

***INVASION MICOTICA DE LESIONES
ARTIFICIALES EN *Ficus glabrata****

Documento Técnico 94/2000

**E. McDonald
M.A. Pinard
S. Woodward**

Autores

Contrato USAID: 511-0621-C-00-3027-00
Chemonics International
USAID/Bolivia
Agosto, 2000

Objetivo Estratégico de Medio Ambiente (USAID/Bolivia)

***Invasión Micótica de
Lesiones Artificiales en
Ficus glabrata***

***Proyecto de Manejo
Forestal Sostenible
BOLFOR***

Cuarto Anillo
esquina Av. 2 de Agosto
Casilla 6204
Teléfonos: 480766 - 480767
Fax: 480854
e-mail: bolfor@bibosi.scz.entelnet.bo
Santa Cruz, Bolivia

*BOLFOR es un proyecto financiado por USAID y el Gobierno de Bolivia e implementado por
Chemonics International, con la asistencia técnica de Tropical Research and
Development y Wildlife Conservation Society*

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN EJECUTIVO

SECCION I	INTRODUCCION	I-1
SECCION II	METODOLOGIA	II-1
	1. Sitio de estudio	II-1
	2. Especie focal	II-2
	3. Métodos de campo	II-2
	4. Métodos de laboratorio	II-4
	D1. Análisis de los hongos para determinar su capacidad para la degradación de celulosa	II-4
	D2. Examen microscópico de los hongos degradadores de madera	II-4
	D3. Seccionado de muestras provenientes de árboles lesionados artificialmente y teñido de las secciones para la detección de hifas	II-4
SECCION III	RESULTADOS	III-1
SECCION IV	DISCUSION	IV-1
SECCION V	CONCLUSIONES	V-1
SECCION VI	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	VI-1

RESUMEN EJECUTIVO

Se realizó un estudio para investigar la relación entre los daños causados por el aprovechamiento y las infecciones micóticas de *Ficus glabrata*. Se seleccionaron diez individuos de la mencionada especie y se infligió un total de 30 lesiones en estos árboles mediante un hacha de mano. Las lesiones se efectuaron a 1 m de la base de los árboles, exponiéndose de 15 a 30 cm² del cambium. Se aislaron muestras de tejido leñoso de las lesiones, transcurridos 0, 4-5, 13-19 y 35-38 días después de causarse las lesiones, a fin de investigar la diversidad de hongos que las invaden. Se extrajeron, también, muestras similares de tejido leñoso de las áreas lesionadas, las cuales se seccionaron y tiñeron para la observación de hifas micóticas. Asimismo, se extrajeron muestras de tejido leñoso de otros cinco árboles dañados dos años antes durante las operaciones de aprovechamiento, dichas muestras también fueron aisladas a fin de investigar la diversidad micótica en lesiones antiguas. Además, se disecaron tres árboles jóvenes y saludables de la especie, y se tomaron muestras para investigar la hipótesis de que éstos pueden albergar hongos, los cuales se mantienen en estado de latencia hasta entrar en contacto con el oxígeno, mediante lesiones. Finalmente, se aislaron muestras de dos tocones de árboles de la mencionada especie, los cuales mostraban indicios de putrefacción de la médula, con la intención de determinar las especies de hongos que producen esta afección. De las 180 muestras aisladas, provenientes de lesiones artificiales, 28.4% albergaban especies micóticas degradadoras de la lignina, y se determinó, también, que 5.84% de las muestras obtenidas en lesiones de 2 años de antigüedad, causadas por el aprovechamiento, (N=32) y 7.6% de las muestras aisladas a partir de tocones podridos (N=13) albergaban especies degradadoras de la lignina. A pesar de estos porcentajes reducidos, se estableció la presencia de infecciones micóticas en 60 y 40% de los árboles con lesiones artificiales y causadas por el aprovechamiento, respectivamente. La mayoría de las especies micóticas aisladas pertenecen al género *Fusarium*. Otras especies identificadas corresponden a los órdenes Deuteromycetes y Basidiomycetes.

SECCION I

INTRODUCCION

En el presente estudio se investigó la invasión micótica de lesiones artificiales, hasta 38 días después de causarse éstas y, también, se recogió información sobre la diversidad micótica en lesiones causadas por el aprovechamiento efectuado con dos años de anterioridad. Durante las operaciones de aprovechamiento, muchos árboles del bosque residual son dañados por la maquinaria o la caída de árboles. Las lesiones resultantes quedan abiertas a las infecciones micóticas que, a su vez, pueden derivar en daños graves a los árboles y, en algunos casos, pueden ser fatales. Se sabe muy poco sobre este proceso, a pesar de sus importantes implicaciones ecológicas y de constituir un gran problema económico. Una vez se determine qué especies de hongos invaden las lesiones, se podrán establecer pasos para limitar dicha invasión, probablemente mediante la aplicación de aprovechamiento de impacto reducido, con la consiguiente disminución de daños.

