

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
Departamento de Silvicultura



**SUSCEPTIBILIDAD DE ALGUNAS ESPECIES
FORESTALES NATIVAS CHILENAS A**
Macrophomina phaseolina (TASSI) GOID

**MEMORIA DE TITULO PRESENTADA A
LA FACULTAD DE CIENCIAS
FORESTALES DE LA UNIVERSIDAD DE
CONCEPCION PARA OPTAR AL
TITULO DE INGENIERO FORESTAL.**

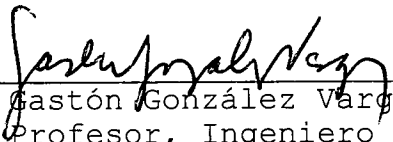
JUAN CARLO HINOJOSA CUNEO
CONCEPCION - CHILE

1997

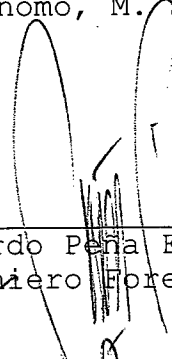
SUSCEPTIBILIDAD DE ALGUNAS ESPECIES NATIVAS CHILENAS A

Macrophomina phaseolina (TASSI) GOID.

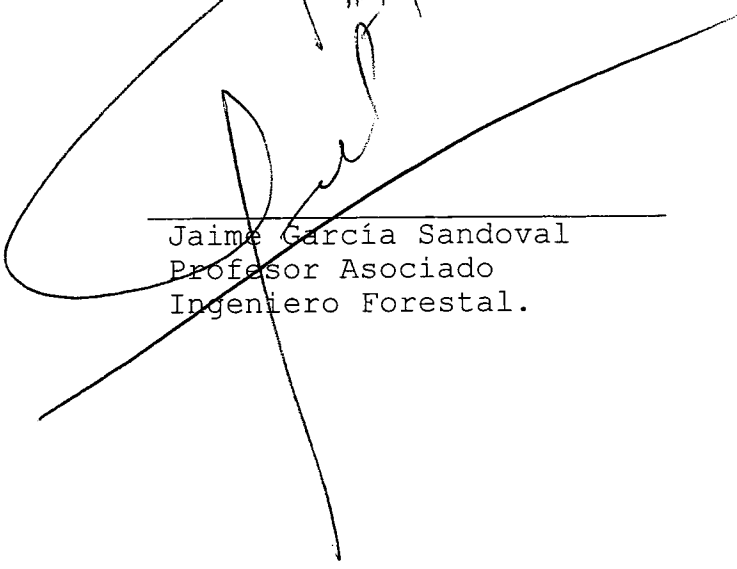
Profesor Asesor


Gastón González Vargas
Profesor, Ingeniero
Agrónomo, M. Sc.

Director de Departamento
De Silvicultura


Eduardo Peña Fernández
Ingeniero Forestal, M. Sc.

Decano Facultad de
Ciencias Forestales


Jaime García Sandoval
Profesor Asociado
Ingeniero Forestal.

A MIS PADRES

A MI ESPOSA

A MIS HIJAS

AGRADECIMIENTOS

El autor desea expresar sus agradecimientos a las siguientes personas:

Profesor Gastón González V., por el constante apoyo brindado en el desarrollo de este trabajo.

Profesor René Escobar R., por sus aportes en la prescripción de algunos tratamientos pregerminativos.

Profesor Guillermo Rodríguez R., por aportar un número considerable de especies nativas y en prescribir algunos de los tratamientos pregerminativos.

Al Sr. Eugenio Sanfuentes V., por su colaboración en las actividades.

Al personal del laboratorio de cultivo de tejidos por los servicios prestados en la esterilización de los materiales.

A todo el personal académico, administrativo y auxiliar de la Universidad de Concepción, que influyeron en forma directa o indirecta en mi formación profesional.

INDICE DE MATERIAS

CAPITULO	PAGINA
I INTRODUCCION	1
II REVISION BIBLIOGRAFICA	5
2.1 Taxonomía	5
2.2 Características reproductivas del patógeno	6
2.3 Posición ecológica de este organismo en el suelo	7
2.4 Factores que afectan el desarrollo de la enfermedad	8
2.5 Sintomatología	11
III MATERIALES Y METODOS	14
3.1 Materiales	14
3.2 Metodología	16
3.2.1 Antecedentes generales	16
3.2.2 Propagación de las especies estudiadas	16
3.2.3 Preparación de inóculo	21
3.2.4 Preparación del sustrato	23
3.2.5 Esterilización de los materiales	23
3.2.6 Inoculación	24
3.2.7 Siembra	25

CAPITULO	PAGINA
3.2.8 Riego	26
3.2.8.1 Riego de pre-emergencia	26
3.2.8.2 Riego de post-emergencia	26
3.2.9 Registro de la información	26
3.2.9.1 Mortalidad	27
3.2.9.2 Temperatura	27
3.2.9.3 Descripción de las observaciones	28
3.2.9.4 Otras mediciones	28
3.2.10 Diseño experimental	28
3.2.11 Análisis de la información	29
IV RESULTADOS Y DISCUSION	30
4.1 Germinación	30
4.2 Mortalidad	34
4.3 Temperatura	43
4.4 Presencia de cuerpos frutales ...	47
4.5 Sintomatología	49
4.6 Análisis de especies resistentes al patógeno	55
V CONCLUSIONES	68
VI RESUMEN	70
SUMMARY	71

CAPITULO	PAGINA
VII BIBLIOGRAFIA	72
VIII APENDICES	78
APENDICE 1 Tablas	78
APENDICE 2 Figuras	83

INDICE DE TABLAS

TABLA N°		PAGINA
	<u>En el texto</u>	
1	Especies seleccionadas en el estudio	15
2	Tratamientos pregerminativos	18
3	Emergencia de las especies en presencia y ausencia de <u>Macrophomina phaseolina</u> en el suelo	33
4	Porcentaje de mortalidad alcanzado en plantas inoculadas	36
5	Porcentaje acumulado semanal de la mortalidad de las especies, ensayo 1988	38
6	Porcentaje acumulado semanal de la mortalidad de las especies, ensayo 1989	39
7	Agrupación de especies según categorías de mortalidad	40
8	Especies categoría leve	41
9	Especies categoría moderada	41
10	Especies categoría severa	42
11	Comportamiento semanal de la temperatura del suelo, ensayo 1988	43
12	Comportamiento semanal de la temperatura del suelo, ensayo 1989	44
13	Resumen de observaciones de plantas con presencia de cuerpos frutales	48
14	Porcentaje de expresión de los síntomas por especie	54

15	Resumen de observaciones a plantas sobrevivientes a la inoculación	57
----	---	----

TABLA N°

PAGINA

En el Apéndice 1

1-A	Análisis germinación	79
2-A	Análisis estadístico, peumo	80
3-A	Análisis estadístico, lingue	81
4-A	Análisis estadístico, olivillo	82

INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°		PAGINA
	<u>En el texto</u>	
1	Comportamiento de la tasa de global de mortalidad y la temperatura media semanal para los ensayos de 1988 (A) y 1989 (B)	46
2	Síntomas mostrados por la parte aérea de las plantas de maitén	50
3	Síntomas mostrados por la parte aérea de las plantas de araucaria	51
4	Porcentaje de expresión de los síntomas a nivel general del ensayo	55
5	Distribución de pesos secos promedios para las macetas inoculadas (A) y las testigo(B) para peumo	58
6	Comparación visual de las plantas inoculadas y las testigo para peumo ...	59
7	Distribución de pesos secos promedios para las macetas inoculadas (A) y las testigo (B) para lingue	61
8	Comparación visual entre las plantas inoculadas y las testigo para lingue ..	62
9	Distribución de pesos secos promedios para las macetas inoculadas (A) y las testigo (B) para olivillo	64

En el Apéndice 2

1-B	Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para Araucaria	84
2-B	Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para Avellano	84
3-B	Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para Canelo	85
4-B	Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para Hualo	85
5-B	Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para Lilén	86
6-B	Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para Litre	86
7-B	Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para Maitén	87
8-B	Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para Maqui	87
9-B	Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para Mayo	88
10-B	Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para Notro	88

FIGURA N°**PAGINA**

11-B	Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para Olivillo	89
12-B	Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para Raulí	89
13-B	Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para Roble	90
14-B	Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para Ruíl	90
15-B	Porcentaje de expresión de los síntomas para Araucaria	91
16-B	Porcentaje de expresión de los síntomas para Avellano	91
17-B	Porcentaje de expresión de los síntomas para Canelo	92
18-B	Porcentaje de expresión de los síntomas para Hualo	92
19-B	Porcentaje de expresión de los síntomas para Lilén	93
20-B	Porcentaje de expresión de los síntomas para Litre	93
21-B	Porcentaje de expresión de los síntomas para Maitén	94
22-B	Porcentaje de expresión de los síntomas para Maqui	94
23-B	Porcentaje de expresión de los síntomas para Mayo	95

FIGURA N°**PAGINA**

24-B	Porcentaje de expresión de los síntomas para Notro	95
25-B	Porcentaje de expresión de los síntomas para Olivillo	96
26-B	Porcentaje de expresión de los síntomas para Raulí	96
27-B	Porcentaje de expresión de los síntomas para Roble	97
28-B	Porcentaje de expresión de los síntomas para Ruíl	97

En Chile, Mujica y Vergara (1980), señalan a soya (Glycine max) y poroto (Phaseolus vulgaris) como especies agrícolas susceptibles. En 1983, determinaciones positivas de este patógeno son encontradas en seis viveros forestales ubicados entre la VI y la IX Región, (González y Santelices, 1985), citados por Butin y Peredo (1986).

El daño de muchos patógenos se puede prevenir y controlar a costos razonables mediante la aplicación de algunas labores culturales o por el uso de pesticidas, sin embargo, con estos métodos no se asegura control de M. phaseolina, ya que si las condiciones ambientales son favorables para el desarrollo de la enfermedad, este hongo puede ocasionar importantes pérdidas. Según Smith, R. (1966); Sinclair y Gray (1972), citados por Meyer et al. (1972), este patógeno se puede controlar fumigando el suelo, pero esta técnica es de tan elevado costo en algunos países, que ha obligado a clausurar aquellos viveros donde las pérdidas en la productividad han sido altamente significativas. Esto se produjo en algunos viveros de los EE.UU. ubicados en Mississippi donde se producía plantas de Pinus elliotti, Pinus taeda, Pinus palustris y Pinus echinata, (Hodges, 1962). En Chile (VIII Región), es el caso del vivero forestal "Velenunque" de propiedad de Forestal Chile S.A., el cual registró un alto nivel de daño provocado por M.

phaseolina durante varias temporadas sucesivas en plantas de Pinus radiata, lo que influyó de manera importante para ser clausurado en 1987 (*).

En general, no hay antecedentes de la tolerancia de las especies forestales nativas chilenas a M. phaseolina aunque existen informes de la determinación de su presencia en Aextoxicon punctatum (olivillo), Amomyrtus luma (luma), Cryptocarya alba (peumo), Embotrium coccineum (notro), Eucryphia glutinosa (guindo santo), Gevuina avellana (avellano), Maytenus boaria (maitén), Nothofagus alpina (raulí), Nothofagus dombeyi (coigüe), Nothofagus leonni (hualo), Nothofagus obliqua (roble), Persea lingue (lingue), Schinus molle (pimiento) y Sophora microphyla (pelú), realizadas por González durante 1985, 1986 y 1987 (**), sin embargo, con esta información, no se puede cono-

(*) Julio Piwonka de A., Subgerente de Patrimonio, Forestal Chile S.A.. Comunicación personal (Abril, 1992).

(**) Gastón González V., Profesor Fitopatología Forestal, Facultad de Ciencias Forestales, Universidad de Concepción. Comunicación personal (Julio 1988).

cer el grado de susceptibilidad de estas especies ya que no se entregan antecedentes del nivel real del daño causado en los viveros donde se detectó.

La circunstancia de que se disminuya la producción de especies nativas en los viveros por M. phseolina, puede implicar que los programas de repoblación con este tipo de recurso se vean seriamente afectados.

Este estudio pretende ser una herramienta de apoyo para las personas que tengan la responsabilidad de trabajar en la producción de especies nativas, ya que permitirá disponer de antecedentes que indiquen el grado de susceptibilidad de estos cultivos ante un eventual ataque de M. phaseolina, obtener la descripción de los síntomas desarrollados, determinación de estructuras somáticas o reproductivas y medición del efecto en el crecimiento total, lo cual será de gran ayuda para evitar potenciales pérdidas económicas.

II. REVISION BIBLIOGRAFICA.

2.1 Taxonomía.

Macrophomina phaseolina (Tassi) Goid, género monotípico, pertenece a la división Eumycota, clase Deuteromicetes, orden Sphaeropsidales, familia Sphaeropsidaceae. (Ainsworth y Bisby, 1961), citado por Sanfuentes (1989).

Según Seymour (1968), citado por Sanfuentes (1989), tiene la siguiente sinonimia :

- Macrophoma phaseolina Tassi, 1901.
- Macrophomina phaseoli (Maubl) Ashby, 1927.
- Macrophoma phaseoli Maubl., 1905.
- Macrophoma corchori Sawada, 1916.
- Macrophomina philippenesis Petr., 1923.
- Macrophoma cajani Syd & Bull., 1916.
- Macrophoma sesami Sawada, 1922.
- Sclerotium bataticola Taub., 1913.
- Rhizoctonia bataticola (Taub) Briton - Jones, 1925.
- Rhizoctonia lamellifera Snall, 1924.
- Dothiorella cajani Syd & Bull., 1925.

2.2 Características reproductivas del patógeno.

M. phaseolina es un hongo polimórfico, pudiendo encontrarse en estado de micelio, esclerocio o picnidio.

Este patógeno sobrevive a las condiciones adversas del invierno por medio de microesclerocios formados en las raíces de los huéspedes y la parte baja de los tallos, éstos son eventualmente liberados en el suelo donde permanecen latentes hasta que nuevos cultivos son establecidos (Norton, 1953). El esclerocio se activa cuando se estimula su germinación por la exudación de raíces; filamentos de hifas que aparecen de los esclerocios germinados son los órganos que entran en las raíces jóvenes (Smith, W. 1969).

M. phaseolina penetra las raíces de las plantas de soya en un rango de edad de 7 a 42 días. El micelio del hongo invade los tejidos corticales en forma intercelular; después que ocurre la invasión celular, es seguida por la formación de esclerocios. El gran tamaño del esclerocio, la aparente disrupción de las paredes celulares del huésped y la aparición de éstos en el tallo, sólo después de la pérdida de color, sugieren que la presencia de esclerocios

en los tejidos es una indicación de la muerte de las células de la planta (Short et al., 1978).

2.3 Posición ecológica de este organismo en el suelo.

Existe confusión respecto de la posición ecológica de este organismo en el suelo y la naturaleza del inóculo responsable de la iniciación de la infección.

Hodges (1963), reconoce a Sclerotium bataticola como un "parásito facultativo habitante del suelo", basado en la capacidad de este organismo para persistir por largos períodos en el suelo como esclerocio.

Según Norton (1953), M. phaseolina sólo es capaz de crecer limitadamente en el suelo debido a que varios microbios habitantes del suelo son antagónicos a este hongo.

Semeniuk (1944), citado por Smith, W. (1969), presentó evidencias de que M. phaseolina es un patógeno significativo en maíz y sorgo, sólo en ausencia de organismos competidores.

La reducción de tejido, destrucción y rápido desarrollo de esclerocios después de la muerte de las plantas de sorgo,

sugieren que M. phaseolina es un saprófito de poca importancia, capaz de crecer en tallos muertos (Edmunds, 1964).

Smith, W. (1969), debido a la confusión existente, estudió la capacidad del micelio y del esclerocio para iniciar la enfermedad bajo distintas condiciones de suelo. Los resultados obtenidos indican que ambas formas de inoculación (con micelio y con esclerocios), producen menos mortalidad en los suelos con mayor presencia de organismos (microbios) antagónicos, se cree que el micelio y conidios juegan un rol insignificante como inóculo o agentes de persistencia de este hongo. La gran mortalidad causada por la inoculación con esclerocios es evidencia adicional para sostener la teoría de que estas estructuras actúan como inóculo primario natural de este patógeno, lo cual permite clasificarlo como un organismo habitante de raíces.

2.4 Factores que afectan el desarrollo de la enfermedad.

De acuerdo con antecedentes encontrados en numerosos trabajos, la temperatura y la humedad del suelo son los factores más importantes que se relacionan con la severidad de la enfermedad causada por Macrophomina phaseolina (Tassi) Goid.

Hodges (1962), encontró una correlación positiva entre la severidad de la enfermedad y los incrementos de la temperatura del suelo dentro del rango de 21°C a 38°C, observaciones de campo indican que esta enfermedad es más severa durante el verano cuando aumenta la temperatura del suelo, esto también es señalado en trabajos realizados por Smith, R. (1965); Smith, W. (1969).

