

C. D. O.: 443.2

IDENTIFICACIONES MICOLOGICAS EN VIVEROS FORESTALES DE LA X REGION DE CHILE ¹

E. Kunstmann; M. Osorio; H. Peredo

SUMMARY

In eight forest nurseries from the Tenth Region of Chile, dampedoff seedlings and the soil containing them were sampled periodically during the year 1975. The scope was to obtain an spectrum of the organism associated with the damage.

From damaged—sections of seedlings and soil particles treated according the soil washing technique, pure cultures were obtained which allowed the identification of twenty fructificating strains and some micelia without sporulation.

The influence of isolation techniques, media, use of fungicides and the effect of antagonic organisms in the lack of isolation of usual species in forest nurseries is discussed.

RESUMEN

En ocho viveros forestales de la X Región de Chile, se muestrearon periódicamente durante el año 1975 tanto plantas con síntomas de caída como el suelo que las contenía, para hacer un catastro de las especies micológicas asociadas al daño.

A partir de secciones de plantas dañadas y partículas de suelo tratadas según el método de lavado del suelo, se obtuvieron

cultivos puros que sirvieron para identificar veinte cepas que fructificaron y micelios que no lo hicieron.

Se discute la influencia de la técnica de aislamiento, los medios de cultivo, el uso de fungicidas y el efecto de organismos antagonicos en la falta de aislamiento de especies usuales en viveros forestales.

INTRODUCCION

Los viveros forestales durante su época productiva están expuestos al daño denominado "Caída". Los organismos que la producen son conocidos en el extranjero (Hodges 1962; Vaartaja *et al.* 1961). En Chile, se posee poca información y fundamentalmente ella se vierte en el trabajo de Mujica y Vergara (1980), además, cabe considerar que la primera identificación de un organismo causante de caída en viveros forestales de coníferas se realizó en 1951 (Vergara 1951). A partir de entonces, se han realizado identificaciones esporádicas de hongos dañinos para viveros (Tay 1969. Tollenaar *et al.* 1970). Un esfuerzo de mayor envergadura fue iniciado por Kunstmann (1978) cuyo trabajo permitió identificar una mayor cantidad de hongos involucrados en la caída en viveros forestales de la X Región de Chile y sirvió de base al presente artículo.

¹ Parte del Proyecto F—9. Dirección de Investigación y Desarrollo, Universidad Austral de Chile, financiado por la Corporación Nacional Forestal Convenio "Prospección Nacional Sanitaria Forestal".

MATERIAL Y METODO

La prospección se realizó periódicamente durante el año 1975 en ocho viveros de la Corporación Nacional Forestal, en la X Región, y cuyos antecedentes se muestran

en el Cuadro 1. El muestreo se orientó fundamentalmente hacia las especies que presentaban mayor demanda por parte de los forestadores, y ellas eran pino insigne (*Pinus radiata* D. Don) y pino oregón (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco).

Cuadro 1. Ubicación y características de los viveros prospectados
Location and characteristic of the prospected nurseries

NOMBRE	UBICACION	TIPO	ESPECIES MUESTREADAS	
			Pino insigne	Pino oregón
Augusto Grob ^b	La Unión	Permanente	+	—
Bellavista ^a	Mariquina	Transitorio	+	—
Curalelfu ^b	Los Lagos	Permanente	+	+
Frutillar ⁵	Pto. Varas	Permanente	+	+
La Unión ^a	La Unión	Permanente	+	—
Llancacura ^a	La Unión	Permanente	+	—
San Carlos ^a	Corral	Transitorio	+	—
San Patricio ^b	Mariquina	Permanente	+	—

a = Actualmente inexistentes

b = Traspasado al sector privado

Toda planta que presentó síntomas de caída fue extraída. Paralelamente se tomaron, mediante una sonda pedológica, 250 g de los primeros 15 cm de la tierra que contuvo estas plantas. El número de muestras de tierra por platabanda varió, según la intensidad del daño, entre 5 y 10. Las muestras de tierra correspondientes a platabandas con igual especie, se mezclaron para extraer finalmente una "muestra compuesta" de aproximadamente 1 kg, las que fueron almacenadas en bolsas plásticas y en frío hasta su procesamiento.

