

Cryphonectria parasitica (Murr) Barr EN LAS COMUNIDADES DE MICROHONGOS EPIFITOS DE LA CORTEZA DEL CASTAÑO (*Castanea sativa* Miller) EN EL NORTE DE ITALIA

Cryphonectria parasitica (Murr) Barr in the epiphytic microfungal communities of the chestnut bark (*Castanea sativa* Miller) in northern Italy

Anna Maria Picco*

Edoardo Piontelli, L. ** & Stefania Bottaso*

*Università degli Studi di Pavia, Facoltà di Scienze Mat. Fis. Nat. Istituti di Micologia Medica "R. Ciferri e P. Redaelli" Via S. Epifanio 14, 27100 Pavia, Italia.

**Universidad de Valparaíso, Escuela de Medicina, Cátedra de Micología, Casilla 92 V, Valparaíso, Chile

Palabras clave: Comunidades fúngicas, ecología, biodiversidad, cancro de la corteza del castaño, *Cryphonectria parasitica*

Key words : Fungal community, ecology, biodiversity, chestnut blight, *Cryphonectria parasitica*.

RESUMEN

Mediante la incubación en agar agua, de trozos de corteza del tronco de 7 grupos de castaños (*Castanea sativa* Miller), en una localidad del norte de Italia, se aislaron 780 cepas de microhongos filamentosos repartidos en 78 taxa. Se consideraron diferentes variables, tales como: presencia (C/C) o ausencia de cancro (S/C), tipos de corteza y edad de los árboles. Los mayores aislamientos fueron en la corteza del tronco y de la base de los árboles viejos (67%) y jóvenes (64,8%) C/C. La cantidad de patógenos potenciales fue levemente mayor en la corteza del tronco de los árboles C/C.

Las comunidades de *Deuteromycetes* fueron las más representativas y dentro de estas los *Hyphomycetes* dematiaceos, los más diversificados. Sólo el 10,5% del total de los taxa se presentaron en todas las combinaciones estudiadas: *Acremonium strictum*, *Alternaria alternata*, *Ceratocystis microspora*, *Cryphonectria parasitica*, *Penicillium* spp., *Sporidesmium rubi* y *Trichoderma* spp.

Cryphonectria parasitica, *Ceratocystis microspora* y *Ophiostoma stenoceras*, mantienen con *Cr. parasitica* una estrecha asociación ya sea en los árboles C/C como en los S/C, en todas las situaciones.

Las más altas diversidades (Shannon-Wieber) se observaron en árboles C/C y las mayores similitudes (Jaccard) entre los árboles S/C, en corteza tronco y entre esta y la corteza base.

SUMMARY

By incubating some pieces of bark from the trunk of 7 groups of chestnut trees in water agar, in a locality of northern Italy, 780 strains of filamentous microfungi spread in 78 taxa were isolated. Different variables such as: presence (C/C) or absence of blight (S/C), types of bark and age of trees were considered.

Highest isolations were found in the bark of the trunk and in the base of old (67%) and young (64,8%) C/C trees. The number of potential pathogenics was slightly higher in the bark of trunks from C/C trees. *Deuteromycetes* communities were the most representative and within the former *Dematiaceous Hyphomycetes* showed greater diversity. Only 10,5% of the total taxa were present in every combination examined: *Acremonium strictum*, *Alternaria alternata*, *Ceratocystis microspora*, *Cryphonectria parasitica*, *Penicillium* spp., *Sporidesmium rubi* and *Trichoderma* spp.

Cryphonectria parasitica, *Ceratocystis microspora* and *Ophiostoma stenoceras* keep a close relation with *Cr. parasitica*, both in C/C and S/C trees under every conditions.

Highest diversities (Shannon-Wieber) were observed in C/C trees, while the highest similarities (Jaccard) were found in S/C trees in the bark of the trunk and between the latter and the base bark.

INTRODUCCION

El castaño (*Castanea sativa* Miller), es un árbol ampliamente difundido en las áreas templadas septentrionales de Eurasia, América Nord-Oriental y las zonas templadas de Sud América. (Anagnostakis, 1990; Bassi, 1990; Gobbi & Locci, 1989). Su amplia distribución geográfica se debe principalmente a la acción del hombre, por sus características botánicas, ecológicas, paisajísticas y económicas.

Su cultivo en Italia, como en otros países europeos, ha disminuido notablemente, debido al uso industrial indiscriminado de su madera, al abandono de sus frutos como fuente de alimento fundamental, a la disminución de mano de obra en los campos por la migración campesina al área industrial. Pero principalmente por diversas enfermedades producidas por hongos, ya sea en sus raíces, troncos y hojas (Anagnostakis, 1987; Cobos, 1989), o el ataque de Lepidópteros y Coleópteros (Mansilla, 1984).

Los graves daños causados en USA y Europa por el cancro de su corteza por *Cryphonectria parasitica* (= *Endothia parasitica* Murr.), han diezmando sus poblaciones hasta casi el exterminio (Hepting 1974).

En Italia fue detectado en 1938 en la Liguria, cerca de Genova, extendiéndose rápidamente a toda la península (Biraghi, 1950; Goidanich 1960; Anagnostakis, 1987; Turchetti et al. 1991, 1992,) y a otros países de la comunidad europea (Conedera, 1991; Muñoz & Cobos, 1991; Gobbi & Locci, 1989). En la actualidad debido a los daños, se ha volcado el interés científico hacia su control biológico mediante especies hipovirulentas de este hongo u otros microorganismos (Rus-sin & Shain, 1984; Anagnostakis, 1987; Turchetti & Maresi, 1991; Wilhelm, 1992; Minervini & Bisiach, 1994).

La presencia, biomasa, distribución y los posibles efectos antagónicos de algunos microhongos patógenos o saprotrofos en ambientes definidos, pueden modificar el equilibrio de un particular habitat, repercutiendo en la biodiversidad total de la comunidad presente (Wells & Paine, 1975; Russin & Shain, 1984; Sung & Han, 1986; Baird, 1991; Minervini & Bisiach, 1994; Behrend et al. 1994).

Son pocos los estudios efectuados en diversos países y en Italia, para conocer los hongos que viven asociados a las especies de *Castanea*, que aporten datos epidemiológicos, diversidad de especies, distribución, frecuencia de patrones de colonización, posibles interacciones o asociaciones y la producción de metabolitos tóxicos (Sung & Han, 1986; Turchetti, 1986; Cobos 1989; Baird, 1991; Minervini & Bisaghi, 1994; Bisseger & Sieber, 1994).

El objetivo de nuestro trabajo consistió en: estudiar la presencia de las comunidades de microhongos filamentosos epífitos (saprotrofos, parásitos y oportunistas), asociados a

Cryphonectria parasitica, en la corteza del castaño (tronco y base), en un período estacional cálido, según grupos etáreo y presencia de cancro.

MATERIALES Y METODOS

Esta investigación se efectuó en la localidad de Giovo Ligure (Provincia de Savona) entre mayo y octubre 1993, considerando como un todo un área de 7 zonas distantes pocos kilómetros entre sí, con castaños de diferentes edades. Los terrenos tenían altitudes s.n.m., que oscilaban entre 490 a 550 m y una pluviosidad anual cercana a los 1000 mm.

1) Características y ubicación de las zonas.