Meyer et al. (1974), informa que la enfermedad producida por M. phaseolina en plantas de soya aumenta con 30°C y 35°C, aunque algunas infecciones se produjeron con 20°C y 25°C. El máximo daño se produce con temperaturas entre 35°C y 40°C.

Las condiciones de alta humedad del suelo muchas veces han sido encontradas disminuyendo los efectos de las altas temperaturas.

Medidas de control culturales como el riego y la fertilización son sugeridas pero muchas veces son impracticables o inefectivas cuando las condiciones medio-ambientales son favorables para el desarrollo de esta enfermedad (Pearson et al., 1984).

Edmunds (1964), demostró que la pudrición carbonosa en cultivo de sorgo fue severa en plantas inoculadas cerca de la maduración a temperaturas de 35°C y 40°C con 25% de humedad disponible del suelo, sin embargo, con 80% de agua disponible del suelo no ocurrió infección.

Graffar y Erwin (1969), indicaron que cuando las temperaturas del suelo subieron a 40°C, la severidad de esta enfermedad no fue nunca tan grande como la comúnmente observada en Pakistán, sin embargo, la severidad fue mucho mayor cuando las plantas se sometieron a estrés hídrico.

Norton y Frank (1963), encontraron que pudrición carbonosa en guayule fue rápidamente controlada por irrigación a pesar de las altas temperaturas.

Debido a la gran cantidad de trabajos realizados para analizar los factores que afectan la severidad de esta enfermedad y a la variedad de resultados obtenidos, Bruton et al. (1987), realizaron un estudio en plantas de melón para determinar la importancia de estos factores. El porcentaje del sistema radicular infectado en las plantas por M. phaseolina se incrementó en forma sigmoídea desde la plantación en ocho experimentos durante tres años. La infección no se relacionó significativamente con la

temperatura del suelo, algunos aumentos de la temperatura inhibieron la infección. Cerca de la floración, el porcentaje de infección fue directamente relacionado con el contenido de humedad del suelo, mientras que estos efectos fueron inversos después de la fructificación.

Se han señalado algunos factores adversos que afectan la persistencia de los propágulos o esclerocios como son el repetido congelamiento y descongelamiento del suelo, (Bristow, 1975), citado por Short et al. (1980), la baja relación carbono/nitrógeno y la alta humedad del suelo (Dhingra y Sinclair, 1973; 1974).

2.5 Sintomatología.

Los síntomas expresados por la parte aérea de las plantas, son característicos para muchas enfermedades radicales y se manifiestan por clorosis, marchitez y muerte. Los síntomas de la raíz no se relacionan siempre con los del follaje, es común que plantas que presentan una avanzada sintomatología radicular no muestren síntomas en la copa, debido a que las plantas estarían bajo condiciones óptimas de nutrición y humedad (Hodges, 1975). Los síntomas producidos por esta enfermedad en estudios de inoculación

artificial, no fueron tan severos como los observados en los viveros (Hodges, 1962).

Los síntomas característicos de esta enfermedad mostrados por el sistema radicular son el ennegrecimiento de la porción distal de la raíz principal y laterales gruesas, también aparecen zonas engrosadas sobre estas mismas raíces lo que permite alcanzar diámetros 2 a 3 veces mayores a los normales. Estudios histológicos indican que aparentemente los engrosamientos resultan a partir de la multiplicación de las células del felodermo, ya que observaciones en tejidos sanos muestran al felodermo constituido por 2 a 3 capas de células rectangulares, en cambio los tejidos enfermos muestran 10 a 30 capas de estas mismas células. Sobre las porciones muertas de la raíz principal, suelen formarse raíces secundarias que también pueden ser infectadas (Hodges, 1962 y 1963).

Los engrosamientos de las raíces son de textura corchosa, muy ásperos y eventualmente se vuelven negros, de aquí se deriva el nombre de pudrición negra de la raíz.

Los síntomas producidos por esta enfermedad en estudios de inoculación no son, hasta ahora, tan severos como los producidos en plantas que crecen sobre suelo naturalmente

infectado. Los síntomas producidos en plantas creciendo en suelo naturalmente infectado a temperaturas de 32°C y 38°C son igualmente severos como los mostrados bajo condiciones de campo. Esto sugiere que un organismo adicional o un complejo de ellos pueden ocasionar esta enfermedad (Hodges, 1963).

III. MATERIALES Y METODOS.

3.1 Materiales.

Para establecer el ensayo se necesitó de los siguientes materiales :

- Se utilizó un total de 23 especies nativas chilenas, las que se presentan en la tabla 1.
- 5.2 gramos de esclerocios.
- 230 kilos de arena estéril.
- 230 macetas (volumen 1 l).
- Poliestileno granulado (se usó este material estéril para disponer del volumen total de las macetas ocupadas).
- Un termómetro de suelo.

TABLA 1: ESPECIES SELECCIONADAS EN EL ESTUDIO.

FAMILIA	NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE COMUN
Aextoxicaceae	Aextoxicon punctatum	olivillo
Anacardiaceae	Gevuina avellana	avellano
Araucariaceae	Araucaria araucana	araucaria
Celastraceae	Lithrea caustica	litre
Celastraceae	Maytenus boaria	maitén
Cupressaceae	Austrocedrus chilensis	ciprés
Elaeocarpaceae	Aristotelia chilensis	maqui
Fabaceae	Sophora macrocarpa	mayo
Fagaceae	Nothofagus alpina	raulí
Fagaceae	Nothofagus alessandrii	ruíl
Fagaceae	Nothofagus leonni	hualo
Fagaceae	Nothofagus obliqua	roble
Fagaceae	Nothofagus dombeyi	coigüe
Flacourtiaceae	Azara celastrina	lilén
Lauraceae	Cryptocarya alba	peumo
Lauraceae	Persea lingue	lingue
Monimiaceae	Peumus boldus	boldo
Myrtaceae	Amomyrtus luma	luma
Myrtaceae	Luma apiculata	arrayán
Podocarpaceae	Prumnopitys andina	lleuque
Podocarpaceae	Podocarpus saligna	mañío
Proteaceae	Embotrium coccineum	notro
Winteraceae	Drimys winteri	canelo

3.2 Metodología.

3.2.1 Antecedentes Generales.

El ensayo se instaló en el Invernadero de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Concepción, ubicado en la ciudad de Chillán.

El estudio se inició en marzo de 1988 con la recolección de semillas y la preparación de los materiales, entrando en su fase experimental el 24 de octubre del mismo año.

Cabe señalar, que se realizó nuevamente un ensayo similar en noviembre de 1989 con algunas de las mismas especies y otras de las que se consiguió semillas frescas.

3.2.2 Propagación de las especies estudiadas.

Debido a la escasa disponibilidad de material nativo en el Centro de Semillas de CONAF (Corporación Nacional Forestal), ubicado en la ciudad de Chillán, se procedió a la recolección directa.

Uno de los centros de recolección fue el Cerro la Campana ubicado en la V Región, en este lugar se obtuvo semillas de lilén, lingue, peumo, litre, boldo, maqui y mayo.

Otras especies como roble, notro, avellano, maitén, lleuque y olivillo, se obtuvieron de la precordillera de Chillán (sector de Recinto).

Además se recibió el aporte particular de las siguientes especies : ciprés de la cordillera, raulí, ruíl, hualo, coigüe, patagua, quillay, copihue, bérberis, puya, latua y murtilla.

Para el caso particular de araucaria y canelo se ocupó plantas del vivero de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Concepción.

A todas las semillas se aplicó una serie de tratamientos pregerminativos para sacarlas de latencia y propiciar una germinación más homogénea.

Debido a limitaciones de capacidad (inóculo y macetas), sólo una parte de las especies recolectadas se usó en este estudio. Sin embargo, la tabla 2, muestra los tratamientos

pregerminativos de todas ellas que pueden servir como antecedentes para futuras investigaciones.

TABLA 2: TRATAMIENTOS PREGERMINATIVOS.

Nº	ESPECIE	TRATAMIENTO PREGERMINATIVO	FUENTE
1	Avellano	Recolección y siembra directa.	1
2	Bérberis	Estratificación en arena húmeda por 40 días.	4
3	Boldo	Escarificación en ácido sulfúrico por 45 min y estratificación en arena húmeda por 50 días.	4
4	Ciprés	Remojo por 24 horas en agua y estratificación en arena húmeda por 45 días.	2
5	Coigüe	Estratificación en arena húmeda por 60 días.	2
6	Copihue	Remojo 72 horas y estratificación en arena húmeda por 23 días.	4
7	Hualo	Remojo por 48 horas en agua y estratificación en arena húmeda por 40 días.	1 - 4
8	Latua	Remojo por 120 horas y estratificación en arena húmeda por 35 días.	4
9	Lilén	Estratificación en arena húmeda por 40 días.	4
10	Lingue	Recolección y siembra directa.	4
11	Litre	Escarificación mecánica (con arena) y estratificación en arena húmeda por 40 días.	3

Nº	ESPECIE	TRATAMIENTO PREGERMINATIVO	FUENTE
12	Lleuque	Escarificación mecánica (con arena) y estratificación en arena húmeda por 40 días.	4
13	Luma	Estratificación en arena húmeda por 40 días.	4
14	Maitén	Estratificación en arena húmeda por 40 días.	4
15	Maqui	Remojo 48 horas y estratificación en arena húmeda por 20 días.	4
16	Mayo	Escarificación en ácido sulfúrico por 30 min y almacenamiento hasta la siembra.	4
17	Murtilla	Remojo 96 horas y estratificación en arena húmeda por 35 días.	4
18	Notro	Estratificación en arena húmeda por 40 días.	4
19	Olivillo	Recolección y siembra directa.	3
20	Patagua	Estratificación en arena húmeda por 20 días.	4
21	Peumo	Recolección y siembra directa.	3
22	Puya	Siembra directa. arena húmeda por 23 días.	4
23	Quillay	Estratificación en arena húmeda por 15 días.	2

N°	ESPECIE	TRATAMIENTO PREGERMINATIVO	FUENTE
24	Raulí	Remojo por 48 horas en agua y estratificación en arena húmeda por 40 días.	1 - 4
25	Roble	Remojo por 48 horas en agua y estratificación en arena húmeda por 40 días.	1 - 4
26	Ruíl	Remojo por 48 horas en agua y estratificación en arena húmeda por 40 días.	1 - 4

FUENTE :

- 1 -Ficha coleccionable de especies chilenas revista Chile Forestal.
- 2 -Documento técnico N° 15 revista Chile Forestal.
- 3 -Profesor René Escobar (docente Universidad de Concepción).
- 4 -Profesor Guillermo Rodríguez (docente Universidad de Concepción).

OBSERVACIONES :

En aquellos pretratamientos donde se considera estratificación en arena húmeda, ésta se efectuó a 5°C.

El ácido sulfúrico para la escarificación fue de concentración 60%.

Aquellas especies donde se recomienda la recolección y siembra directa, se realizó en cajones con arena estéril que se mantuvieron en un lugar con poca luz y baja temperatura.

En las especies donde se recomienda un remojo previo en agua, se debe tener la precaución de renovarla cada 24 horas para evitar la fermentación.

La arena utilizada se esterilizó para evitar la presencia de otros patógenos.

3.2.3 Preparación de inóculo.

Para propagar el hongo, se hizo aislamientos a partir de plantas de Pinus radiata infectadas, de este modo se formaron las colonias originales que son la base de la propagación masiva del patógeno.

Para generar los cultivos madres se tomó trozos de secciones de tejidos infectados de la raíz, los que se esterilizaron sumergiéndolos en una solución de hipoclorito

de sodio a una concentración de 0.5% por 60 segundos, luego se pusieron en placas petri con PDA (agar-papa-dextrosa) para ser incubados por 7 días a 30°C (Dhingra y Sinclair, 1973).

Para la propagación masiva del hongo se realizó de acuerdo con el método descrito por Smith, W. (1969), para ello se preparó caldo de soya, que se obtiene al hervir durante 30 min 100 g de soya en un litro de agua, una vez separado el caldo se agregan 20 g de glucosa. Posteriormente la solución se reparte en matraces de una capacidad de 250 a 300 ml donde se deposita 100 ml de caldo de soya en cada uno, los matraces son cubiertos con algodón cardado para ser esterilizados.

Después de la esterilización de los matraces se procede a inocularlos con trozos infectados de PDA. Los trozos se toman con un sacabocado de 5 mm y se deposita uno en cada matraz, luego se ponen a incubar por 30 días a 30°C.

Transcurrido el período de incubación, los matraces se retiran para cosechar los esclerocios formados, el contenido se vierte sobre un tamiz de 250 μ m y se lava con agua destilada hasta eliminar totalmente el micelio, después los esclerocios son secados para su almacenamiento.

Durante la producción del hongo, se cambió el caldo de cultivo original por caldo de poroto y lupino, de esta forma se logró disminuir el período inicial de incubación de 30 a 10 días con el poroto; con el lupino, no disminuyó en forma importante el período de incubación.

3.2.4 Preparación del sustrato.

Se utilizó arena como sustrato ya que permite una mejor distribución del inóculo al mezclarla con el hongo.

Para utilizarla en el estudio, primero se arneó para eliminar piedras y otros elementos extraños, después se almacenó en sacos para su posterior esterilización.

3.2.5 Esterilización de los materiales.

Para evitar que en el ensayo aparecieran factores ajenos, se debió hacer una esterilización del sustrato y los caldos de cultivo. Se utilizó un autoclave donde estuvieron expuestos a una temperatura de 121°C, a 6.8 kg de presión durante 45 minutos.

3.2.6 Inoculación.

El sustrato se inoculó con esclerocios considerando una concentración de 45 'mg por cada un kilo de arena seca, lo que equivale a poner un total aproximado de 78.300 esclerocios por maceta.

Se eligió esta concentración de acuerdo con datos entregados por Sanfuentes en 1987 (*), ya que una alta concentración de inóculo en el sustrato, aseguraría una mayor probabilidad a que el huésped sea colonizado.

Para la inoculación se ocupó un recipiente hermético donde se mezcló la arena con el hongo agitando durante 2 minutos la mezcla.

(*) Eugenio Sanfuentes V., Ayudante Cátedra de Fitopatología, Facultad de Ciencias Forestales, Universidad de Concepción. Comunicación personal (Julio, 1987).

3.2.7 Siembra.

Una vez que los maceteros se llenaron con arena, se procedió a la siembra. Para esto se ocupó una cantidad fija de 10 semillas por cada maceta para todas las especies, excepto para avellano (5 semillas).

Para determinar la profundidad de siembra de cada especie, se utilizó el siguiente criterio, la profundidad será igual a 3 veces el tamaño de la semilla. Una forma de asegurar que se cumpla la profundidad adecuada para cada especie, es mojar el sustrato previamente ya que la arena seca no tiene cohesión.

Para disminuir la temperatura superficial se utilizó una malla Raschell (65% de disminución luminosa) debido al color del sustrato (arena negra). Una vez que las plantas tenían un par de hojas verdaderas, se procedió a trasladar los maceteros de mesón quedando expuestos a luz directa.

Para el caso de las plantas transplantadas de araucaria y canelo, se puso un total de 4 y 5 plantas por maceta respectivamente. El transplante se realizó después de la hora crepuscular para evitar temperaturas demasiado altas. Las plantas de araucaria, al momento de ser transplantadas,

tenían un tamaño aproximado de 7 cm y hojas verdaderas, las de canelo medían 1.5 cm y sólo tenían cotiledones.

3.2.8 Riego.

3.2.8.1 Riego de pre-emergencia.

Se mantuvo la humedad cercana a la capacidad de campo, ésto se logró con riegos diarios de 30 ml de agua destilada por cada maceta.

3.2.8.2 Riego de post-emergencia.

Una vez que se produce la emergencia de las plantas, los riegos se hacen menos frecuentes. Durante el estudio, se regó cada tres días con 30 ml de agua destilada por cada maceta.

3.2.9 Registro de la información.

Para cumplir con los objetivos del estudio se registró la siguiente información :

3.2.9.1 Mortalidad.

Se consideró una planta muerta cuando el follaje se encontraba totalmente seco, en general ésto ocurre cuando los tejidos adquieren una tonalidad amarillo - café.

Se llevó un registro cada tres días, para ésto se contabilizó el número de plantas muertas por especie, éstas se retiraron para ser observadas bajo lupa con el objeto de encontrar evidencias de colonización.

Se calculó la tasa de mortalidad como la razón entre el número de plantas muertas al finalizar cada semana y el número total de plantas vivas al inicio de la misma semana.

3.2.9.2 Temperatura.

Se llevó un control diario de la temperatura del suelo, la que se tomó con un termómetro especial a una profundidad de 2 cm. Las lecturas se tomaron a las 14 horas.