En el estudio se investigó el ataque de hongos a heridas artificiales y causadas por el aprovechamiento en *Ficus glabrata*, una especie arbórea emergente del dosel, común en los bosques del oriente de Bolivia. En particular, se esperaba determinar la presencia o ausencia de Basidiomicetos en lesiones. Los hongos de la clase Hymenomyces son los principales causantes de la degradación de la lignocelulosa. Esta clase realiza una degradación extremadamente eficaz de la lignina, posiblemente debido al hábito de crecimiento de los micelios, que permite el transporte eficiente de nutrientes escasos, como nitrógeno y hierro, hacia el sustrato, pobre en nutrientes, de lignocelulosa que constituye su fuente de carbono (Hammel 1997). Los hongos degradadores de lignina enfrentan una serie de problemas. El polímero de la lignina es extremadamente grande y ramificado. Los mecanismos de lignólisis deben ser extracelulares, puesto que el polímero está interconectado por enlaces estables de éter y carbono-carbono. La ruptura de estos enlaces requiere un mecanismo de oxidación y no de hidrólisis. Asimismo, la lignina no es soluble en agua, lo cual limita su biodisponibilidad a sistemas de lignólisis. Este es un proceso lento (Hammel 1997). Se sabe poco sobre la invasión micótica de lesiones causadas por el aprovechamiento. Basham (1978), llevó a cabo un extenso estudio de los efectos de las lesiones en el arce azucarero *Acer saccharum* Marsh. Este investigador causó 427 lesiones en los fustes de 172 árboles e investigó sus efectos durante un período posterior de ocho años. En dicho período, se aisló Hymenomyces y se determinó que la invasión de microorganismos varía según el tipo de lesión (causada por cuchillo o hachuela), la estación del año, y el lapso transcurrido entre el momento en que se produce la lesión y el muestreo. También debe señalarse que se han efectuado trabajos extensos sobre el abeto, pero se sabe muy poco acerca de las especies tropicales.

SECCION II METODOLOGIA

A. Sitio de estudio

El presente estudio se efectuó en la concesión forestal La Chonta, ubicada en la región de Guarayos, a 300 km de la ciudad de Santa Cruz, en los llanos orientales de Bolivia. El bosque se encuentra flanqueado por el río Blanco en su límite septentrional, y colinda con palmares hacia el este y bosque húmedo hacia el oeste. El terreno fluctúa entre plano y ondulado y los suelos corresponden a Oxisoles, Ultisoles e Inceptisoles. La precipitación es altamente estacional, con una época seca que se extiende desde marzo hasta octubre, y una pronunciada época de lluvias que dura desde noviembre hasta febrero. El promedio anual de precipitación es de alrededor de 1560 mm (max. 2195 mm, min. 1313 mm, [Gil 1998]). La temperatura anual promedio es de 25.3° C (max. 28.91C, min. 19.6° C). El estudio se efectuó a fines de la época seca.

El bosque de la zona es subhúmedo, con un dosel principal que fluctúa entre 25 y 30 m, y árboles emergentes de hasta 45 m. Si bien el bosque contiene muchos árboles de gran tamaño, la presencia de la mayoría de las especies arbóreas dominantes está relacionada con disturbios (Mostacedo y Fredericksen 1999). Varias partes de la concesión se han quemado en el pasado reciente (Pinard *et al.* 1999, Mostacedo *et al.* 1999), pero no se halló evidencia de incendios recientes en las cercanías del área de estudio. Entre las especies comunes del dosel están *Cariniana ianeirensis* (yesquero blanco), *Pseudolmedia laevis* (ojoso), *Hura crepitans* (ochoó) y *Schizolobium amazonicum* (serebó). Tres especies del género *Ficus* se presentan comúnmente como emergentes (*F. glabrata*, *F. gomeillera* y *F. trigona*), las cuales son distinguibles una de otra en el terreno.

El aprovechamiento maderero que se efectúa en la concesión es selectivo, extrayéndose las especies comerciales de acuerdo a pedidos específicos y se respetan diámetros mínimos de corta (50 cm de dap para todas las especies, exceptuando *Ficus glabrata* y *Hura crepitans* cuyo diámetro mínimo de corta es de 70 cm). Las principales especies comerciales que se extraen actualmente son *Cariniana ianeirensis*, *Schizolobium amazonicum*, *Terminalia oblonga*, *Hura crepitans* y *Ficus glabrata*. Se utilizan topadoras para la construcción de caminos y pistas primarias de extracción, así como Askidders® con ruedas de goma para la extracción de troncos. En el área de aprovechamiento de 1999, los siguientes porcentajes de terreno se convirtieron de bosque a caminos: 19.6% del área se asignó a pistas de arrastre, 2.4% a caminos madereros y 0.11% a patios de acopio (Jackson *et al.* 2000). La incidencia de daños a los árboles en las pistas de arrastre fue relativamente elevada, con una media de 24.1 árboles dañados por cada árbol extraído en éstas, 1.4 en caminos, 17.3 en claros de aprovechamiento y 0.1 en patios de acopio (Jackson *et al.* 2000).

B. Especie focal

Ficus glabrata (Moraceae) es un árbol emergente común en el área de estudio, que se caracteriza por sus grandes aletones. En general, esta especie tiene sistema propio de sustento, pero se puede encontrar como hemiepífita estranguladora, dependiendo de las condiciones prevalecientes a tiempo de germinar las semillas (Fredericksen *et al.* 1998). La especie segrega un látex característico blanco y pegajoso, es decidua y tiene corteza relativamente delgada. En la concesión La Chonta el volumen en pie de *F. glabrata* varía entre 7 y 10 m³/ha y el volumen aprovechable generalmente fluctúa entre 1.1 y 2.2 m³/ha (Gil 1998).

Se eligió la especie *F. glabrata* para el estudio debido a su importancia comercial, su tendencia a la putrefacción de la médula y su vulnerabilidad a la decoloración de la madera, una vez que se la corta. La mala forma del fuste es, también, un rasgo común en *F. glabrata*. En un estudio realizado en la concesión La Chonta (Fredericksen *et al.* 1998), 24% de los árboles no extraídos mostraron evidencia de putrefacción y sólo un 13% de los árboles mayores al límite diamétrico tenían forma suficientemente buena como para ser aprovechados. Se extrajo un 55% de los árboles potencialmente aprovechables, a pesar de las deficiencias de forma. La madera de la especie se usa para la fabricación de puertas y muebles de alta calidad, que se venden en el mercado internacional; también se producen muebles de calidad intermedia que se venden en el mercado interno (Viscarra com. pers.). La madera sin tratamiento de *F. glabrata* es vulnerable a la decoloración, por lo que las troncas se procesan y tratan rápidamente después de la corta.