A cada zona muestreada se le asignó una letra, de la A a la F. La zona A, E1, E2 y F (**Grupo 1**) estaba integrada por castaños cuyas edades fluctuaban entre los 15 a 30 años, mientras las zonas B, C y D (**Grupo 2**) por castaños entre 60 a 80 años.

a) En el Grupo 1, las localidades geográficas fueron:

A (Colle di Giovo), con una tipología boscosa constituida primariamente por *Castanea sativa*, con presencia esporádica de *Robinia pseudoacacia* L. y *Quercus pubescens* Will. Terreno de elevada pendiente, recubierto por gramíneas diversas

E1 (La Barchina, sur-oeste), tipología boscosa constituida por *Castanea sativa* al estado silvestre. Terreno con alta pendiente, fuertemente recubierto de gramíneas y arbustos no infestantes.

E2 (La Barchina, oeste), tipología boscosa y terrenos idénticos a E1.

F (Cercanías del río Magliadlunga), tipología boscosa mixta constituida por *Castanea sativa* y helechos. Terreno con pendiente media, recubierto por gramíneas diversas y arbustos no infestantes.

b) En el Grupo 2, las localidades geográficas fueron:

B (Colle il Giardino), tipología boscosa constituida solamente por *Castanea sativa* (probablemente representa residuos de un viejo bosque de castaños productivos). Terreno prácticamente plano, muy limpio, recubierto de pastizales que se cortan periódicamente por sus dueños, para forraje animal.

C (Rezeché), tipología boscosa dispersa constituida por *Castanea sativa* de diferentes edades. Terreno con pendiente intermedia, muy limpio y con similares mantenimientos al igual que B.

D (Bricco Mondo), tipología boscosa constituida por un pequeño grupo de viejos castaños (*C. sativa*). Terreno con pendiente intermedia, muy limpio al igual que B y C.

2) Técnicas de muestreo.

Se efectuaron 2 muestreos en cada grupo, en un período comprendido entre primavera y finales de verano, siendo el lapso entre el primer y segundo de 3 meses. Cada muestreo abarcó un período de 1 mes y se efectuó considerando las características siguientes:

- a) presencia de canchales visibles en la corteza del tronco
- b) presencia de corteza aparentemente sana del tronco
- c) corteza del tronco a una altura entre 1 a 2,5 m
- d) corteza del tronco en la zona del cuello entre 10 a 50 cm del nivel del suelo (Corteza base).

En cada una de las 7 zonas geográficas se seleccionaron 8 castaños (4 con cancro visible y 4 aparentemente sanos), disponiendo el muestreo en cada uno de los árboles seleccionados de la siguiente manera:

- Extracción de 3 trozos de corteza del tronco de unos 4-7 x 2-4 cm. app y 3 trozos de la corteza en la zona de la base, desde 4 árboles con cancro visibles del Grupo 1 (por 4 zonas) y Grupo 2 (por 3 zonas).

- Extracción de 3 trozos de la corteza del tronco y 3 de la base desde 4 árboles aparentemente sanos del Grupo 1 y 2.

Los 3 trozos de cada muestra seleccionada según las variables se consideraba como un solo pool.

Los árboles seleccionados para el muestreo se marcaron con pintura blanca para poder reconocerlos para el segundo muestreo. El primer muestreo general (así como el segundo) arrojó un total de 32 pool de muestras en la corteza del tronco (16 con cancro y 16 sin cancro) y 32 en la corteza de la zona de la base en el Grupo 1. En el Grupo 2, 24 en la corteza del tronco (12 con cancro y 12 sin cancro) y 24 en la corteza base. Total 112 pool de muestras.

La corteza se cortó con una herramienta metálica con filo (que se esterilizó a la llama de un pequeño mechero portátil a gas) y los pool de cada variable se guardaron en bolsitas de plástico estériles que se refrigeraron (-2°C) hasta su procesamiento (no superior a las 48 horas).

De este modo, para el estudio de los microhongos identificamos los 6 siguientes sustratos:

Árboles jóvenes (J), Viejos (V), Sin Cancro (S/C), Con Cancro (C/C), Corteza Base (C/B) y Corteza Tronco (C/T).

Metodología de cultivo

Para que los hongos presentes pudieran desarrollarse solo en su sustrato natural, empleamos la técnica de la cámara húmeda en placas de Petri de 15 cm, con agar agua (15 gr. de agar en 1000 ml de agua). Cada pool de muestras de corteza, fue depositado sobre la superficie del agar (3 trozos por placa, lo que representaba 1 sola muestra). Las placas se incubaron a 25 °C durante los primeros 15 días y luego a temperatura ambiente hasta completar los 60 días (la temperatura media del

laboratorio osciló entre los 19 a 27°C).

El crecimiento de estructuras, cuerpos fructíferos o colonias fúngicas, se controló mediante lupa estereoscópica a partir de los 2 días iniciales de incubación (para comprobar la presencia de cuerpos fructíferos maduros, desde el inicio del muestreo) y luego cada 10 días.

A pesar que la esporulación de la mayoría de los hongos que se desarrollaron sobre la corteza fue óptima y permitía una buena observación a la lupa estereoscópica, cuando fueron necesarios estudios complementarios, se efectuaron subcultivos en Agar Papa Dextrosa y Agar Malta.

Las mediciones de las estructuras fúngicas se hicieron mediante preparaciones entre lámina y laminilla, utilizando como medio de montaje agua destilada, lactofenol solo o lactofenol con azul de algodón.

La presencia de una determinada especie o género en los 3 trozos de corteza de cada pool, se contabilizó una sola vez, aunque sus integrantes se presentaran repetidamente en la misma muestra.

No se consideró el tiempo de aparición de los hongos en la cámara húmeda (en los 60 días de observación) ni la diferencia estacional entre los muestreos. De esta manera los resultados de los 2 registros se sumaron en un solo total.

Se analizaron las comunidades de microhongos mediante el índice de diversidad de Shannon-Wieher en cada uno de los sustratos estudiados y el de similitud de Jaccard entre los sustratos.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos permiten evidenciar la presencia de varios tipos de patrones de colonización fúngica de la corteza del castaño en los sustratos estudiados. En la investigación se detectaron un total de 780 microhongos epífitos repartidos en 78 taxa. Los mayores aislamientos se produjeron en la corteza del tronco y de la base de los árboles jóvenes (64,8% del total) y viejos (67,5%) C/C, mientras los menores en los S/C (J y V) (Gráfico 1). Semejante comportamiento se observó en la distribución de los géneros (Gráfico 2), sin embargo en la C/B, esas diferencias de taxa fúngicos fueron menores en C/T que en C/B. El 56,3% correspondió a C/B y el resto de la C/T.

La distribución de géneros y especies consideradas patógenas u oportunistas en comparación con las saprotrofes, fue levemente mayor en la C/T en los árboles C/C (48.4 y 46.5% del total) (Gráfico 3).