En el laboratorio se seccionaron los hipocótilos y raíces de las plantas dañadas en trozos de 1 cm. Estos se lavaron en agua corriente durante 2 minutos, luego se agitaron en una solución de bicloruro de mercurio al 0,1% durante 45 segundos y finalmente se lavaron con agua destilada durante 15 segundos. Después de repetir

tres veces las últimas dos operaciones se depositaron 4 trozos por placa Petri, las cuales contenían un medio de cultivo consistente en agar—papa—dextrosa—streptomycirta (Tuite 1969). De cada una de las "muestras compuestas" de tierra se extrajo una submuestra de ocho gramos que fue sometida a lavado (Gams, Domsch 1967) usando una adaptación del equipo original debido a la dificultad de encontrar los materiales adecuados en el comercio local (Kunstmann, 1978). El tiempo de lavado fue de aproximadamente cuatro minutos con 4,5 litros de agua potable y luego 1,5 litros de agua destilada. Durante toda esta operación, el aparato se mantuvo en agitación horizontal, efectuada manualmente.

Finalizado el lavado, las partículas depositadas en la malla inferior del aparato, se sometieron al mismo procedimiento de

desinfección y cultivo descrito para los trozos de planta.

Los cultivos puros obtenidos tanto a partir de plantas como de suelo, se traspasaron a tubos que contenían agar—papa—dextrosa, los que se mantuvieron a 4°C. Para la identificación, los organismos se traspasaron previamente a placas Petri con el mismo medio ya citado, y se incubaron a 20°C por una semana. Luego se compararon con cultivos tipo y claves. Cuando no fue posible la identificación definitiva de los organismos, se remitieron éstos a especialistas tanto nacionales como extranjeros.

En una primera selección de las cepas a

estudiar, se dejaron de lado aquellas que de acuerdo a la información bibliográfica, no tenían importancia patológica.

RESULTADOS

Las especies identificadas, y con antecedentes patogénicos, se muestran en el Cuadro 2; entre ellas hay algunas identificadas por primera vez en viveros forestales de Chile.

En el Cuadro 3, se entrega el listado de las especies con antecedentes saprofíticos que fueron identificadas, siendo todas ellas citadas por primera vez en viveros forestales chilenos.

Cuadro 2. Especies con antecedentes patogénicos y su origen

Organisms with pathogenic antecedents and their origin

E S P E C I E S	O R I G E N											
	V I V E R O S								Pino insigne		Pino oregón	
	A. GROB	BELLAVISTA	CURALELFU	FRUTILLAR	LA UNION	LLANCACURA	SAN CARLOS	SAN PATRICIO	PLANTA	SUELO	PLANTA	SUELO
<i>Fusarium oxysporum</i> Schl. em. Snyder & Hansen	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
<i>Fusarium sambucinum</i> Fuckel*	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+
<i>Fusarium moniliforme</i> Scheld var. <i>subglutinans</i> Wr. & Rg.*	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-
<i>Rhizoctonia solani</i> Kühn	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Cylindrocarpon</i> sp.*	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>Botrytis cinerea</i> Pers. ex. Fr.	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-
<i>Curvularia clavata</i> Jain*	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-
<i>Alternaria</i> sp.*	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
<i>Truncatella truncata</i> (Lav.) Steyaert*	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+

+ = presente en los aislamientos

- = no presente en los aislamientos

* = citadas por primera vez en viveros forestales de Chile.

Cuadro 3. Especies con antecedentes saprófitos y su origen
Organisms with saprophytic antecedents and their origin

E S P E C I E S	O R I G E N											
	VIVEROS							Pino oregón		Pino insigne		
	A. GROB	BELLAVISTA	CURALELFU	FRUTILLAR	LA UNION	LLANCACURA	SAN CARLOS	SAN PATRICIO	PLANTA	SUELO	PLANTA	SUELO
<i>Epicoccum purpureescens</i> Ehrenberg	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>Myrothecium</i> sp.	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Sesquicillium</i> sp.	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Zigorchynchus moelleri</i> Vuillemin	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Ulocladium atrum</i> Preuss	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>Trichoderma</i> sp.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Chaetomiium funicola</i> Cooke	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Gliocladium roseum</i> Bainier	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Scytalidium lignicola</i> Pesante	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
<i>Aspergillus chevalieri</i> Thom & Church	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Penicillium brefeldianum</i> Dodge	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Micelio no esporulante	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-

