Las plantas fueron evaluadas durante diez semanas, registrándose los síntomas en la parte aérea y al final del ensayo se cuantificó el volumen de raíces y aislamientos de *Phytophthora* evaluadas desde las raíces de las plantas. El ensayo fue realizado con un diseño experimental completamente al azar, con seis repeticiones por cada especie de *Phytophthora*, además de los tratamientos control.

Durante el ensayo, algunas plantas presentaron una leve clorosis y defoliación, con una severidad que no superó el 25%. No se observó necrosis foliar ni mortalidad en las plantas de *N. dombeyi* con substrato infestado con especies de *Phytophthora*, así como en los tratamientos control. Además, no se evidenció una reducción en el volumen de las raíces. La colonización de *Phytophthora* en las raíces de las plantas se constató solo para las especies *P. gonapodyides* y *P. thermophila*.

Los resultados del ensayo no permitieron determinar la patogenicidad de las especies de *Phytophthora* en plantas de *N. dombeyi*. Por lo que se considera necesario realizar nuevos ensayos para determinar la patogenicidad de las especies ribereñas en *N. dombeyi*.

**Palabras clave:** Patógenos forestales, *Pythium* sp., *Phytophthora* ribereñas, oomicetos patógenos.

## ABSTRACT

*Phytophthora* species are known to cause devastating diseases in forest ecosystems worldwide. In Chile, *Phytophthora* species have been identified affecting native forest species, being frequently detected in forests of *Nothofagus dombeyi* (coihue). In recent studies, different species of *Phytophthora* have been collected from watercourses, designated as “riparian”, in areas where mortality is observed in coihue trees, not knowing their role as possible pathogens. This group of oomycetes has the ability to spread easily through aquatic environments. The objective of the research was to determine the pathogenicity of riparian species of *Phytophthora* spp. on *Nothofagus dombeyi* plants.

The pathogenicity test was carried out on one years old *N. dombeyi* plants. Inoculation was done by substrate infestation with isolates of *P. amnicola*, *P. aysenensis*, *P. chlamydospora*, *P. gonapodyides* and *P. thermophila*. The plants were evaluated for ten weeks, recording the symptoms in the aerial part and at the end of the trial the volume of roots and isolates of *Phytophthora* evaluated from the roots of the plants were quantified. The trial was conducted with a completely randomized experimental design, with six replicates for each *Phytophthora* species, in addition to the control treatments.

During the trial some plants showed slight chlorosis and defoliation, with a severity that did not exceed 25%. No leaf necrosis or mortality was observed in *N. dombeyi* plants infested with substrate with *Phytophthora* species, as well as in the control treatments. In addition, no reduction in root volume was evident. *Phytophthora* colonization of plant roots was found only for *P. gonapodyides* and *P. thermophila* species.

The test results did not allow determining the pathogenicity of *Phytophthora* species on *N. dombeyi* plants. Therefore, it is considered necessary to carry out new test to determine the pathogenicity of riparian species on *N. dombeyi*.

Key words: Forest pathogens, *Pythium* sp., riparian *Phytophthora*, pathogenic oomycetes.

## I. INTRODUCCIÓN

El coihue, es una especie que se encuentra dentro del tipo forestal Roble-Raulí-Coihue (RORACO), el cual domina los bosques templados de Chile y abarca un 1,65 millón de hectáreas (CONAF, 2021). Su localización geográfica se extiende entre los paralelos 33° y 48° S (Donoso, 1987), presentándose tanto en la Cordillera de los Andes como en la Cordillera de la Costa (Gutiérrez, 2017). La madera de coihue es fácil de trabajar y tiene diferentes usos, como madera estructural, muebles, embarcaciones y durmientes (Díaz, 1987). Sin embargo, debido a problemas sanitarios, su participación en la industria del aserrío es baja, con una importante pérdida de volumen aprovechable después de procesar los fustes (Sandoval, 1997).

Entre los principales agentes que afectan el estado sanitario de *N. dombeyi* se encuentran los insectos xilófagos que taladran la madera, como *Proholopterus chilensis* (Coleóptero: Cerambycidae) que provoca daños en el fuste (Kruuse, 1981), y *Notiopostega atrata* (Lepidóptera: Opostegidae) que forma galerías en la zona cambial del fuste (Baldini *et al.*, 1994). Además, los insectos defoliadores como *Polythyzana cineransces* (Lepidóptera: Saturniidae) cuyas larvas se alimentan del follaje (Baldini *et al.* 1994).

Los hongos patógenos también pueden desempeñar un papel importante en el estado sanitario de *N. dombeyi*. Especies de *Armillaria* causan pudrición en las raíces y de cuello; *Fistulina hepática* y *Phellinus igniarius* provocan la pudrición del fuste y ramas (Deschamps, 1980); y recientemente se ha detectado la presencia de especies de *Phytophthora* asociadas al declinio de varias especies arbóreas en bosques valdivianos (Jung *et al.*, 2018).

En la última década, se ha observado un aumento en el número de especies descritas en el género *Phytophthora*, llegando a identificarse 152 especies (Soto *et al.*, 2017). Este número probablemente seguirá aumentando conforme se realicen más estudios en bosques y cuerpos de agua (Soto *et al.*, 2017). Entre las especies más dañinas que afectan los ecosistemas forestales del mundo se encuentra *P. cinnamomi*, que ha causado devastadoras pérdidas en bosques de *Eucalyptus marginata* en Australia Occidental (Jung *et al.*, 2013). Además, otras especies de este género han sido asociadas al deterioro de bosques y la mortalidad de árboles en Europa (Jung *et al.*, 2000), como la muerte súbita del Roble (*Quercus* sp.) en América del Norte causada por *P. ramorum* (Rizzo *et al.*, 2002), el mal de ciprés (*Austrocedrus chilensis*) en Argentina causado por *P. austrocedrae* (Greslebin, Hansen y Sutton, 2007) y la muerte de Roble (*N. obliqua*) provocada por *P. pseudosyringae* en Inglaterra (Scanu *et al.*, 2012).