C. Métodos de campo

OBJETIVO 1: Estudiar la invasión micótica en lesiones artificiales, hasta 36 días después de ser causadas, e investigar la capacidad de lignólisis de los hongos aislados.

Se seleccionaron diez árboles del bosque, en un radio de 3 km alrededor del campamento. Todos los árboles se mostraban saludables. A fin de limitar los daños a los árboles potencialmente aprovechables, se seleccionaron árboles de diámetro reducido, aunque en algunos casos esto no fue posible pues se encontraron pocos individuos pequeños. En los diez árboles seleccionados, se causaron cuatro lesiones, con hachuela, en la parte inferior del fuste (a 1 m del suelo como promedio) de cada árbol, distribuyéndolas de modo que queden separadas por una distancia mínima de 20 cm entre sí. La superficie expuesta del cambium fluctuó entre 15 y 30 cm². En cada lesión se extrajo la corteza y se perforó el xilema externo. En cinco individuos, se extrajeron muestras para análisis histológico de las lesiones a los 0, 5, 15 y 35 días después de producirse éstas y se hizo un muestreo de los cinco individuos restantes a los 15 y 35 días. Se usó un barrenador, de 10 mm de diámetro, para extraer una muestra cilíndrica de corteza, cambium y xilema en cada una de las fechas de muestreo (largo mínimo de las muestras 3 cm). Estas se dejaron en FAA durante 24 horas y se transfirieron a alcohol al 35% para su almacenamiento. Se extrajeron, con el barrenador, tres muestras adicionales de las lesiones artificiales, para análisis micológicos. En el laboratorio de campo, se tomaron dos sub-muestras de cada cilindro: una de los 5 mm externos y otra de los 5 mm internos. En un ambiente esterilizado, se extrajeron los

tejidos externos (expuestos) y se obtuvo una pequeña astilla de madera del interior de los cilindros. Las astillas se colocaron en un medio selectivo de agar para el cultivo de Basidiomicetos y se almacenaron en la oscuridad. Las muestras se vigilaron durante 40 días y se examinaron, periódicamente, para determinar si se producía crecimiento micótico. Se registró la fecha de aparición de hongos en las muestras.

OBJETIVO 2: Investigar la diversidad micótica en lesiones, de dos años de antigüedad, causadas por el aprovechamiento en *Ficus glabrata*.

Se efectuó una búsqueda de fustes dañados de *Ficus glabrata* en un área aprovechada dos años antes de la presente investigación y en un área adyacente. No fue posible confirmar la antigüedad o la causa de las lesiones, pero éstas probablemente se derivaron de daños causados por el aprovechamiento. Se tomaron tres muestras (mediante un barreno de 10 mm de diámetro) de cada uno de cinco árboles en los que el cambium quedó expuesto por las lesiones. Se registraron las siguientes características de las lesiones: altura del borde inferior de la lesión desde la base del árbol, aspecto, ancho y largo de la lesión, y profundidad de penetración en el tejido leñoso. Se recolectaron sub-muestras, usando las técnicas anteriormente descritas, y éstas se colocaron en un medio selectivo, se almacenaron en un ambiente seco y oscuro, y se examinaron periódicamente durante un lapso de 40 días.

OBJETIVO 3: Comprobar la hipótesis de que las plantas jóvenes de *Ficus* podrían albergar hongos degradadores en sus tejidos vasculares, los cuales estarían latentes hasta entrar en contacto con el oxígeno, por ejemplo mediante lesiones.

Se disecaron tres fustes jóvenes de *Ficus glabrata* en el sitio. Secciones transversales de, al menos, cuatro distintas alturas en el fuste y la raíz (el tipo estrangulador puede tener raíces aéreas) se envolvieron en papel de periódico y se almacenaron en una caja plástica, durante cinco días. Transcurrido dicho período, las secciones se examinaron para determinar la presencia de cuerpos fructificantes o cualquier forma de decoloración en la madera. Se tomaron muestras de éstos, en condiciones de esterilidad, y se colocaron en un medio selectivo. Los cultivos se mantuvieron en un ambiente seco y oscuro, y se examinaron periódicamente durante un lapso de 40 días.

OBJETIVO 4. Recolectar muestras de tocones podridos de *Ficus glabrata* y estudiar los hongos presentes en éstos.

Se localizaron dos tocones de *Ficus glabrata* en el área aprovechada, los cuales mostraban evidencias de podredumbre de la médula. Se extrajeron muestras de distintas partes de las zonas podridas y éstas se colocaron en un medio selectivo, en condiciones estériles. Los cultivos se mantuvieron en un ambiente seco y oscuro, y se examinaron periódicamente durante un lapso de 40 días.

D. Métodos de laboratorio

Transcurrido un período de 10 a 60 días en condiciones de oscuridad, las muestras de madera en agar fueron transferidas a una incubadora, donde se mantuvieron a 25°C por un lapso de 40 días. Las muestras que no mostraron indicios de crecimiento micótico, después de dicho lapso, se consideraron estériles.

Los hongos emergentes se sub-cultivaron en placas con 3% de malta y 1% de agar, que además contenían penicilina/estreptomicina para acelerar el crecimiento. Los cultivos se incubaron, a 25°C, durante cinco días y se sub-cultivaron en un medio de 2% de malta y 1% de agar, sin antibiótico, para que los hongos se desarrollen mostrando un patrón normal de crecimiento.

En esta etapa, varios de los cultivos se descartaron al determinarse que los hongos que contenían eran saprótrofos comunes, cuyas esporas son transportadas por el aire, como *Penicilium* y *Mucor*. Estos contaminantes posiblemente se introdujeron en las muestras de agar en el laboratorio de campo o se encontraban presentes en la superficie externa de las lesiones. No existe forma de reducir la incidencia de contaminación en un laboratorio de campo con condiciones rudimentarias.

