

**Incidencia de hongos en semillas de *Toona ciliata* y evaluación de la patogenicidad de *Fusarium* sp. y *Phomopsis* sp.**

**Fungi incidence in *Toona ciliata* seeds and evaluation of pathogenicity of *Fusarium* sp. and *Phomopsis* sp.**

**Rubén Darío Zunini Ortega<sup>1</sup> y Aida Lorenza Orrego Fuente<sup>2\*</sup>**

<sup>1</sup> Carrera de Ingeniería Forestal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Asunción (FCA-UNA). San Lorenzo, Paraguay.

<sup>2</sup> Departamento Protección Vegetal, FCA-UNA. San Lorenzo, Paraguay.

\*Autor para correspondencia (aorrego@agr.una.py).

Recibido: 23/05/2013; Aceptado: 18/07/2013.

**RESUMEN**

El cancro de la *Toona* es una enfermedad caracterizada por engrosamientos en el fuste y ramas, provocando rajaduras verticales en la corteza e inutilizando la madera para la industria. Con el objetivo de evaluar la incidencia de hongos en semillas de *Toona ciliata* y verificar la patogenicidad de *Fusarium* sp. y *Phomopsis* sp. como causantes del cancro, fueron realizados experimentos en el laboratorio e invernadero del departamento de Protección Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Asunción. Para evaluar la sanidad de semillas fueron empleados el método de papel secante y medio de cultivo PDA (papa, dextrosa y agar), utilizando 400 semillas en cada caso. En invernadero, se empleó el diseño Completamente al Azar, con 3 tratamientos y 5 repeticiones, siendo la unidad experimental, 20 macetas con un plantín cada uno. Los tratamientos consistieron en inoculaciones de los plantines con un disco de 5 mm de los hongos *Fusarium* sp. y *Phomopsis* sp. en los tallos, además del tratamiento testigo, siguiendo los Postulados de Koch. Las plantas fueron evaluadas a los 35 y 70 días post inoculación. Los datos fueron sometidos al análisis de varianza y las medias comparadas por el Test de Tukey. Los hongos identificados en las semillas fueron *Fusarium* sp., *Phomopsis* sp., *Aspergillus* sp., *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp., *Penicillium* sp., *Curvularia* sp. y *Helminthosporium* sp. Se concluye que *Fusarium* sp. y *Phomopsis* sp., son patógenicos, causando la enfermedad conocida como cancro de la *Toona*.

**Palabras clave:** *Toona ciliata*, *Fusarium* sp., *Phomopsis* sp., cancro, incidencia.

**ABSTRACT**

*Toona* canker is a disease characterized by thickening in stems and branches, causing vertical cracks in the cortex and disabling the wood for industry. The objective of this work was to evaluate the incidence of fungi in seeds of *Toona ciliata* and verify the pathogenicity of *Fusarium* sp. and *Phomopsis* sp. as causers of canker. Experiments were performed in the laboratory and greenhouse of the Departamento de Protección Vegetal of the Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción. The blotter method and PDA culture medium (potato, dextrose agar) were employed to evaluate the health of the seeds, using in each case 400 seeds. In the greenhouse, a completely randomized design with 3 treatments and 5 replicates was used; the experimental unit consisted of 20 pots with one seedling each. Treatments consisted of inoculation of seedlings with application of a disk of 5 mm of fungi *Fusarium* sp. and *Phomopsis* sp. in the stems, and the control treatment following Koch's Postulates. Plants were evaluated at 35 and 70 days post inoculation. Data were analysed for variance and the means compared by Tukey test. Identified fungi were *Fusarium* sp., *Phomopsis* sp., *Aspergillus* sp., *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp., *Penicillium* sp., *Curvularia* sp. and *Helminthosporium* sp. It is concluded that *Fusarium* sp. and *Phomopsis* sp. are pathogenic, causing the disease known as *Toona* canker.