En Chile, se han identificado especies de *Phytophthora* que actúan como patógenos y afectan a diversas especies leñosas, tanto nativas como exóticas. Por ejemplo, *P. pinifolia* es responsable de la enfermedad denominada “Daño foliar del Pino” en *P. radiata*, (Durán *et al.*, 2008), *P. kernoviae* está asociado a necrosis de hojas en canelo (*Drimys winteri*) en la región de Los Ríos (Sanfuentes *et al.*, 2016), y *P. pseudosiryngae* causa canchros en fuste de árboles de roble, raulí y coihue en la región del Biobío (Fajardo *et al.*, 2017). En el bosque valdiviano en la región de Los Ríos, *P. cinnamomi* aislada desde la rizosfera ha sido asociada a la muerte de árboles de canelo, coihue, arrayán (*Luma apiculata*) y mañío hembra (*Saxegothaea conspicua*) (Jung *et al.*, 2018). Recientemente, en la cordillera de Nahuelbuta, *P. cinnamomi* se aisló desde la rizosfera de árboles de *Araucaria araucana*, que presentaban decoloración, necrosis parcial o total de la copa (Sanfuentes *et al.*, 2022). También se aislaron *P. cinnamomi* y *P. aysenensis* desde la rizosfera de árboles de ciprés de la cordillera (*Austrocedrus chilensis*) con muerte regresiva de copa, en la región del Maule (E. Sanfuentes, comunicación personal, 2023), aunque en este caso la patogenicidad de estas especies no ha sido comprobada.

El género *Phytophthora*, pertenece al reino Chromista, dentro de la clase Oomycetes (Hawksworth *et al.*, 1995). Estos oomicetos producen clamidosporas, estructuras de supervivencia que se encuentran en el suelo o

en raíces infectadas y que tienen la capacidad de sobrevivir por largos periodos hasta que las condiciones sean favorables (Kang *et al.*, 2017) *Phytophthora* inicia su ciclo de vida cuando las clamidosporas u oosporas germinan en condiciones húmedas, formando esporangios (Abad *et al.*, 2023). Estos liberan diminutas esporas unicelulares y biflageladas denominadas zoosporas, que tienen la capacidad mecánica de nadar a través del agua (Jung y Burgess, 2009). Cuando el patógeno infecta el tejido vegetal sano, principalmente raíces, las zoosporas dejan de nadar, sueltan los flagelos y desarrollan una pared celular, formando estructuras llamadas hifas, encargadas de infectar y crecer dentro de las células vegetales hospedantes (Kang *et al.*, 2017). Además, las hifas forman esporas que se liberan al suelo, reiniciando el ciclo de vida (Jung y Burgess, 2009). Este ciclo puede repetirse innumerables veces antes de que un árbol maduro empiece a mostrar síntomas visibles en la copa (Tsao, 1983).

La infección de *Phytophthora* se manifiesta a través de diferentes síntomas que varían según la especie, siendo los más comunes las lesiones necróticas en el tronco (cancro) (Alves *et al.*, 2016). La necrosis comienza en las raíces finas del árbol, provocando síntomas visibles en la copa, lo cual generalmente es la primera señal de pudrición de raíces. A medida que la pudrición progresa a las raíces principales o el tallo principal, se produce un declive gradual (Derviş *et al.*, 2016). La infección de las raíces resulta en un pobre crecimiento del árbol, una ramificación escasa en la copa, con las hojas agrupadas en los

extremos de las ramas, un follaje pequeño y a menudo clorótico, lo que finalmente lleva a la muerte de la copa (Jung y Burgess, 2009).

En el marco del proyecto FIBN 22/2019, en el predio Pulluman, ubicado en la región de los Ríos (40°13'47,05"S – 72°41'25,66"O), se observó mortalidad en un bosque de coihue, inicialmente atribuida a la presencia de *P. cinnamomi* (Silva, 2023). En un estero que bordea el bosque afectado, utilizando un método de cebos de Jung *et al.* (1996), se determinó la presencia de las especies *P. gonapodyides*, *P. anmicola*, *P. aysenensis*, *P. chlamydospora* y *P. thermophila*. Se desconoce el posible rol de estas especies como patógenos en *N. dombeyi*, así como en otras especies nativas de Chile.

Ante la relevancia de las especies de *Phytophthora* a nivel mundial debido a su capacidad invasiva y potencial de daño, sumado a las evidencias recientes de su detección en especies del bosque nativo en Chile, se planteó como objetivo de esta investigación determinar la patogenicidad de especies ribereñas de *Phytophthora* en plantas de *Nothofagus dombeyi*.

## II. METODOLOGÍA

### 2.1 Antecedentes generales

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Patología Forestal y en el vivero de la Facultad de Ciencias Forestales. Para el ensayo de patogenicidad, se estudiaron cinco especies de *Phytophthora* colectadas del estero Pulluman, durante la primavera de 2022 (Tabla 1). Los aislados utilizados fueron identificados previamente mediante análisis molecular y morfológico (E. Sanfuentes, comunicación personal, 2023).

Para el ensayo fueron utilizadas plantas de *N. dombeyi* de un año de edad, con alturas de 30-50 cm, obtenidas del vivero Bosques del Sur (UACH). Las plantas fueron trasplantadas en macetas de plástico de 25x13 cm, utilizando un substrato de compost de corteza de pino, y se mantuvieron en el vivero de la Facultad de Ciencias Forestales para su aclimatación durante 60 días. Durante el ensayo, la temperatura ambiente del vivero fluctuó entre 12-25°C, según el registro de la estación meteorológica localizada en el vivero.

### 2.2 Ensayo de patogenicidad

Para llevar a cabo los ensayos de patogenicidad, se utilizó el método de inoculación mediante infestación del substrato de las plantas (Jung *et al.*, 1996). El ensayo tuvo un total de siete tratamientos: cinco tratamientos

correspondieron a las cinco especies de *Phytophthora* en prueba, además de un control absoluto y un control con una cepa de *P. cinnamomi*, cuya patogenicidad en plantas de *N. dombeyi* y *A. araucana* ya había sido demostrada (Tabla 1).

Tabla 1. Tratamientos empleados para ensayo de patogenicidad en plantas de *Nothofagus dombeyi*.