D1. Análisis de los hongos para determinar su capacidad para la degradación de celulosa (Objetivos 1-4)

El resto de los cultivos que no se contaminaron se sub-cultivó en placas con 2% de malta y 1% de agar, además de 0.02% del tinte azul brillante Remazol, para detectar la capacidad de los hongos para la degradación de la lignina (Gold 1988). Algunos de los cultivos contenían una mezcla de hongos, por lo que, a fin de separar las distintas especies, se aislaron muestras de individuales de éstas en PDA, antes de sub-cultivarlas en agar con Remazol.

D2. Examen microscópico de los hongos degradadores de madera (Objetivos 1-4)

Se seleccionaron, para la identificación, los hongos aislados que evidenciaron decoloración con el tinte Remazol azul. Se extrajeron pequeñas muestras del micelio de cada uno de los hongos y éstas se colocaron en portaobjetos y fueron teñidas con lactofenol azul. Las muestras se examinaron con un microscopio óptico (Wild M5 stereomic 124341). Los rasgos estructurales (presencia de septos, formación de conidias, forma y tamaño de éstas) se usaron para identificar, en lo posible, los cultivos.

D3. Seccionado de muestras provenientes de árboles lesionados artificialmente y teñido de las secciones para la detección de hifas (Objetivo 1)

Las muestras provenientes de árboles artificialmente lesionados (Objetivo 1) fueron seccionadas y teñidas para revelar la presencia de hifas micóticas. Primero, se midieron las

muestras y luego se registró el grado de decoloración, es decir hasta qué punto de la muestra cilíndrica se evidenciaba decoloración. Se tomaron muestras de los cilindros en tres puntos: lo más cerca posible de la corteza, y a 2 y 4 cm de ésta. Se extrajeron discos de las muestras cilíndricas en estos puntos y éstos se seccionaron mediante un micrótopo. Se tomaron seis secciones repetidas (15 ? m) de cada uno de los puntos (corteza, 2 cm y 4 cm), con lo que se obtuvo un total de 18 muestras por cilindro. Estas secciones se tiñeron con azul de toluidina (Feder y O'Brien 1968) y se prepararon en Aaquamount@. Se ensayaron otras técnicas de tinción, como por ejemplo las indicadas por Pearce (1984), pero el azul de toluidina brindó los mejores resultados para el tiempo disponible. Las secciones se examinaron bajo el microscopio óptico, para determinar la presencia de hifas micóticas.

SECCION III
RESULTADOS

OBJETIVO 1: Invasión micótica de lesiones artificiales en *Ficus glabrata*.

Hongos aislados

Se colocó en un medio de cultivo un total de 180 astillas de madera, las cuales fueron recolectadas de los 10 árboles lesionados artificialmente. El porcentaje medio de muestras aisladas en las que crecieron hongos fluctuó entre 8 y 59%. De éstas, 0 a 12% correspondía a hongos degradadores de la madera (Cuadro 1). Los diez árboles albergaban hongos y seis de éstos contenían hongos degradadores de lignina. Es interesante notar que el árbol que mostró el mayor porcentaje medio de hongos aislados (LF6/58.3%), no albergaba ninguna especie degradadora de lignina.

Cuadro 1. Porcentaje medio y errores estándar de las muestras de madera, a partir de las cuales se aislaron hongos, y porcentaje medio de muestras aisladas en las que se encontraron hongos degradadores de lignina. Muestras obtenidas a partir de lesiones artificiales en diez individuos de *Ficus glabrata*, La Chonta, Bolivia 1999. N = tamaño de la muestra.

	Código del árbol	Porcentaje medio de muestras aisladas con hongos (d.e.)	Porcentaje medio de muestras aisladas con hongos degradadores de lignina* (d.e.)	N
Arboles lesionados artificialmente	LF1	25 (9)	0	24
	LF2	50 (10)	8.3 (5.8)	24
	LF3	29.2 (9.5)	8.3 (5.8)	24
	LF4	45.8 (10.)	8.3 (5.8)	24
	LF5	25 (9)	12.5 (6.9)	24
	LF6	58.3 (14.9)	0	12
	LF7	8.3 (8.3)	0	12
	LF8	33 (14.2)	8.3 (8.3)	12
	LF9	8.3 (8.3)	8.3 (8.3)	12
	LF10	16.7 (11.2)		12

* Porcentaje calculado a partir del total de muestras aisladas.

No se encontraron hongos en las muestras tomadas el día 0, lo que sugiere que los hongos en las muestras posteriores se derivan de la colonización de lesiones y no de esporas ya presentes en los árboles. Una media de 50% de las muestras aisladas mostró crecimiento micótico entre los días 4 y 5, 29% entre los días 13 y 19, y 53% entre los días 35 y 38 (Fig. 1). Del total de muestras aisladas, 16.7% correspondió a hongos degradadores de lignina entre los días 4 y 5, 3.3% entre los días 13 y 19, y 10% entre los días 35 y 38.

En el Cuadro 6, se presenta un resumen de los árboles que contenían hongos degradadores de lignina.

Secciones de muestras obtenidas en lesiones artificiales

En los diez árboles investigados, la disección de muestras cilíndricas de las lesiones artificiales, tomadas durante cuatro períodos de tiempo, derivó en la observación de hifas micóticas en tres individuos (Cuadro 2). En los 450 portaobjetos preparados con secciones de material proveniente de lesiones 14 mostraron hifas micóticas, una mayoría de las cuales se encontraba en los vasos del xilema.

En el Cuadro 2, se resaltan los árboles que evidenciaron ataque de hongos degradadores de lignina, mediante la presencia de hifas micóticas en secciones teñidas con azul de toluidina.

