



Proyecto: Fondo Sectorial CONACYT-CONAFOR 2018-1 A-S-67865

“Monitoreo, evaluación de daños, manejo preventivo y control de la secadera y pudrición de raíz causadas por *Fusarium* spp., y las moscas fungosas *Bradysia* y *Lycoriella*”

Experimentos sobre sustratos de las correlaciones de Incidencia de las plagas respecto a los sustratos, calidad de agua y de nutrición de planta enplanta en los viveros forestales con la presencia de secadera y moscas fungosas



Dr. Arnulfo Aldrete
Dra. Silvia Edith García Díaz
Responsable técnico: DR. DAVID CIBRIÁN TOVAR

ÍNDICE

PRODUCTO 6. EXPERIMENTO SOBRE SUSTRATOS Y SU CORRELACIÓN CON INCIDENCIA DE PLAGAS.....	2
INTRODUCCIÓN	2
MATERIALES Y MÉTODOS	3
RESULTADOS ESPERADOS.....	8
LITERATURA CITADA.....	9

PRODUCTO 6. EXPERIMENTO SOBRE SUSTRATOS Y SU CORRELACIÓN CON INCIDENCIA DE PLAGAS

Arnulfo Aldrete, aaldrete@colpos.mx

INTRODUCCIÓN

En México, en la última década se han producido en promedio más de 180 millones de plantas de diversas especies en los viveros forestales. El género *Pinus* incluye las especies más utilizadas para producción de planta de clima templado que se utilizan en los programas de reforestación. La Comisión Nacional Forestal (CONAFOR) tiene bajo su responsabilidad la restauración de miles de hectáreas que se encuentran en diversos estados de degradación, en los ecosistemas de clima templado-frío, tropical, y árido-semiárido (CONAFOR, 2015). El problema fitosanitario mayor que se presenta en los viveros forestales es la enfermedad conocida con varios nombres, como el complejo *Damping-off*, mal del semillero, secadera de la planta, mal del talluelo, ahogamiento, chupadera y pudrición de raíces. Esta enfermedad la produce un complejo de hongos del suelo, entre los que se encuentran *Fusarium* spp. (Benítez *et al.*, 2004, y Ezziyyani *et al.*, 2004).

La enfermedad de la secadera en pino en los viveros de México es causada principalmente por especies de *Fusarium*, lo cual es un factor que disminuye la calidad de la planta y ocasiona pérdidas durante los procesos de producción (Cibrián *et al.*, 2008). Estos hongos se pueden presentar en pre-emergencia, donde producen daños al embrión antes de germinar y hay necrosis del hipocótilo y los cotiledones; mientras que en post-emergencia las plantas son atacadas a nivel del tallo causando un estrangulamiento del mismo a nivel de la superficie y posteriormente la muerte de la planta. El daño tardío se manifiesta durante la etapa de desarrollo de la planta, principalmente cuando el tallo aún no está lignificado, causando pudrición de raíz y doblamiento de la plántula en la parte apical y en algunas ocasiones se manifiesta en las acículas de color rojizo y en la raíz presenta un color café (Peterson, 2008, Solano y Brenes, 2012).

En la mayoría de los viveros, la producción de planta se realiza en envases de plástico rígido, donde se utiliza principalmente como medio de crecimiento la turba de musgo (peat moss), perlita y vermiculita, combinación conocida como mezcla estándar o mezcla base (Sánchez-Córdoba *et al.*, 2008). Una de las desventajas de

esta mezcla es su costo alto para la producción en plantas de vivero. Además, por su alto contenido de materia orgánica y humedad, es factible que se observen daños en la planta causados por especies de *Fusarium*. Como alternativa, en la actualidad se están utilizando como sustratos el aserrín y la corteza de pino a un menor costo (Maldonado-Benitez *et al.*, 2011, Hernandez-Zarate *et al.*, 2014).

Una alternativa para controlar problemas causados por *Fusarium* es el uso de agentes de control biológico, como es el caso del hongo *Trichoderma* spp. (Okorski-Adam *et al.*, 2014). Las especies más empleadas en el biocontrol son *T. virens* Mater., *T. viride* Pers. y *T. harzianum* Rifai, siendo este último, el hongo antagonista de mayor uso comercial, así como el más investigado para su aplicación en el control biológico (Benítez *et al.*, 2004; Harman *et al.*, 2008).