Al comparar el 100% del comportamiento de las 4 principales especies de patógenos u oportunistas (levemente superiores o inferiores al 25 % del total de la micota aislada) en los 6 sustratos considerados, pudo apreciarse que el pool, *Cryphonectria parasitica* y *Ceratocistis-Ophiostoma*, mantienen una estrecha asociación ya sea en los árboles C/C como

Tabla 1. Microhongos epífitos aislados en corteza-tronco según edad y presencia de cancro

Taxa aislados	GRUPO 1 (Arboles jóvenes)				GRUPO 2 (Arboles viejos)			
Nº de aislamientos	C/canc.	%	S/canc.	%	C/canc.	%	S/canc.	%
<i>Acremonium strictum</i> W. Gams	16	9,9	13	13,7	12	9,1	8	15,3
<i>Acrospeira mirabilis</i> (Muri) And.	-	-	-	-	-	-	1	1,9
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.	10	6,2	11	11,5	12	9,1	10	19,2
<i>Anavigra laxa</i> Sutton	2	1,2	1	1,0	1	0,7	-	-
<i>Aspergillus flavus</i> Link ex Gray	-	-	-	-	2	1,5	-	-
<i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary)Arnaud	-	-	-	-	2	1,5	-	-
<i>Botrytis cinerea</i> Pers. ex Nocca & Balbis	2	1,2	-	-	1	0,7	-	-
<i>Ceratocystis microspora</i> (Davids)Davids	16	9,9	3	3,1	11	8,4	2	3,8
<i>Ceratocystis brunneo-ciliatum</i> (Math.K) Hunt	-	-	-	-	1	0,7	-	-
<i>Ceratosporella stipitata</i> (Goidan.) Hughes	1	0,6	2	2,1	4	3,0	-	-
<i>Chalara unicolor</i> Hughes	4	2,5	2	2,1	4	3,0	1	1,9
<i>Chloridium clavaeforme</i> (Pr.)W.Gams &Hol.-Jech.	7	4,3	1	1,0	-	-	-	-
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres)de Vri.	3	1,8	2	2,1	3	2,3	-	-
<i>Chrysosporium</i> sp.	-	-	-	-	-	-	1	1,9
<i>Coryneum modonium</i> (Tul.) Griff. & Maubl.	2	1,2	9	9,5	1	0,7	-	-
<i>Cryptosporiopsis quercina</i> Petrak	-	-	1	1,0	-	-	-	-
<i>Cryphonectria parasitica</i> (Murr.) Barr	16	9,9	4	4,2	12	11,4	5	9,6
<i>Cylindrocarpon</i> sp.	-	-	1	1,0	-	-	-	-
<i>Dactylaria purpurella</i> (Sacc.) Sacc.	2	1,2	1	1,0	-	-	-	-
<i>Diatrypella quercina</i> (Persoon) Cooke	1	0,6	-	-	-	-	-	-
<i>Dictyochaeta</i> sp.	1	0,6	1	1,0	-	-	-	-
<i>Diplococcium spicatum</i> Grove	2	1,2	-	-	3	2,3	-	-
<i>Exochalara longissima</i> (Grove) W. Gams & Hol.-Jech.	-	-	1	1,0	2	1,5	-	-
<i>Epicoccum purpurascens</i> Link ex Schlecht	2	1,2	6	6,3	-	-	-	-
<i>Fusarium moniliforme</i> Link ex Fr.	6	3,7	1	1,0	-	-	-	-
<i>Gliocladium roseum</i> Bainier	2	1,2	1	1,0	2	1,5	-	-
<i>Graphium penicillioides</i> complex Corda	-	-	-	-	2	1,5	-	-
<i>Heteroconium tetracoilum</i> (Corda)M.B.Ellis	2	1,2	2	2,1	1	0,7	-	-
<i>Monodictys castaneae</i> (Wallr.)Hughe	3	1,8	1	1,0	-	-	-	-
<i>Mortierella isabellina</i> Oudem.	2	1,2	-	-	3	2,3	2	3,8
<i>Nectria cinnabarina</i> (Tode ex Fr.) Fr.	1	0,6	-	-	-	-	-	-
<i>Nigrospora sphaerica</i> (Sacc.) Mason	2	1,2	1	1,0	-	-	-	-
<i>Oidiodendron griseum</i> Robak	2	1,2	-	-	4	3,0	2	3,8
<i>Ophiostoma stenoceras</i> (Robak)Melin & Nann.	3	1,8	-	-	4	3,0	-	-
<i>Paecilomyces farinosus</i> Bainier	-	-	-	-	2	1,5	-	-
<i>Penicillium</i> spp.	16	9,9	16	16,8	12	11,4	8	15,3
<i>Periconia macrospinoso</i> Lefebvre & A.G.Johnson	1	0,6	-	-	-	-	-	-
<i>Phialocephala fumosa</i> (Ellis & Ev.) Sutton	4	2,5	-	-	2	1,5	-	-
<i>Phoma</i> sp.	2	1,2	-	-	2	1,5	-	-
<i>Phomopsis</i> sp.	-	-	1	1,0	-	-	-	-
<i>Polyscytatum fecundissimum</i> Riess	-	-	-	-	3	2,3	1	1,9
<i>Pseudopeziza</i> sp.	-	-	-	-	1	0,7	-	-
<i>Ramichloridium schulzeri</i> (Sacc.) de Hoog	4	2,5	1	1,0	-	-	-	-
<i>Rhinocladiella atrovirens</i> Nannf.	2	1,2	-	-	-	-	-	-
<i>Sclerotinia</i> sp.	-	-	-	-	1	0,7	-	-
<i>Sphaeropsis sapinea</i> (Fr.) Dyko & Sutton	-	-	-	-	2	1,5	-	-
<i>Sporidesmium rubi</i> Ellis	3	1,8	7	7,4	4	3,0	2	3,8
<i>Sporidesmium folliculatum</i> (Corda)Mas.&Hugh.	1	0,6	-	-	-	-	-	-
<i>Stagonospora</i> sp.	-	-	-	-	2	1,5	1	1,9
<i>Torula herbarum</i> (Pers.) Link ex Gray	-	-	-	-	2	1,5	2	3,8
<i>Trichoderma</i> spp.	13	8,1	3	3,1	8	6,1	6	12,5
<i>Valsa ceratophora</i> Tul. & C. Tul.	1	0,6	-	-	-	-	-	-
<i>Verticillium</i> sp.	2	1,2	2	2,1	3	2,3	-	-
TOTALES n=	161		95		131		52	

Tabla 2. Microhongos epífitos aislados en corteza-base según edad y presencia de cancro