Cuadro 2. Presencia o ausencia de hifas micóticas en secciones obtenidas de muestras cilíndricas provenientes de lesiones artificiales a 0, 4-5, 13-18 y 35-38 días de producirse las heridas. Muestras de lesiones artificiales causadas en 10 individuos de *Ficus glabrata*, La Chonta, Bolivia 1999.

Código del árbol	Ubicación de la sección Cerca de la corteza	N	Grado de decoloración (cm)	
			2 cm	4 cm
LF1 día 0	0	0		0180
LF1 día 4	0	0		0180.5
LF1 día 16	0	0		0184.2
LF1 día 38	0	0		1182.7
LF2 día 0	0	1		0180
LF2 día 5*	2	1		0182.6
LF2 día 17	3	1		1182.5
LF2 día 36*	1	2		0184.5
LF3 día 0	0	1		0180
LF3 día 5*	0	0		0184.1
LF3 día 17*	0	0		0183.7
LF3 día 35	0	0		0182.3
LF4 día 0	0	0		0180
LF4 día 5*	0	0		0182.2
LF4 día 17	0	0		0183.5
LF4 día 35	0	0		0182.3
LF5 día 0	0	0		0180
LF5 día 5*	0	0		0180.5
LF5 día 16	0	0		0183.8
LF5 día 36*	0	0		0182.6
LF6 día 13	0	0		0182.9
LF6 día 18***	0	0		0183.4
LF7 día 14	0	0		0183.2
LF7 día 19	0	0		0183.3
LF8 día 14	0	0		0183.3
LF8 día 19	0	0		0184.8
LF9 día 14	0	0		0183.7
LF9 día 19*	0	0		0184.2
LF10 día 14*	0	0		0183
LF10 día 19	0	0		0183.9

* denota lesiones que mostraron hongos degradadores de lignina en pruebas con azul de Remazol.

*** se encontraron hifas micóticas en LF6 D18, pero se desconocen las ubicaciones exactas puesto que esta muestra se usó para ensayar técnicas.

Nota: ACódigo del árbol@ es el único rótulo que se dio a cada uno de los diez individuos, de modo que las muestras fuesen fácilmente identificables. AGrado de decoloración@ se refiere a la longitud de tejido decolorado en las muestras cilíndricas, por ejemplo, si una muestra no presentaba decoloración, se le asignaba el valor A0@, si la decoloración se extendía a lo largo de 2 cm de la muestra, se le asignaba el valor A2@.

OBJETIVO 2: Diversidad micótica en lesiones antiguas, causadas por el aprovechamiento, en *Ficus glabrata*.

En el Cuadro 3, se resumen las observaciones sobre las lesiones que probablemente fueron causadas durante las operaciones forestales efectuadas dos años antes del presente estudio.

Cuadro 3. Características de las lesiones muestreadas en individuos de *Ficus glabrata*, que probablemente sufrieron daños debido a las operaciones de aprovechamiento realizadas dos años antes del estudio. La Chonta, Bolivia 1999.

Arbol	Observaciones
WF1	50 cm de dap, evidencia de putrefacción de la médula. Copa dañada y rebrote desde las ramas. Exposición de la copa 2.5, uno de los aletones muestra pudrición blanca, presencia de termitas. 15 cm de ancho. Tejido leñoso expuesto.
WF2	160 cm de dap, lesiones viejas totalmente cerradas por la parte externa y de apariencia superficial. Exposición de la copa 5, algo de daño en los aletones. Se tomaron muestras de 3 lesiones en los aletones, a 50-90 cm desde el suelo. Promedio de 25 cm de ancho y 1 m de largo.
WF3	165 cm de dap, exposición de la copa 5. Nido de termitas en un aletón, saludable en otros aspectos, hojas nuevas de color rojizo. Lesiones en la cara este, a 2 m del suelo.
WF4	22 cm de dap, exposición de la copa 4. Lesión basal grande, con tejido leñoso expuesto a 10 cm del suelo hasta los 80 cm de altura, 20 cm de ancho. Presencia de callo.
WF5	200 cm de dap, exposición de la copa 5, canchros en un aletón, saludable en otros aspectos. Las lesiones se extienden hasta una altura de 2 m desde la base. Lesión muestreada de 10 cm de ancho y 40 cm de largo.

En el Cuadro 4, se presenta un resumen de las muestras aisladas en las lesiones anteriores.

Cuadro 4. Porcentaje medio y error estándar de las muestras aisladas que mostraron crecimiento micótico, y porcentaje medio de muestras aisladas en las que se hallaron hongos degradadores de lignina. Muestras tomadas de antiguas lesiones (de al menos dos años) causadas por el aprovechamiento en 5 individuos de *Ficus glabrata*, La Chonta, Bolivia 1999.

	Código del árbol	Porcentaje medio de muestras aisladas con hongos (d.e.)	Porcentaje medio de muestras aisladas con hongos degradadores de lignina (d.e.)	N
Arboles con lesiones (daños anteriores causados por el aprovechamiento)	WF1	66.7 (21.1)	0	6
	WF2	33.3 (21.1)	16.7 (16.7)	6
	WF3	0	0	6
	WF4	16.7 (16.7)	0	6
	WF5	25 (16.4)	12.5 (12.5)	8

En el Cuadro 6 se indican las especies de hongos degradadores de lignina aislados en estos árboles (WF2 y WF5).

OBJETIVO 3: Posibilidad de que los individuos jóvenes de *Ficus glabrata* puedan albergar hongos latentes hasta entrar en contacto con el oxígeno, y

OBJETIVO 4: Diversidad micótica en tocones podridos de *Ficus glabrata*.