En los viveros forestales de nuestro país no siempre se desinfecta la semilla que se utiliza para la producción de plantas y existe el riesgo de la presencia de especies de *Fusarium* que puede afectar el proceso de germinación y el desarrollo posterior de las plantas. En tal situación, los objetivos de este estudio fueron evaluar el efecto de *Fusarium* en la germinación de semillas de *Pinus devoniana* con y sin la aplicación de *Trichoderma*, en dos diferentes sustratos, y comparar diferentes esquemas de aplicación de riego y su relación con la presencia y afectación de *Fusarium*. Se pretende comparar un esquema tradicional de riego por calendario con otras alternativas donde se apliquen los riegos en función de la pérdida de agua valorada por diferentes porcentajes de peso en comparación con el peso de referencia (saturación). Una de las hipótesis es que el sustrato que contiene mayor proporción de turba es el que presenta mayor incidencia de *Fusarium*. Otra hipótesis es que el esquema tradicional de riego presenta mayor incidencia de *Fusarium*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Se establecieron dos experimentos en los invernaderos de la División de Ciencias Forestales (DiCiFo) de la Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México, localizados en las coordenadas geográficas 19° 29' 34" N y 98° 53' 38" O y una altitud de 2240 msnm.

Experimento 1 (Sustratos, *Trichoderma* y *Fusarium*)

Se evaluaron dos sustratos: (S1), compuesto por turba de musgo, agrolita y vermiculita y (S2), compuesto por aserrín de pino, corteza de pino y turba de musgo; en una sola proporción de 60:20:20, respectivamente (Hernandez-Zarate *et al.*, 2014). El aserrín se obtuvo de un aserradero local con material fresco (no mayor de 15 días de aserrado) de *Pinus patula* Schl. et Cham. La corteza compostada es de *Pinus douglasiana* Martínez, de la región sur de Jalisco y se obtuvo de la empresa MASVI. A las mezclas de cada sustrato se les agregó fertilizante de liberación controlada Multicote® 18-6-12, con tiempo de liberación de 8 a 9 meses, en dosis de 7 g / L de sustrato.

Antes de realizar la siembra, se hizo la desinfección de la semilla a través de un lavado con hipoclorito de sodio al 10% durante 10 minutos. Posteriormente se dejó la semilla en remojo por 24 horas y finalmente se hizo nuevamente una desinfección con hipoclorito de sodio al 5% durante tres minutos. La inoculación de las plantas con el hongo antagonista *Trichoderma harzianum* (Th) se realizó en dos momentos. Uno de los tratamientos incluyó remojo de la semilla desinfectada en una solución de *Trichoderma harzianum* por una hora. Se utilizó la cepa comercial PHC® T22 de *T. harzianum* (Th), en su presentación de polvo (cepa T-22 KRL-AG2) en dosis de 3.4 g/L de agua, con una dilución de 1X10⁷ ufc/gramo de peso seco. La segunda forma de inoculación se realizó aplicando una solución del mismo producto al sustrato al momento de realizar las mezclas. Finalmente se incluyó como testigo un tratamiento sin inocular con este hongo.

Se utilizaron mesas portatubetes con 25 cavidades y tubetes de 220 mL; la semilla de *Pinus devoniana*, se obtuvo del Vivero Forestal Atzimba, en el Municipio de Zinapécuaro, Michoacán. Después de llenar los tubetes con cada tipo de sustrato, la siembra se realizó en forma directa, colocando dos semillas por cavidad (Figura 1). Un mes después, se realizó un raleo para dejar únicamente una plántula por cavidad; y cuando las plantas tengan dos meses de edad, se realizará la inoculación con *F. circinatum*. La evaluación se realizará semanalmente durante 16 semanas desde la inoculación hasta el momento de la cosecha de la planta. El riego se aplicará en forma superficial diariamente durante la germinación y emergencia de las plantas; posteriormente se aplicará cada tercer día.



Figura 1. Establecimiento de los dos experimentos de *Pinus devoniana* en los invernaderos de la División de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma Chapingo.

Variables evaluadas

Patogenicidad e incidencia. La patogenicidad de la cepa *Fusarium circinatum* empleada, se determinará por su capacidad para causar enfermedad, mediante los síntomas típicos de la secadera y pudrición de la raíz, para ello se realizará el registro de síntomas semanalmente de las plantas inoculadas. Al final del experimento, porciones de raíz de las plántulas enfermas se sembrarán en medio de cultivo PDA con sulfato de estreptomicina (0.05 mg por litro), para el reislamiento del patógeno y corroborar los postulados de Koch. Para determinar el efecto de los tratamientos se evaluará semanalmente la incidencia de *F. circinatum* y se obtendrá el porcentaje acumulado de plantas enfermas. La evaluación de incidencia y patogenicidad, se realizará desde mediados de enero hasta finales de septiembre de 2020.