Taxa aislados	GRUPO 1 (Arboles jóvenes)				GRUPO 2 (Arboles viejos)			
N° de aislamientos	C/canc.	%	S/canc.	%	C/canc.	%	S/canc.	%
<i>Acremonium strictum</i> W. Gams	9	8,0	12	12,2	7	8,6	7	14
<i>Acrodontium anam. Ascocorticium anomalum</i> (Ellis & Harkn.) Earle	-	-	1	1,0	-	-	-	-
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.	1	0,8	1	1,0	1	1,2	1	2,0
<i>Anthostomella fuegiana</i> Sacc.	1	0,8	2	2,0	-	-	-	-
<i>Botrytis cinerea</i> Pers. ex Nocca & Balbis	-	-	-	-	1	1,2	-	-
<i>Calonectrias</i> sp.	-	-	1	1,0	-	-	-	-
<i>Ceratocystis microspora</i> (Davids) Davids	4	3,6	3	3,0	3	3,7	1	2,0
<i>Ceratocystis brunneo-ciliatum</i> (Math.K.) Hunt	-	-	1	1,0	-	-	-	-
<i>Ceratosporella stipitata</i> (Goidan.) Hughes	-	-	-	-	-	-	1	2,0
<i>Chalara unicolor</i> Hughes	5	4,5	8	8,2	6	7,4	3	6,0
<i>Chloridium clavaeforme</i> (Pre.) W.Gams & Hol.-Jech	6	5,3	5	5,1	7	8,6	3	6,0
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres.) de Vri..	1	0,8	2	2,0	-	-	1	2,
<i>Codinea britannica</i> M.B.Ellis	2	1,9	1	1,0	-	-	-	-
<i>Coniella castaenicola</i> (Ellis & Ev.) Sutton	1	0,8	-	-	1	1,2	-	-
<i>Corniculariella spina</i> (Berk. & Rav.) di Cosmo	-	-	1	1,0	-	-	-	-
<i>Cryphonectria parasitica</i> (Murr.) Barr	7	6,2	2	2,0	9	11,1	2	4,0
<i>Cryptosporiopsis quercina</i> Petrak	1	0,8	-	-	-	-	-	-
<i>Dactylaria purpurella</i> (Sacc.) Sacc.	3	2,7	2	2,0	1	1,2	3	3,0
<i>Dactylella bembicodes</i> Drechsler	4	3,6	3	3,0	1	1,2	-	-
<i>Dinemasporium strigosum</i> (Pers ex Fr) Sacc.	-	-	1	1,0	-	-	-	-
<i>Diplococcium spicatum</i> Grove	3	2,7	2	2,0	2	2,5	1	2,0
<i>Diplococcium ana. Helminth. clav.</i> (Tul.) Fuck.	1	0,8	1	1,0	-	-	-	-
<i>Endophragma hialosperma</i> (Cor) M.Jones-&Cole	-	-	1	1,0	-	-	-	-
<i>Fusarium moniliforme</i> Link ex Fr.	2	1,9	-	-	-	-	-	-
<i>Gladiolium roseum</i> Bainier	1	0,8	-	-	-	-	1	2,0
<i>Gonytrichum caesium</i> C.G & F. Nees var. <i>caesium</i>	-	-	-	-	2	2,5	-	-
<i>Heteroconium tetracoilum</i> (Corda) M.B.Ellis	-	-	-	-	1	1,2	-	-
<i>Hypoxylon mediterraneum</i> (DeNot.) Ces & DNot	1	0,8	-	-	-	-	-	-
<i>Libertella faginea</i> Des.	1	0,8	-	-	-	-	-	-
<i>Memmoniella echinata</i> (Riv.) Galloway	-	-	-	-	-	-	1	2,0
<i>Monodictys castaneae</i> (Wallr.) Hughes	3	2,7	3	3,0	1	1,2	-	-
<i>Mortierella isabellina</i> Oudem	6	5,3	7	7,1	4	4,9	3	6,0
<i>Mortierella ramanniana</i> (Möller) Linn. var. <i>raman.</i>	1	0,8	-	-	1	1,2	-	-
<i>Oidiodendron griseum</i> Robak	5	4,5	6	6,1	3	3,7	4	8,0
<i>Oncopodiella trigoniella</i> (Sacc.) Rifai	-	-	1	1,0	-	-	-	-
<i>Ophiostoma stenoceras</i> (Rob.) Melin & Nann.	2	1,9	-	-	1	1,2	1	2,0
<i>Paecilomyces farinosus</i> Bainier	1	0,8	1	1,0	2	2,5	1	2,0
<i>Penicillium spp.</i>	11	9,8	9	9,2	8	9,9	5	10,0
<i>Phialocephala fumosa</i> (Ellis & Ev.) Sutton	5	4,5	4	4,0	3	3,7	1	2,0
<i>Pilidium acerinum</i> Kunze apud Kun. & Schm.	2	1,9	-	-	2	2,5	-	-
<i>Phomasp.</i>	-	-	-	-	-	-	1	2,0
<i>Polyscytatum fecundissimum</i> Riess	3	2,7	4	4,0	-	-	2	4,0
<i>Pseudodiplodia lignaria</i> (Karst.) Sacc.	1	0,8	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudogymnoascus roseus</i> Raillo	-	-	-	-	-	-	1	2,0
<i>Ramichloridium schulzeri</i> (Sacc.) de Hoog	-	-	2	2,0	-	-	-	-
<i>Rhinocladia atrovirens</i> Nannf.	3	2,7	1	1,0	-	-	-	-
<i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrembe Link) Lind	1	0,8	1	1,0	-	-	-	-
<i>Septonemasecedens</i> Corda	-	-	1	1,0	-	-	-	-
<i>Sphaeropsis sapinea</i> (Fr.) Dyko & Sutton	-	-	-	-	2	2,5	-	-
<i>Sporidesmium rubi</i> Ellis	4	3,6	2	2,0	3	3,7	3	6,0
<i>Taenionella stilbospora</i> (Corda) Hughes	-	-	-	-	2	2,5	-	-
<i>Trichoderma spp.</i>	4	3,6	3	3,0	6	7,4	1	2,0
<i>Verticillium spp.</i>	2	1,9	2	2,0	1	1,2	2	4,0
<i>Verticillium tenuissimum</i> Corda	4	3,6	-	-	-	-	-	-
<i>Verticillium psallotiae</i> Treschow	-	-	1	1,0	-	-	-	-
TOTALES n =	112		98		81		50	

GRAFICO 1. AISLAMIENTOS DE MICROHONGOS EPIFITOS SEGUN TIPO DE CORTEZA, EDAD Y PRESENCIA DE CANCRO.

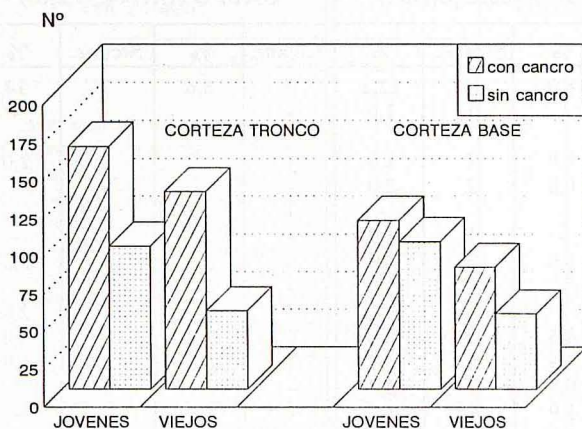


GRAFICO 2. TAXA DE MICROHONGOS EPIFITOS SEGUN TIPO DE CORTEZA, EDAD Y PRESENCIA DE CANCRO.

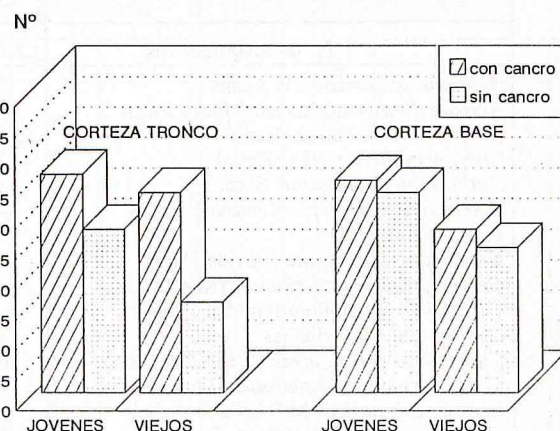


GRAFICO 3. MICROHONGOS EPIFITOS, PATOGENOS U OPORTUNISTAS SEGUN TIPO DE CORTEZA, EDAD Y PRESENCIA DE CANCRO.