3.2.9.3 Descripción de las observaciones.

Cada planta muerta fue observada bajo lupa para encontrar signos del patógeno y también describir los síntomas, como el estado de la raíz principal, raíz secundaria, presencia de cuerpos frutales y zonas colonizadas.

3.2.9.4 Otras mediciones.

Una vez finalizado el estudio, las plantas de las especies cuya mortalidad fue inferior al 10%, se retiraron para ser observadas bajo lupa, además se midió la biomasa de las macetas inoculadas y las testigo, de este modo se establece la posible influencia del patógeno en el crecimiento de las plantas.

3.2.10 Diseño experimental.

En el presente estudio se aplicó un diseño de items pareados, donde para cada especie se aplicó un tratamiento que corresponde a la inoculación con M. phaseolina, considerando cinco repeticiones, con un número igual como testigos.

3.2.11 Análisis de la información.

De acuerdo con el diseño experimental se aplicó la prueba de hipótesis para datos pareados.

Como se presentó una baja germinación en algunas especies, se realizó un análisis estadístico para comprobar si existen diferencias significativas entre los valores de germinación obtenidos por las plantas testigos y las inoculadas, con ésto se pudo determinar si M. phaseolina actúa en la etapa de pre-emergencia.

Debido a que las especies afectadas por esta enfermedad muestran variados niveles de daño, se establecieron tres categorías para realizar un análisis asociado. Se clasificó como leve a las especies que presentaron una mortalidad inferior al 33%, como moderada a las con una mortalidad entre 34% y 66%, y como severa a las superiores al 67%.

Para analizar los datos registrados de la temperatura del suelo, se calculó la temperatura media semanal, que corresponde al promedio de los datos diarios de temperatura. También se consideró la temperatura máxima semanal, que corresponde al valor máximo registrado en la semana.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION.

4.1 Germinación.

El porcentaje de germinación de las especies estudiadas fue muy variado y hubo casos donde no se produjo germinación como en boldo, lleuque, ciprés, y luma. Se intentó hacer germinar dos especies de este grupo nuevamente en 1989, pero se obtuvo los mismos resultados (Tabla 3).

La baja germinación alcanzada por muchas especies (Tabla 3), pudo haber sido afectada por el atraso obligado de la siembra en más de 25 días. Esta demora debió alterar las especificaciones de los pretratamientos germinativos, principalmente en aquellas especies donde las semillas se sometieron a estratificación en arena húmeda (Tabla 2). Al momento de la siembra varias especies mostraron evidencias claras de descomposición en sus semillas. Parte de las especies donde fue fácil detectar este problema no se incluyeron en el estudio.

Para hualo, ruíl y coigüe el porcentaje de germinación fue tan bajo que estas especies no podrán entregar un resultado definitivo respecto de la susceptibilidad a M. phaseolina,

sin embargo, las plantas muertas fueron revisadas para determinar los síntomas expresados que pueden servir como antecedentes para futuras investigaciones.

Se consideró que todas aquellas especies cuyo porcentaje de germinación fue mayor o igual al 20% entregarán resultados de la susceptibilidad al patógeno. En el ensayo efectuado en 1988, de un total 20 especies sólo 12 cumplen con esta condición. En 1989 de un total de 5 especies estudiadas, sólo 2 consiguieron un porcentaje de germinación superior al 20% (Tabla 3).

En la tabla 3 se muestra el porcentaje de sobrevivencia al transplante realizado para araucaria y canelo, que se registró a las 2 semanas después de esta operación, las plantas muertas se retiraron para ser observadas, pero no se encontró evidencias de M. phaseolina.

Excluyendo a las especies transplantadas, y con el objetivo de precisar un eventual efecto de M. phaseolina sobre la emergencia del total de las especies incluidas en el ensayo, se realizó una prueba estadística para datos pareados a los datos de emergencia. Para esta prueba las especies conformaron un conglomerado para el análisis de

comparación entre emergencia obtenida en tratamientos con y sin inoculación del suelo.

De acuerdo con los resultados obtenidos para los datos de emergencia de las especies, consideradas como tratamientos (Tabla 1-A, apéndice 1), se tiene que no existen diferencias entre la germinación obtenida por las plantas testigo y las inoculadas a un 5% de significación.

De lo anterior, se desprende que M. phaseolina (Tassi) Goid no afectó a las plantas en estudio en la etapa de preemergencia, y la baja germinación es atribuible a otros factores que afectaron a todas las plantas por igual (testigos e inoculadas).

Las diferencias observadas en número de plantas emergidas entre macetas inoculadas y macetas testigo para cada especie en particular son variables, en algunos casos la emergencia es superior en las macetas inoculadas (mayo, roble, raulí) y en otros, lo es en las macetas testigo. Cuando ocurre esto último, las diferencias son bajas excepto para avellano.

TABLA 3: EMERGENCIA DE LAS ESPECIES EN PRESENCIA
Y AUSENCIA DE M. phaseolina EN EL SUELO.

ESPECIE	FECHA DE SIEMBRA	EMERGENCIA			
		MACETAS TESTIGO		MACETAS INOCULADAS	
		Nº PLANTAS	(%)	Nº PLANTAS	(%)
Boldo	24/10/88	0	0	0	0
Lingue		29	58	26	52
Lleuque		0	0	0	0
Maqui		25	50	24	48
Peumo		37	74	35	70
Mayo		30	60	36	72
Ciprés	25/10/88	0	0	0	0
Coigüe		1	2	0	0
Hualo		3	6	2	4
Lilén		36	72	34	68
Litre		10	20	9	18
Luma		0	0	0	0
Maitén		44	88	42	84
Notro		15	30	16	32
Raúlí		11	22	13	26
Roble		29	58	32	64
Rufl	25/11/89	2	4	3	6
Avellano		21	84	14	56
Boldo		0	0	0	0
Olivillo		29	58	25	50
Araucaria		13	65	16	80
Canelo	27/10/88	18	72	19	76

En avellano hay 33% de menor emergencia en las plantas que germinaron en macetas inoculadas. Esta situación fue considerada fuera de lo normal del ensayo y se procedió a sacar semillas de las macetas, constatándose que habían iniciado el proceso de germinación pero la radícula aparecía seca y con abundante presencia de esclerocios. Para esta especie, entonces, puede señalarse la ocurrencia de un ataque de pre-emergencia. Smith, W. (1969) señalaba que M. phaseolina puede actuar de este modo, afectando negativamente la germinación o la emergencia.

4.2 Mortalidad.

Los factores más importantes que afectan el desarrollo de esta enfermedad son la temperatura y la humedad del suelo (Hodges, 1962; Smith, R. 1965; Smith, W. 1969; Meyer et al., 1974; Edmunds, 1964).

En este estudio, la humedad se mantuvo controlada con riegos periódicos abundantes, con lo cual las plantas no se sometieron a estrés hídrico. Por esta razón, la humedad del suelo no debió influir en la alta mortalidad obtenida en este estudio, donde se produce muerte de todas las plantas para una especie en ausencia de estrés hídrico que, como

afirma Bruton et al. (1987), es el único factor que favorece el desarrollo de la enfermedad.

La temperatura del suelo podría ser el factor que favoreció el desarrollo de esta enfermedad. Hodges (1962) y Meyer et al. (1974), indican que este factor es importante en un rango de 35°C a 40°C. En los ensayos, sólo ocasionalmente se alcanzó temperaturas promedio superiores a los 35°C, sin embargo, la temperatura se mantuvo en el suelo sobre 25°C, la que es suficiente para el crecimiento adecuado del patógeno (Smith, R. 1965).

La mortalidad se inició a la tercera semana después de la siembra, siendo afectadas sólo las plantas inoculadas (Tabla 4), en este período las plantas presentan escaso desarrollo mostrando sólo los cotiledones o algunas especies las primeras hojas verdaderas.

La tabla 4 muestra la mortalidad registrada al finalizar los estudios de 1988 y 1989. M. phaseolina causó pérdida de plantas en el 87% de las 16 especies estudiadas, siendo el peumo y el lingue las únicas especies que no registraron plantas muertas durante el estudio.

TABLA 4: PORCENTAJE DE MORTALIDAD ALCANZADO EN PLANTAS INOCULADAS.

ESPECIE NOM.COMUN	TOTAL DE PLANTAS		MORTALIDAD	
	TESTIGO	INOCULADO	N°PLANTAS	(%)
Araucaria	13	16	16	100,00
Avellano	21	14	7	50,00
Canelo	18	19	18	94,74
Hualo	3	2	2	100,00
Lilén	36	34	25	73,53
Lingue	29	26	0	0,00
Litre	10	9	7	77,78
Maitén	44	42	37	88,10
Maqui	25	24	24	100,00
Mayo	30	36	36	100,00
Notro	15	16	12	75,00
Olivillo	29	25	2	8,00
Peumo	37	35	0	0,00
Raúlí	11	13	13	100,00
Roble	29	32	32	100,00
Ruíl	2	3	3	100,00
TOTAL	352	346	234	67,63

El número total de plantas muertas a nivel general en los ensayos de 1988 y 1989, alcanzó a 234 ejemplares, lo que equivale a un 67.63%.

El comportamiento semanal de la mortalidad para cada especie se muestra en la Tabla 5, mayo aparece como la especie más vulnerable, ya que a la quinta semana después de la germinación registraba un 100% de mortalidad.

Otra especie muy susceptible es el roble, ya que a igual período acumulaba un 63% de plantas muertas.

Los máximos incrementos de la mortalidad se obtuvieron a la quinta y novena semana después de la siembra con un 11% y un 14% respectivamente.

A la novena semana, mayo, maqui y roble, habían alcanzado un 100% de mortalidad; a la undécima semana hualo y raulí tienen 100% de mortalidad y araucaria a la duodécima.

El estudio realizado en 1988 se prolongó por 30 semanas adicionales, sin embargo, después de la duodécima semana no se registró aumentos en la mortalidad.

TABLA 5: PORCENTAJE ACUMULADO SEMANAL DE LA MORTALIDAD DE LAS ESPECIES, ENSAYO DE 1988.

ESPECIE	NUMERO DE SEMANAS DESDE LA SIEMBRA											
NOM.COMUN	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Araucaria			13	13	44	56	63	63	88	100		
Canelo					21	42	68	74	84	95		
Hualo							50	50	100			
Lilén					3	12	65	73				
Lingue												
Litre			11	33	56	67	78					
Maitén				14	26	33	50	81	88			
Maqui		8	8	58	79	79	100					
Mayo	11	72	100									
Notro							19	63	75			
Peumo												
Raulí			31	46	54	85	92	92	100			
Roble		9	63	81	88	97	100					
Ruíl				33	33	67	100					
GENERAL	1	10	21	31	39	46	60	68	72	73	73	73
INCREMENTO		9	11	10	8	7	14	8	4	1		

Los niveles de mortalidad registrados en el ensayo realizado en 1989, fueron inferiores respecto a los obtenidos en 1988 (Tabla 6).

TABLA 6: PORCENTAJE ACUMULADO SEMANAL DE LA MORTALIDAD DE LAS ESPECIES, ENSAYO DE 1989.

ESPECIE	NUMERO DE SEMANAS DESDE LA SIEMBRA											
NOM.COMUN	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Avellano				29	50	50	50	50	50	50	50	50
Olivillo								8	8	8	8	8
GENERAL				11	20	20	20	24	24	24	24	24
INCREMENTO				11	8			5				

La especie más susceptible fue avellano que alcanzó un 50% de mortalidad a la séptima semana después de la germinación.

El máximo incremento de la mortalidad se registró a la sexta semana.

El número de especies en cada una de las categorías de mortalidad pre establecidas se presenta en la tabla 7.

Para determinar la categoría de respuesta a M. phaseolina sólo se consideró las 14 especies que obtuvieron un porcentaje de germinación superior al 20%.

TABLA 7: AGRUPACION DE ESPECIES SEGUN CATEGORIA
DE MORTALIDAD.

CATEGORIA	RANGO (%)	Nº ESPECIES	(%)
LEVE	0 - 33	3	21,4
MODERADA	34 - 66	1	7,2
SEVERA	67 - 100	10	71,4

La categoría leve (Tabla 8), concentra 21.4% de las especies estudiadas. Se destaca un factor común para la familia Lauraceae, ya que las dos especies estudiadas de esta familia no presentaron mortalidad.

TABLA 8: AGRUPACION DE ESPECIES CATEGORIA LEVE.

FAMILIA	ESPECIE	(%) MORTALIDAD
Lauraceae	Persea lingue	0
Lauraceae	Cryptocarya alba	0
Aextoxicaceae	Aextoxicon punctatum	8

De acuerdo a los bajos niveles de mortalidad mostrados por las especies de esta categoría (teniendo como valor máximo 8% para olivillo), puede estimarse que las especies agrupadas en este cuadro resultan altamente resistentes al patógeno si se utiliza el criterio de mortalidad para evaluar su comportamiento.

En la categoría moderada sólo se encuentra una especie, lo que representa 7.2% de las estudiadas (Tabla 9).

TABLA 9: AGRUPACION DE ESPECIES CATEGORIA MODERADA.

FAMILIA	ESPECIE	(%) MORTALIDAD
Anacardiaceae	Gevuina avellana	50

El nivel de mortalidad alcanzado por Gevuina avellana, la sitúa más cerca de la categoría severa, existiendo un amplio rango donde no se encuentra ninguna de las especies estudiadas (9% - 49%).

En la categoría severa se agrupa 71.4% de las especies estudiadas, encontrándose las especies mayor valor comercial como Araucaria araucana, Nothofagus alpina y Nothofagus oblicua (Tabla 10).

TABLA 10: AGRUPACION DE ESPECIES CATEGORIA SEVERA.

FAMILIA	ESPECIE	(%) MORTALIDAD
Araucariaceae	Araucaria araucana	100
Celastraceae	Maytenus boaria	88
Celastraceae	Lithrea caustica	78
Elaeocarpaceae	Aristotelia chilensis	100
Fabaceae	Sophora macrocarpa	100
Fagaceae	Nothofagus alpina	100
Fagaceae	Nothofagus oblicua	100
Flacourtiaceae	Azara celastrina	85
Proteaceae	Embotrium coccineum	88
Winteraceae	Drimys winteri	95

De acuerdo con las tablas anteriores, se tiene que la mayoría de las especies estudiadas son altamente susceptibles a M. phaseolina.

4.3 Temperatura del suelo.

Los datos registrados de la temperatura del suelo, se encuentran incluidos en las tablas 11 y 12, donde se indica el valor promedio semanal y la máxima temperatura obtenida en los ensayos de 1988 y 1989.

TABLA 11: COMPORTAMIENTO SEMANAL DE LA TEMPERATURA DEL SUELO, ENSAYO DE 1988.

TEMPERATURA	NUMERO DE SEMANAS DESDE LA SIEMBRA											
(°C)	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
MEDIA	27	24	31	31	34	34	34	38	34	33	32	34
INCREMENTO	0	-3	7	0	3	0	0	4	-4	-1	-1	2
MAXIMA	28	28	33	32	35	37	36	40	41	34	35	36
INCREMENTO	0	0	5	-1	3	2	-1	4	1	-7	1	1

TABLA 12: COMPORTAMIENTO SEMANAL DE LA TEMPERATURA DEL
SUELO, ENSAYO DE 1989.

TEMPERATURA	NUMERO DE SEMANAS DESDE LA SIEMBRA											
(°C)	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
MEDIA	31	33	32	29	26	29	30	34	33	33	33	32
INCREMENTO	0	2	-1	-3	-3	3	1	4	-1	0	0	-1
MAXIMA	35	38	36	34	30	38	33	36	34	36	35	33
INCREMENTO	0	3	-2	-2	-4	8	-5	3	-2	2	-1	-2

Las temperaturas iniciales en el ensayo de 1989, fueron más altas que las de 1988, sin embargo, en 1989 se produjo una disminución importante entre la sexta y novena semana.

Respecto a los incrementos semanales, en 1988 los máximos incrementos se produjeron a la quinta y a la décima semana con 7°C y 4°C, y en 1989 a la octava y la décima semana con 3°C y 4°C, respectivamente.

Existe un comportamiento muy similar de la tasa global de mortalidad y la temperatura media semanal en el ensayo de 1988 (figura 1-A), ya que estas variables alcanzan un valor máximo entre la novena y décima semana de estudio y entre la quinta y octava semana se mantiene un valor constante. Durante la quinta y octava semana el valor de la tasa de

mortalidad se mantiene aproximadamente en 16% y la temperatura media oscila entre 31°C y 34°C, cuando la temperatura se eleva por sobre este valor, la tasa de mortalidad aumenta considerablemente.

En el ensayo realizado en 1989 (figura 1-B) no se produce un comportamiento similar entre ambas variables, sin embargo, la curva de la temperatura media no supera los 35°C como en el ensayo realizado en el año 1988.