**Key words:** *Toona ciliata*, *Fusarium* sp., *Phomopsis* sp., canker, incidence.

## INTRODUCCIÓN

*Toona ciliata* es una especie forestal perteneciente a la familia de las Meliáceas, originaria de Australia y distribuida en varias regiones tropicales (Geilfus 1994). Fue introducida con el objeto de reemplazar al Cedro Misionero (*Cedrela fissilis*), afectado por la larva de *Hypsiphyla grandella* (Bobadilla 2004).

Generalmente se la confunde con el cedro por las semejanzas que presentan en cuanto a la familia, calidad de la madera y capacidad de multiplicación. Su importancia radica en que presenta madera de uso diversificado, que se emplea en la construcción civil y naval, en partes internas de muebles finos, hojas decorativas, embalajes, moldes de cuadros, instrumentos musicales, entre otros. También es de gran utilidad en plantaciones de enriquecimiento en bosques y en medicina alternativa (Lamprech 1990; Carvalho 1994). Además presenta la ventaja de que los árboles jóvenes rebrotan rápidamente luego del raleo. Su madera es de baja densidad y blanda, por lo tanto, sencilla de trabajar (Tolozza et al. 2003).

En Paraguay y Misiones (Argentina), se observó una enfermedad en la *Toona* cuya sintomatología es la presencia del cancro, que se caracteriza por engrosamientos o agallas en el fuste y ramas, formada por hiperplasia celular en sentido radial, provocando rajaduras verticales en la corteza y una coloración castaño-violácea en la parte afectada del leño, inutilizando la madera para la industria del debobinado y corte plano (faqueado) (Martínez Román 1995, Vizcarra Sánchez et al. 1992). También en un estudio de crecimiento de *Toona ciliata* en enriquecimiento de un monte nativo degradado en Puerto Rico, Misiones, se detectó presencia de agallas en tallo a partir del primer año de edad, aunque la incidencia de la enfermedad fue baja (Tolozza et al. 2003).

Los síntomas han sido observados tanto en viveros como en plantas que se encuentran en lugares definitivos y se nombran como agentes causales de la enfermedad a los hongos *Fusarium decemcellulare* Brick y *Phomopsis* sp. (Martínez Román 1995, Vizcarra Sánchez et al. 1992)

Actualmente, las semillas de especies forestales de rápido crecimiento son muy requeridas para la formación de mudas a ser empleadas en reforestación y se desconoce su calidad sanitaria.

Debido a las escasas investigaciones de la ocurrencia de hongos en semillas de especies forestales y la relación entre los agentes causales de la enfermedad y la diseminación por semilla, se plantea evaluar la incidencia de hongos en semillas de *Toona ciliata* y verificar la patogenicidad de *Fusarium* sp. y *Phomopsis* sp. como causantes del cancro de la *Toona*.

## METODOLOGÍA

Para el estudio se realizaron dos experimentos, llevados a cabo en el laboratorio e invernadero, pertenecientes a la División de Fitopatología del Departamento de Protección Vegetal, de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Asunción (FCA-UNA), situada en el Campus Universitario en la ciudad de San Lorenzo, Departamento Central; Paraguay, entre los meses de julio de 2012 a enero de 2013.

**Experimento I:** Incidencia de hongos en semillas de *Toona ciliata*. Para el análisis de las semillas fueron empleados los métodos de papel secante y medio de cultivo PDA (papa, dextrosa y agar), utilizando 400 semillas por método, ambos métodos son complementarios donde el primero utiliza la semilla como sustrato mientras que el otro facilita el crecimiento de microorganismos por ser rico en nutrientes. El diseño experimental fue completamente al azar, con dos tratamientos y 4 repeticiones, siendo 100 semillas la unidad experimental. El PDA fue preparado siguiendo la metodología de French y Hebert (1980).

Antes de la siembra, las semillas fueron desinfectadas superficialmente sumergiéndolas en alcohol al 70% por 30 segundos, luego en hipoclorito de sodio al 3% por 30 segundos, enjuagada en agua destilada estéril en tres oportunidades y se dejaron secar sobre papel absorbente, seguidamente, plaqueadas uniformemente sobre PDA (Orrego et al. 2009). En el papel secante, las semillas fueron distribuidas sobre tres discos de papel filtro en placas de Petri esterilizadas y humedecidas con 5 ml de agua destilada estéril. Todas las placas fueron incubadas en condiciones de laboratorio a 28°C, durante 7 días (Benetti et al. 2009).