No se encontraron hongos degradadores de lignina en las 24 muestras aisladas, provenientes de los árboles jóvenes de bibosi. Cincuenta por ciento de las muestras mostró crecimiento micótico (Cuadro 5). Se extrajeron trece muestras de dos tocones con indicios de putrefacción de la médula. Uno de éstos evidenció la presencia de hongos degradadores de lignina. Un 61.5% de las muestras aisladas mostró crecimiento micótico y 7.6% de todas las muestras correspondió a hongos degradadores de lignina (Cuadro 5).

Cuadro 5. Resultados de las muestras aisladas a partir de árboles jóvenes y tocones de *Ficus glabrata*, La Chonta, Bolivia 1999.

No. de bibosis jóvenes con hongos degradadores de lignina	0/3
Porcentaje de muestras aisladas con presencia de hongos	50% (n = 24)
Porcentaje de muestras aisladas con presencia de hongos degradadores de lignina	0% (del total de las muestras)
No. de tocones con hongos degradadores de lignina	1/2
Porcentaje de muestras aisladas con presencia de hongos	61.5% (n = 13)
Porcentaje de muestras aisladas con presencia de hongos degradadores de lignina	7.6% (del total de las muestras)

*n = número de muestras aisladas.

Caracterización de las muestras aisladas en las que se observó decoloración del azul de Remazol

A partir de las investigaciones realizadas para los cuatro objetivos, se aislaron 15 muestras con hongos degradadores de lignina. Estas se examinaron, se registraron sus características y se efectuaron clasificaciones preliminares sobre la base de los rasgos microscópicos (Cuadro 6).

Cuadro 6. Clasificación preliminar de las muestras micóticas aisladas a partir de lesiones artificiales, lesiones antiguas causadas por el aprovechamiento y tocones de *Ficus glabrata*, las cuales se determinó tenían capacidad para la degradación de la lignina. La Chonta, Bolivia 1999.

Código del árbol	Identificación preliminar
LF2 día 5	<i>Fusarium oxysporum</i>
LF2 día 36	<i>Fusarium solani</i>
LF3 día 5	Similar a miembros del orden Sphaeropsidales, patógeno común en árboles tropicales
LF3 día 17	<i>Fusarium culmorum</i>
LF4 día 5 (i)	<i>Fusarium solani</i>
LF4 día 5 (ii)	<i>Fusarium solani</i>
LF4 día 5 (iii)	Desconocido
LF5 día 5	<i>Fusarium solani</i>
LF5 día 36 (i)	<i>Fusarium oxysporum</i>
LF5 día 36 (ii)	Deuteromiceto
LF9 día 19	<i>Fusarium solani</i> / <i>F. coccophilum</i>
LF10 día 14	<i>Fusarium culmorum</i>
Tocón 1	<i>Fusarium solani</i>
WF2	Basidiomiceto (Hymenomyces)
WF5	Deuteromiceto

(LF: árboles con lesiones artificiales, Tocón: muestras tomadas del tocón de un fuste recientemente cortado, WF: árboles lesionados hace 2 años, durante el aprovechamiento).

SECCION IV

DISCUSION

OBJETIVO 1: Invasión micótica en lesiones artificiales de *Ficus glabrata*.

Los diez árboles estudiados evidenciaron la presencia de hongos en las lesiones artificiales a un máximo de 38 días de producirse éstas; sólo este hecho muestra que las lesiones sirvieron como punto de acceso para la invasión de hongos potencialmente perjudiciales. Seis individuos albergaban especies de hongos degradadores de lignina y cabe señalar que estos patógenos invadieron las lesiones entre 4 y 5 días después de producirse éstas (Fig. 1). El número de especies degradadoras de lignina aisladas de allí en adelante fue menor entre los días 13 y 19, pero mayor entre los días 35 y 38. Estas fluctuaciones no fueron estadísticamente significativas debido al tamaño reducido de la muestra. El hecho que el presente estudio haya generado evidencia de invasión micótica en un período tan reducido de tiempo es significativo en sí, puesto que otros estudios, como por ejemplo el de Basham (1978), no produjeron dichos resultados en el mismo lapso de tiempo.

El género *Fusarium*

En un estudio realizado en *Acer saccharum* (arce azucarero) en la década de 1970 (Basham 1978), 14.6% de las muestras aisladas correspondían a *Fusarium* spp. a los 0.4 años (96 muestras de 36 lesiones en 12 árboles). Entre los 6.1 y 8 años de producirse las lesiones, esta cifra disminuyó a un 1.4% (227 muestras de 48 lesiones en 16 árboles). En el presente estudio, se evidenciaron especies del género *Fusarium* hasta en un 5.5% de las muestras aisladas, en un máximo de 38 días (180 muestras de 30 lesiones en 10 árboles), lo que indicaría una abundancia de esporas de este género y la capacidad de éste para la colonización inicial de lesiones.

El género *Fusarium* (orden Moniliales, familia Tuberculariaceae) es un género de hongos imperfectos y está entre los más comúnmente aislados en estudios de patología vegetal (Booth 1971). Las distintas especies del género *Fusarium* se encuentran en el suelo y en substratos inorgánicos, habiéndose aislado en muestras provenientes del Apmmafrost@ del Artico y de las arenas del Sahara (Booth 1971). Al igual que muchos hongos del suelo, las especies de *Fusarium* cuentan con mecanismos de supervivencia, uno de los cuales es la rápida mutabilidad, tanto morfológica como fisiológica, para adaptarse a nuevos ambientes. El efecto de la acción de muchas especies de este género es el marchitamiento acelerado. *F. oxysporum* y *F. cubense* causan el mal de Panamá en el banano, el cual se considera una de las enfermedades vegetales más devastadoras del mundo. Estas especies se presentan, en su mayoría, como saprófitas en el suelo, sobreviven el invierno en etapa de micelio o clamidiospora, y se supone que pueden vivir indefinidamente en el suelo (Booth 1971). *F. solani* causa pudrición de las raíces y canchros en las especies arbóreas de madera dura, y se la relaciona con lesiones. A menudo, esta especie ataca a hospederos que han sido debilitados por condiciones desfavorables (Booth 1971).

