

PROPAGACION DE PLANTAS DE ALGARROBILLA (*BALSAMOCARPON BREVIFOLIUM*) CONTRARRESTANDO DAÑO DEL HONGO *FUSARIUM OXYSPORUM*. Gloria Montenegro y Patricio Arce, Laboratorio de Botánica, Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica, Casilla 114-D, Santiago.

INTRODUCCION

Se ha realizado una serie de experiencias en algarrobilla tendientes a la identificación del factor determinante de la alta mortalidad en plantas juveniles obtenidas mediante semillas. Ensayos preliminares al parecer indican la presencia de un hongo responsable de la muerte de las plantas.

El propósito de tal investigación se realiza con miras al diseño de un protocolo que permita la obtención de plantas sanas, las que eventualmente se podrían utilizar en plantaciones.

Diseño Experimental

El experimento consistió en intentar la propagación de la especie por germinación y arraigamiento de estacas.

- A. Propagación por semillas
 1. Germinación en tierra o arena desinfectada con diferentes fungicidas (Captan, Baytan, Benlate).
 2. Germinación y crecimiento en soluciones nutritivas con diferentes fungicidas.
 3. Corte de raíces infectadas e inducción de nuevas en plántulas recién germinadas.
- B. Evaluación de hormonas tales como ANA, AIB y un preparado comercial en la capacidad de arraigamiento de estacas de algarrobilla.
- C. Detección de la presencia del hongo mediante microscopía óptica.

Material y Método

A₁ Germinación y desinfección:

Semillas de *Balsamocarpum brevifolium* procedentes de Freirina, Quebrada La Higuera y Quebrada Pinte fueron puestas a germinar en una mezcla estéril de tierra y arena 1:1. Esta fue desinfectada a 115°C por 30 minutos y posteriormente tratada con el fungicida. Los fungicidas utilizados fueron Captan, Baytan y Benlate en concentraciones de 0.15%, 0.2%, 0.2% respectivamente. Las semillas antes de ser puestas a germinar fueron escarificadas con H₂SO₄ por 40 minutos. Se utilizaron 10 réplicas de 10 semillas por tratamiento y la temperatura del ensayo fue 30°C.

A₂ Germinación y crecimiento en solución nutritiva.

Semillas recién germinadas en discos de petri por el procedimiento descrito en punto A₁, fueron utilizadas para evaluar su crecimiento en solución nutritiva. La solución utilizada fue la Hoagland (1950), dejando agua potable como control.

Cuando las plántulas presentaban los cotiledones totalmente abiertos y la raíz principal

era de 1 cm se pusieron en tubos de ensayo con 15 ml de solución. Se sostuvieron las plántulas en un puente de papel parafilm en un extremo del tubo, dejando la raíz en contacto con la solución y los cotiledones en la parte aérea.

Se utilizaron 10 réplicas de 10 plántulas por tratamiento.

A₃ Corte de raíces infectadas e inducción de nueva sanas.

A plántulas de 10 días de germinadas se les cortó la raíz infectada dejando el hipocotilo de 1 cm de longitud. Posteriormente se trataron con AIB 50 mg/ℓ durante 7 minutos y se trasladaron a bandejas con papel filtro para observar su crecimiento

B. Arraigamiento de estacas con fitohormonas.

Estacas colectadas de 10 arbustos en terreno fueron utilizadas en los ensayos de arraigamiento. Se realizaron experiencias con estacas apicales y basales usando 5 estacas por tratamientos. Se evaluó el efecto del AIB, ANA, AIB + ANA, un preparado comercial y agua como control. Se pusieron 3 réplicas por tratamiento hormonal y 2 réplicas en el control. Las estacas fueron puestas a arraigar en medio líquido (agua potable) y sólido (vermiculita), luego de haber sido tratadas con la solución hormonal (líquida) o una concentración de 100 mg/ℓ durante 15 minutos o con el preparado comercial.

Las condiciones de arraigamiento fueron: temperatura 28°C, radiación 200 uEm⁻²s⁻¹, fotoperíodo 12 hrs. y humedad relativa entre 50-65%.

C. Detección del hongo mediante microscopía óptica.

Se realizaron cortes histológicos de raíces de plántulas recién germinadas y de tallos de plantas de 1 año. Los cortes se tiñeron con Safranina-Fastgreen y también con Cotton blue, reactivos específicos para tejido vegetal y hongo respectivamente.

Resultado y Discusión

A. Propagación por semilla

La tabla 1 muestra el porcentaje de germinación de semillas de algarrobilla en el tiempo tratadas con diferentes fungicidas.