Tratamiento	Descripción	Aislado
T0	Control absoluto	-
T1	Control <i>P. cinnamomi</i>	Par119
T2	<i>P. gonapodyides</i>	L433
T3	<i>P. amnicola</i>	L438
T4	<i>P. aysenensis</i>	L439
T5	<i>P. chlamydospora</i>	L452
T6	<i>P. thermophila</i>	L456

### 2.2.1. Inoculación mediante infestación de substrato

El inóculo de cada aislado de *Phytophthora* se preparó en dos matraces Erlenmeyer. En cada matraz se dispuso una mezcla compuesta por 500 mL de vermiculita y 40 mL de avena, completamente humedecidas con 350 mL de caldo de jugo de verduras (V8). Para la preparación del caldo de jugo de verduras, cada litro contenía 200 ml de jugo V8, 800 ml de agua destilada y 3 g de carbonato de calcio ( $CaCO_3$ ) (Jung *et al.*, 1996). Todos los matraces se esterilizaron en autoclave a 121°C durante 20 minutos.

Luego, teniendo los matraces esterilizados y las placas de Petri colonizadas en agar zanahoria (AZ), se colectaron 30 discos de agar con micelio de cada aislado de *Phytophthora* (sacabocado de 7 mm) y se transfirieron a los matraces Erlenmeyer, seguidos de incubación en oscuridad a 20°C durante cuatro semanas. El matraz correspondiente al control absoluto consistió en la misma mezcla, pero sólo con discos de AZ. Finalmente, la mezcla se agregó al substrato de compost de corteza de pino previamente autoclavado (relación 1:3).

#### 2.2.1.1. Descripción del ensayo

La inoculación consistió en reemplazar el tercio superior del sustrato de cada planta con el substrato infestado con el inóculo correspondiente a cada aislado de *Phytophthora* (Jung *et al.*, 1996). El ensayo se realizó con un diseño experimental completamente al azar, seis repeticiones, siendo la planta la unidad experimental.

El ensayo comenzó el 19 de diciembre del 2023 y tuvo una duración de diez semanas. Durante este período se realizaron tres inundaciones de 72 horas cada una (Tabla 2), y el riego normal se efectuó cada dos días hasta alcanzar la capacidad de campo del substrato. En la tercera y quinta semana del ensayo, se aplicó el insecticida (Dimetoato Plus) para el control Trips (*Heliothrips haemorrhoidalis*).

Tabla 2. Fecha de actividades realizadas durante el ensayo de patogenicidad en plantas de *Nothofagus dombeyi*.

Actividad	Fecha
Inundación	19 al 22 de diciembre del 2023
	16 al 19 de enero del 2024
	13 al 16 de febrero del 2024
Aplicación de insecticida	11 y 26 de enero del 2024

Al final del ensayo, se realizaron aislamientos de *Phytophthora* a partir de las raíces de todas las plantas sobrevivientes. El procedimiento consistió en coleccionar segmentos de raíz de 1 cm, sumando un total de 25 cm lineales por planta. También se coleccionaron segmentos de leño desde el cuello de las plantas. Los segmentos de raíces y cuello se desinfectados superficialmente mediante inmersión en alcohol 70° durante 10 s, seguido de tres lavados con agua destilada estéril.

Posteriormente, 20 segmentos se dispusieron en placas de Petri con medio selectivo para *Phytophthora*, agar CMA-PARPNI (Jung *et al.*, 2009) y los cinco restantes en medio papa dextrosa agar (PDA), seguido de incubación a 20°C durante siete días. En las placas de agar CMA-PARPNI se observó la posible formación de colonias correspondientes a las especies utilizadas en el ensayo.

La identificación de las especies de *Phytophthora* se realizó visualizando las estructuras somáticas del micelio de cada colonia mediante la utilización de microscopio óptico (x40). Para la inducción de esporulación, se siguió el método de Jung *et al.* (1996), en el cual se colocaron discos de las colonias obtenidas en los aislamientos en extracto de suelo diluido al 10% en agua destilada, en placas de Petri de vidrio (60mmx15mm), seguidas de incubación en oscuridad durante 48 horas.

#### 2.2.1.2. Evaluación del ensayo

Se registraron semanalmente los síntomas observados en la parte aérea de las plantas, como necrosis y marchitamiento del follaje, así como la mortalidad de plantas. Para este propósito, se empleó una escala de severidad diseñada para este estudio (Figura 1), dividiéndose la parte aérea afectada en cuartos: G1 (0%), G2 (1-25%), G3 (26-50%), G4 (51-75%), G5 (76-100%). Estos valores se utilizaron para calcular un Índice de Severidad de Enfermedad (ISE) (1) para cada tratamiento.

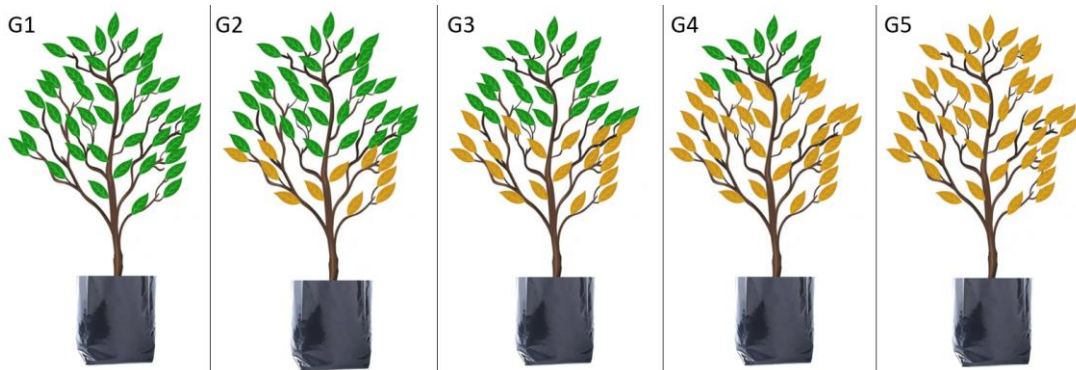


Figura 1. Escala diagramática de severidad de necrosis en follaje de las plantas de *Nothofagus dombeyi*: (G1) 0%, (G2) 1-25%, (G3) 26-50%, (G4) 51-75% y (G5) 76-100%.

$$ISE = \frac{((G1*n)+(G2*n)+(G3*n)+(G4*n)+(G5*n)+(G6*n))}{N} \quad (1)$$

Donde:

Gn: grado o nivel de necrosis foliar

n: número de plantas que presentan el nivel Gn

N: número total de plantas evaluadas

Se determinó el volumen de raíces de cada planta utilizando el principio de Arquímedes (desplazamiento de volumen) y una balanza con precisión de 0.1 g (Falco, Franceschelli y Maro, 2001). Además, se determinó la incidencia de *Phytophthora* por tratamiento (2) y el nivel de colonización de las raíces. Para este último, se determinó la frecuencia de *Phytophthora* en los segmentos de

raíces obtenidos en los aislamientos de cada planta, identificando las especies de acuerdo con el procedimiento previamente descrito.

$$Incidencia (\%) = \frac{N^{\circ} \text{ de plantas con } Phytophthora}{Total \text{ de plantas}} \times 100 \quad (2)$$

Los resultados fueron analizados mediante ANOVA y las comparaciones múltiples utilizando la prueba de Tukey, con un nivel de significancia de  $p < 0.05$ . Previamente, se comprobaron los supuestos de normalidad y homocedasticidad de varianzas usando el programa RStudio. Al finalizar el ensayo, se esterilizó el sustrato y las plantas utilizadas, para proceder a su descarte.

### III. RESULTADOS

A partir de la tercera semana del ensayo, se observaron leves síntomas de clorosis en las hojas (Figura 2 A). Algunas plantas presentaron infestación por Trips, cuyos síntomas correspondieron a una decoloración marginal, principalmente en la punta (Figura 2 B), y necrosis en el punto de ataque del insecto (Figura 2 C). Debido a la infestación, se realizaron dos aplicaciones de insecticida y, una semana después de la segunda aplicación, no se detectó la presencia de Trips y el follaje se presentó asintomático.



Figura 2. Síntomas en plantas de *Nothofagus dombeyi*. Clorosis y amarillamiento, en tratamiento de sustrato infestado con *Phytophthora chlamydospora* (A); Decoloración y necrosis marginal asociado al ataque por Trips (B y C).

Al final del ensayo, no se registró mortalidad de plantas y los síntomas foliares fueron leves, con una severidad fluctuante entre 1,2 y 1,3. No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ( $p=0,53$ ) (Figura 3).

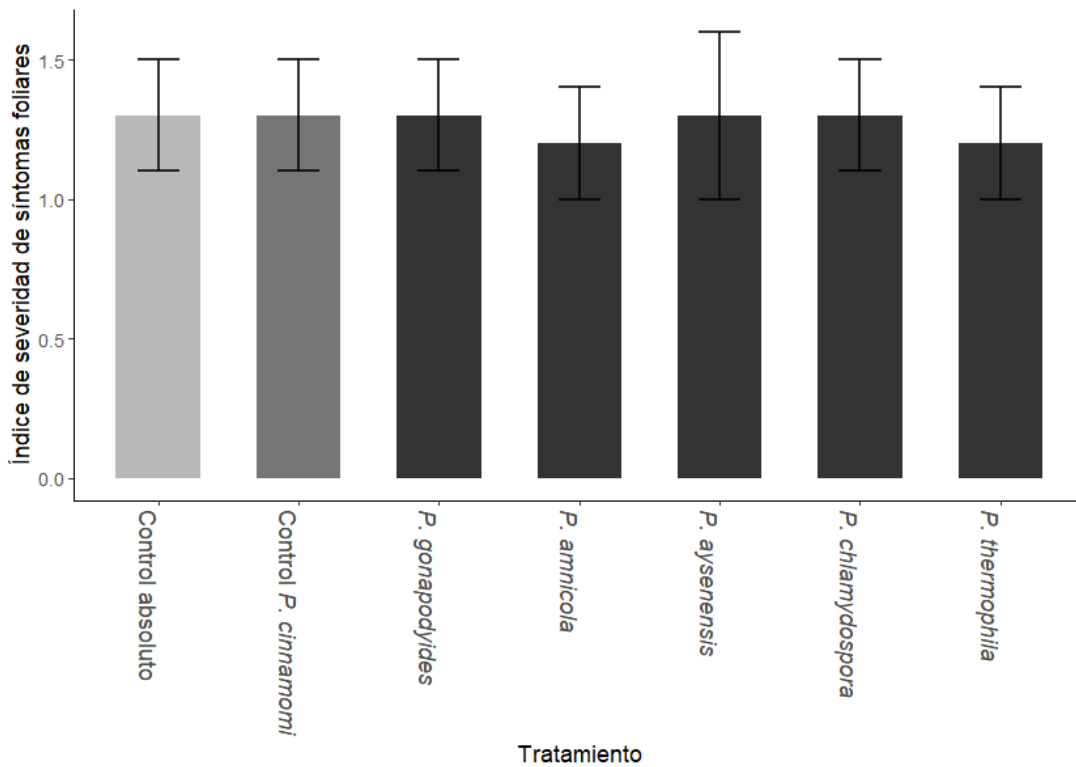


Figura 3. Índice de severidad de síntomas foliares en plantas de *Nothofagus dombeyi*, con infestación de sustrato con *Phytophthora* spp y controles, después de 10 semanas de ensayo. Barras indican error estándar de la media.