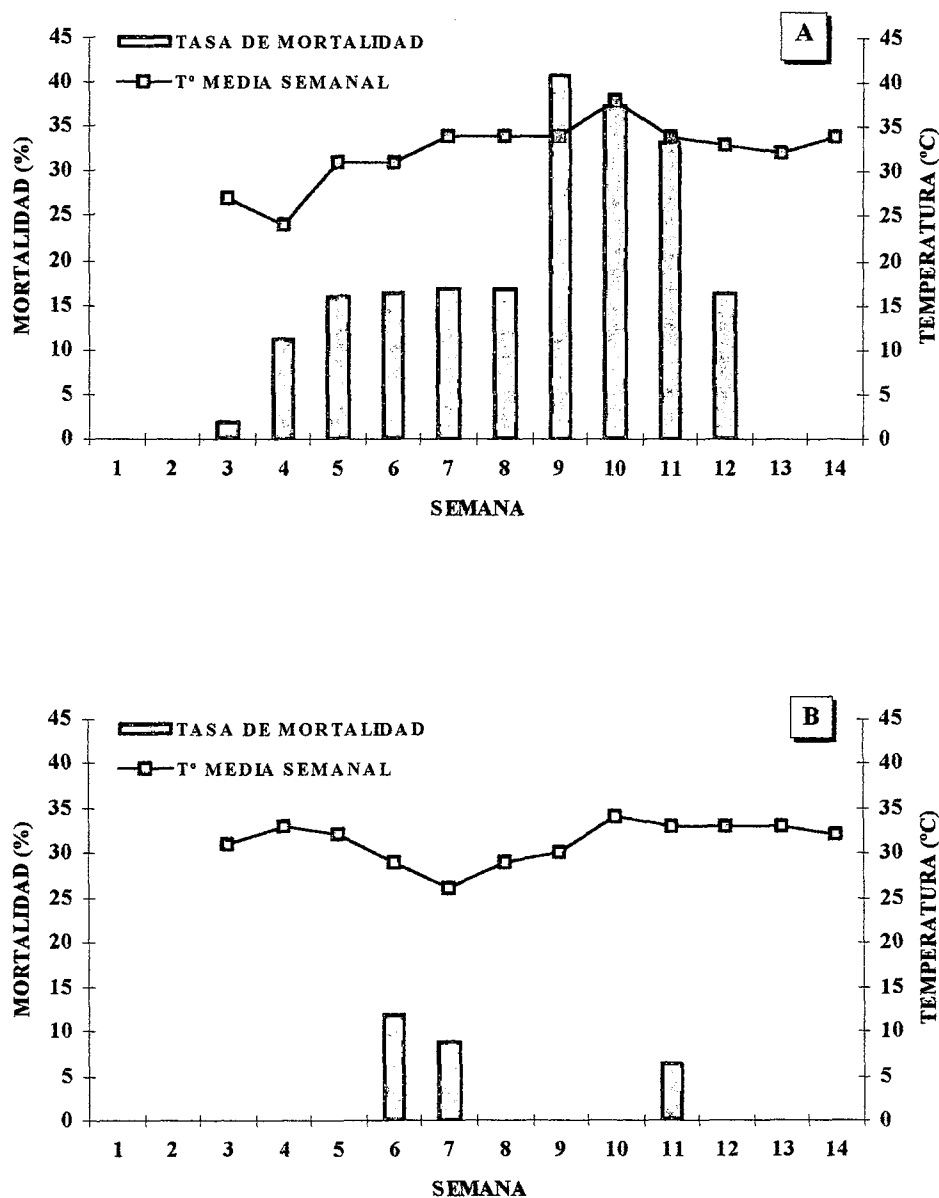


FIGURA 1: Comportamiento de la tasa global de mortalidad y la temperatura media semanal para los ensayos de 1988 (A) Y 1989 (B).

A nivel individual las especies presentaron distintas tendencias en el comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal.

En el apéndice 2 se muestran las figura para cada una de las especies que registró mortalidad (figuras 1-B a 14-B).

4.4 Presencia de cuerpos frutales.

Sólo el 62.5% de las especies estudiadas mostró presencia de cuerpos frutales. De un total de 228 plantas, sólo 58 de ellas mostraron cuerpos frutales lo que equivale a un 25% (tabla 13).

Los picnidios se presentaron en la raíz, base del tallo y en el tallo, existiendo plantas que los presentaron en una o más de estas ubicaciones. Es así que la ubicación más frecuente fue el tallo con un 78% de las plantas, seguida de la raíz con un 40% y la base del tallo con un 28% del total de plantas.

TABLA 13: RESUMEN DE OBSERVACIONES DE PLANTAS CON PRESENCIA DE CUERPOS FRUTALES.

ESPECIE	N° PLANTAS INOCULADAS	PLANTAS CON CUERPOS FRUTALES		UBICACION DE PICNIDIOS					
		N°	(%)	RAIZ		BASE TALLO		TALLO	
				N°PL.	(%)	N°PL.	(%)	N°PL.	(%)
Canelo	19	4	21	4	100	4	100		
Lilén	34	5	15			5			
Litre	9	1	11					1	100
Maitén	42	5	12			5	100		
Maqui	24	2	8	2	100	2	100		
Mayo	36	24	67	14	58	12	50	14	58
Notro	16	7	44			7	100		
Raulf	13	3	23	2	67	3	100		
Roble	32	6	19			6	100		
Rufl	3	1	33	1	100	1	100	1	100
TOTAL	228	58	25	23	40	45	78	16	28

4.5 Sintomatología.

Los síntomas expresados por la parte aérea de las plantas, corresponden a un marchitamiento acelerado del follaje producto de la suspensión del suministro de agua por el sistema radicular colonizado.

La planta muestra los primeros síntomas cuando los tejidos del follaje pierden turgencia, posteriormente debido a una deshidratación acelerada, las hojas cambian de color hasta quedar completamente secas (figuras 2 y 3).

Todas las plantas de las especies estudiadas mostraron los mismos síntomas en la parte aérea y en base a estos se determinó la mortalidad de las plantas.

Debido al poco desarrollo de las plantas al momento de iniciarse la mortalidad, en muchas especies se observó un comportamiento similar a "caída" de plantas o "damping off", esto se pudo ver además de maitén (figura 2), en las siguientes especies : mayo, canelo, raulí y lilén.

M. phaseolina es considerado como asociado al complejo de "damping off" por algunos autores (Lema, 1987), o produciendo "damping off" en algunas especies determinadas,

como indica Smith (1970), citado por Sanfuentes (1989), para Pinus lambertiana. En términos generales, M. phaseolina se comporta en el ensayo como un agente de pudrición seca de las raíces y no como agente de "damping off".

Las plantas que mostraron el efecto de "caída" presentaban una gran cantidad de esclerocios en la base del tallo.

En la figura 2, se puede observar en la maceta inoculada (izquierda) el efecto de "caída" de las plantas o "damping off" a las 7 semanas de desarrollo, cuando las plantas pre-



FIGURA 2: Síntomas mostrados por la parte aérea de las plantas de **maitén**.

sentan las primeras hojas verdaderas. La maceta derecha corresponde a plantas testigo.

En la figura 3 se observan plantas de araucaria inoculadas (maceta izquierda) y testigos (maceta derecha) a las 7 semanas de haber sido trasplantadas desde el vivero.



FIGURA 3: Síntomas mostrados por la parte aérea de las plantas de **araucaria**.

Este estudio consideró una detallada revisión de los síntomas mostrados por el sistema radicular. La colonización de tejidos se determinó por presencia en ellos de signos como esclerocios o picnidios.

Se consideró los siguientes síntomas :

1. Colonización de la raíz principal.
2. Colonización de la raíz secundaria.
3. Colonización de la base del tallo.
4. Colonización del tallo.
5. Tejidos necróticos ennegrecidos.
6. Zona de engrosamiento de la raíz principal.
7. Alargamiento anormal de la

Todas las plantas de todas las especies mostraron colonización de la raíz principal, este es el único síntoma común para todas las especies estudiadas. Otro síntoma importante corresponde a "tejidos necróticos ennegrecidos" con 75% de frecuencia, solamente avellano y olivillo no lo muestran (Tabla 14). Estos síntomas son considerados como más característicos por Hodges (1962 y 1963), y son los que le dan los nombres con que se conoce la enfermedad en EE.UU. "charcoal root rot" (pudrición carbonosa de la raíz) o "search root rot of pine" (pudrición negra de la raíz del pino) (Petersen y Smith, 1975). La colonización de la base del tallo fue el tercer síntoma más frecuente, observándose sobre la mitad de las especies estudiadas.

Otros síntomas descritos por Hodges (1962 y 1963), son las áreas engrosadas de la raíz principal y el alargamiento de la porción distal de la raíz. El primero, se manifiesta sólo en litre, maqui, mayo, roble y ruíl. El segundo síntoma descrito por este autor, se pudo observar en roble y ruíl.

Las raíces secundarias no siempre mostraron colonización y en la mayoría de las observaciones los tejidos se veían sanos, la cifra determinada en la tabla 14 sitúa a este síntoma en sexto lugar con una frecuencia de 24% que corresponde a cuatro especies .

La frecuencia de las observaciones de los síntomas estudiados del sistema radicular para los ensayos de 1988 y 1989, se expresan gráficamente en la figura 4

A nivel de cada especie la expresión individual de los síntomas fue variada, existiendo una combinación y frecuencia particular. En las figuras 15-B a 28-B del apéndice 2, se presenta detalladamente la frecuencia de observación de los síntomas para cada especie.

TABLA 14: PORCENTAJE DE EXPRESION DE SINTOMAS POR ESPECIE.

ESPECIE		SINTOMAS DE LA ENFERMEDAD (%)					
NOM.COMUN	1	2	3	4	5	6	7
Araucaria	100	0	100	44	44	0	0
Avellano	100	100	0	100	0	0	0
Canelo	100	32	26	74	74	0	0
Hualo	100	50	0	100	100	0	0
Lilén	100	100	4	96	96	0	0
Litre	100	0	57	29	100	29	0
Maitén	100	8	78	22	100	0	0
Maqui	100	2	100	0	83	66	0
Mayo	100	0	0	100	77	69	0
Notro	100	0	58	42	100	0	0
Olivillo	100	0	0	100	0	0	0
Raulí	100	8	23	69	61	0	0
Roble	100	0	75	25	53	72	50
Ruíl	100	0	0	100	67	34	34
GENERAL	100	24	47	55	75	31	8

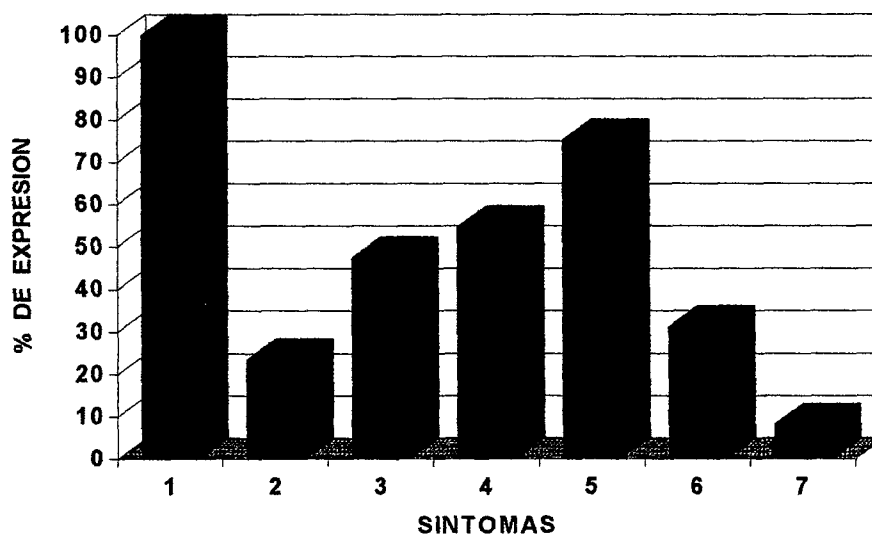


FIGURA 4: Porcentaje de expresión de los síntomas a nivel general del ensayo.

4.6 Análisis de especies resistentes al patógeno.

En este estudio sólo hubo 3 especies que pueden considerarse resistentes a M. phaseolina por el bajo nivel de mortalidad mostrado, estas son lingue, olivillo y peumo.

La revisión para presencia de signos realizada a todas las plantas inoculadas, indican altos porcentajes de presencia de esclerocios o picnidios (Tabla 15).

Lingue y peumo fueron las especies que registraron un mayor porcentaje de plantas con M. phaseolina 81% y 68% respectivamente, sin embargo, estas dos especies no

respectivamente, sin embargo, estas dos especies no registraron mortalidad. En cambio en olivillo (que registró una mortalidad de 8%), sólo se observó 4% de plantas vivas colonizadas por el patógeno.

Respecto de la ubicación de los esclerocios, eran más frecuentes en la raíz principal (79%) que en la raíz secundaria (68%).

El sistema radícula.

en las especies incluidas en la categoría de ataque leve que en las consideradas vulnerables a este patógeno.

A todas las plantas de las especies consideradas resistentes (testigos-inoculadas), se les midió el peso seco para observar la ocurrencia de diferencias en su desarrollo. Se presentan los datos para peumo (tabla 2-A, apéndice 1), (figuras 5-A, 5-B y 6), lingue (tabla 3-A, apéndice 1), (figuras 7-A, 7-B y 8) y olivillo (tabla 4-A, apéndice 1), (figuras 9-A y 9-B).

Para peumo no hay diferencias a 5% y 10% entre el desarrollo de las plantas testigo e inoculadas (Tabla 2-A, apéndice 1).

TABLA 15: RESUMEN DE OBSERVACIONES A PLANTAS SOBREVIVIENTES A LA INOCULACION.

RESULTADO GENERAL		PORCENTAJE DE PLANTAS SEGUN UBICACION DE LOS ESCLEROCIOS						PLANTAS CON	
		ESPECIE	PLANTAS	CON	RAIZ	RAIZ	BASE	TALLO	CUERPOS
NOM.COMÚN	OBSERV.	ACROPHOMIN	PPAL.	SECUN.	TALLO				FRUTALES
	Nº	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Lingue	26	81	77	88	38	0	8		
Olivillo	23	4	100	100	0	0	0		
Peumo	35	68	58	23	54	0	8		
TOTAL	84	55	79	68	34	0	6		

A pesar de no existir diferencias significativas, un 68% de las plantas de peumo se encontraron colonizadas por M. phaseolina (tabla 15).

La figura 5, muestra en forma gráfica los valores de peso seco promedios obtenidos (inoculadas y testigo) para peumo.

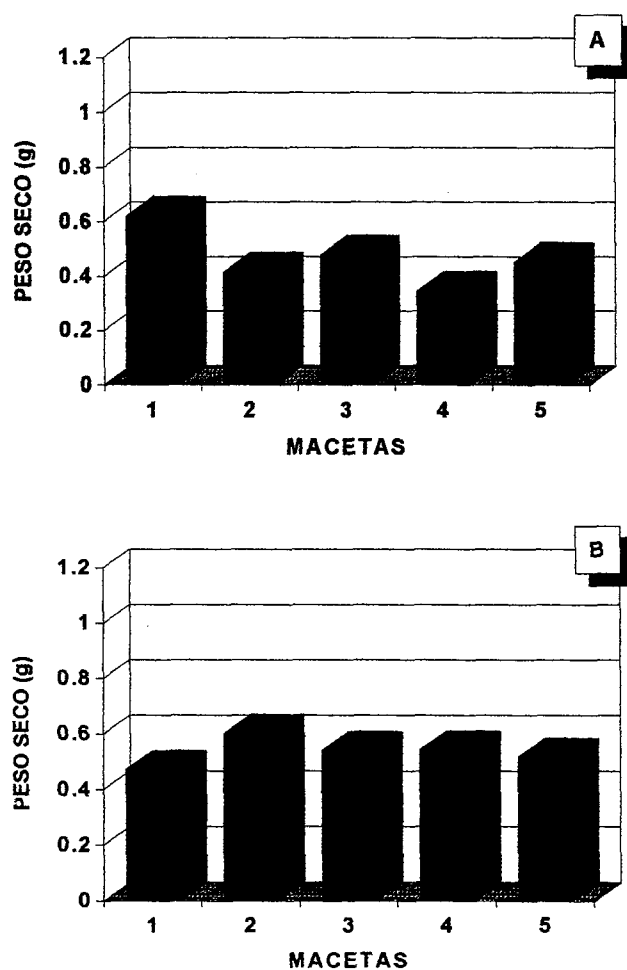


FIGURA 5: Distribución de pesos secos promedios para las macetas inoculadas (A) y las testigo (B) para **peumo**.

Al comparar los cuadros anteriores, el peso seco medio por planta de las macetas testigo es más homogéneo que el de las macetas inoculadas. La desviación estándar para las plantas fue de 0.047 g/planta para las testigo y 0.101 g/planta para las inoculadas.