TABLA 1

GERMINACION SEMILLAS DE ALGARROBILLA (%)

Nº de días	Captan	Baytan	Benlate	Control
2	31.4±5.3 ^a	36.8±6.1 ^{ab}	40.4±6.1 ^b	43.6±6.1 ^b
4	61.8±6.4 ^c	68.6±5.0 ^d	87.3±7.1 ^e	58.2±7.6 ^c
6	86.4±7.2 ^e	100±0.0 ^f	87.7±7.2 ^e	60.4±9.4 ^c

Distinta letra indica diferencia significativa según test de Tukey (P<0.01).

Se observa que el porcentaje de germinación máximo se obtiene a los 6 días en Baytan y fue de 100%. En este mismo tiempo la germinación en Captan y Benlate fue de 86 y 87% respectivamente, mientras que en el control la germinación sólo alcanzó a un 60%

Las plántulas recién germinadas que crecían en bandejas, presentaron signos de marchitez a los 10 días. Al examinar estas plántulas, se encontró que el 100% de sus raíces presentaba severos indicios de la presencia del hongo en el cuello de la raíz (*Fusarium sp.*). Esta corresponde a la zona distal próxima al ápice la que presentaba el color y aspecto típico de raíces sanas lo que es característico del hongo del cuello.

También se hicieron germinar semillas de algarrobilla en discos de petri y bandejas utilizando la emergencia de la radícula como criterio de germinación. Las plántulas así obtenidas en condiciones de asepsia se hicieron crecer en tubos de ensayo con solución Hoagland con los diferentes fungicidas. Se encontró que aunque las plántulas en los 6 primeros días crecen bien, posteriormente el 100% de ellas presentó indicios de estar infectadas por el hongo *Fusarium*.

Por lo precoz de la infección, a pesar de trabajar en condiciones estériles (fungicidas, soluciones esterilizadas escarificación con ácido sulfúrico de semillas etc.), se sospecha que el hongo se puede encontrar en la semilla. Para abordar esta hipótesis, se tomó un grupo de 100 semillas que se escarificaron por 1 y 2 horas en H₂SO₄ y continuación se horadaron sus testas para permitir la entrada del fungicida dejando un grupo control. Se embebieron las semillas horadadas y sin horadar en los diferentes fungicidas y el grupo control en agua potable. Se cuantificó a los 10 días de germinadas la presencia del hongo en la radícula de las plántulas, lo que se muestra en la Tabla 2.

TABLA 2

INFECCION DE RADICULAS DE PLANTULAS DE ALGARROBILLA (%)

Tiempo de escarificación (Hrs)		Captan (0.15%)	Baytan (0.2%)	Benlate (0.2%)	Control
1	sem. horadadas	93.4 ± 6.1 ^c	43.4 ± 7.6 ^b	95.8 ± 4.3 ^{cd}	100 ± 0 ^d
	sem. sin horadar	100 ± 0 ^d	94.2 ± 4.5 ^c	100 ± 0 ^d	100 ± 0 ^d
2	sem. horadadas	94.8 ± 5.3 ^{cd}	32.8 ± 8.2 ^a	93.6 ± 6.7 ^{cd}	100 ± 0 ^d
	sem. sin horadar	100 ± 0 ^d	95.2 ± 4.8 ^{cd}	100 ± 0 ^d	100 ± 0 ^d

Distinta letra indica diferencia significativa según test de Tukey (P < 0.01)

Se encontró que de los tres fungicidas utilizados, solamente Baytan reduce significativamente el porcentaje de infección de raíces de plántulas de algarrobilla, cuando las semillas han sido previamente horadadas. El producto no consigue disminuir el porcentaje de infección que prácticamente es de 100%. Ensayos adicionales tendientes a dilucidar la permeabilidad de la testa, mostraron que ésta es prácticamente impermeable a los solutos, por lo que el fungicida no entra o lo hace en baja concentración, a pesar de estar escarificadas las semillas. Este hecho explica el alto porcentaje de infección de las raíces a pesar de que las semillas

se embebieron en el fungicida.

También se realizaron ensayos para obtener plantas sanas, cortando la raíz infectada e induciendo nuevas raíces. Se encontró un 48% de arraigamiento en las plántulas tratadas con AIB 50 mg/ℓ durante 7 minutos.

B. Arraigamiento de estacas de terreno.

No se consiguió arraigar las estacas de algarrobilla en ninguno de los tratamientos ni fitohormona utilizada. Las estacas tanto en medio líquido como sólido a los 9 días de tratadas se pusieron completamente negras, de aspecto semejante al que presentaban las plántulas que fueron infectadas por el hongo.

C. Detección del hongo por microscopía óptica.

Se realizaron cortes histológicos a raíces de plántulas infectadas y también de tallos de plantas enfermas.