+ = presente en los aislamientos

- = no presente en los aislamientos

DISCUSION Y CONCLUSION

Al comparar las especies identificadas con aquellas encontradas en el extranjero (Hodges 1962), se puede notar la ausencia de *Pythium* sp. y *Phytophthora* sp. en los viveros de la X Región del país. Como posible explicación a la falta de ambos géneros, se podría postular el uso de algunos fungicidas o el efecto antagónico de algunos hongos. Al respecto, Tay (1969) usando una técnica semejante a la del presente estudio aisló *Pythium* sp. en el vivero forestal de Chillán, a pesar de que en

ese vivero usaban también, a la fecha del ensayo, fungicidas entre los cuales estaban Dexon^{mr} y Captan^{mr}. Este mismo autor, luego de varios ensayos, concluye que Dexon y Captan, entre otros fungicidas, no ejercen un control eficaz de algunos organismos causantes de caída entre los que se incluye *Pythium* sp. (Tay 1969). Con posterioridad Tollenaar *et al.* (1970) aisló también *Pythium* sp. en el vivero de Chillán, lo que podría reafirmar la falta de control de este organismo por parte de Dexon y Captan. Sin embargo, otros autores señalan que tanto Dexon como Captan in-

mr = marca registrada

hiben el crecimiento de *Pythium* sp. (Alconero, Hagedorn 1968; Agnihotri 1971).

El efecto antagónico postulado para explicar la ausencia de *Pythium* sp. y *Phytophthora* sp. es parcialmente atendible, pues las especies que pudieron haber cumplido este rol, fueron desechadas en la primera selección. Por otra parte, si se acepta que Dexon favorece el crecimiento de *Fusarium* sp., algunos Mucorales y *Trichoderma* sp. como señalan Alconero y Hagedorn (1968) y se compara con las especies identificadas (Cuadros 2 y 3) se puede notar que, salvo *F. oxysporum* distribuido uniformemente en los viveros muestreados, representantes de los otros dos grupos taxanómicos citados aparecen solamente en un vivero. Lo anterior parece reforzar la idea del efecto que pudo tener la selección realizada. Un razonamiento semejante puede hacerse respecto al rol de Captan que inhibe el crecimiento de *Rhizoctonia* sp. y *Pythium* sp. favoreciendo el apareamiento de *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp. y *Fusarium* sp. (Agnihotri, 1971). La inhibición que produciría *Trichoderma* sp. sobre *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp. y *Phytophthora* sp., no resulta del todo razonable cuando *Rhizoctonia* sp., fue aislada sólo en uno de los viveros muestreados en el presente estudio. Además la selección previa de especies con antecedentes patogénicos, en la que se desechó varias de aquellas saprofitas, entre las que había especies de *Trichoderma*, hace aún más difícil la demostración de este segundo postulado.

En la discusión, no puede dejarse de lado la influencia que pudiera ejercer el medio usado para cultivar los hongos aislados. De acuerdo a Eckert y Tsao (1962) y Hendrix y Kuhlmann (1965), tanto *Pythium* sp. como *Phytophthora* sp. no prosperan bien en los medios tradicionales, como los usados en el presente estudio. Este es otro aspecto que debiera tomarse

en cuenta para futuras determinaciones de organismos causantes de caída, pues un comportamiento análogo ha sido descrito para diferentes especies de *Fusarium* (Mc Mullen, Stack 1983).

El método de aislamiento usado, mostró ser apropiado para obtener una primera visión cualitativa de los grandes grupos de hongos presentes en los viveros forestales de la X Región. A las descripciones de Mujica y Vergara (1980) puede agregarse entonces *Fusarium sambucinum*, *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* y *Cylindrocarpon* sp., todos reconocidos como causantes de caída (Vaartaja *et al.* 1961), además de *Curvularia clavata*, *Truncatella truncata* y *Alternaria* sp. a las cuales se les atribuye una patogenicidad potencial (Hocking *et al.* 1968). Todas las especies que aparecen listadas en el Cuadro 3 se citan por primera vez en viveros forestales de Chile y pueden ejercer en algunos casos fuertes antagonismos. Parece necesario analizar a futuro, tanto en laboratorio como en terreno, el rol que cumple cada una de las especies identificadas.