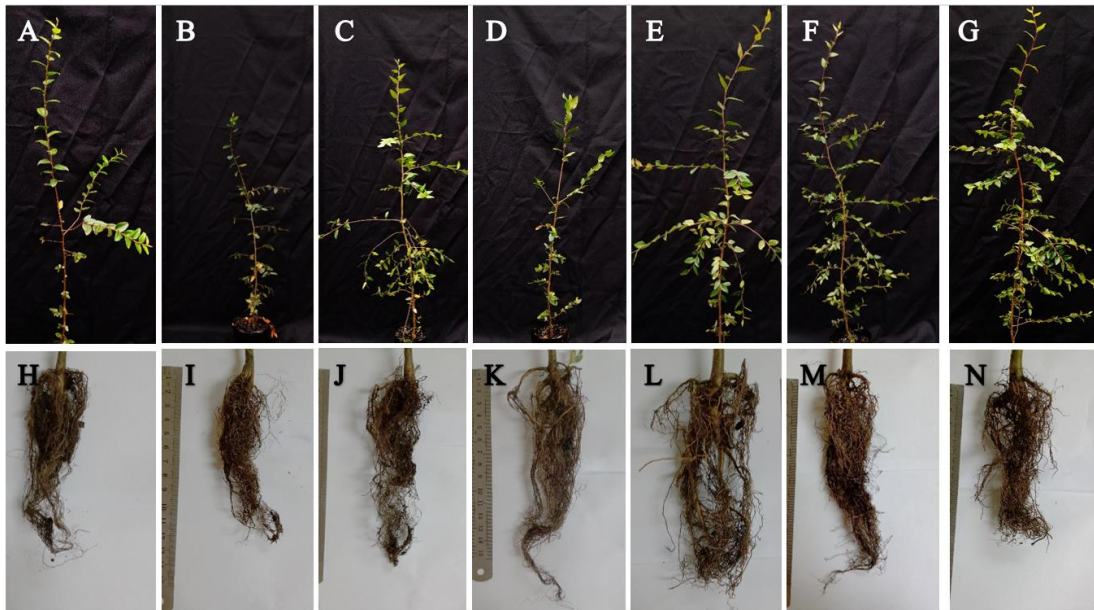


Figura 4. Síntomas en follaje y raíces en plantas de *Nothofagus dombeyi* a la décima semana de la infestación del sustrato con *Phytophthora* spp., y en controles. Síntomas en follaje (primera fila) y en la raíz de las plantas (segunda fila). Control absoluto (A y H); control positivo *Phytophthora cinnamomi* (B y I), *P. gonapodyides* (C y J), *P. amnicola* (D y K), *P. aysenensis* (E y L), *P. chlamydospora* (F y M) y *P. thermophila* (G y N).

Referente al volumen de las raíces no existieron diferencias significativas entre los tratamientos ( $p=0.065$ ), fluctuando el volumen entre 19,8 g (*P. amnicola*) y 10,1 g (*P. thermophila*) (Tabla 3), de la misma forma no se observaron síntomas de decoloración o necrosis en las raíces de las plantas.

Tabla 3. Volumen de las raíces de plantas de *Nothofagus dombeyi* en sustrato infestado con diferentes especies de *Phytophthora*.

Tratamiento	Volumen (g)	DS* (g)
Control absoluto	16,3	8,1
Control <i>P. cinnamomi</i>	17,4	5,7
<i>P. gonapodyides</i>	17,2	2,7
<i>P. amnicola</i>	19,8	6,8
<i>P. aysenensis</i>	14,9	8,1
<i>P. chlamydospora</i>	11,8	3,8
<i>P. thermophila</i>	10,1	3,1

\*Desviación estándar

Mediante los aislamientos desde las raíces de las plantas se detectó la presencia de *P. gonapodyides* y *P. thermophila*, con una incidencia de 50% y 67%, respectivamente (Figuras 5 y 6), y con un nivel de colonización de los segmentos de raíces de 6% y 11%, respectivamente (Tabla 4).

Tabla 4. Incidencia y colonización de raíces por *Phytophthora* spp. en plantas de *Nothofagus dombeyi*.

Tratamiento	<i>Phytophthora</i> spp.			
	Incidencia en plantas		Colonización de raíces	
	(%)		(%)	
Control absoluto	0	b	0	b
Control <i>P. cinnamomi</i>	0	b	0	b
<i>P. gonapodyides</i>	50	ab	6	ab
<i>P. amnicola</i>	0	b	0	b
<i>P. aysenensis</i>	0	b	0	b
<i>P. chlamydospora</i>	0	b	0	b
<i>P. thermophila</i>	67	a	11	a



Figura 5. *Phytophthora gonapodyides*. (A) Colonias en forma de roseta en medio PDA; (B) hinchazones hifales, (C) esporangio no papilado, con forma elipsoidal y (D) esporangio vacío con proliferación interna.

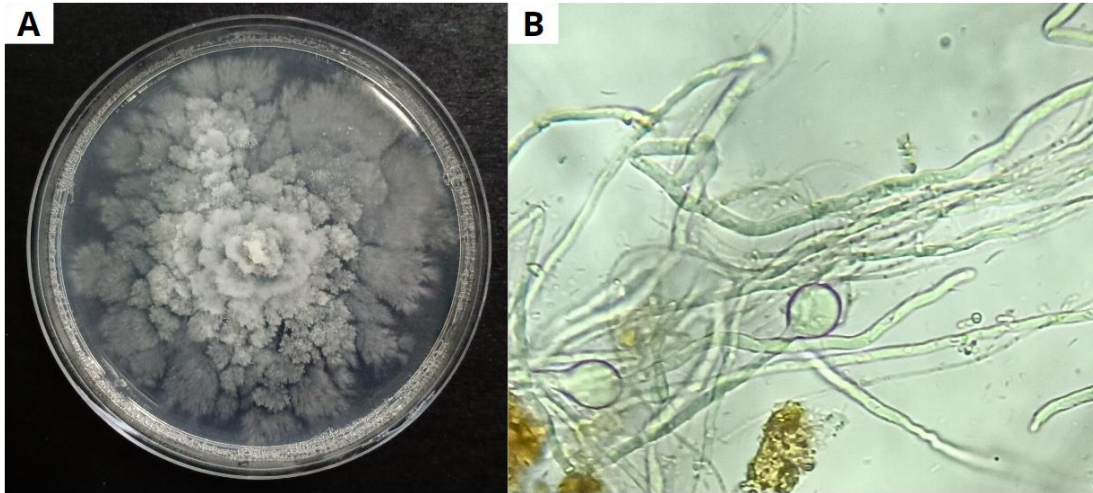


Figura 6. *Phytophthora thermophila*. (A) Colonia en forma de petaloide en medio PDA; (B) hinchazones hifales globosas e hifas principales onduladas.

Un resultado inesperado fue la detección de *Pythium* sp. en todos los tratamientos, excepto en las plantas inoculadas con *P. thermophila* (Figura 7), constatándose los mayores niveles de incidencia y colonización de raíces en el control absoluto y control *P. cinnamomi* (Tabla 5).

Tabla 5. Incidencia y colonización de raíces por *Pythium* sp. en plantas de *Nothofagus dombeyi*.