El examen de los cortes reveló que el hongo se encuentra presente tanto en tallos como en raíces y que se trata de *Fusarium oxysporum*. Este es la especie más patógena del género *Fusarium* y se caracteriza por producir necrosis del tejido cortical, graves alteraciones en los vasos conductores y finalmente podredumbre de la raíz o de la base del tallo causando la muerte de la planta.

Las tinciones de tallo con Safranina-Fastgreen se muestran en la figura 1. En las células subcorticales se advierte una estructura globular con puntuaciones intensamente coloreadas, que corresponde a un elemento fúngico. En las figuras 2 y 3 se observa que existe gran proliferación del hongo el que se encuentra repartido prácticamente por toda la raíz. Se advierte en las células epidérmicas, del cortex y de los vasos conductores. El hongo puede ser reconocido porque con esta tinción las hifas presentan una coloración rojiza. El detalle de las hifas fúngicas en las células del cortex se muestra en la figura 3.

En cortes de tallo teñido con Cotton-blue, colorante específico para hongos, se encontró que el hongo se halla presente principalmente en los elementos conductores, cambium vascular y corteza. Seguramente el daño causado en el cambium vascular, explique el menor grosor de la base del tallo en las plantas atacadas por el hongo.

CONCLUSION

Por la extensión de los tejidos atacados por el hongo detectándose en raíces, tallos e incluso semillas y, por el daño que provoca *Fusarium oxysporum* en la planta causando generalmente la muerte, la regeneración de la especie en condiciones naturales se ve seriamente amenazada. Por lo anterior se recomienda realizar algún tipo de control y de fumigación antifúngica, especialmente en el período de floración, tendiendo a obtener semillas sin el patógeno.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Sr. Johannes Wrann, investigador principal del proyecto "Taninos - Chile" que desarrollo el Instituto Forestal con el apoyo del Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo (CIID), bajo cuyo patrocinio y sugerencia se realizó este estudio.

FIGURA 1

Corte transversal por tallo de Algarrobilla (*Balsamocarpon brevifolium*) teñido con Safranina-Fastgreen.