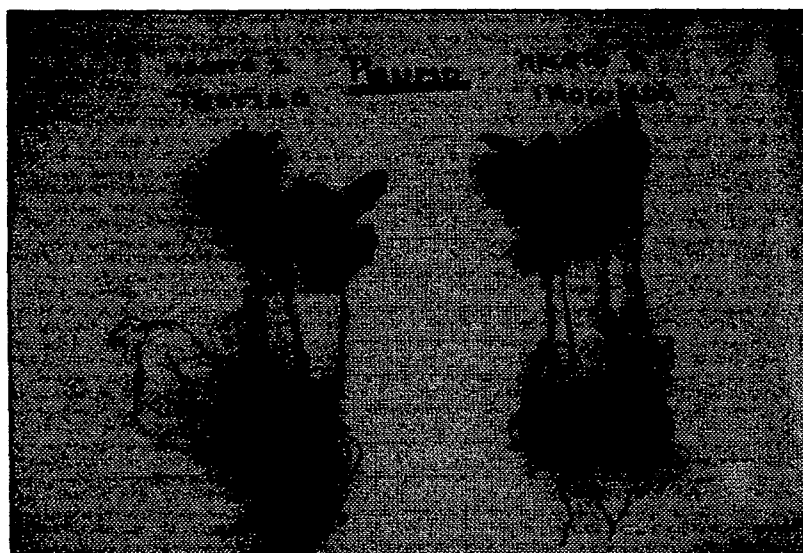


FIGURA 6: Comparación visual de las plantas inoculadas y las testigo para **peumo**.

En la figura 6, se observa una marcada diferencia de los sistemas radiculares de las plantas testigo y las inoculadas a pesar de no existir diferencias estadísticas en su desarrollo.

El sistema radicular de las plantas testigo presenta raíces más largas y desarrolladas, sin embargo, la parte aérea se ve más desarrollada para las plantas inoculadas.

Para lingue no existen diferencias de peso seco entre las plantas testigo e inoculadas a un 5% de significación, sin embargo, hay diferencias a un 10% de significancia (Tabla 3-A, apéndice 1).

Es importante mencionar que la especie lingue fue la que registró mayor grado de colonización, 81% de las plantas inoculadas (tabla 15).

Las figuras 7-A y 7-B, muestran en forma gráfica los valores de peso seco promedios obtenidos para cada maceta (inoculadas y testigo) para lingue.

En el caso de lingue, el peso seco medio por planta es más homogéneo en las macetas testigo que en las macetas inoculadas. Al igual que con peumo, la desviación estándar fue menor en las plantas testigo, 0.108 g/planta que en las inoculadas 0.157 g/planta.

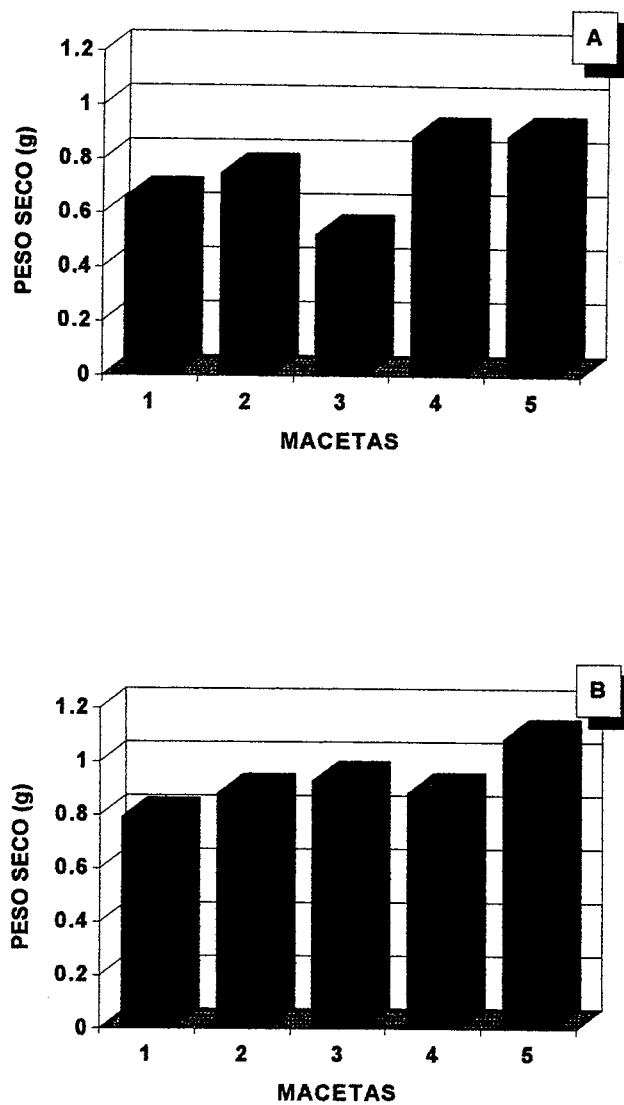


FIGURA 7: Distribución de pesos secos promedios para las macetas inoculadas (A) y las testigo (B) para **lingue**.



FIGURA 8: Comparación visual de las plantas inoculadas y las testigo para **lingue**.

La figura anterior muestra diferencias marcadas entre las plantas testigo e inoculadas, en el crecimiento del sistema radicular.

La parte aérea de las plantas no presenta diferencias oculares entre las testigo e inoculadas.

Sólo un 4% de las plantas inoculadas de olivillo mostraron evidencias de colonización, no produciéndose diferencias en

peso seco entre las plantas inoculadas y sin inocular (Tabla 4-A, apéndice 1).

Las figuras 9-A y 9-B, muestran en forma gráfica los valores de peso seco promedios obtenidos para cada maceta (inoculadas y testigo) para olivillo.

A diferencia de las especies anteriores, no se observa un comportamiento tan homogéneo en las plantas testigo. La desviación estándar fue mayor en las plantas testigo: 0.091 g/planta, que para las inoculadas 0.050 g/planta.

La determinación de presencia de signos (esclerocios) de M. phaseolina en un alto porcentaje de plantas (Tabla 14) de lingüe y peumo, sin que se produzca muerte de plantas, implica que el patógeno ha colonizado tejidos sin que el huésped muestre síntomas (figura 6 y 7) y se vea afectada su biomasa significativamente (Tablas 3-A y 4-A, apéndice 1).

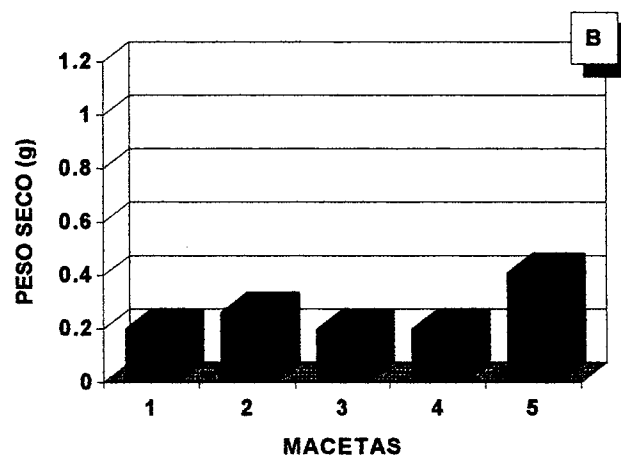
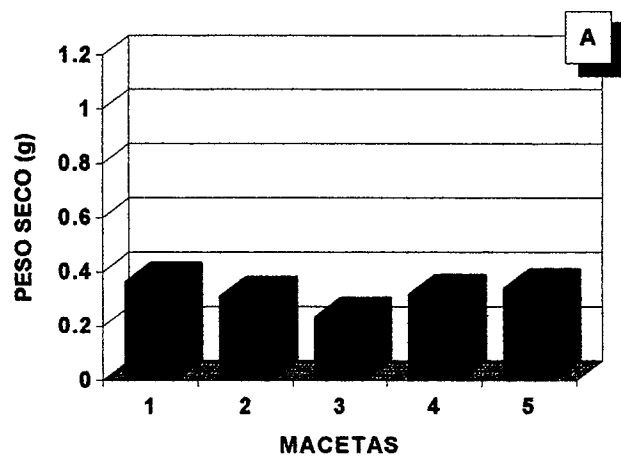


FIGURA 9: Distribución de pesos secos promedios para las macetas inoculadas (A) y las testigo (B) para olivillo.

Hodges (1975), indica que es usual que plantas creciendo en óptimas condiciones no presenten síntomas en la parte aérea, pero sí en las raíces, sin embargo, la situación corriente en esos casos es que se trate de infecciones menores al sistema radical (Smith, R. 1975), o que las plantas muestren clorosis o menor crecimiento que plantas no infectadas (Hodges, 1975). La situación final de plantas infectadas sin síntomas en vivero depende de las condiciones que ocurran en plantación, pudiendo ocurrir la muerte si la planta va a suelos cálidos o si ocurre estrés hídrico (Smith, R. 1975). Es decir, no hay mayor resistencia en estos casos.

En el caso de lingue y peumo, sin embargo, ocurre colonización en gran parte del sistema radical y no en parte de él, no hay efecto obvio en el crecimiento o biomasa y la frecuencia de colonización es alta, 24 sobre 35 plantas en peumo y 22 sobre 26 plantas en lingue, sin que ninguna planta, en ambas especies, haya mostrado síntomas cuando plantas de otras especies alcanzan muy altos niveles de mortalidad, indicando que las condiciones eran favorables para la expresión de la enfermedad en el ensayo. Además, se tiene la circunstancia de ocurrir esta ausencia de muerte o de plantas con otros síntomas en dos especies de la misma familia. Puede, por lo tanto,

considerarse como altamente probable que peumo y lingue sean especies tolerantes a M. phaseolina, en el sentido de Wingard (1953), como plantas capaces de soportar la invasión de un patógeno sin mostrar algunos síntomas o sufrir mucho daño. Este tipo de comportamiento fue propuesto como un tipo de resistencia a principios de siglo por Orton (1908), citado por Walker, (1969), como casos donde ocurre la infección y la planta soporta la enfermedad y produce más satisfactoriamente que plantas más susceptibles. Esta situación se considera diferente a la resistencia propiamente tal donde la infección no ocurre, o si ocurre, el avance del patógeno es minimizado o detenido por el huésped (Walker, 1969). En los vegetales, la susceptibilidad o resistencia son características relativas y solamente la inmunidad es una característica absoluta (Wingard, 1953; Walker, 1969; Campbell, 1985). Es decir, la susceptibilidad o resistencia son límites de una reacción y las plantas de una especie pueden ubicarse en extremos de altamente susceptibles a totalmente resistentes.

La tercera especie incluida en la categoría de ataque leve, y considerada anteriormente resistente por el bajo porcentaje de mortalidad, es olivillo. Para esta especie ocurre mortalidad en bajo porcentaje (Tabla 4) y sólo un 4% de plantas vivas presentan signos de M. phaseolina en las

raíces, y debería ser considerada como relativamente resistente o escasamente susceptible, donde, como especie, mueren los individuos completamente susceptibles al patógeno, sobreviviendo la mayoría.

V. CONCLUSIONES.

1. Macrophomina phaseolina puede producir diferentes expresiones de enfermedad; como :

- a. Ataques anteriores a la emergencia en avellano, actuando como "damping off" de pre-emergencia.
- b. Cuadros similares a "damping off" de post-emergencia tardío o "caída" de plantas en canelo, lilén, maitén, mayo y raulí.
- c. Pudrición de raíces en araucaria, avellano, canelo, lilén, litre, maitén, maqui, mayo, notro, roble y raulí.

2. Las plantas en estudio pueden clasificarse en especies :

- a. Tolerantes, como lingue y peumo.
- b. Moderadamente susceptibles, como olivillo.
- c. Altamente susceptibles, como araucaria, avellano, canelo, lilén, litre, maitén, maqui, mayo, notro, roble y raulí.

3. La presencia de esclerocios sobre la raíz principal constituye un signo más confiable para la identificación de ataques de Macrophomina phaseolina sobre las especies en estudio que la presencia de picnidios en el cuello de la planta. Estas estructuras se forman en algunas especies (canelo, lilén, litre, maitén, maqui, mayo, notro, raulí, roble y ruíl) en baja proporción.

4. Los síntomas más característicos de la enfermedad asociada a Macrophomina phaseolina son muerte de tejidos del eje tallo-raíz acompañado de ennegrecimiento de los tejidos colonizados.

VI. RESUMEN

Se determinó la susceptibilidad a Macrophomina phaseolina (Tassi) Goid de 23 especies forestales nativas chilenas. Se identificó los síntomas mostrados por la parte aérea y radicular de las plantas y se midió el efecto de este patógeno en el desarrollo de plantas de peumo y lingue, consideradas como tolerantes y olivillo, considerado como moderadamente susceptible. La mortalidad ocurrida en las especies restantes permite considerarlas como susceptibles.

La colonización de la raíz principal, de la base del tallo y del tallo, que se manifiesta como tejidos necróticos ennegrecidos, se identificó como el síntoma característico de esta enfermedad.

SUMMARY

The susceptibility to Macrophomina phaseolina (Tassi) Goid was determined in 23 natives chilean forest species. The symptoms showed for aereal and root parts of the seedlings were identified in peumo and lingue, considered tolerant species, and olivillo as moderatily susceptible. Other species in the trial were considered as susceptible since the mortality reached was higher than 50%.

The colonization of main root, in the base of stem or the stem, expressed by blackened necrotics tissues, was identified as the characteristic symptom of this disease.

VII. BIBLIOGRAFIA

1. BRUTON, B. D., JEGER, M. J., and REUVENI, R. 1987.
Macrophomina phaseolina infection and vine decline in cantaloupe in relation to planting date soil enviroment, and plant maturation. Plant Disease 71 : 259 - 263.
2. BUTIN, HEINZ y PEREDO, HERNAN L. 1986. Hongos parásitos de América del Sur con especial referencia a Chile.. Berlín, Germany, J.Cramer. 100p.
(Bibliotheca Mycologica Band 101)
3. CAMPBELL, R. 1985. Plant Microbiology. Edward Arnold Publ. 141 p.
4. DHINGRA, O. D., and SINCLAIR, J. B. 1973. Location of Macrophomina phaseoli on soybean plants related to culture characteristics and virulence. Phytopathology 63 : 934 - 936.
5. DHINGRA, O. D., and SINCLAIR, J. B. 1974. Effect of soil moisture and carbon/nitrogen ratio on survival of Macrophomina phaseolina in

soybean stems in soil. Plant Disease Rep. 58 : 1034 - 1037.

6. EDMUNDS, L. K. 1964. Combined relation of plant maturity, temperature, and soil moisture to charcoal stalk rot development in grain sorghum. Phytopathology 54 : 514 - 517
7. GHAFAR, A., and ERWIN, D. C. 1969. Effect of soil water stress on root of cotton caused by Macrophomina phaseoli. Phytopathology 59 : 795 - 797.
8. HODGES, C. S. 1962. Black root rot of pine seedlings. Phytopathology 52 : 210 - 219.
9. HODGES, C. S. 1963. Black root rot of pine. Phytopathology 53 : 1132 - 1134.
10. HODGES, C. S. 1975. Black root rot of pine. In : Peterson, Glenn W. and Smith Jr., Richard S., Comps. Forest nursery diseases in the United States. Washington, D. C., U. S. Department of Agriculture. Forest Service. Agriculture handbook N° 470 pp. 14 - 16.

11. LEMA, M. 1987. Epoca de siembra y efecto de semisombra en la producción de plantas de Eucalyptus globulus Labill. ssp. globulus 1/0 a raíz desnuda. Tesis de grado Universidad de Concepción, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Departamento de Ciencias Forestales Chillán, Chile.
12. MEYER, W. A., SINCLAIR, J. B., and KHARE, M. N. 1973. Biology of Macrophomina phaseoli in soil studied with selective media. *Phytopathology* 63 : 613 - 620.
13. MEYER, W. A., SINCLAIR, J. B., and KHARE, M. N. 1974. Factors affecting charcoal rot of soybean seedlings. *Phytopathology* 64 : 845 - 849.
14. MUJICA RICHARTT, FERNANDO Y VERGARA CASTILLO, CLAUDIO. 1980. Flora fungosa chilena. 2ª edición. Revisada y actualizada por Edgar Oehrens Bertossi. Santiago, Chile, Universidad de Chile, Facultad de Agronomía. Ciencias Agrícolas n° 5. 308 p.