Decoloración de la madera

La longitud media de la decoloración en muestras cilíndricas tomadas en lesiones artificiales efectuadas en el presente estudio, fue de 2.2 cm (n = 35 después de un máximo de 38 días). No se han llevado a cabo otros estudios de la especie *Ficus glabrata*. En comparación con un estudio realizado en un bosque seco tropical (Schoonenberg *et al.* 1999), el grado de decoloración fue relativamente alto. Schoonenberg *et al.* (1999) efectuaron un experimento en seis diferentes especies arbóreas comerciales y determinaron que existía un rango de decoloración que fluctuaba entre 0 y 35 mm, a los 60 días de producirse las lesiones, fueran éstas de origen mecánico o térmico. Basham (1978) evidenció una decoloración de 8 mm en *Acer saccharum* entre 6 y 8 años de producirse las lesiones. Por consiguiente, la madera de *F. glabrata* se decoloró con mayor rapidez que otras especies estudiadas. Evidentemente, la decoloración varía de acuerdo al tipo de lesión, el tamaño de los árboles, la rapidez de cicatrización y el tamaño de las lesiones (Basham 1978), pero las diferencias son notables. Cuando la madera se decolora, se producen varios cambios, tanto químicos como físicos (Blanchette 1992). La madera decolorada tiene un pH más alto, un mayor contenido de agua y minerales que la madera Anormal®, y muestra un aumento en el nivel de fenoles libres. Estos últimos pueden aumentar la resistencia de la madera a la invasión de Basidiomicetos, si bien la mayoría de los organismos causantes de putrefacción tienen la capacidad para superar este obstáculo (Blanchette 1992).

OBJETIVO 3: Posibilidad de que los individuos jóvenes de *Ficus glabrata* puedan albergar hongos latentes hasta entrar en contacto con el oxígeno,

OBJETIVO 4: Diversidad micótica en tocones podridos de *Ficus glabrata* y

OBJETIVO 2: Diversidad micótica en lesiones antiguas, causadas por el aprovechamiento, en *Ficus glabrata*.

Dos de cada cinco árboles con lesiones antiguas, causadas por el aprovechamiento, evidenciaron la presencia de hongos degradadores en porcentajes similares a los hallados en árboles lesionados artificialmente. Entre 16.7 y 66.7% de las muestras aisladas en cuatro de cada cinco árboles mostraron contener hongos. Es interesante notar que el único Basidiomiceto confirmado en el presente estudio se aisló en el árbol WF2. Otro árbol con lesiones antiguas, causadas por el aprovechamiento, y que albergaba hongos degradadores fue el WF5, si bien la especie de hongo aislada a partir de éste correspondía a la clase Deuteromycetes. Por consiguiente, los hongos que se encontraron en las lesiones antiguas, causadas por el aprovechamiento, fueron distintos de los hallados en las lesiones causadas artificialmente, que correspondían en su mayoría al género *Fusarium*. El bajo número de hongos degradadores de lignina no implica que los árboles utilizados en este sector del estudio estuviesen exentos de daños. Varios patógenos podrían haber estado activos a

mayor profundidad en los fustes de los árboles y la colonización puede haber sido sistémica.

Si bien 50% de las muestras aisladas a partir de bibosis jóvenes y saludables evidenció alguna forma de crecimiento micótico, se determinó que ninguno de estos hongos era degradador de lignina. Esta cifra respalda la hipótesis de que los bibosis jóvenes pueden albergar hongos (endófitos) que se mantienen latentes hasta entrar en contacto con el oxígeno. Si bien estos hongos no serían degradadores de lignina, podrían ser patógenos. Los hongos pueden introducirse al fuste a través de las raíces. Esto tiene implicaciones en cuanto a los efectos del aprovechamiento, puesto que en caso de producirse daños a los fustes de *F. glabrata* se pueden activar hongos nocivos, con posibles resultados fatales en un corto período de tiempo. Si los hongos no estuviesen latentes en los fustes, probablemente éstos se demorarían más en penetrar las lesiones desde fuera y atacar los árboles.

Uno de los tocones estudiados contenía una cepa degradadora de lignina de *Fusarium solani*. No se puede afirmar que esta especie causó la putrefacción de la médula, puesto que no se efectuaron mayores investigaciones. Al igual que en todos los experimentos del presente estudio, se utilizó un medio altamente selectivo para inhibir el crecimiento de ciertos hongos, los cuales, teóricamente, podrían haber sido patógenos. En condiciones normales de laboratorio, las astillas de madera se hubiesen colocado en una mezcla menos limitante de agar, que permitiese el crecimiento de más organismos o, alternativamente, en varios tipos diferentes de agar. Se podría haber inhibido el crecimiento de los patógenos más significativos (ej. bacterias), pero las instalaciones de campo no permitieron el uso de procedimientos normales; el uso de agar de amplio espectro hubiese implicado la necesidad de aislar nuevamente innumerables muestras, lo cual no era factible.

No se han encontrado estudios publicados con relación a este tema, para su comparación con esta sección del estudio.

Otras enfermedades conocidas que atacan a *Ficus* spp.

Agallas causadas por *Nectriella*

Nectriella pironii (Hypocreales, Hypocreaceae) causa agallas o canchales en muchas plantas tropicales leñosas y herbáceas, y los bibosis comunes y estranguladores son particularmente susceptibles a esta enfermedad (Alfieri y Samuels 1979). El patógeno causa pérdida de vigor y necrosis de los fustes afectados. *N. pironii* es un parásito de lesiones que no puede penetrar superficies intactas. Se ha reportado la transmisión de esta enfermedad a través de salpicaduras de lluvia.