Para la evaluación del experimento I, la identificación y cuantificación de los hongos se realizó con ayuda del estereoscopio y del microscopio óptico. Para efectuar las identificaciones, se contó con la ayuda de los siguientes materiales: Hongos fitopatogénicos (Menezes & Oliveira 1993) y *Illustrated genera of imperfect fungi* (Barnett & Hunter 1998). Identificados los microorganismos, se procedió a la cuantificación de semillas infectadas y número de colonias por semilla. En el caso de hongos que no pudieron ser identificados, las placas fueron expuestas a luz continua para estimular la esporulación. Los datos obtenidos fueron registrados en planillas.

**Experimento II:** Evaluación de la patogenicidad de *Fusarium* sp. y *Phomopsis* sp. en plantines de *Toona ciliata* en invernadero. A fin de confirmar o excluir la hipótesis de que los hongos asociados a las semillas y transmitidos por ellas son patogénicas a la especie en

estudio, se realizó el test de patogenicidad siguiendo los postulados de Koch (Brock y Madigan 1997).

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, con 3 tratamientos y 5 repeticiones, empleándose un total de 300 macetas. La unidad experimental estuvo constituida por 20 macetas con un plantín cada uno. Los tratamientos consistieron en inoculaciones de los hongos *Fusarium* sp. y *Phomopsis* sp. aislados a partir de semillas (Experimento 1) a plantines de *Toona ciliata*, además del tratamiento testigo sin inocular.

Los hongos *Fusarium* sp. y *Phomopsis* sp. aislados fueron multiplicados sobre medio de cultivo PDA e incubados a 28°C por 8 días, previo a las inoculaciones.

Para la obtención de plantines se utilizaron semillas de *Toona ciliata* (provistos por el departamento de Silvicultura de la Carrera de Ingeniería Forestal de la FCA – UNA), que fueron sembradas en macetas de 10 cm x 12 cm, cargadas con sustrato de tierra roja, arena lavada y estiércol vacuno en proporción de 1:1:1 y desinfectado con agua caliente. Posteriormente se depositaron 2 semillas por maceta, a una profundidad de 1 cm, regándose de acuerdo a la necesidad. Después de la emergencia se efectuó el raleo dejándose una planta por maceta.

Cuando los plantines alcanzaron aproximadamente 2 mm de diámetro en la base del tallo y 10 cm de altura, 40 días después de la emergencia, fueron inoculados con los hongos *Fusarium* sp. y *Phomopsis* sp. (Figura 1).



**Figura 1.** Procedimiento de inoculación. Desinfección del tallo (A). Producción de herida en la base del tallo (B). Colocación del inóculo sobre la herida (C). Fijación del inóculo (D). Plantines humedecidos con agua destilada y cubiertos con bolsas plásticas (E, F). FCA-UNA. San Lorenzo, Paraguay. 2013.

Para la inoculación de los plantines, primeramente se desinfectó la porción del tallo con alcohol al 70% y luego se realizó una herida en la base del tallo aproximadamente a 2 cm del suelo, con ayuda de un alfiler desinfectado. Seguidamente se procedió a separar discos de 5 mm de diámetro de la zona de esporulación

de las colonias de los hongos y se aplicaron sobre las heridas. El inóculo fue fijado al tallo con una cinta de papel. Los plantines del tratamiento testigo recibieron heridas con alfiler pero no fueron inoculados con los hongos, siguiendo la metodología empleada por Esgaib (2012).

Los plantines inoculados fueron colocados en bolsas de plástico internamente humedecidas con agua destilada por un periodo de 24 horas, para dar al patógeno las condiciones adecuadas para su adaptación. Posteriormente, se retiraron las bolsas y la cinta de papel que fijaban el inóculo. Las plantas permanecieron en invernadero hasta la evaluación y recibieron riego 3 veces por semana.