15. NORTON, D. S. 1953. Linear growth of Sclerotium bataticola through soil. *Phitopathology* 43 : 633 - 636.
16. NORTON, D. C., and FRANK, F. A. 1963. Charcoal rot (caused by Sclerotium bataticola Taub.) on guayule in southwest Texas in 1951 and 1952. *Plant Disease rep.* 37 : 41 - 43.
17. PEARSON, C. A. S., SCHWENK, F. W., CROWE, F. J., and KELLEY, K. 1984. Colonization of soybean roots by Macrophomina phaseolina. *Plant Disease* 68 : 1086 - 1088.
18. PETERSEN, G. W., and SMITH, R. S. (1975). *Forest Nursery Diseaces*. Forest Service U. S. Department of Agriculture. 125 p.
19. SANFENTES, E. 1989. Estudio de métodos para la determinación de Macrophomina phaseolina (Tassi) Goid. en suelos de viveros forestales. Tesis de grado para optar al título de Ingeniero Forestal. Universidad de Concepción. Chile.

20. SHORT, G. E., WYLLIE, T. D., and AMMON, V. D. 1978. Quantitative enumeration of Macrophomina phaseolina in soybean tissues. *Phytopathology* 68 : 736 - 741.
21. SHORT, G. E., WYLLIE, T. D., and BRISTON, P. R. 1980. Survival of Macrophomina phaseolina in soil and in residue of soybean. *Phytopathology* 70 : 13 - 17.
22. SMITH, R. S. 1965. Effect of diurnal temperature inoculations on the charcoal root disease of Pinus lambertiana. *Phytopathology* 56 : 61 - 64.
23. SMITH, W. H. 1969. Comparison of mycelial, and sclerotial inoculum of Macrophomina phaseoli in the mortality of pine seedlings under varying soil condition. *Phytopathology* 59 : 379 - 382.
24. WINGARD, S. A. 1953. The Nature of Resistance to Disease In : United States Department of Agriculture. Plant Diseases, The Yearbook of

Agriculture 1953. Washington D.C. pp. 165 -
173.

25. **WALKER, J. C.** 1969. Plant Pathology. McGRAW-HILL. New
York. 619 p.

APENDICE 1: TABLAS.

TABLA 1-A: ESTADISTICA ASOCIADA A LA GERMINACION.

Nº DE LOS PARES	TESTIGO (A)	INOCULADO (B)	MUESTRA (A-B = X)	X ²
1	29	26	3	9
2	25	24	1	1
3	37	35	2	4
4	30	36	-6	36
5	1	0	1	1
6	3	2	1	1
7	36	34	2	4
8	10	9	1	1
9	44	42	2	4
10	15	16	-1	1
11	11	13	-2	4
12	29	32	-3	9
13	2	3	-1	1
14	21	14	7	49
15	29	25	4	16
TOTAL	322	311	11	141
PROMEDIO	21,5	20,7	0,7	
$s^2 =$	9,50		t (estimado) =	0,922
			t (tabla, 10%) =	1,761
$S_x =$	0,80		t (tabla, 5%) =	2,145

TABLA 2-A: ESTADISTICA ASOCIADA A LA ESPECIE **PEUMO**.

NºDE LOS PARES	TESTIGO (A)	INOCULADO (B)	MUESTRA (A-B= X)	X ²
1	0,472	0,620	0,148	0,022
2	0,602	0,414	-0,188	0,035
3	0,541	0,478	-0,063	0,004
4	0,543	0,344	-0,199	0,040
5	0,519	0,451	-0,068	0,005
TOTAL	2,677	2,307	-0,370	0,105
PROMEDIO	0,535	0,461	-0,074	
s ² =	0,020		t (estimado) =	1,184
			t (tabla, 5%) =	2,776
Sx =	0,062		t (tabla,10%) =	2,132

TABLA 3-A: ESTADISTICA ASOCIADA A LA ESPECIE **LINGUE**.

NºDE LOS PARES	TESTIGO (A)	INOCULADO (B)	MUESTRA (A-B= X)	X ²
1	0,792	0,657	-0,135	0,018
2	0,881	0,748	-0,133	0,018
3	0,930	0,523	-0,407	0,166
4	0,885	0,888	0,003	0,000
5	1,088	0,892	-0,196	0,038
TOTAL	4,576	3,708	-0,868	0,240
PROMEDIO	0,915	0,742	-0,174	

s ² =	0,022	t (estimado) =	2,598
		t (tabla, 5%) =	2,776
Sx =	0,067	t (tabla,10%) =	2,132

TABLA 4-A: ESTADISTICA ASOCIADA A LA ESPECIE **OLIVILLO**.

NºDE LOS PARES	TESTIGO (A)	INOCULADO (B)	MUESTRA (A-B= X)	X ²
1	0,200	0,369	0,169	0,029
2	0,262	0,310	0,048	0,002
3	0,199	0,233	0,034	0,001
4	0,200	0,318	0,118	0,014
5	0,410	0,340	-0,070	0,005
TOTAL	1,271	1,570	0,299	0,051
PROMEDIO	0,254	0,314	0,060	

s ² =	0,008	t (estimado) =	1,473
		t (tabla, 5%) =	2,776
Sx =	0,041	t (tabla,10%) =	2,132

APENDICE 2: FIGURAS.

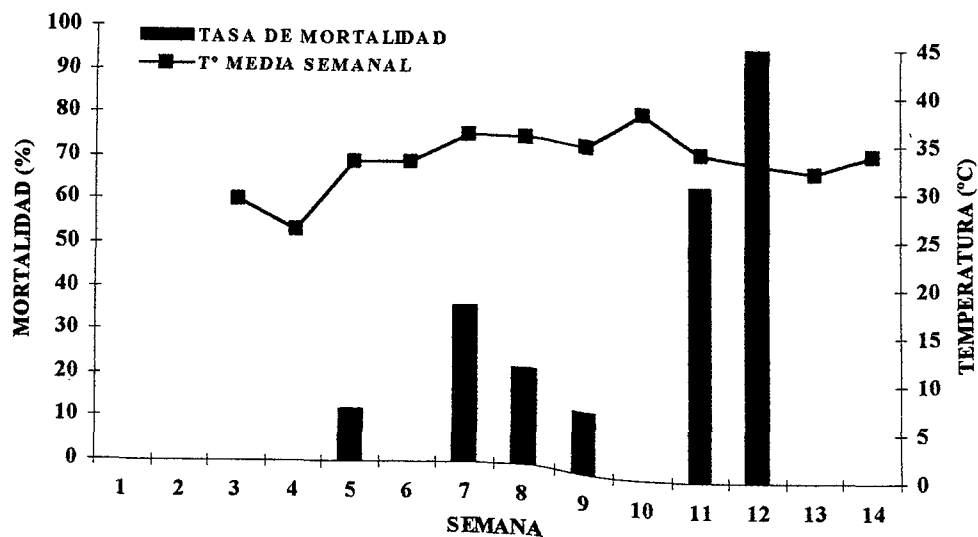


FIGURA 1-B: Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para **araucaria**.

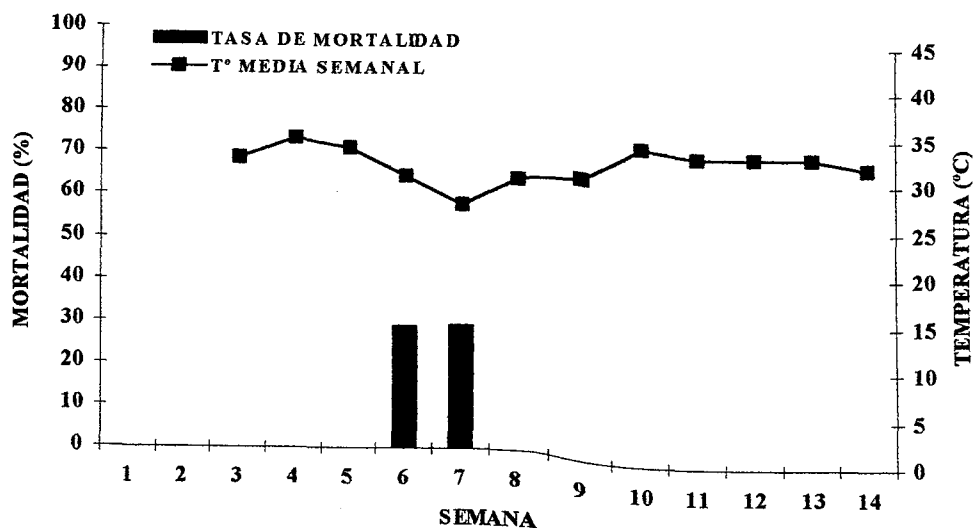


FIGURA 2-B: Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para **avellano**.

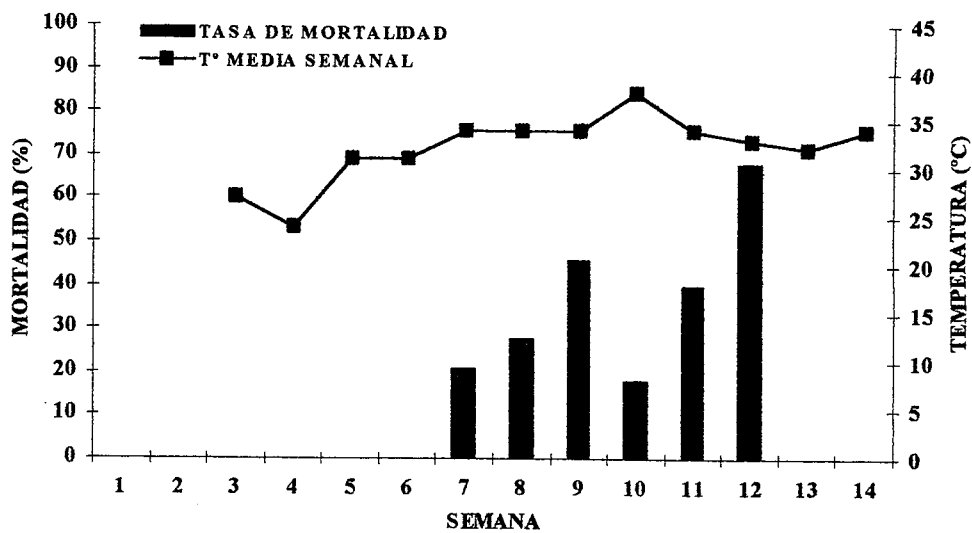


FIGURA 3-B: Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para **canelo**.

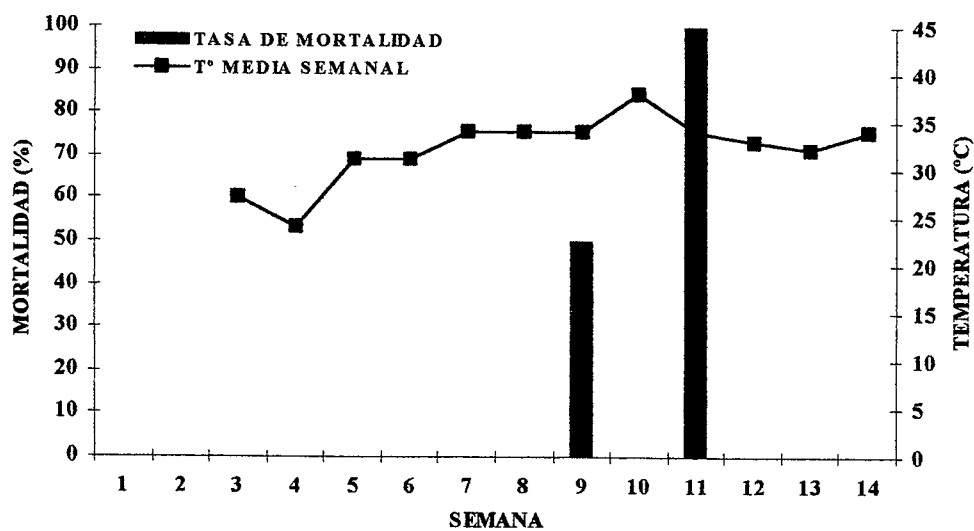


FIGURA 4-B: Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para **hualo**.

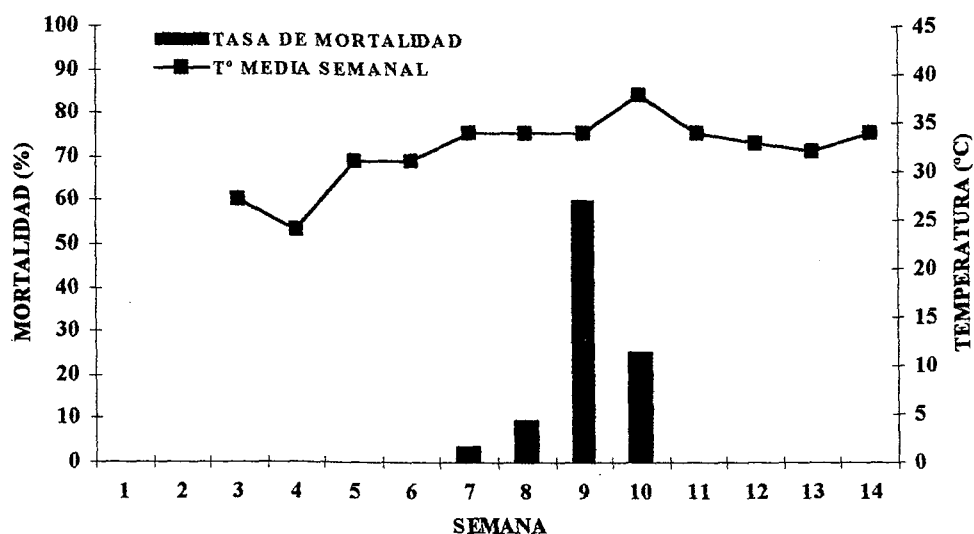


FIGURA 5-B: Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para **lilén**.

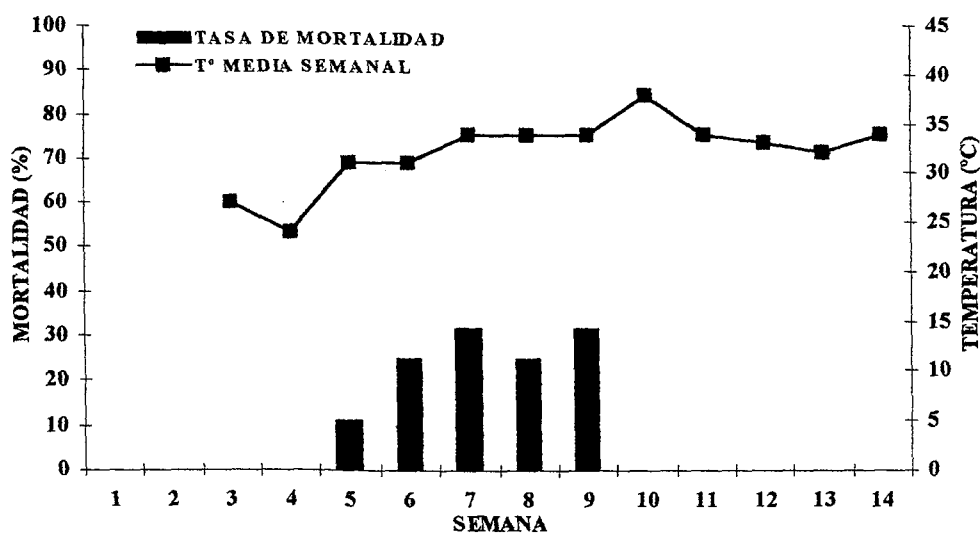


FIGURA 6-B: Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para **litre**.

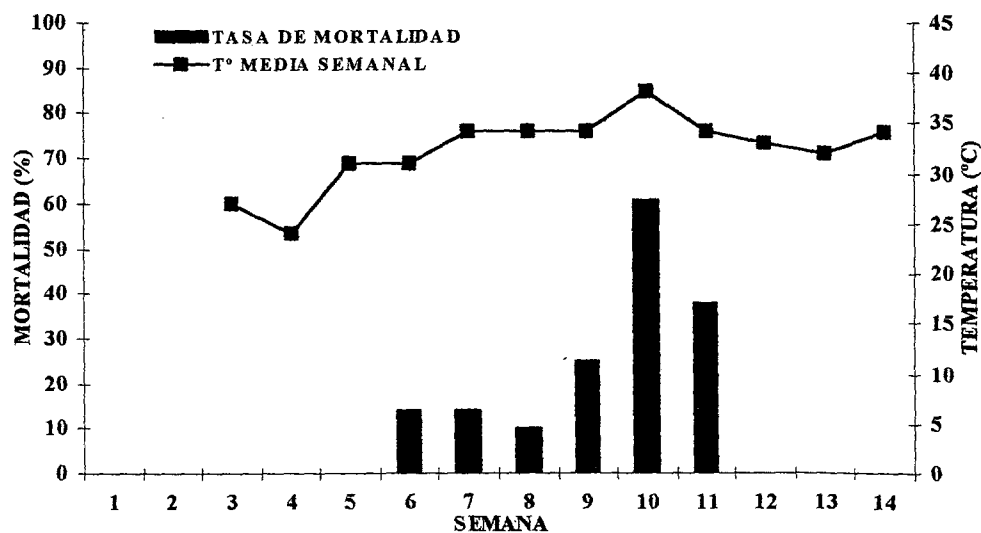


FIGURA 7-B: Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para **maitén**.