Tratamiento	<i>Pythium</i> sp.			
	Incidencia en plantas		Colonización de raíces	
	(%)		(%)	
Control absoluto	100	a	88	a
Control <i>P. cinnamomi</i>	100	a	47	ab
<i>P. gonapodyides</i>	40	ab	25	b
<i>P. amnicola</i>	60	ab	28	b
<i>P. aysenensis</i>	40	ab	28	b
<i>P. chlamydospora</i>	20	b	11	b
<i>P. thermophila</i>	0	b	0	b

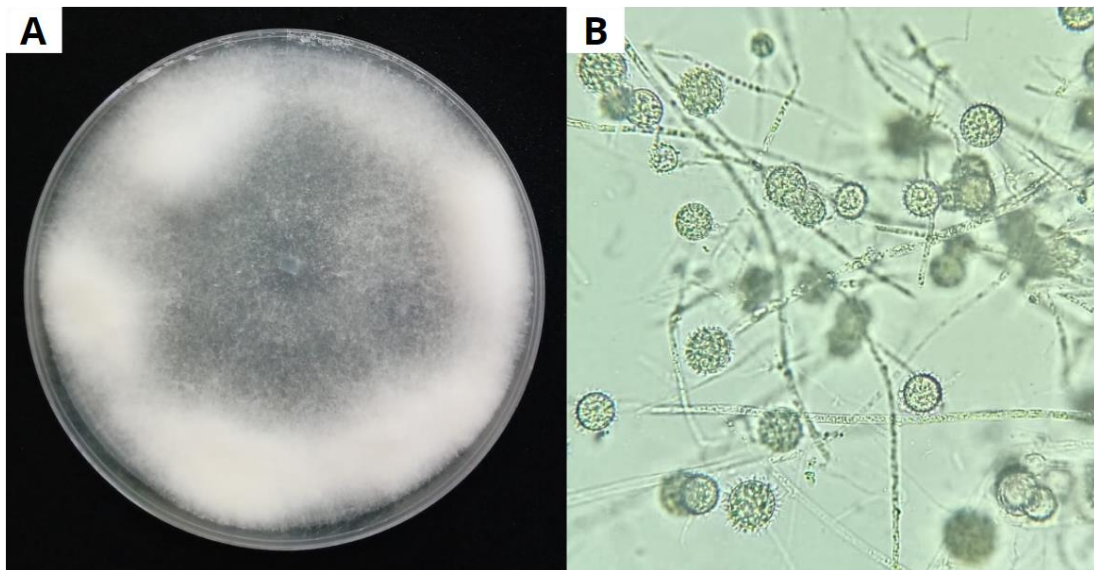


Figura 7. *Pythium* sp. (A) Colonia algodonosa en medio PDA; (B) clamidosporas y micelio cenocítico.

#### IV. DISCUSIÓN

En la prueba de patogenicidad, después de diez semanas de ensayo, las especies ribereñas de *Phytophthora* no provocaron mortalidad o síntomas foliares en las plantas de coihue. Tampoco se observó mortalidad o colonización de raíces en el control con *P. cinnamomi*. En estudios previos realizados en el LPF, este mismo aislado demostró ser patógeno en plantas de coihue, provocando hasta 100% de mortalidad (Navarro, 2016). Esto genera una interrogante sobre las condiciones del ensayo realizado.

La ausencia de síntoma foliares y mortalidad podría explicarse por dos factores ambientales. Primero, el inóculo del patógeno podría haberse mantenido inactivo en el sustrato debido a altas temperaturas o insuficiente saturación del sustrato. Estas variables ambientales son cruciales para la infección de raíces en la mayoría de las especies de *Phytophthora* (Abad et al., 2023). En este ensayo, el esquema de riego utilizado debió asegurar un sustrato húmedo, además que se aplicaron tres ciclos de inundación para estimular la formación de esporangios y la liberación de zoosporas (Abad et al., 2023). Por lo tanto, se considera que la temperatura no controlada durante el ensayo (solo registrada) podría haber sido el factor más probable para inhibir la esporulación de *Phytophthora* en el sustrato y anular la consecuente infección de las raíces.

Un segundo factor ambiental, estaría asociado con la microbiota del sustrato. Se verificó una importante colonización de *Pythium* sp. en las raíces de las plantas de coihue, excepto en aquellas inoculadas con *P. thermophila*. La presencia de *Pythium* sp. en las raíces podría haber tenido un efecto en la infección y colonización de las especies de *Phytophthora* ensayadas. Esta interacción puede entenderse desde dos perspectivas, según estudios previos: un antagonismo directo sobre las especies de *Phytophthora* y una inducción de resistencia en la planta.

El género *Pythium* ocupa diversos nichos ecológicos y es común en ecosistemas terrestres naturales y agrícolas de todo el mundo (Schroeder *et al.*, 2013), así como en ecosistemas acuáticos como lagos y arroyos de agua dulce (Nechwatal, Wielgoss y Mendgen, 2008). Algunos estudios han demostrado que algunas especies de *Pythium* poseen propiedades de biocontrol, como *Pythium oligandrum*, que ejerce control sobre diversos hongos patógenos mediante diferentes mecanismos de antagonismo. Picard *et al.* (2000a) determinaron que, en enfrentamientos *in vitro*, *P. oligandrum* inhibió el crecimiento micelial de *P. parasítica* mediante hiperparasitismo.

Junto con sus efectos directos sobre los patógenos, algunas especies de *Pythium* producen moléculas señalizadoras denominadas elicinas (Ponchet *et al.*, 1999), que inducen reacciones de resistencia sistémica adquirida en las plantas contra patógenos fúngicos y bacterianos (Ricci *et al.*, 1989). Estas

moléculas tienen la capacidad de translocarse a través del sistema vascular (Devergne et al 1992). En plantas de tomate tratadas con la molécula eligandrina, la mortalidad causada por *P. parasítica* se redujo en un 60%, observándose que las plantas tratadas desarrollaron barreras estructurales y taponamiento de los espacios intercelulares en las áreas cercanas a la penetración del patógeno (Picard et al., (2000).

Considerando los antecedentes mencionados para *Pythium* sp., su presencia en este ensayo podría estar asociada a un efecto antagónico sobre las especies de *Phytophthora* y/o a la inducción de respuestas de defensa en las plantas de coihue. Esto limitaría la colonización e infección de las especies de *Phytophthora*, aspecto que debe ser dilucidado en estudios futuros.