Para la evaluación del experimento II, los plantines inoculados fueron monitoreados diariamente para verificar la presencia de síntomas de cancro ocasionadas por los patógenos hasta los 70 días post inoculación.

La primera evaluación de la patogenicidad se realizó a los 35 días y la segunda a los 70 días post-inoculación, para cada evaluación se utilizaron 150 plantines. El procedimiento de evaluación se observa en la Figura 2.



**Figura 2.** Procedimiento de evaluación. Tallos cortados en trozos en la zona de la inoculación (A y B). Fragmentos desinfectados en alcohol, hipoclorito de sodio y posterior lavado con agua destilada (C y D). Tallos secados sobre papel absorbente (E). Tallos sembrados en placas de Petri (F). FCA-UNA. San Lorenzo, Paraguay. 2013.

Para la evaluación, los tallos fueron cortados en trozos de aproximadamente 2,5 cm en la zona de inoculación, seguidamente los fragmentos desinfectados por inmersión en solución de alcohol al 70%, durante 30 segundos, inmediatamente en solución de hipoclorito de sodio al 3% durante 30 segundos y posterior lavado con agua destilada a fin de eliminar los residuos del hipoclorito.

Los tallos fueron secados con papel absorbente y sembrados en placas de Petri conteniendo medio de cultivo PDA, las mismas fueron incubadas a 28°C durante

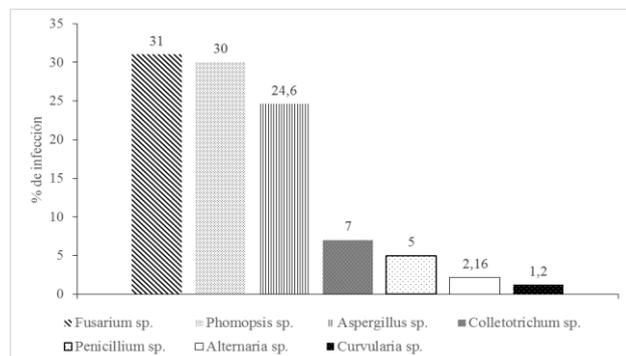
8 días. Al término del periodo de incubación se procedió a verificar la presencia de los hongos previamente inoculados, realizándose la identificación y cuantificación de las colonias con ayuda del estereoscopio, microscopio y el libro de Barnett & Hunter (1998).

Los datos obtenidos fueron registrados en planillas para su posterior análisis de varianza utilizando el software estadístico ESTAT Versión 2.0 (UNESP – FCAV 1996) y las medias fueron comparadas por el test de Tukey al 5%.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Experimento I: Incidencia de hongos en semillas de *Toona ciliata*.

En la **Figura 3** se observan los géneros de hongos identificados en el medio de cultivo PDA y el porcentaje de incidencia en las semillas.



**Figura 3.** Géneros de hongos y porcentaje de infección de semillas de *Toona ciliata* en PDA. FCA-UNA, San Lorenzo, Paraguay. 2013.

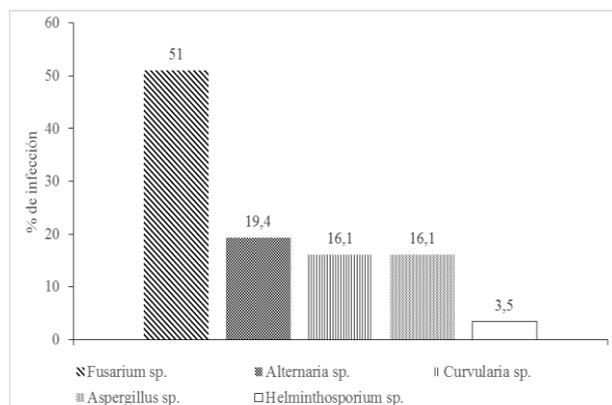
Los principales hongos identificados en semilla fueron *Fusarium* sp. con 31%, seguido de *Phomopsis* sp. con 30%, *Aspergillus* sp. 25%, *Colletotrichum* sp. 7%, *Penicillium* sp. 5%, *Alternaria* sp. 2,2% y *Curvularia* sp. 1,2%. Estos resultados coinciden con lo mencionado por Lazarotto et al. (2012), quienes trabajando con la sanidad, transmisión vía semilla y patogenicidad de hongos en semillas de *Cedrella fissilis*, identificaron los mismos géneros, además de *Pestalotia* sp. y *Rhizoctonia* sp. También Benetti et al. (2009) realizaron un levantamiento de hongos en semillas de cedro con resultados similares, reconociendo además la presencia de *Macrophomina* sp.