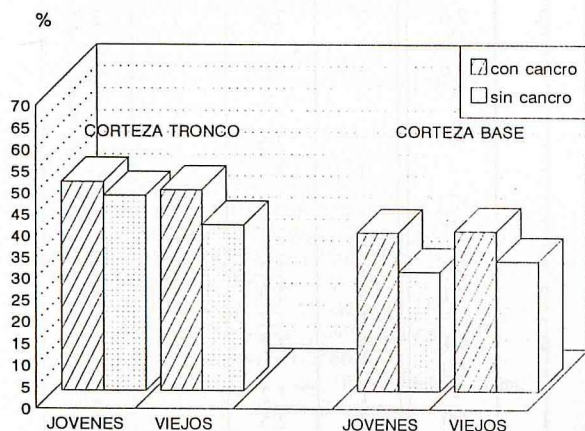
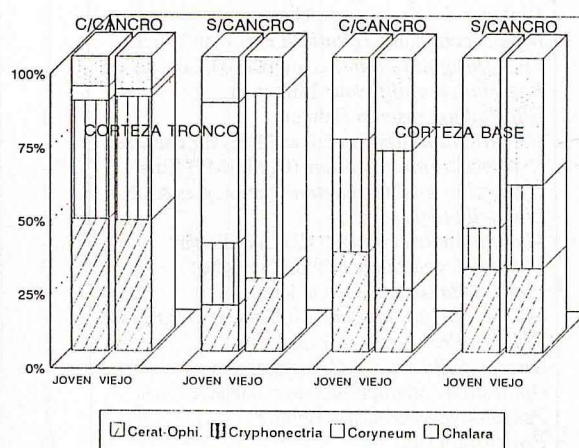


GRAFICO 4. PRINCIPALES MICROHONGOS PATOGENOS U OPORTUNISTAS SEGUN TIPO DE CORTEZA, EDAD Y PRESENCIA DE CANCRO.



en los S/C, en todas las situaciones. En la condición donde mejor se presenta este pool, es en C/T con cancro ya sea en árboles jóvenes o viejos. En los restantes, algunas de ellas o ambas, son disminuidas en sus proporciones por la presencia de *Coryneum modonium* o *Chalara unicolor*. Mientras la colonización de *C. unicolor* aumenta en la C/B, en especial en los árboles S/C (Gráfico 4).

Sólo 8 (10,5%) del total de los 78 taxa detectados, se presentaron en todas las combinaciones de sustratos estudiados, estos fueron: *Acremonium strictum*, *Alternaria alternata*, *Ceratocystis microspora*, *Cryphonectria parasitica*, *Penicillium spp.*, *Sporidesmium rubi* y *Trichoderma spp.* (Tabla 1 y 2).

Las más altas diversidades (Shannon-Wieber), se observaron en árboles con cancro (sobre 2,9). La diversidad es siempre mayor en los árboles jóvenes que en los viejos y es más variable en C/B (de 2.10 a 3.3) que en C/T (de 2.4 a 3) (Gráfico 5). Las similitudes de Jaccard más altas, se observaron entre árboles jóvenes con y sin cancro y entre J y V (C/C), que son precisamente los que presentaron las mayores diversidades. Las mayores similitudes se observan entre los árboles sin cancro en C/T y entre C/T y C/B (Gráfico 5.)

a) Especies en la corteza tronco.

Los taxa principales predominantes ya sea en los grupos de árboles Jo V (C/C) fueron: *Acremonium strictum*,

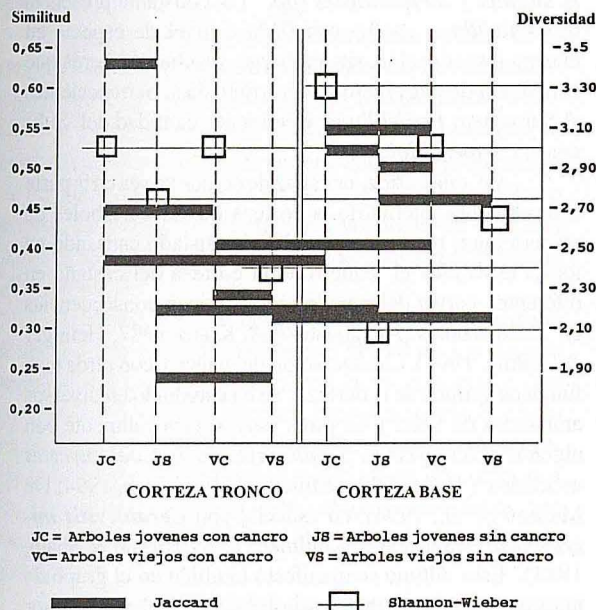
Alternaria alternata, *Ceratocystis microspora*, *Cryphonectria parasitica*, *Penicillium spp.* y *Trichoderma spp.* con bastante similitud en presencia y porcentajes (53,9 a 55,5 % de ocurrencia del total de la micota presente). En los árboles S/C, hubo diferencias en porcentajes y en presencia, en los jóvenes: *A. strictum*, *A. alternata*, *Coryneum modonium*, *Epicoccum purpurascens*, *Penicillium spp.* y *Sporidesmium rubi* (65,2% del total de la micota), mientras en los viejos, fueron predominantes: *A. strictum*, *A. alternata*, *Cr. parasitica*, *Penicillium spp.* y *Trichoderma spp.* representando el 71,9% del total (Tabla 1).

b) Especies en la corteza base.

Los principales taxa predominantes en los árboles J (C/C) fueron: *A. strictum*, *Chalara unicolor*, *Chloridium clavaeforme*, *Cr. parasitica*, *Penicillium spp.* (con un 40,1% del total), mientras en los V: *A. strictum*, *C. unicolor*, *C. clavaeforme*, *Cr. parasitica*, *Penicillium spp.* y *Trichoderma spp.* con un 53% del total de la micota. En los J (S/C): *A. strictum*, *Ch. unicolor*, *Ch. clavaeforme*, *Mortierella isabellina*, *Oidiodendron griseum* y *Penicillium spp.* con un 47,9% del total, mientras en los V (S/C) se detectaron las mismas especies además de *Sporidesmium rubi* con un 44% del total de la micota (Tabla 2).

Gráfico 5.

Similitud de Jaccard y Diversidad de Shannon -
Wieber según grupos y categorías



DISCUSION

Nuestros resultados han permitido obtener un cuadro general de un grupo de especies, capaces de crecer sobre la corteza del tronco y el cuello del castaño, ante la presencia o ausencia de cancro, en un grupo etéreo de una región del norte de Italia. Estos microhongos a pesar de no ser en su totalidad de un notable interés fitopatológico, lo son bajo el aspecto de la biodiversidad fúngica, ya sea por la escasa distribución de algunos en este biotopo, o a la particular asociación que otros representan con la corteza de *Castanea sativa* en diversas localidades geográficas (Bassi, 1990; Ellis & Ellis, 1985; Cobos, 1989; Anagnostakis, 1990; Baird, 1991; Conedera, 1991).