Es importante considerar que la patogenicidad de las especies de *Phytophthora* estudiadas, así como sus rangos de hospederos en ambientes naturales, no son suficientemente claros. Entre los escasos antecedentes de la patogenicidad de estas especies, se indica a *P. amnicola* y *P. chlamydospora* como patógeno en *Alnus glutinosa* en Portugal (Bregant et al., 2023), a *P. thermophila* causando mortalidad en vegetación nativa de Australia (Jung et al.,2011) y a *P. aysenensis* asociada a canchales en tallos de *Aristotelia chilensis* en el sur de Chile (Zapata et al., 2020). Para la especie *P. gonapodyides*, se tienen mayores referencias, como su asociación a una pudrición de raíces y cuello en *Fagus sylvatica*, *Quercus robur* y *Alnus*

*glutinosa* en Europa, durante periodos extremadamente húmedos (Jung *et al.*, 1996).

En resumen, en el ensayo de patogenicidad las especies ribereñas de *Phytophthora* estudiadas no provocaron mortalidad, síntomas en el follaje o disminución en el volumen de las raíces de las plantas de *N. dombeyi*. Se plantea la hipótesis de que factores ambientales, como la temperatura y/o la biota del substrato, especialmente la presencia de *Pythium* sp., jugaron un papel crucial en la determinación de la ausencia de las especies ribereñas de *Phytophthora* y de *P. cinnamomi*. Estos factores combinados sugieren una compleja interacción que limita la colonización e infección de *Phytophthora*.

## V. CONCLUSIÓN

De acuerdo a los resultados del ensayo, no fue posible concluir la patogenicidad de las especies ribereñas *P. gonapodyides*, *P. amnicola*, *P. aysenensis*, *P. chlamydospora* y *P. thermophila* en plantas de *Nothofagus dombeyi*.

## VI. BIBLIOGRAFÍA

Abad, Z., Burgess, T., Redford, A., Bienapfl, J. 2023. *IDphy*: Un recurso internacional en línea para identificación molecular y morfológica de *Phytophthora*. *Plant Disease*, 107:987-998

Alves T., Tessmann, K., Ivors, J., Ristaino, A. y Santos. (2016). Primer reporte de gomosis causada por *Phytophthora frígida* en Black Wattle en Brasil. *Plant Disease* 100(11):2336-2336.

Baldini, A., Le Quesne, C., Ojeda, P. y Puentes, O. (1994). Daños Bióticos en Roble, Raulí y Coihue. Guía de Reconocimiento. Corporación Nacional Forestal. 63p.

Bregant, C., Batista, E., Hilário, S., Linaldeddu, B. T., y Alves, A. (2023). Especies de *Phytophthora* implicadas en el declive de *Alnus glutinosa* en Portugal. *Pathogens*, 12(2), 276.

CONAF, (2021). Catastro de los Recursos Vegetacionales Nativos de Chile al año 2020. Departamento de Monitoreo de Ecosistemas Forestales Chile. 76 p.

Derviş, S., Türkölmez, Ş., Çiftçi, O. y Ulubaş, Ç. (2016). Primer reporte de *Phytophthora chlamydospora* que causa la pudrición de la raíz en nogales (*Juglans regia*) en Turquía. *Plant Disease*, 100(11): 2336.

Deschamps, J. (1980). Incidencia de *Basidiomycetes* xilófilos en las comunidades del coihue (*Nothofagus dombeyi*) (Tesis de Doctorado. Universidad de Buenos Aires (inérita)).

Devergne, J., Bonnet, P., Panabières, F., Blein, J., y Ricci, P. (1992). Migración de la proteína fúngica criptogeína dentro de las plantas de tabaco. *Plant Physiology*, 99(3), 843-847.

Díaz, J. (1987). Anatomía de madera de *Nothofagus dombeyi* (Mirbel) Oerstedt. Universidad Austral de Chile, Valdivia. Bosque 8(1): 63-65.

Donoso, C. (1987). Variación natural en especies de *Nothofagus* en Chile. Bosque 8(2):85-97.

Durán, A., Gryzenhout, M., Slippers, B., Ahumada, R., Rotella, A., Flores, F., Wingfield, B. y Wingfield, M. (2008). *Phytophthora pinifolia* sp. nov. Asociado con una grave enfermedad del daño foliar de *Pinus radiata* in Chile. Plant Pathology 57(4): 715–727.

Fajardo, S., Valenzuela, S., Dos Santos, A., González, M. y Sanfuentes, E. (2017). *Phytophthora pseudosyringae* asociada a la mortalidad de *Nothofagus obliqua* en un rodal puro de centro-sur de Chile. Forest Pathology, 47(6).

Falco, J., Franceschelli, I. y Maro, M. (2001). Método de Arquímedes para determinar densidades. Universidad de San Andrés, 4-5.

Greslebin, A., Hansen, E., y Sutton, W. (2007). *Phytophthora austrocedrae* sp. nov., una nueva especie asociada a la mortalidad de *Austrocedrus chilensis* en la Patagonia (Argentina). Mycological Research 111(3): 308-316.

Gutiérrez, B. (2017). Evaluación de crecimiento y forma de fuste de un ensayo de procedencias y progenies de Coihue (*Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Oerst.) de 15 años de edad. Ciencia e Investigación Forestal, CIFOR 23(3): 31-42.

Hawksworth, D., Kirk, P., Sutton, B. y Pegler, D. (1995). Diccionario de hongos de Ainsworth y Bisby. 8th ed. Wallingford, UK: CAB International

Jung, T., Blaschke, P. (1996). Aislamiento, identificación y patogenicidad de especies de *Phytophthora* en bosques de robles en declive. European Journal of Forest Pathology 26(5): 706-718.

Jung, T., Blaschke, H., y W. Osswald, W. 2000. Implicación de especies de *Phytophthora* transmitidas por el suelo en el declive del roble centroeuropeo y efecto de los factores del sitio sobre la enfermedad. *Plant Pathology* 49(6): 706–718

Jung, T., Burgess, T. (2009). Reevaluación de *Phytophthora citricola* aislado desde múltiples huéspedes leñosos en Europa y América del Norte revela una nueva especie, *Phytophthora plurivora* sp. nov. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi* 22(1): 95-110.