Lazarotto et al. (2009) registraron la alta incidencia de hongos en semillas de *Cedrella fissilis* en el tratamiento testigo, en un estudio de termoterapia vía calor seco para reducir la incidencia de hongos. Vechiato (2010) menciona que los hongos asociados a las semillas forestales pueden ser divididos en dos grupos, aquellos que se establecen en la semilla durante el periodo de crecimiento - maduración y los de almacenamiento,

pudiendo ser las primeras potencialmente patógenicas causando pudriciones, damping off, manchas foliares, comprobando en su estudio de importancia de la calidad sanitaria de semillas de 13 especies forestales que entre las mayores incidencias de hongos se destacaron *Phomopsis* y *Fusarium*. Estos resultados concuerdan totalmente con lo obtenido en esta investigación.

Cibrián et al. (2007) consideran a *Phomopsis* y *Fusarium* como patógenos de gran importancia en las especies forestales, causando varios síntomas, además de ser diseminados por semillas.

En la **Figura 4** se observan los géneros de hongos identificados y el porcentaje de incidencia en papel secante.



**Figura 4.** Géneros de hongos y porcentaje de infección de semillas de *Toona ciliata* en papel secante. FCA-UNA, San Lorenzo, Paraguay. 2013.

En la **Figura 4** se destaca que el género *Fusarium* sp. presentó mayor porcentaje de incidencia con el 51%, seguido de *Alternaria* sp. con 19,4%, *Curvularia* sp. 16,1%, *Aspergillus* sp. 10,1% y *Helminthosporium* sp. 3,5%.

Estos resultados coinciden con lo obtenido con Benetti et al. (2009) que identificaron los mismos patógenos en papel de filtro, aunque al comparar con el porcentaje obtenido en PDA se observa una reducción de la incidencia, posiblemente debido que en el papel secante el sustrato es la propia semilla mientras en el PDA existe mayor disponibilidad de nutrientes, o debido a la velocidad de crecimiento de ambos patógenos, donde el *Fusarium* rápidamente se desarrolla y esporula, enmascarando a *Phomopsis* que debe formar cuerpos de fructificación, los picnidios.

Coincidentemente, Rosa et al. (2007) encontraron 100% de incidencia de *Fusarium* en semillas de *Cedrella fissilis* y en menor porcentaje *Phomopsis*, por lo que mencionan que la presencia de patógenos en semillas se relaciona directamente con la baja calidad de mudas de ciertas especies forestales.

**Experimento II:** Evaluación de la patogenicidad de *Fusarium* sp. y *Phomopsis* sp. en plantines de *Toona ciliata*.

Los plantines inoculados con los hongos *Fusarium* sp. y *Phomopsis* sp. presentaron los primeros síntomas a los 35 días, donde se observaron a partir de la zona inoculada hiperplasia celular en sentido radial y ensanchamiento con rajadura vertical de coloración castaña, que coinciden con la descripción de los síntomas del cancro. En la **Tabla 1** se presentan los resultados de la incidencia de la enfermedad en los plantines a los 35 y 70 días, después de la inoculación.

**Tabla 1.** Porcentaje de tallos infectados con *Fusarium* sp. y *Phomopsis* sp. a los 35 y 70 días post inoculación en el estudio de patogenicidad. FCA- UNA, San Lorenzo, Paraguay. 2013.

Tratamientos	35 días (%)	70 días* (%)
<i>Phomopsis</i> sp.	84 a	98 a
<i>Fusarium</i> sp.	78 a	100 a
Testigo	0 b	0 b

(\*) Medias seguidas de las mismas letras en las columnas, no difieren entre sí por el test de Tukey al 5%.