Del mismo modo podría a la luz de los resultados recomendarse el método del lavado de suelo, por su efectividad demostrada para aislar una amplia gama de organismos, no obstante, habría que agregar a ello el uso de medios de cultivo específicos para aislar especies de lento crecimiento a los que se les supone comportamiento saprofito, como una forma de probar posibles antagonismos.

AGRADECIMIENTOS

A la Sra. Sonia Momberg se agradece la cooperación en el manejo del cepario.

Al Dr. Janis Grinbergs del Instituto de Microbiología General de la Universidad Austral de Chile y al Dr. Paul E. Nelson del Fusarium Research Center, The Pennsylvania State University, por las identifi-

caciones realizadas.

El último autor, gracias a una visita de estudio patrocinada por The Royal Society, Conicyt, Universidad Austral pudo fi-

nalizar las identificaciones iniciadas por el Identification Service del Commonwealth Mycological Institute.

REFERENCIAS

- AGNIHOTRI, V. P. 1971. Persistence of captan and its effects on microflora, respiration, and nitrification of a forest nursery soil. *Can. J. Microbiol.* 17: 377-383.
- ALCONERO, R.; HAGEDORN, D. J. 1968. The persistence of Dexon in soil and its effects on soil mycoflora. *Phytopathology* 58: 34-40.
- ECKERT, J. W.; TSAO, P. H. 1962. A selective antibiotic medium for isolation of *Phytophthora* and *Pythium* from plant roots. *Phytopathology* 52: 771-777.
- HENDRIX, F. F.; KUHLMANN, G. 1965. Factors affecting direct recovery of *Phytophthora cinnamomi* from soil. *Phytopathology* 55: 1183-1187.
- HODGES, C. D. 1962. Fungi isolated from southern forest tree nursery soils. *Mycologia* 54 (3): 221-229.
- GAMS, W.; DOMSCH, K. H. 1967. Beiträge zur Anwendung der Bodenwaschtechnik für die Isolierung von Bodenpilzen. *Archiv, für Mikrobiol.* 58: 134-144.
- HOCKING, D.; SETLIFF, E. C; JAFFER, A. A 1968. Potential pathogenicity of fungi associated with damped-off pine seedlings in East African pine nurseries. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 51 (2): 227-232.
- KUNSTMANN, E. 1978. Prospección micológica en viveros de la X Región. Tesis Ing. Forestal. Valdivia. Universidad Austral de Chile. 51 p.
- MC MULLEN, M. P.; STACK, R. W. 1983. Effects of isolation techniques and media on the differential isolation of *Fusarium* species. *Phytopathology* 73: 458-462.
- MUJICA, F.; VERGARA, C. 1980. Flora fungosa chilena. 2 ed. rev. y act. por E. OEHRENS. Santiago, Universidad de Chile, Facultad de Agronomía. Ciencias Agrícolas N° 5. 308 p.
- TAY, J. K. 1969. Un estudio de los organismos causales de la caída de *Pinus radiata* D. Don en el vivero forestal de Chillán. Tesis Ing. Agrónomo, Concepción. Universidad de Concepción. 94 p.
- TOLLENAAR, H.; BLEIHOLDER, H.; VERA, A. 1970. Observaciones de nuevas enfermedades vegetales en Chile. *Agr. Tec. Chile* 30 (1): 51-54.
- TUITE, J. 1969. Plant pathological methods. Fungi and Bacteria. Minneapolis. Burgess Publishing, 239 p.
- VAARTAJA, O.; CRAM, W. H.; MORGAN, G. A. 1961. Damping-off etiology specially in forest nurseries. *Phytopathology* 51: 35-42.
- VERGARA, C. 1951. Nuevas determinaciones micológicas para Chile. *Agr. Tec. Chile* (1): 86.

Recibido en Diciembre 1985

Los autores

EDUARDO KUNSTMANN. Ingeniero Forestal. Forestal Tornagaleones Ltda. Arauco 910, Valdivia Chile.

MOISES OSORIO. Ingeniero Forestal. Instituto de Silvicultura. Facultad de Ciencias Forestales. Universidad Austral de Chile. Casilla 567, Valdivia, Chile.

HERNAN L. PEREDO. Dr., Ingeniero Forestal. Instituto de Silvicultura. Facultad de Ciencias Forestales. Universidad Austral de Chile. Casilla 567, Valdivia, Chile