A pesar que en los tejidos de la corteza de los árboles vivos, puede existir una gran variedad de organismos, los hongos son siempre mayoritarios y en especial los *Duteromycetes* (Cotter & Blanchard, 1982; Baird, 1991). En nuestro estudio, la mayor parte pertenecieron a este grupo y dentro de éstos, los dematiaceos presentaron gran diversificación. En menor número, varios representantes de los *Ascomycota* también se asociaron a la corteza y solo 2 especies del género *Mortierella* y una del género *Rhizopus*, fueron los representantes de los *Zycomycetes*.

La mayor cantidad de aislamientos correspondió siempre en todos los tipos de sustrato, a los árboles más jóvenes (C/C), lo cual puede atribuirse al estrés y debilitamiento causado por *Cr. parasitica*, mientras en la C/B de los árboles viejos S/C, la mayor diversidad de especie, puede relacionarse en parte a las influencias de la microbiota del suelo y de la hojarasca circundante, situación que se aprecia por el aumento de ciertas especies pertenecientes a los géneros *Mortierella*, *Chalara*, *Chloridium*, *Phialocephala*, entre otras.

La presencia fúngica en ambos tipos de corteza, no solo puede relacionarse a este particular sustrato, sino a la presencia de: tejidos necróticos (abundantes en los castaños C/C), aptos para la colonización de patógenos necrotróficos, la influencia de factores climáticos-ambientales (dispersión anemófila, el contenido de humedad, pH, temperatura, etc.), la presencia de exudados, microorganismos e insectos rastreros y volátiles. El contenido de humedad afecta significativamente la colonización fúngica, en especial se observa mayor abundancia con contenidos más bajos de agua que en los más altos, situación que permite considerar el mejor método de prevención para la invasión de la madera por hongos patógenos o degradadores (Rayner & Boddy, 1986; Chapela & Boddy, 1988). Esta situación también fue observada en los hongos endófitos de *Castanea sativa* por Bissegger & Sieber (1994).

Los insectos (Coleópteros y Acaros principalmente), son habitantes comunes o de paso, capaces de trans-

portar propágulos fúngicos a distancia y por ende, reúnen características de vectores asociados a la transmisión de enfermedades fúngicas del castaño (Turchetti & Chelazzi, 1984; Russin et al., 1984; Nanelli & Turchetti, 1989).

La abundancia de insectos, sus restos y sus excretas, aportan constantemente nuevos sustratos frescos ricos en proteínas, aptos para el desarrollo de una micobiota particular mayoritariamente saprotrófica, que muestra sin duda, dos características principales: elevada selectividad específica por el tejido o elevada adaptación inespecífica por los sustratos heterogéneos asociados a la corteza. Ambas situaciones, parecen facilitar no solo el desarrollo de una comunidad típica del castaño, como *Monodictys castaneae*, *Ceratocystis microspora*, *Cryphonectria parasitica*, *Coryneum modonium*, *Valsa ceratophora*, u otras, sino de otras consideradas específicas de los involucros (erizos), frutos y hojas de este árbol, como es el caso de *Acrospeira mirabilis*, *Anavigna laxa* (solo presente en C/T), *Chalara spp.* (en nuestro caso *Chalara unicolor*), *Codinea britannica*, *Pilidium acerinum*, *Polyscytatum fecundissimum*, *Phialocephala fumosa*, entre otros. Esta situación permite descartar en cierta medida que la corteza de cada árbol tiene una particular especificidad (Greenhalgh, 1969). Más bien parece indicar que parte de la comunidad epífita es inespecífica (entre un 30 a 40%), principalmente *Hyphomycetes* y algunos *Coelomycetes* y pueden ser capaces de colonizar indiferentemente el mismo sustrato u otro, en varias especies de árboles de madera dura, en zonas geográficas que reúnan condiciones climáticas semejantes, como lo afirman Cotter & Blanchard (1982) y Baird (1991).

Varios estudios confirman que la densidad de colonización de los epífitos en la corteza es mucho más alta que los endófitos capaces de infectar tejidos profundos o el xilema y que estos últimos producen su infección, después que han colonizado extensivamente la corteza (Boddy & Griffith, 1989; Petrini & Fisher, 1990).

A pesar que existen ciertas diferencias entre las comunidades de los árboles C/C y los S/C, esto sugiere que la mayoría, son habitantes de la corteza y su presencia no interfiere con la de determinados patógenos (Baird, 1991). Este último autor, en West Virginia (U.S.A.), encontró una comunidad de 35 géneros de microhongos sobre la corteza de *Castanea dentata*, previamente inoculada con *Cr. parasitica* (cepas hipovirulentas). El 60% de éstos (21 géneros), fueron aislados también en nuestra investigación. De los 25 taxa de *Asco-Deuteromycetes* aislados por Cobos (1989), en *Castanea sativa*, en España, el 60% fue igual a nuestros aislamientos y su revisión de la literatura internacional detectada sobre *Castanea*, contiene un 65% de los géneros de *Hyphomycetes* registrados en nuestro trabajo.

La dominancia de algunas especies, creciendo en

proximidad, puede representar un importante factor antagónico que puede interferir ya sea en: la estimulación trófica, las alteraciones morfogenéticas, la inhibición del crecimiento y el grado de patogénesis de algunos biotrofos u oportunistas fúngicos de árboles. La interacción hifal, es considerada importante en la determinación del patrón de colonización de los excrementos (Ikediugwu & Webster, 1970), como así la competencia (antagonismo) entre especies de *Trichoderma* y otros hongos (Nelson, 1982; Biles & Hill, 1988).

En nuestros aislamientos de *Trichoderma*, *T. viride*, fue la especie más común y llama la atención que todos los representantes del género fueron mayoritariamente aislados de los árboles C/C, en ambos sustratos. Esto podría indicar un escaso antagonismo con los epífitos dominantes o los endófitos presentes en los castaños estudiados, como: *Cr. parasitica* (y *Endothiella parasitica* su anamorfo, observada varía veces junto a su teleomorfo), *Coniella castaneicola*, *Coryneum modonium*, *Phomopsis sp.* Estas mismas especies y otras fueron también detectadas por Bissegger & Sieber, (1994) en el sur y norte de los Alpes suizos.

De Martino et al. (1994), estudiaron el antagonismo de algunos endófitos del castaño, pudiendo observar un cierto grado de actividad inhibitoria de *Coryneum modonium* hacia *Cr. parasitica*, mientras Minervini & Bisiach (1994), en una localidad geográficamente cercana a nuestra zona de muestreo, encontraron actividad inhibitoria in vitro de algunos epífitos comunes de la corteza hacia *Cr. parasitica*, como: *Penicillium expansum* *P. janczewskii*, *Chaetomium globosum*, *Bacillus polymyxa*, *B. subtilis* y *Streptomyces spp.* La constante presencia de *Penicillium*, no fue estudiada a nivel de especie en nuestra investigación, sin embargo resulta de interés que la mayoría de ellas fueron terverticiladas, pertenecientes al Subgénero *Penicillium* y en menor cantidad del Subgénero *Aspergilloides*.