Estándares e índices morfológicos. La evaluación se realizará a finales de julio de 2020, nueve meses después de la siembra. De la parte central de cada una de las mesas portatubetes se seleccionarán al azar 12 plantas, obteniendo 48 plantas por tratamiento, dando un total de 576 plantas evaluadas. Las variables medidas serán: diámetro del tallo (D), medido en la sección donde se diferencia de la raíz principal; altura de la parte aérea (A), medida desde el punto donde se midió el diámetro del tallo hasta el ápice de la yema terminal; peso seco de la raíz (PSR) y

peso seco de la parte aérea (PSA). Con una balanza analítica (OHAUS, modelo Galaxy 200), previa deshidratación de las plantas en horno de secado (FELISA, FE-143) a 70 °C, durante 72 horas. También se evaluará la relación peso seco de la parte aérea sobre el peso seco de la raíz (PSA/PSR), índice de esbeltez (IE), obtenido al dividir la altura de la planta en cm, entre el valor del diámetro en mm; índice de calidad de Dickson (ICD), obtenido con la ecuación: $PST/(A/D) + (PSA/PSR)$, (Dickson, Leaf, & Hosner, 1960).

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente al azar con arreglo factorial (2 x 2 x 3). Se utilizaron dos sustratos (S1, S2), con y sin *Fusarium circinatum* (Fc), con (dos formas de aplicación) y sin *Trichoderma harzianum* (Th), para un total de 12 tratamientos con cuatro repeticiones (Cuadro 1). Cada repetición fue una mesa portatubetes de 25 cavidades y la unidad experimental estuvo constituida por las 12 plantas del centro (48 plántulas por tratamiento, dando un total de 576 plántulas evaluadas. Para el ANAVA se utilizará el procedimiento mixto de SAS, versión 9.0 (SAS Institute, 2002) y para la comparación de medias se utilizará la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

Cuadro 1. Tratamientos utilizados en la producción de *Pinus devoniana* en tubetes individuales de 220 mL.

Tratamiento 1	{	<ul style="list-style-type: none"> • Peat Moss • Sin <i>Trichoderma</i> • Sin <i>Fusarium</i>
Tratamiento 2	{	<ul style="list-style-type: none"> • Peat Moss • Sin <i>Trichoderma</i> • Con <i>Fusarium</i>
Tratamiento 3	{	<ul style="list-style-type: none"> • Aserrin • Sin <i>Trichoderma</i> • Sin <i>Fusarium</i>
Tratamiento 4	{	<ul style="list-style-type: none"> • Aserrin • Sin <i>Trichoderma</i> • Con <i>Fusarium</i>

- Tratamiento 5
- Peat Moss
 - *Trichoderma* en semilla
 - Sin *Fusarium*

- Tratamiento 6
- Peat Moss
 - *Trichoderma* en semilla
 - Con *Fusarium*

- Tratamiento 7
- Aserrin
 - *Trichoderma* en semilla
 - Sin *Fusarium*

- Tratamiento 8
- Aserrin
 - *Trichoderma* en semilla
 - Con *Fusarium*

- Tratamiento 9
- Peat Moss
 - *Trichoderma* en sustrato
 - Sin *Fusarium*

- Tratamiento 10
- Peat Moss
 - *Trichoderma* en sustrato
 - Con *Fusarium*

- Tratamiento 11
- Aserrin
 - *Trichoderma* en sustrato
 - Sin *Fusarium*

- Tratamiento 12
- Aserrin
 - *Trichoderma* en sustrato
 - Con *Fusarium*

Experimento 2 (Fertilización, Riego y *Fusarium*)

Como primer factor se evaluaron dos niveles (dosis) de fertilización: (F1), correspondiente a la dosis baja (3.5 g / L de sustrato) y (F2), correspondiente a la dosis alta (7 g / L de sustrato). El sustrato utilizado en todos los casos estuvo compuesto por turba de musgo, agrolita y vermiculita en proporción de 60:20:20; el segundo factor fue riego que incluye 3 niveles: (R1) esquema tradicional de riego por calendario (cada tercer día), (R2) aplicación del riego cuando el peso de las charolas baje a 80% en relación con el peso de las mismas a saturación, (R3), aplicación del riego cuando el peso de las charolas baje a 70% en relación con el peso de las mismas a saturación. El tercer factor será la inoculación con *Fusarium*: (Fc1), corresponderá a los tratamientos inoculados, mientras que (Fc2) serán los tratamientos sin inocular. Se utilizaron insumos y manejo de prácticas culturales similares al experimento 1.