Como se puede apreciar en la **Tabla 1**, a los 35 días posteriores a la inoculación, el hongo *Phomopsis* sp. presentó el mayor porcentaje de incidencia con el 84% y *Fusarium* sp. 78%, aunque estadísticamente no existe diferencia significativa, mientras que el testigo no presentó síntomas de la enfermedad. A los 70 días post inoculación, se ha observado el progreso de la enfermedad, debido que se ha incrementado los síntomas del cancro en los plantines.

Los resultados obtenidos del estudio de la patogenicidad a los 70 días, indican que *Fusarium* sp. presentó mayor incidencia con el 100%, seguido por *Phomopsis* sp. con 98%, similares estadísticamente, mientras que el testigo no ha presentado síntomas de infección.

La aplicación de los postulados de Koch permitieron corroborar que los hongos *Fusarium* sp. y *Phomopsis* sp., aislados de semillas de *Toona ciliata* e inoculados en plantines de la misma especie reprodujeron los síntomas de la enfermedad conocida como cancro del tallo de la *Toona*, y que estos organismos son diseminados por la semilla. Este estudio coincide en parte con lo obtenido por Martínez Román (1995), quien identificó por primera vez en Paraguay al causante del cancro de la *Toona* siendo el hongo *Phomopsis* sp., además concuerda con Vizcarra-Sánchez (2004) quien menciona que el cancro de la *Toona* es causado por *Fusarium decemcellulare*.

Benetti et al. (2009) también verificaron la patogenicidad de *Fusarium* sp. aislados de semillas, mostrando la asociación patogénica de este hongo, coincidiendo con los resultados de la investigación.

## CONCLUSIONES

- Los géneros de hongos identificados en semilla de *Toona ciliata* son: *Fusarium* sp., *Phomopsis* sp., *Aspergillus* sp., *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp., *Penicillium* sp., *Curvularia* sp. y *Helminthosporium* sp.
- Los hongos *Fusarium* sp. y *Phomopsis* sp., aislados de semilla, son patogénicos a plantines de *Toona* y son los causantes del cancro en *Toona ciliata*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barnett, HL; Hunter, BB. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. 4ta ed Minnesota, USA: APS PRESS. 218 p.
- Benetti, SC; Santos, AF; Souza Medeiros, AC; Sousa Jaccoud, D. 2009. Levantamento de fungos em sementes de cedro e avaliação da patogenicidade de *Fusarium* sp. y *Pestalotia* sp. (en línea). Consultado 17 abril 2013. Disponible en: [www.cnpf.embrapa.br/pfb/ind-ex.php/pfb/article/view/9](http://www.cnpf.embrapa.br/pfb/ind-ex.php/pfb/article/view/9).
- Bobadilla, EA. 2004. Durabilidad natural de la madera de cinco especies aptas para la industria de la construcción. (en línea). Consultado el 12 abr 2013. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Misiones. Disponible en: [ftp://ftp.unam.edu.ar/mamcyp/tesis/alicia\\_bobadilla.pdf](http://ftp.unam.edu.ar/mamcyp/tesis/alicia_bobadilla.pdf).
- Brock, T; Madigan TM. 1997. Microbiología. 6 ed. México: Prentice. 956 p.
- Carvalho, PE. 1994. Especies florestais brasileiras. Recomendações Silviculturais, potencialidades e uso da madeira. EMBRAPA-CNPQ. Brasília, BR. 640 p.
- Cibrián, TD; Alvarado, RD; García, DS. 2007. Enfermedades forestales en México, Chapingo, MX. Universidad Autónoma. 587 p.
- Esgaib, MS. 2012. Evaluación de patógenos en semillas de *Moringa oleífera* Lam. y su capacidad patogénica en plantines. Tesis. Ing. For. San Lorenzo, PY, Carrera de Ingeniería Forestal, FCA, UNA. 44 p.
- French, E; Hebert, T. 1980. Métodos de investigación fitopatológica. San José, CR, IICA. 289 p.
- Geilfus, F. 1994. El árbol al servicio del agricultor: manual de agroforestería para el desarrollo rural. (en línea) Turrialba. CR. CATIE: ENDA-CARIBE. Consultado 12 may 2013. Disponible en: <http://books.google.com.py/books?id=xCMOQAAlAAJ&printsec=frontcover&hles&s>