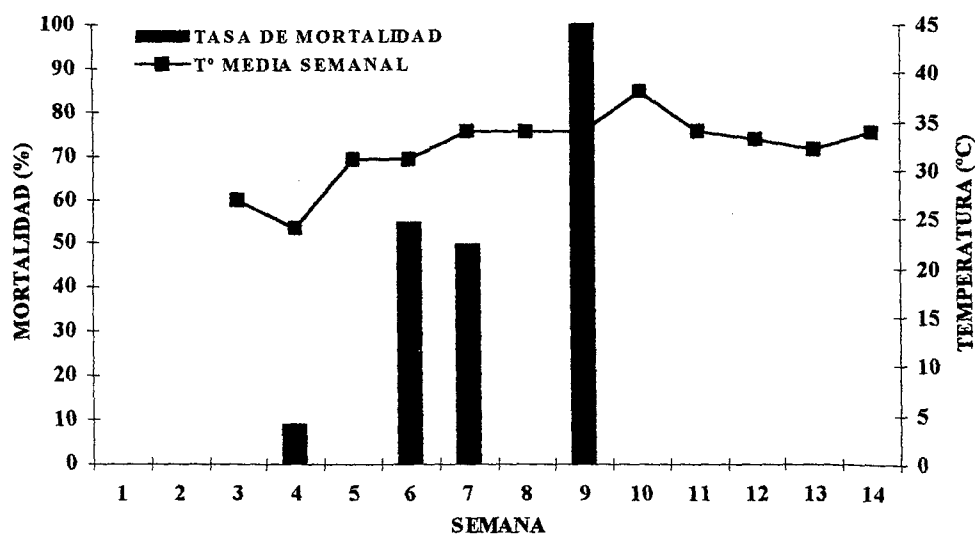


FIGURA 8-B: Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para **maqui**.

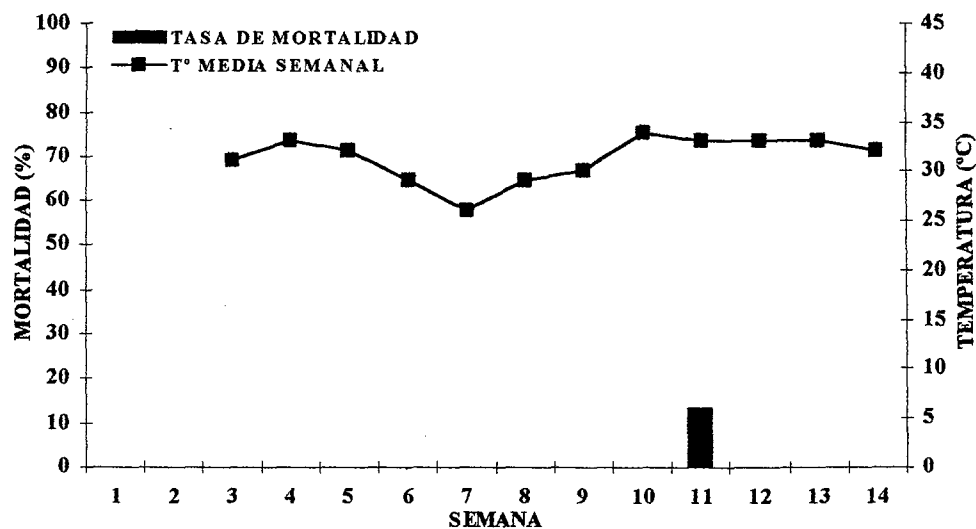


FIGURA 11-B: Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para **olivillo**.

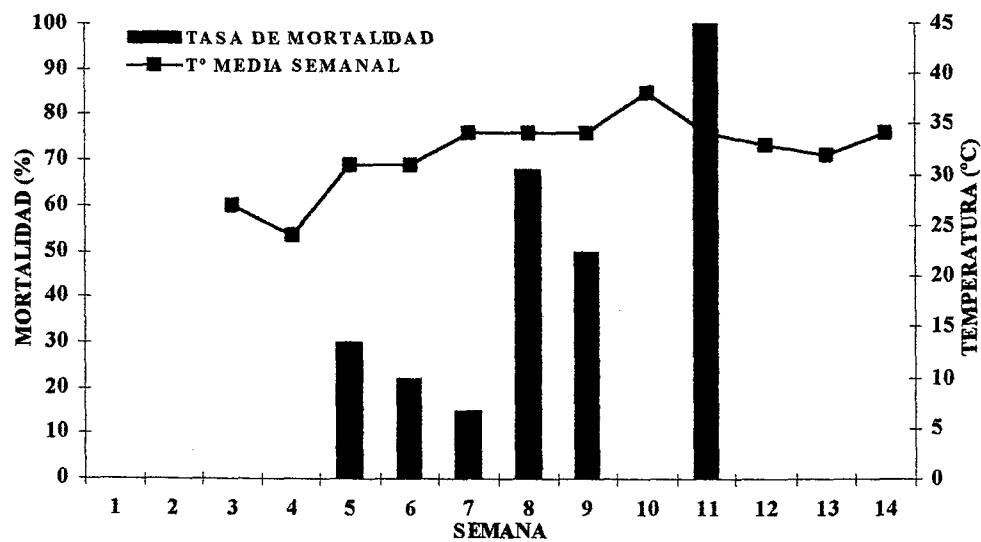


FIGURA 12-B: Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para **raulí**.

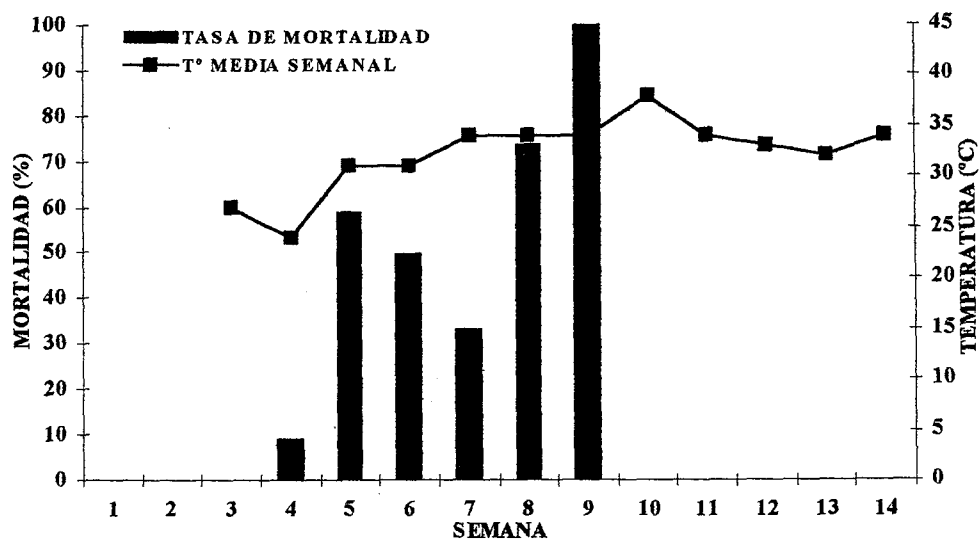


FIGURA 13-B: Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para **roble**.

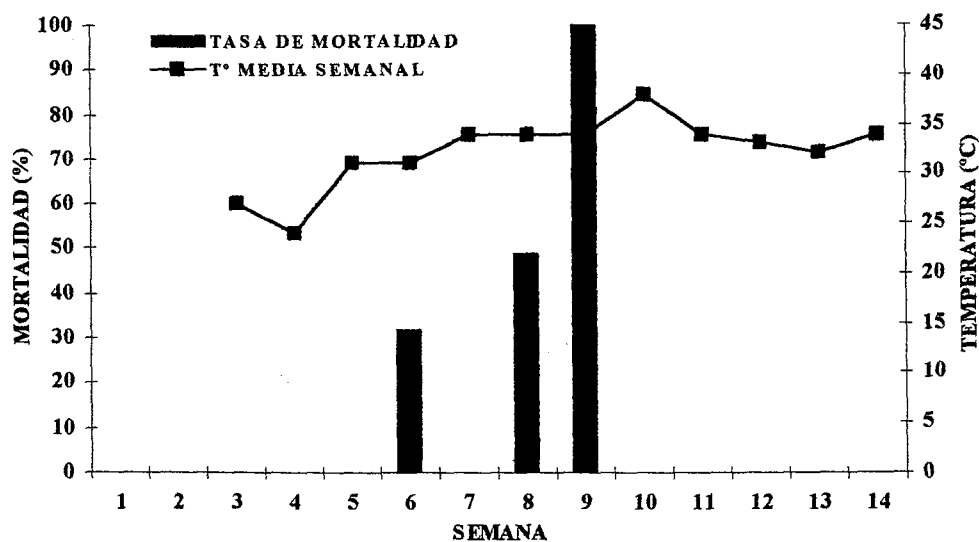


FIGURA 14-B: Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para **ruíl**.

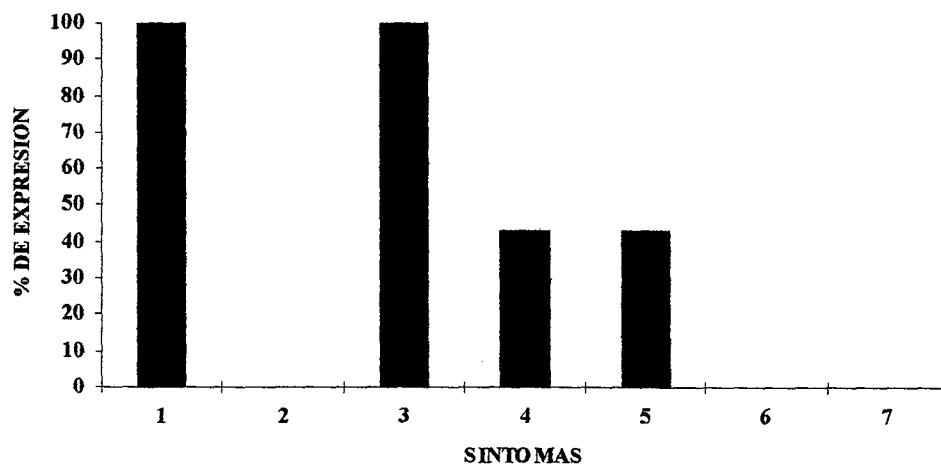


FIGURA 15-B: Porcentaje de expresión de los síntomas, **araucaria.**

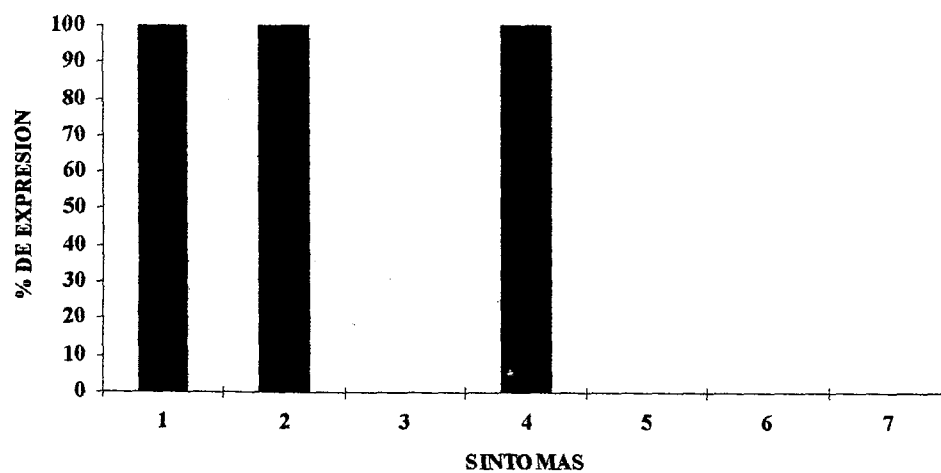


FIGURA 16-B: Porcentaje de expresión de los síntomas, **avellano.**

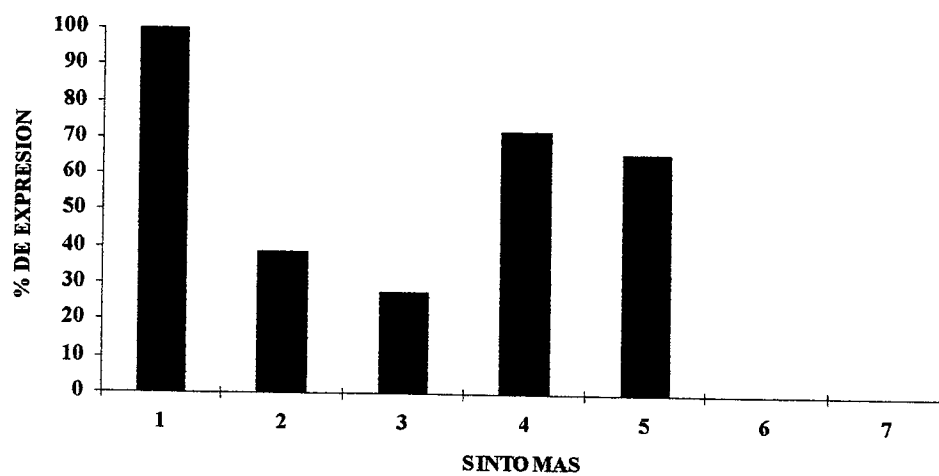


FIGURA 17-B: Porcentaje de expresión de los síntomas, **canelo**.

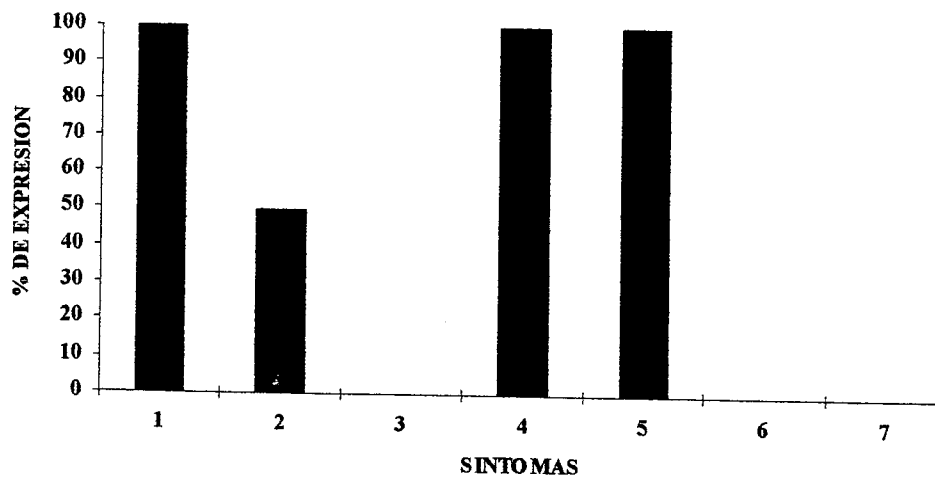


FIGURA 18-B: Porcentaje de expresión de los síntomas, **hualo**.