Cr. parasitica, es capaz de crecer ya sea en la parte externa como interna de la corteza de varios árboles de madera dura, pero en especial se ha aislado causando en forma específica el cancro de la corteza del castaño en diferentes partes del mundo, con trágicas consecuencias en estos árboles (Anagnostakis & Kranz 1987; Heiniger & Rigling, 1994). La asociación del cancro con otros taxa fúngicos epífitos de la corteza, se ha estudiado en diversos ambientes de Italia y en otros países, especialmente con algunos *Ascomycetes*, *Hyphomycetes* y *Coelomycetes* asociados (Baird, 1991; Minervini & Bisiach, 1994; De Martino et al., 1994), en especial con *Ceratocystis microspora* (Davidson & Kuhlman, 1978; Russin & Shain, 1984). Esto último se manifestó también en el grupo de nuestros castaños, en los árboles C/C y S/C y en menor porcentaje también asociada a otra especie relacionada,

como *Ophiostoma stenocerans* (= *C. eucastaneae*, fide Upadhyay, 1981) y su anamorfo morfológicamente similar a *Sporothrix schenckii* (*S. pallida* o *S. nivea*, De Hoog, 1993, Fig 24). Según Russin & Shain (1984), *C. microspora* se establece anteriormente a *Cr. parasitica* en el cancro del castaño y es estimulada en su crecimiento por los metabolitos de esta última, situación que observamos en la corteza in vitro, como un constante incremento de los peritecios de *C. microspora* y *O. stenocerans* en el tiempo.

Es necesario también destacar que sobre *Cr. parasitica* se desarrolló y asoció frecuentemente *Acremonium strictum*, un taxa común del suelo y otros habitat y no es raro observarlo sobre royas y oidios. Una situación similar pudo detectarse entre *C. microspora* y la constante colonización de sus cuellos por *Phialocephala fumosa*.

En Italia, la aparición de cepas hipovirulentas naturales de *Cr. parasitica*, capaces de transferir por anastomosis de sus hifas, partículas virales de ARN de doble cadena a las cepas hipervirulentas, para transformarlas en hipovirulentas, ha permitido un control biológico natural y la recuperación del castaño con poca intervención humana. Sin embargo, la inoculación de cepas europeas hipovirulentas en U.S.A., no terminaron con la enfermedad y el castaño americano (*Castanea dentata*) no ha llegado al estado adulto en las regiones donde *Cr. parasitica* es endémica, debido a un pool de genes que regulan la compatibilidad vegetativa de sus hifas (Anagnostakis, 1980, 1987). Esta hipovirulencia transmisible, asegura un modelo para el control de esta enfermedad y la movilidad de elementos citoplasmáticos en las poblaciones de *Hyphomycetes*.

Podemos concluir que la microbiota epífita de la corteza del castaño fluctúa en relación a factores ambientales, geográficos y nutricionales. Las características topográficas y la heterogeneidad de los sustratos presentes en diferentes partes de la corteza, puede aumentar la eficiencia de la colonización de ciertas especies residentes, epífitas o endófitas, permitiendo una mayor diversidad, en especial en los árboles C/C, quizás debido a la acción preparatoria de *Cr. parasitica*.

A pesar que no hemos estudiado su presencia estacional en el año, el crecimiento activo de los hongos detectados sobre este sustrato nos lleva a suponer que corresponden mayoritariamente a especies residentes de la corteza y estas últimas junto a las alóctonas, pueden prevenir la invasión de patógenos y ejercer en determinados momentos de sus ciclos de vida, efectos inhibitorios que merecen estudiarse como posibles agentes naturales de biocontrol.

La comunidad fúngica de ambos tipos de corteza parece estar compuesta por un pequeño grupo de especies dominantes, ya sea epífitas como endófitas, con ciertas diferencias en la composición de sus especies.

Como las mayores diversidades se observaron siempre en los árboles C/C en ambos tipos de sustratos, esto sugiere, que muchas especies frente a una respuesta disminuida del hospedador actuarían como oportunistas. Como no se determinó la alta actividad de laccasa de las cepas de *Cr. parasitica*, en los árboles C/C y S/C, sus fenotipos pueden ser normales, hipovirulentos o corresponder a estados de latencia (en los árboles S/C aparente), una situación observada por Russin & Shain (1984). Esto puede atribuirse a una resistencia de los castaños, a la presencia de cepas hipovirulentas (una situación que debe considerarse), o simplemente a un tiempo de latencia largo (común en los endófitos), en espera de los momentos de stress del hospedador.

En nuestro trabajo exploratorio, un buen porcentaje de las especies detectadas y que presentan una marcada preferencia por la corteza de este árbol, no han sido reportadas en Italia.

REFERENCIAS

- Anagnostakis, S.L. (1980). Notes on the genetics of *Endothia parasitica*. Neurospora Newsletter 27:36
- Anagnostakis, S.L. (1987). Chestnut Blight: The classical problem of an introduced pathogen. Mycologia 79:23-37
- Anagnostakis, S.L. (1990). An historical reference for chestnut introductions in North America. Annual Report- North-horn Nut Growers' Association N° 80 :132-143
- Anagnostakis, S.L. & Kranz, J. (1987). Population dynamics of *Chryphonectria parasitica* in a mixed-hardwood forest in Connecticut. Phytopathology 77:751-754
- Baird, R.E. (1991). Mycobiota of bark associated with seven strains of *Cryphonectria parasitica* on two hardwood tree species. Mycotaxon 40:23-33
- Bassi, R. (1990). La coltivazione del castagno. Ed. L'informatore agrario, Roma.
- Behrend, C.J.; Blanchette, R.A.; Farrel, R.L. (1994). Biological control of Blue-stain Fungi in Wood. Phytopathology 85:92-97
- Biles, C.L. & Hill, J.P. (1988). Effect of *Trichoderma harzianum* on sporulation of *Cochliobolus sativus* on excised wheat seedling leaves. Phytopathology 78: 656-659
- Biraghi, A. (1950). La distribuzione del cancro del castagno in Italia. L'Italia Forestale e Montana 5:18-21
- Bisseger, M. & Sieber, T.N. (1994). Assemblage of endophytic fungi in coppice shoots of *Castanea sativa*. Mycologia 86:648-655
- Boddy, L. & Griffith, G.S. (1989). Role of endophytes and latent invasion in the development of decay communities in sapwood of angiospermous trees. Sydowia 41:41-73
- Chapela, I.H. & Boddy, L. (1988). Fungal colonization of attached beech branches. II. Spatial and temporal organization of communities arising from latent invaders in bark and functional sapwood under different moisture regimes. New Phytol. 110:47-57
- Cobos, S.P. (1989). Fitopatología del castaño (*Castanea sativa* Miller). Boletín de Sanidad Vegetal (Fuera de serie) N° 16. Secretaría general Técnica, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid.