A. Visión General (4.3X) B. Detalle Estructura globular en células subepidérmicas.

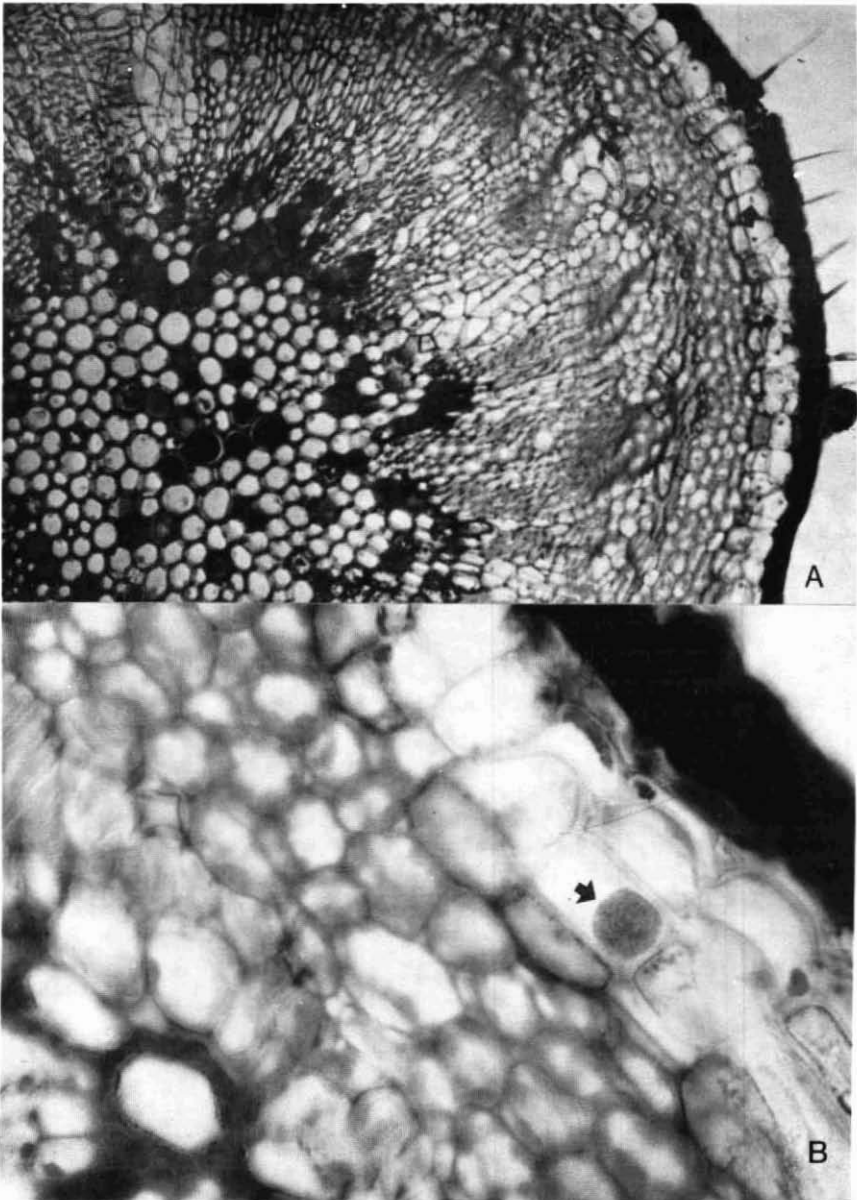


FIGURA 2

Corte transversal por raíz de Algarrobilla (*Balsamocarpon brevifolium*) teñido con Safranina-Fastgreen.

A. Visión General (10X) B. Detalle células del cortex (100X).

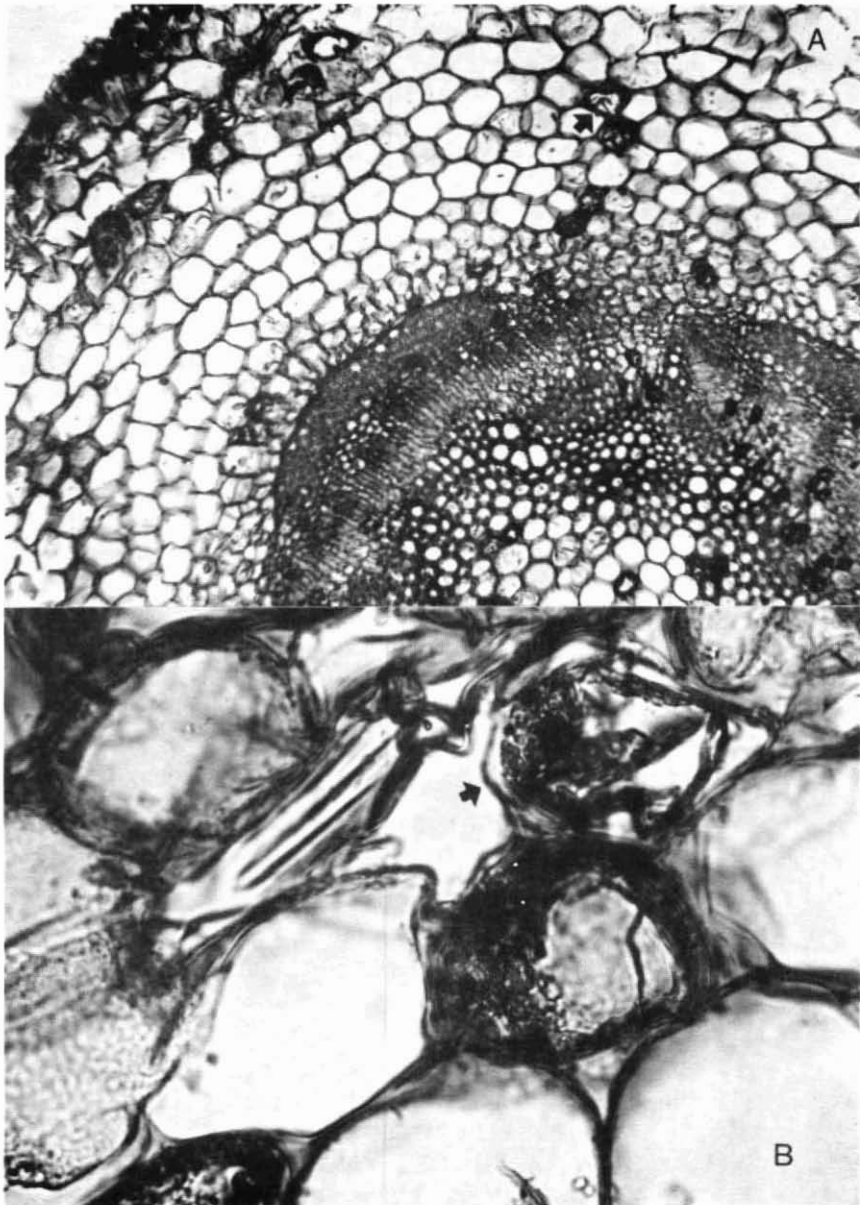


FIGURA 3

Corte transversal por tallo de Algarrobilla (*Balsamocarpon brevifolium*) teñido con Cotton Blue.

A,B,C. Detalle del hongo con aumentos de 6X, 10X y 20X respectivamente, en la corteza del tallo. D. Visión General (4.3X). E. Cuerpo del Hongo con Hifas septadas y nucleadas en macerado de tallo (40X).