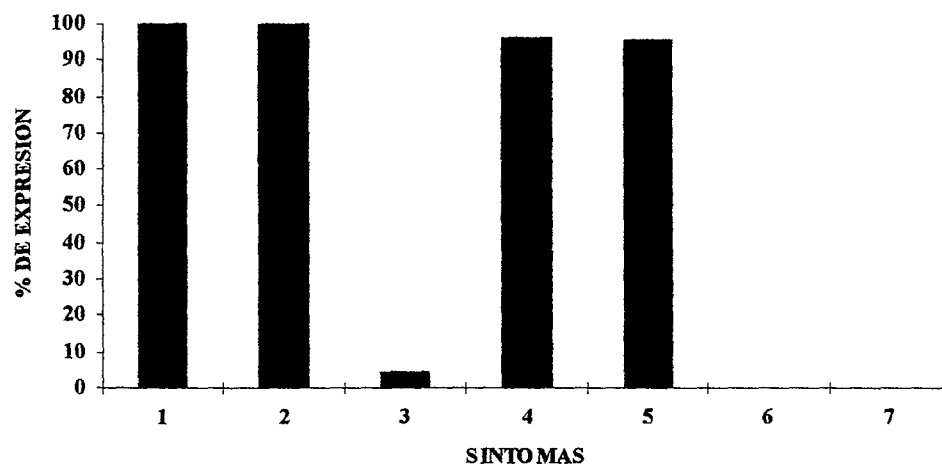


FIGURA 19-B: Porcentaje de expresión de los síntomas, **lilén.**

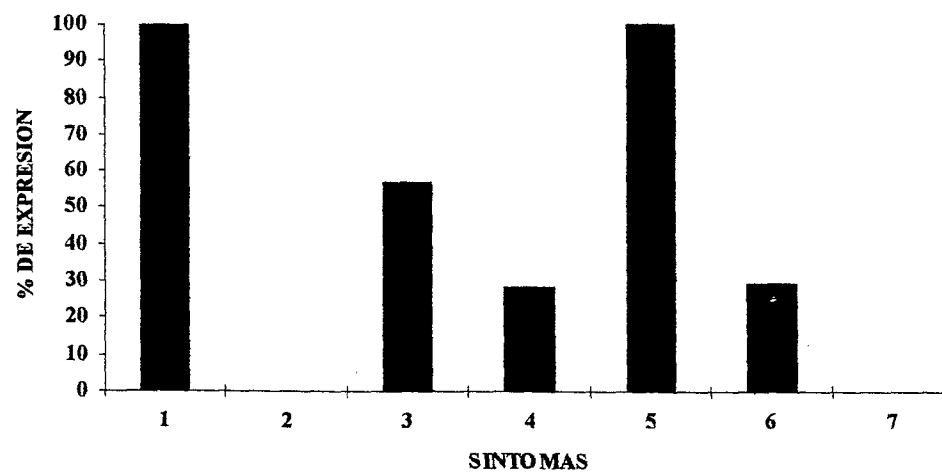


FIGURA 20-B: Porcentaje de expresión de los síntomas, **litre.**

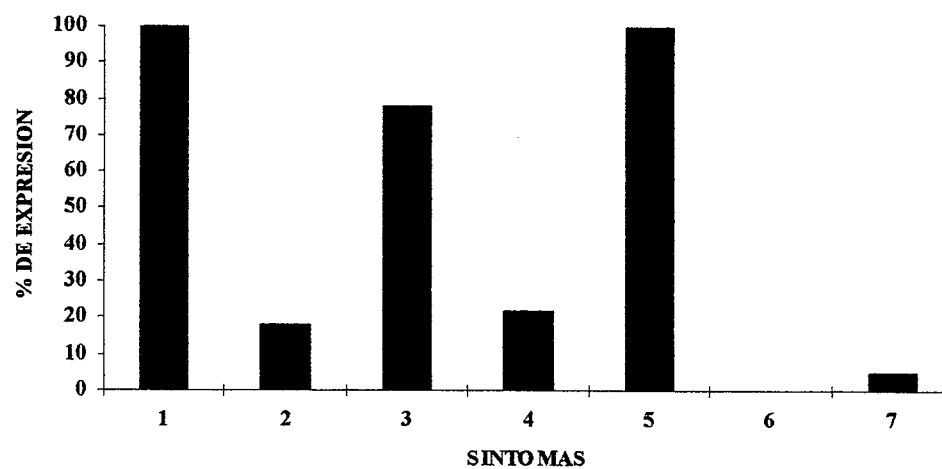


FIGURA 21-B: Porcentaje de expresión de los síntomas, maitén.

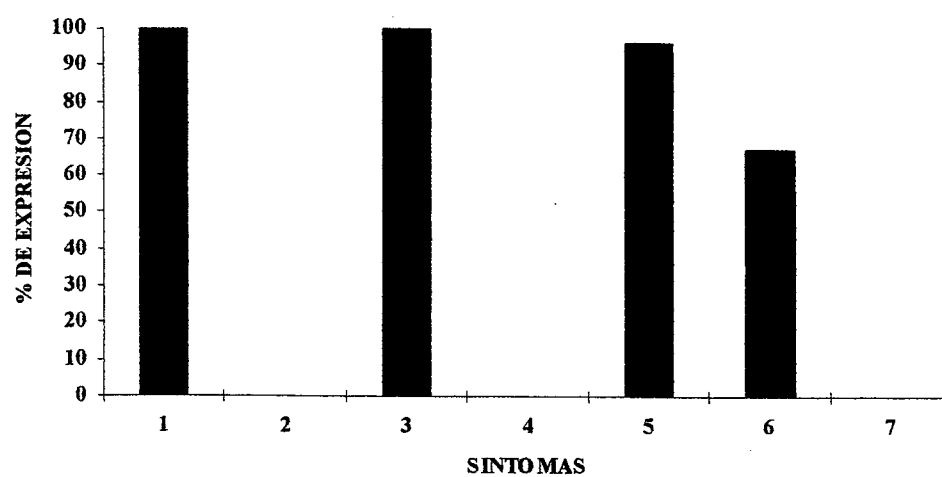


FIGURA 22-B: Porcentaje de expresión de los síntomas, maqui.

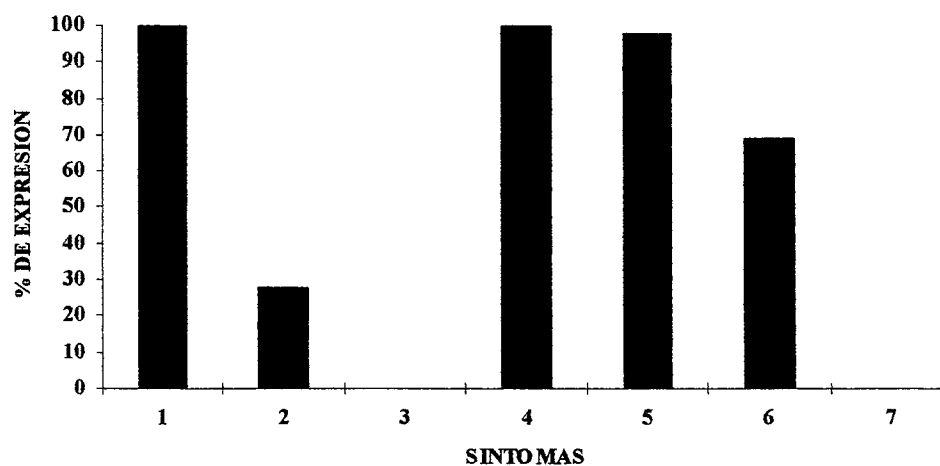


FIGURA 23-B: Porcentaje de expresión de los síntomas, mayo.

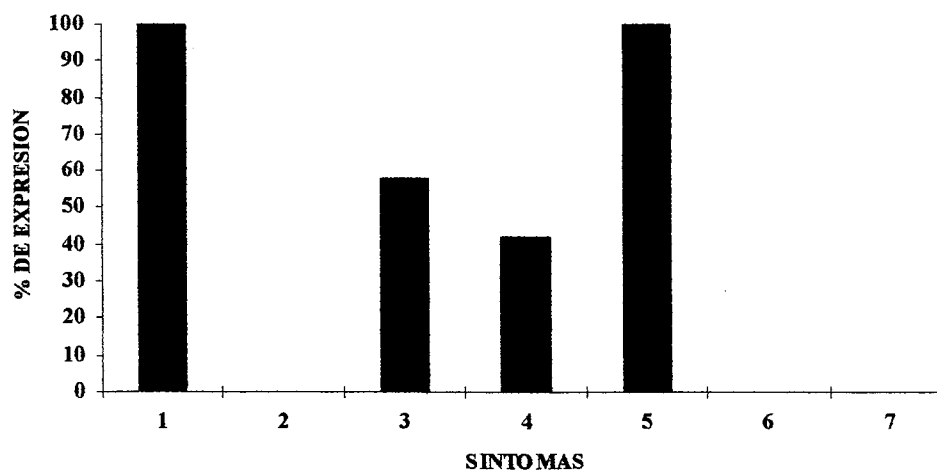


FIGURA 24-B: Porcentaje de expresión de los síntomas, notro.

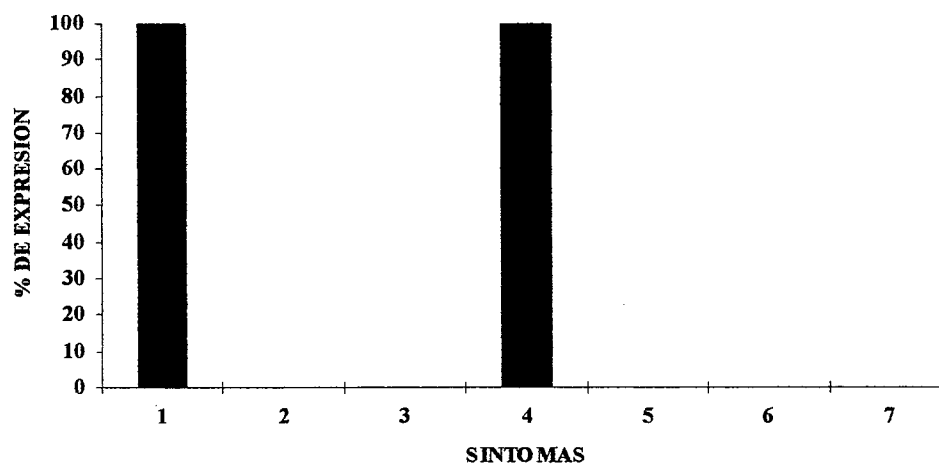


FIGURA 25-B: Porcentaje de expresión de los síntomas, **olivillo.**

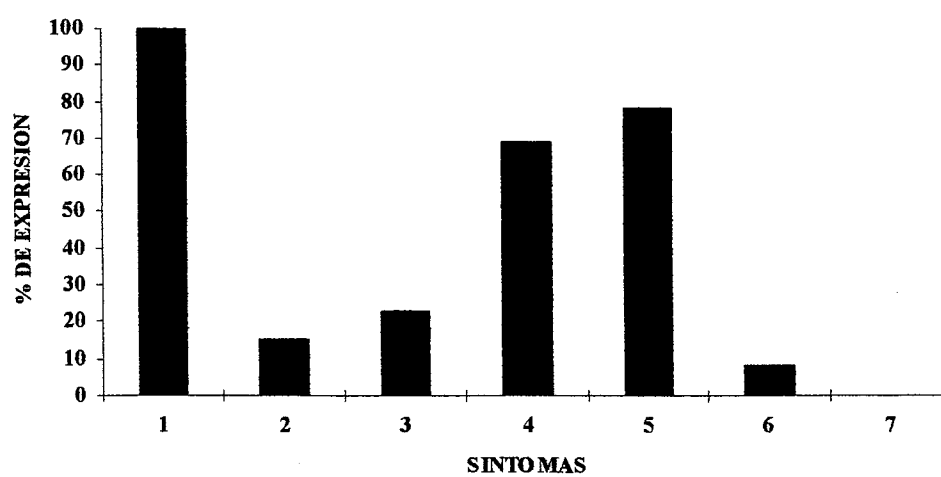


FIGURA 26-B: Porcentaje de expresión de los síntomas, **raulí.**

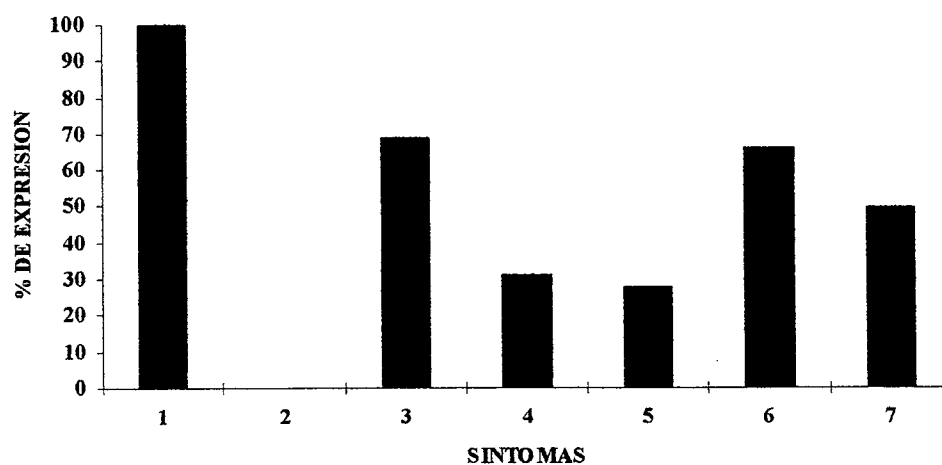


FIGURA 27-B: Porcentaje de expresión de los síntomas, **roble**.

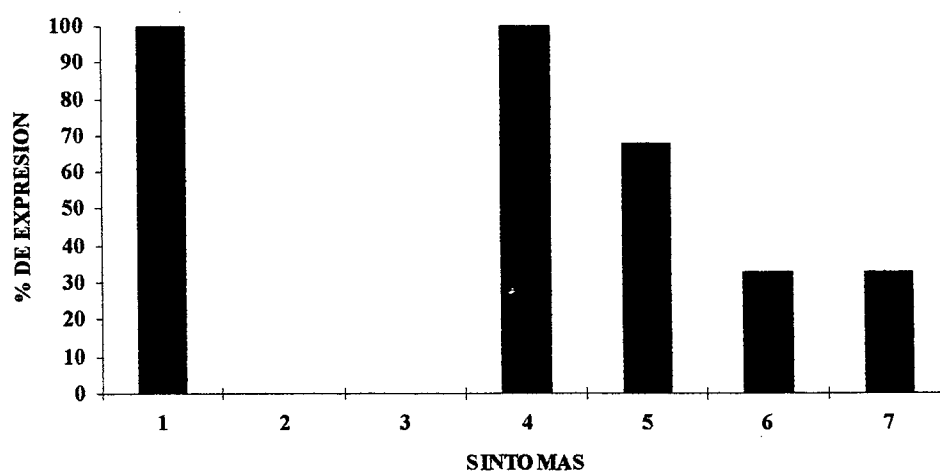


FIGURA 28-B: Porcentaje de expresión de los síntomas, **ruíl**.

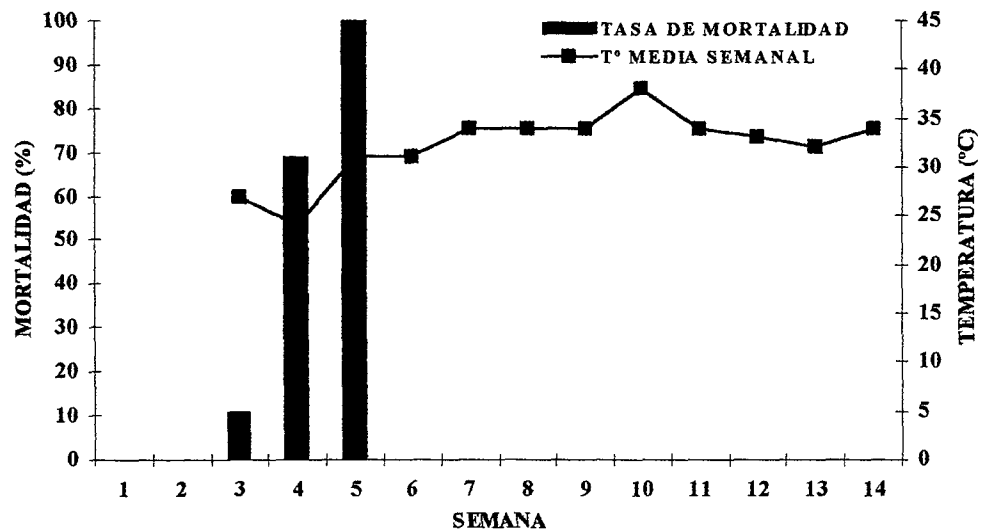


FIGURA 9-B: Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para **mayo**.

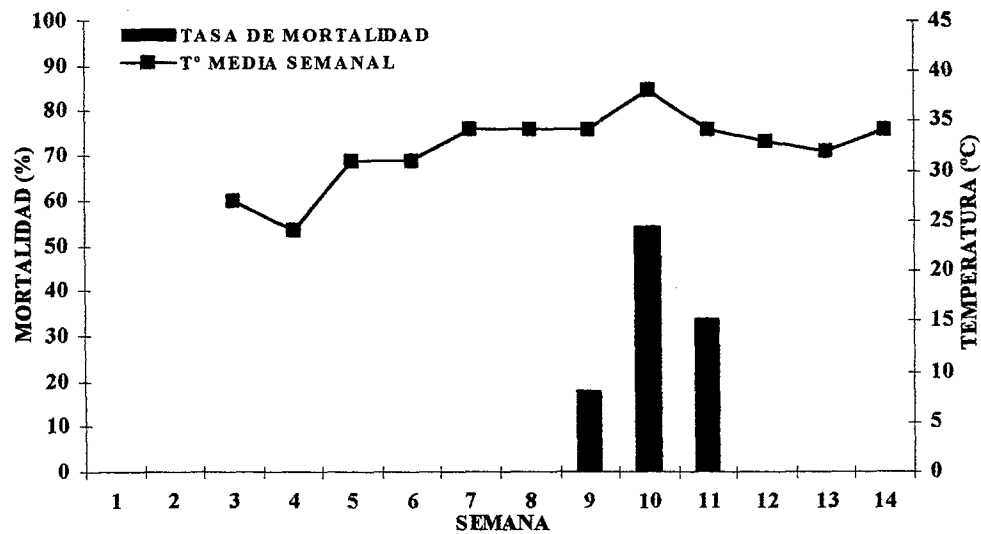


FIGURA 10-B: Comportamiento de la tasa de mortalidad y la temperatura media semanal para **notro**.