- source=gbs\_ge\_summary\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Lamprecht, H. 1990. Silvicultura en los trópicos/Los ecosistemas forestales en los bosques tropicales y sus especies arbóreas-posibilidades y métodos para su aprovechamiento sostenido. Alemania: GTZ. 335 p.
- Lazarotto, M; Brião Muniz, M; Beltrame, MR; Santos, AF; Maciel, CG; Longhi, SJ. 2012. Sanidade, transmissão via semente e patogenidade de fungos em sementes de *Cedrella fissilis* procedentes da região Sul do Brasil. (en línea). Ciencia Florestal, Santa María. 22(3):493-503. Consultado 23 may 2013. Disponible en: <http://cascavel.ufsm.br/revistas/ojs-2.2.2/index.php/cienciaflorestal/article/view/6617/4056>
- Lazarotto, M; Mezzomo, R; Girardi, LB; Maciel, CG; Muniz, MF. 2009. Termoterapia via calor seco no tratamento de sementes de *Cedrella fissilis* – Meliaceae. (en línea). Revista Brasileira de Agroecología. 4(2):730-737. Consultado 23 may 2013. Disponible en: <http://www.aba-agroecologia.org.br/ojs2/index.php/rbagroecologia/article/download/7947/5675>
- Martínez Román, ST; 1995. Diagnóstico de la enfermedad de la *Toona ciliata* y su posible distribución al país. Informe de Estudios de Casos. (Ing. For). PY: Dpto. Prot. Vegetal CIA.FCA.UNA. San Lorenzo. Py. 42 p.
- Menezes, M; Oliveira, MA. 1993. Fungos Fitopatogénicos. Pernambuco. BR. UFRPE. 274 p.
- Orrego, A; Grabowski, C; Rodríguez, H; Soilán, L. 2009. Grado de infección de *Macrophomina phaseolina* en semillas de soja, sésamo y maní en condiciones *in vitro*. In Orrego, A. ed. *Macrophomina phaseolina* hongo causante de la pudrición carbonosa del tallo. San Lorenzo, PY, FCA/UNA. p. 27-36.
- Rosa, SF; Baumhardt, E; Miniz, MB; Blume, E. 2007. Avaliação do controle sanitário de sementes de cedro (*Cedrela fissilis* Vell.) tratado com extrato aquoso de timbó (*Ateleia glasioweana* Baill.). Universidad Federal de Santa María, Br. Disponible en: [http://www.ufpel.edu.br/cic/2007/cd/pdf/CA/CA\\_00353.pdf](http://www.ufpel.edu.br/cic/2007/cd/pdf/CA/CA_00353.pdf).
- Tolosa, R; Correa, M; Fernández, NJ. 2003. Evaluación del crecimiento de *Toona ciliata* bajo un monte nativo degradado. Acta X Jornadas Técnicas Forestales y Ambientales. 25 al 27 de septiembre de 2013. INTA, Misiones, AR.
- UNESP–FCAV (Universidad Estadual Paulista–Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária. 1996. ESTAT 2.0. Sistema para análises estatísticas. Sao Paulo, BR.
- Vechiato, MH. 2010. Importância da qualidade sanitária de sementes florestais na produção de mudas. Consultado 12 abr 2013. Disponible en: [http://www.infobibos.com/Artigos/2010\\_3/SementesFlorestais/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2010_3/SementesFlorestais/index.htm)
- Vizcarra-Sánchez, J. 2004. Plagas y enfermedades forestales de Misiones. Posada, AR. Universidad Nacional de Misiones. Editorial Universitaria de Misiones. 224 p.
- Vizcarra-Sánchez, J; Stehr, A; Lori, G. 1992. Enfermedad que afecta al cedro australiano *Toona ciliata* M. Roem en plantaciones de la provincia de Misiones. Yvyretá 3(3): 20-24.