***Ophiodothella* spp.**

Ophiodothella fici produce manchas en las hojas de varias especies, incluyendo bibosis estranguladores, causando su caída prematura. Las manchas aparecen como estomas elevados, dispares y brillantes, de color negro, de 1 a 10 mm de diámetro, y generalmente rodeados por un halo de color amarillo (Sinclair *et al.* 1987).

SECCION V CONCLUSIONES

En el presente estudio se resaltan las especies de hongos degradadores de lignina que se encontraron en lesiones artificiales y causadas por el aprovechamiento, así como en tocones de bibosi, en la concesión forestal La Chonta, situada en el oriente de Bolivia. Se determinó que seis de cada diez individuos con lesiones artificiales habían sido atacados por hongos degradadores de lignina, durante un período de 38 días después de producirse éstas. Esta conclusión tiene implicaciones serias para las prácticas forestales. Un estudio efectuado por Jackson *et al.* (2000), indica que por cada árbol extraído por pista de arrastre, otros 24.1 árboles fueron dañados. Si el nivel de ataque por hongos degradadores de lignina se asemeja al del presente estudio (6 de cada 10), entonces la salud del bosque residual, después del aprovechamiento, estaría gravemente amenazada. La invasión micótica de las lesiones reduce la cantidad de madera apta para el procesamiento maderable. La mayoría de las lesiones, y el consiguiente ataque micótico, se producen en la parte inferior de los fustes, que es donde se origina gran parte de la madera procesada, por lo que, si las lesiones son muy extensas, éstas inutilizarían los árboles para el aprovechamiento. Aún más grave, es el hecho que las lesiones y el ataque de hongos pueden causar la muerte de los árboles.

Los resultados de las lesiones artificiales causadas durante el presente estudio fueron de corto plazo, pero éstos coinciden con la investigación de lesiones antiguas, causadas por el aprovechamiento, en la que se evidenciaron niveles semejantes de ataque de hongos degradadores de lignina (2 de cada 5). Los bibosis jóvenes puedan albergar, también, hongos que se activarían al entrar en contacto con el oxígeno. No obstante, en el presente estudio no se detectaron especies degradadoras de lignina y un 50% de las muestras mostró crecimiento de hongos, algunos de los cuales podrían ser nocivos.

En general, los efectos de la invasión micótica de las lesiones son potencialmente graves, habiéndose resaltado en el presente estudio algunas de las especies nocivas involucradas. Estas conclusiones, junto con los datos de Jackson *et al.* (2000), señalan los posibles efectos de las prácticas vigentes de aprovechamiento y tienen implicaciones para la productividad del bosque remanente.

SECCION VI
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Alfieri, S.A. Jr. & Samuels, G.J. 1979. *Nectriella pironii* and its Kutilakesa-like anamorph, a parasite of ornamental shrubs. *Mycologia* 71: 1178-1185.
- Basham, J.T. 1978. Early sugar maple stem discoloration and microorganism invasion in simulated wounds of felling and fire scars. *Phytopathology* 68: 1693-1699.
- Blanchette, R.A. 1992. Anatomical responses of xylem to injury and invasion by fungi. In, *Defence Mechanisms of Woody Plants against Fungi*. R.A. Blanchette & A.R. Biggs (Eds.). Springer-Verlag.
- Booth, C. 1971. The Genus *Fusarium*. Commonwealth Agricultural Bureaux.
- Feder, N. & O'Brien, T.P.O. 1968. Plant Microtechnique: some principles and new methods. *American Journal of Botany*. 55(1): 123-142.
- Fredericksen, T.S., Justiniano, M.J., Rumiz, D., McDonald, E. y Aguape R. 1998. Ecología de especies menos conocidas Bibosi Higuerón (*Ficus* spp.). Proyecto BOLFOR, Santa Cruz, Bolivia.
- Gold, M.H. 1988. Use of polymeric dyes in lignin biodegradation assays. *Methods in Enzymology*. 191: 74-78.
- Hammel, K.E. 1997. Fungal degradation of lignin. In, *Driven by Nature: Plant Litter Quality and Decomposition*. (Eds. G. cadisch & K.E. Giller). CAB International.
- Jackson, S.M., Fredericksen, T.S. & Malcom, J.R. 2000. Disturbance and damage to residual stand following selection logging in a Bolivian tropical forest. Technical Document. Proyecto BOLFOR, Santa Cruz, Bolivia.
- Gil, P.G. 1998. Plan general de manejo forestal, Empresa Agroindustrial La Chonta Ltda. No publicado.
- Mostacedo, B. & Fredericksen, T.S. 1999. Regeneration status of important tropical forest species in Bolivia: assessment and recommendations. *Forest Ecology and Management* 124: 263-273.
- Mostacedo, B., Fredericksen, T.S., Gould, K. & Toledo, M. 1999. Comparación de la respuesta de las comunidades vegetales a los incendios forestales en los bosques tropicales secos y húmedos de Bolivia. Documento Técnico No. 83. Proyecto BOLFOR, Santa Cruz, Bolivia.

- Pearce, R.B. 1984. Staining fungal hyphae in wood. *Transactions of the British Mycological Society*. 82(3): 564-565.
- Pinard, M.A., Putz, F.E. & Licona, J.C. 1999. Tree mortality and vine proliferation following wildfire in a subhumid tropical forest in eastern Bolivia. *Forest Ecology and Management*. 116: 247-252.
- Schoonenberg, T., Pinard, M.A. & Woodward, S. 1999. Responses to wounding in tree species characteristic of seasonally dry tropical forest of Bolivia. Technical Report, Proyecto BOLFOR, Santa Cruz, Bolivia.
- Sinclair, W.A., Lyon, H.H. & Johnson, W.T. 1987. *Diseases of Trees and Shrubs*. Cornell University Press.