Jung, T., Stukely, M., Hardy, G., White, D., Paap, T., Dunstan, W. y Burgess, T. (2011). Múltiples nuevas especies de *Phytophthora* de ITS Clado 6 asociada a ecosistemas naturales en Australia: implicaciones evolutivas y ecológicas. *Persoonia Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 26(1): 13-39.

Jung, T., Colquhoun, I. y Hardy, G. (2013). Nuevos conocimientos sobre la estrategia de supervivencia del patógeno invasivo transmitido por el suelo *Phytophthora cinnamomi* en diferentes ecosistemas naturales de Australia Occidental. *Forest Pathology*, 43(4), 266–288.

Jung T., Durán, A., Sanfuentes, E., Schena, L., Mosca, S., Fajardo, S., Horta, M. (2018). Diversidad de especies de *Phytophthora* en los bosques lluviosos valdivianos y asociación con síntomas graves de necrosis. *Forest Pathology*, 48(5).

Kang D., Min, K., Kwakl, A., Lee, S. y Kang, H. (2017). Tizón del pimiento por *Phytophthora* mediante extracto acuoso de sustrato de hongo gastado de *Lentinula edodes*. *The Plant Pathology journal*. 33(3):264-275.

Kruuse, L. (1981). Algunos factores bióticos y abióticos que inciden en el nivel de ataque de *Holopterus Chilensis* Blanch. (Col.: Cerambycidae) en *Nothofagus obliqua* (Mirb) Oerst. Instituto de Silvicultura Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Austral de Chile. 8E. 1925. Contribución al estudio de la industria maderera y bosques chilenos. *Revista Chilena de Historia Natural* 29: 70-131.

Nagel, J., Gryzenhout, M., Slippers, B., Wingfield, M., Hardy, G., Stukely, M. y Burgess, T. (2013). Caracterización de *Phytophthora* híbridos desde ITS clado 6 asociado a ecosistemas ribereños en el sur de África y Australia. *Fungal Biology*, 117(5), 329-347.

Navarro, A. (2016). *Patogenicidad de Phytophthora cinnamomi Rands en especies arbóreas del bosque valdiviano*. {Tesis}. Universidad de Concepción.

Nechwatal, J., Wielgoss, A. y Mendgen, K. 2008. Diversidad, hospedador y especificidad de hábitat de las comunidades de oomicetos en rodales de carrizo (*Phragmites australis*) en declive de un gran lago de agua dulce. *Mycol. Res.* 112:689-696.

Picard, K., Ponchet, M., Blein, J., Rey, P., Tirilly, Y. y Benhamou, N. (2000). Oligandrina. Una molécula proteínica producida por el mico parásito *Phytium oligandrum* induce resistencia a la infección por *Phytophthora parasítica* en plantas de tomate. *Plant Physiology*, 124(1), 379-396.

Picard, K., Tirilly, Y. y Benhamou, N. (2000a). Efectos citológicos de las celulasas en el parasitismo de *Phytophthora parasítica* por *Pythium oligandrum*. *Appl Environ Microbiol* 66(10):4305–4314

Ponchet, M., Panabières, F., Milat, M., Mikes, V., Montillet, J., Suty, L. y Blein, J. (1999). ¿Son las elicinas criptogramas en las comunicaciones planta-Oomiceto? *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 56, 1020-1047.

Ricci, P., Bonnet, P., Huet, J., Sallantin, M., Beauvais-Cante, F., Bruneteau, M., Billard, V., Michel, G., Pellonet, J. (1989). Estructura y actividad de las proteínas de los hongos patógenos *Phytophthora* que provocan necrosis y resistencia adquirida en el tabaco. *Eur J Biochem* 183: 555-563.

Rizzo, D., Garbelotto, M., Davidson, J., Slaughter, G. y Koike S. (2002). *Phytophthora ramorum* causa extensa mortalidad de *Quercus* spp. y *Lithocarpus densiflorus* en California. *Plant Disease* 86: 205-214.

Sandoval, A. (1997). Diagnóstico de la situación actual de problemas entomológicos asociados a coigue *Nothofagus dombeyi* (Mirbel) Oerst: una revisión de literatura.

Sanfuentes, E., Fajardo, S., Sabag, M., Hansen, E. y González, M. (2016). *Phytophthora kernoviae* aislada desde hojas caídas de *Drimys winteri* en bosque nativo del sur de Chile. Australasian Plant Disease Notes 11: 1-3.

Sanfuentes, E., González, M., Castillo, M., Rubilar, R., Besoain, X., Sanhueza, C. y Smith M. (2022). Detección de *Phytophthora cinnamomi* en bosques de *Araucaria araucana* en declive. Forest Pathology, 52(5).

Scanu B, Jones, B. y Webber, J. (2012). Una nueva enfermedad de *Nothofagus* en Gran Bretaña causada por *Phytophthora pseudosyringae*. New Disease Reports 25(27): 2044.

Schroeder, K. L., Martin, F. N., de Cock, A. W., Lévesque, C. A., Spies, C. F., Oku bara, P. A., & Paulitz, T. C. (2013). Detección y cuantificación molecular de especies de Pythium: evolución de la taxonomía, nuevas herramientas y retos. *Plant disease*, 97(1), 4-20.

Silva, K., (2023). *Monitoreo de la muerte de copas en bosquetes de Nothofagus dombeyi asociada a Phytophthora cinnamomi, en la región de los ríos, Chile.* {Tesis}. Universidad de Concepción.

Soto, A., Rodríguez, G., Fernández, Y., Pedraza, M., López, L., Diaz, M. y Fernández, S. (2017). Protocolos de aislamiento y diagnóstico de *Phytophthora* spp. enfoque aplicado a la investigación. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 8(8): 1867-1880.

Tsao, P. (1983). Factores que afectan al aislamiento y cuantificación de *Phytophthora* en el suelo: Su Biología, Taxonomía, Ecología y Patología. Eds, Erwin, D, C.

Zapata M., C. Asenjo, M. Gutiérrez. 2020. *Phytophthora aysenensis* Zapata, M., Asenjo, M. C., Gut, M. *Persoonia* 44, 438–439