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente al azar con arreglo factorial (2 X 3 X 2). Se utilizaron dos niveles de fertilización (F1, F2), tres niveles de riego (R1, R2 y R3) con y sin inoculación de *Fusarium circinatum* (Fc1, Fc2)), para un total de 12 tratamientos con cuatro repeticiones. Cada repetición fue una mesa portatubetes de 25 cavidades y la unidad experimental estuvo constituida por las 12 plantas del centro (48 plántulas por tratamiento, dando un total de 576 plántulas evaluadas. Para el ANAVA se utilizará el procedimiento mixto de SAS, versión 9.0 (SAS Institute, 2002) y para la comparación de medias se utilizará la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

RESULTADOS ESPERADOS

Evaluación del efecto de la aplicación de *Trichoderma* en la germinación de *Pinus devoniana*.

Incidencia de *F. circinatum* (Fc) en plántulas de *Pinus devoniana* producidas en dos sustratos y con tres protocolos de riego (diferentes niveles de humedad).

Efecto de la dosis de fertilización en la incidencia y patogenicidad de *Fusarium*.

LITERATURA CITADA

- Benítez, T., A. M. Rincón, A. C. Limón, and C. Codón. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* Strains. *International Microbiology* 7:249-260. www.im.microbios.org
- Cibrián T., D., D. S. E. García y M. B. Don Juan. 2008. Manual de identificación y manejo de plagas y enfermedades en germoplasma y planta producida en viveros. CONAFOR. México. 153 p.
- CONAFOR, 2015. La CONAFOR incrementa la calidad de la producción de planta. Boletín informativo 154. www.conafor.gob.mx:8080/documentos/download.aspx?articulo=6426
- Ezziyani, M., S. C. Pérez, A. A. Sid, M.E. Requena, y M. E. Candela, 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). *Anales de Biología* 26: 35-45.
- Harman, G. E., T. Björkman, K. Ondik, and M. Shores. 2008. *Trichoderma* spp. for biocontrol. Changing paradigms on the mode of action and uses of *Trichoderma* spp., for biocontrol. Research Information. Cornell University, USA. 6 p. doi: 10.1564/19feb00
- Hernandez-Zarate, L., A. Aldrete, V. M. Ordaz-Chaparro, J. López-Upton y M. A. López-López. 2014. Crecimiento de *Pinus montezumae* Lamb. en vivero influenciado por diferentes mezclas de sustratos. *Agrociencia* 48:627-637.
- Maldonado-Benitez, K. R., A. Aldrete, J. López, U., H. Vaquera H. y V.M. Cetina A. 2011. Producción de *Pinus greggii* Engelm. en mezclas de sustrato con hidrogel y riego, en vivero. *Agrociencia* 45: 389-398.
- Okorski, A., T. Oszako, J. A. Nowakowska, and A. Pszczółkowska. 2014. The possibilities of biologically protecting plants against diseases in nurseries, with special consideration of Oomycetes and *Fusarium* fungi. *Forest Research Papers* 75 (3): 301-321. DOI: 10.2478/frp-2014-0029
- Peterson, M. 2008. *Fusarium* species. A British Columbia perspective in forest seedling production. *In*: Dumroese, R.K., Riley L. E. (technical coordinators). National Proceedings: Forest and Conservation Nursery Associations 2007. Fort Collins (CO): USDA Forest Service, Rocky

Mountain Research Station. Proceedings RMRS-P-57:109-125.

http://www.fs.fed.us/rm/pubs/rmrs_p057.html

Pfenning, L. H., C. S. Da Silva, M. M. De Pereira, H. Costa, V. J. Aires, A. C. García and S. A. Dos Figueredo. 2014. First report and characterization of *Fusarium circinatum*, the causal agent of pitch canker in Brazil. *Tropical Plant Pathology* 39(3):210-216.

Sánchez-Córdoba, T., A. Aldrete, V. M. Cetina-Alcalá y J. López-Upton. 2008. Caracterización de medios de crecimiento compuestos por corteza de pino y aserrín. *Madera y Bosques* 14(2):41-49.

Solano, B. M. y C. D. Brenes. 2012. Evaluación de métodos de curación de sustratos para la prevención del mal de talluelo. *Revista Forestal Mesoamericana Kurú* 9(2): 63-65.

SAS Institute. 2002. The SAS system for windows. Release 9.0. SAS Institute. Cary, NC.