- Conedera, M. (1991). La situazione del cancro corticale del castagno (*Chryphonectria parasitica* (Murr.) Barr, al sud delle Alpi (Svizzera meridionale). *Schweizerische Zeitschrift für Forstwesen* 142:283-298
- Cotter, H. Van T. & Blanchard, R.O. (1982). The fungal flora of bark of *Fagus grandifolia*. *Mycologia* 74:836-843
- De Martino, A.; Intropido, M.; Bisiach, M. (1994) Chestnut decline caused by *Diplodina castaneae* and *Coryneum modonium*. Atti Intern Congress on Chestnut. *Informatore Fitopatologico* 5: 26-28.
- Davidson, R.W. & Kuhlman, E.G. (1978). A species of *Ceratocystis* closely associated with *Endothia* cankers on American chestnut of eastern United States. *Mycologia* 70:853-855
- Ellis, M.B. & Ellis, J.P. (1985). Microfungi on land plants an identification handbook. Crom Helm, London & Sydney
- Goidanich, G. (1960). L'avversità delle piante agrarie. Ramo editoriale degli agricoltori, Roma 2 :97-104
- Gobbi, E. & Locci, R. (1989). Aspetti micologici e patologici di *Chryphonectria parasitica*. *Micologia Italiana* 18:111/31-111/36
- Greenhalgh, G.N. (1969). The ecology of bark inhabiting fungus (Abstract written by M. Holden.) *Bull. Brit. Mycol. Soc.* 3:82
- Heiniger, U. & Rigling, D. (1994). Biological control of Chestnut blight in Europe. *Annual Rev. Phytopathol.* 32: 118-142
- Hepting, G.H. (1974). Death of American chestnut. *Jour-nal Forest History* 18: 60-67
- Hoog, G.S. de. (1993) *Sporothrix*-like anamorphs of *Ophiostoma* species and other fungi. In : Wingfield J.M. et al. *Ceratocystis* and *Ophiostoma* Taxonomy, Ecology and Pathogenicity. APS Press. St.Paul. Minnesota. pp. 53-60
- Ikeduogwu, F.E.O. & Webster, J. (1970). Hyphal interference in a range of coprophilous fungi. *Trans. Br. micol. Soc.* 54:205-210
- Mansilla, J.P. (1984). Algunos insectos del castaño en Galicia. Congreso internacional sobre el castaño. Lourizan, Pontevedra, pp. 227-237
- Minervini, G. & Bisiach, M. (1994). Interaction between hypovirulent strains of *Chryphonectria parasitica* and chestnut ecosystem microorganisms. Atti Intern. Congress on Chestnut. *Informatore Fitopatologico* 5:23-25
- Muñoz, M.C. & Cobos, P. (1991). *Endothia parasitica* (Murril) Anderson, Sintomatología e identificación. Situación de la enfermedad en los castañares asturianos. *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas* 17:297-298
- Nannelli, R. & Turchetti, T. (1989). Osservazioni preliminari sull'associazione di alcune specie di Acari corticicoli con *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr. *Redia* 72:581-593
- Nelson, E.E. (1982). Occurrence of trichoderma in a Douglas-fir soil. *Mycologia* 74:280-284
- Petrini, O. & Fisher, P. (1990). Occurrence of fungal endophytes in twigs of *Salix fragilis* and *Quercus robur*. *Mycol. Res.* 94:1077-1080
- Rayner, A.D.M. & Boddy, L. (1986). Population structure and infection biology of wood decay fungi in living trees. *Advances Pl. Pathol.* 5: 119-160
- Russin, J.S. & Shain, L. (1984). Colonization of chestnut blight cankers by *Ceratocystis microspora* and *C. eucastaneae*. *Phytopathology* 74: 1257-1261
- Russin, J.S.; Shain, L.; Nordin, G.L. (1984). Insects as carriers of virulent and cytoplasmic hypovirulent isolates of the chestnut blight fungus. *J. of Economic Entomol.* 77:838-846
- Turchetti, T. (1986). Alcuni aspetti delle principali malattie crittogamiche del castagno. *Informatore Agrario* 42: 51-53
- Turchetti, T. & Chelazzi, G. (1984). Possible role of slugs as vectors of the chestnut blight fungus. *European J. of Forest Pathol.* 14: 125-127
- Turchetti, T.; Maresi, G. (1991). Inoculation trials with hypovirulent strains of *Cryphonectria parasitica*. *European Journal of Forest Pathology* 21:65-70
- Turchetti, T.; Sottovia, A.; Maresi, G.; Minerbi, S. (1992). Il cancro della corteccia del castagno in Alto Adige. *Informatore Fitopatologico* 42:45-48
- Sung, J. & Han, S.S. (1986). Identification of canker-causing fungi associated with stem and twigs of chestnut tree. *Korean Journal of Plant Pathology* 2:174-184
- Upadhyay, H.P. (1981). A monograph of *Ceratocystis* and *Ceratocystiopsis*. University of Georgia Press. Athens, Georgia
- Wells, J.M. & Payne, J. A. (1975). Toxigenic *Aspergillus* and *Penicillium* isolates from weevil damaged chestnuts. *Applied Microbiology* 30 :536-540
- Wilhelm, E. (1992). Use of endophytic bacteria as biocontrol agents against chestnut blight. Proc. Intern. Chestnut Conference, Morgantown. West Virginia. pp. 5.

Figuras. - 1. 2.- *Gonytrichum caesium* var. *caesium* (anamorfo de *Chaetosphaeria inaequalis*), complejo sistema de ramificación y conidios (Barra 5 µm). **2.-** Células conidiógenas terminales con collar terminal (Barra 5 µm). **3.- *Phialocephala fumosa***, conidióforos y conidios cilíndricos (Barra 5 µm). **5.- *Verticillium tenuissimum***, conidióforo, filídes y conidios (Barra 15 µm). **5.- *Rhinocladiella atrovirens***, conidióforos y conidios (Barra 5 µm). **6.- *Cryptosporiopsis quercina***, conidios (Barra 20 µm). **7.- *Dictyochoeta* sp.**, conidios y conidióforo (Barra 10 µm). **8.- *Exochalara longissima***, conidióforo y cadenas de conidios (Barra 10 µm). **9.- *Pilidium acerinum***, conidios y conidióforos en sección vertical del conidioma (Barra 10 µm). **10.- *Endothiella*** anamorfo de *Cryphonectria parasitica*, conidios y conidióforos en sección vertical del conidioma (Barra 5 µm). **11.- *Sphaeropsis sapinea***, conidios (Barra 20 µm). **12.- *Septonemasecedens***, conidios en cadena (Barra 10 µm). **13.- *Coryneum modonium***, conidios y racimos de células conidiógenas (Barra 20 µm). **14.- *Chalara unicolor***, artroconidios con 3 septos y células conidiógenas (Barra 30 µm). **15.- *Oncopodiella trigonella***, conidios (Barra 10 µm). **16.- *Diplococcium spicatum***, conidióforos y conidios (Barra 10 µm). **17.- *Chloridium claviforme***, proliferación percurrente y conidios (Barra 5 µm). **18.- *Ceratosporella stipitata***, conidio y conidióforo (Barra 10 µm). **19.- *Monodyctis castaneae***, conidios (Barra 20 µm). **20.- *Sporidesmium rubi***, conidio y conidióforo (Barra 10 µm). **21.- *Anavigra laxa***, stauroconidios (Barra 20 µm). **22.- *Ceratocystis brunneo-ciliata* (?)**, ascosporas e hifas ostiolares espiraladas (Barra 10 µm). **23.- *Ceratocystis microspora***, ascosporas y porción del cuello del peritecio (Barra 10 µm). **24.- *Sporothrix*** anamorfo de *Ophiostoma stenoceras*, creciendo sobre el cuello del peritecio (Barra 10 µm). **25.- *Ophiostoma stenoceras* (= *Ceratocystis eucastaneae*)**, ascosporas sin vaina (Barra 5 µm). **26.- *Anthostomella fuegiana***, ascosporas bicelulares (Barra 10 µm).

