

**UNIVERSIDAD NACIONAL
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA TIERRA Y EL MAR
ESCUELA DE CIENCIAS AMBIENTALES**

**CONTROL PREVENTIVO QUÍMICO O BIOLÓGICO EN LA APARICIÓN Y
AVANCE DE LA PUDRICIÓN DEL TALLO EN PLANTAS DE MELINA
CLONAL (*GMELINA ARBOREA* ROXB.)**

*Trabajo de graduación sometido a consideración del Tribunal Examinador de la
Escuela de Ciencias Ambientales de la Universidad Nacional para optar al grado
de Licenciatura en Ingeniería Forestal con énfasis en Manejo Forestal*

ANDRÉS GERARDO CARVAJAL RUIZ

Heredia, Costa Rica

Agosto, 2020

Trabajo de graduación bajo la modalidad de tesis con formato artículo científico.
Licenciatura en Ingeniería en Ciencias Forestales con énfasis en manejo forestal.

Miembros del tribunal examinador:

M.Sc. José Fabio Chaverri Fonseca
Decano Facultad Tierra y Mar

M. Sc. Marielos Alfaro Murillo
Dirección EDECA

M. Sc. Carlos Ávila Arias
Tutor del trabajo

Ph. D. Priscilla Chaverri Echandi
Lector del trabajo

M. Sc. Rafael Murillo Cruz
Lectora del trabajo

Bach. Andrés Carvajal Ruiz
Postulante del trabajo

DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo primero a Dios y a la Virgen Santísima por el don de la vida. De igual forma, a mis padres, Marvin Carvajal Esquivel y Teresita Ruiz Ugalde, quienes son mi fuente de inspiración para no claudicar en ninguna de mis metas y seguir adelante a pesar de las dificultades presentes en el camino.

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer a Dios y a la Virgen Santísima, por la oportunidad de estudiar, llevar a cabo este proyecto, escucharme y no dejarme solo en ningún momento en esta travesía. Asimismo, a mi familia por siempre estar dispuesta a extenderme una mano cuando más lo necesitaba, por el apoyo y el amor incondicional de mis padres quienes siempre estuvieron al tanto de motivarme a seguir adelante. Además, quiero agradecer a mi tutor, Carlos Ávila Arias, a mis lectores, Rafael Murillo Cruz y Priscilla Chaverri Echandi, por confiar en mi capacidad para llevar a cabo este trabajo, por las enseñanzas brindadas, por su disposición a escuchar y ayudarme en lo que necesitara para alcanzar esta meta. Además, quiero agradecer a los académicos responsables del vivero, por el apoyo brindado para llevar a cabo esta investigación, en especial al encargado, Wilberth Alvarado Duran, por su disposición cuando lo necesitaba.

Índice general

Contenido Página

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTO.....	i
RESUMEN GENERAL.....	4
ABSTRACT.....	5
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	6
REFERENCIAS.....	9
ARTÍCULOS COMPLETOS DE REVISTA.....	13
Severidad de la “ <i>Pudrición del tallo</i> en vivero sobre una colección genética de <i>Gmelina arborea</i> Roxb.....	13
Resumen.....	13
Abstract.....	14
Introducción.....	14
Materiales y métodos.....	17
Resultados y discusión.....	20
Conclusiones y recomendaciones.....	27
Referencias.....	28
Control de aparición y avance de la “ <i>Pudrición del tallo</i> ” en viveros clonales de <i>Gmelina arborea</i> Roxb.....	33
Resumen.....	33
Abstract.....	33
Introducción.....	34
Materiales y métodos.....	38
Resultados y discusión.....	42
Conclusiones y recomendaciones.....	51
Referencias.....	52
CONCLUSIONES GENERALES.....	58

Índice de cuadros

Artículo 1. Severidad de la “Pudrición del tallo” en vivero sobre una colección genética de *Gmelina arborea* Roxb.

Contenido	Página
Cuadro 1. Escala diagramática para categorizar la severidad de la pudrición del tallo en plántulas de melina (<i>Gmelina arborea</i>) clonal.	24
Cuadro 2. Índices de Incidencia y Severidad de la “pudrición del tallo” por genotipo en plantas de melina clonal, evaluados en el vivero La Amapola, La Palma, Puerto Jiménez, Costa Rica.	25

Artículo 2. Control de aparición y avance de la "Pudrición del tallo" en viveros clonales de *Gmelina arborea* Roxb.

Contenido	Página
Cuadro 1. Tratamientos evaluados para el control de la Pudrición del tallo	39
Cuadro 2. Dosis aplicada para cada uno de los tratamientos.	40
Cuadro 3 Incidencia y Severidad de la “Pudrición del tallo” por tratamiento en plantas de melina clonal, evaluados en última etapa productiva del vivero La Amapola, La Palma, Puerto Jiménez, Costa Rica.	49
Cuadro 4. Incidencia y Severidad de la “pudrición del tallo” por genotipo en plantas de melina clonal, evaluados en el vivero La Amapola, La Palma, Puerto Jiménez, Costa Rica.....	50

Índice de figuras

Artículo 1. Severidad de la “Pudrición del tallo” en vivero sobre una colección genética de *Gmelina arborea* Roxb.

Contenido	Página
Figura 1. Síntomas del estado avanzado de la enfermedad Pudrición del tallo.	18
Figura 2. Porcentaje de los síntomas de la enfermedad presentados en la población evaluada de <i>Gmelina arborea</i> Roxb.	21
Figura 3. Escala diagramática del avance de la “Pudrición del tallo” en plántulas de melina (<i>Gmelina arborea</i>) clonal en el vivero del INISEFOR en La Palma de Puerto Jiménez, Pacífico Sur de Costa Rica.	22

Artículo 2. Control de aparición y avance de la "Pudrición del tallo" en viveros clonales de *Gmelina arborea* Roxb.

Contenido	Página
Figura 1. Porcentaje de mortalidad según etapa productiva (A) y clon (B).....	43
Figura 2. Porcentaje de mortalidad registrado en los tratamientos evaluados.	44
Figura 3. Incidencia (A) y Severidad (B) de la “pudrición del tallo” por etapa productiva y tratamiento en plantas de melina clonal, evaluados en el vivero La Amapola, La Palma, Puerto Jiménez, Costa Rica.	47
Figura 4. Escala diagramática del avance de la “Pudrición del tallo” en plántulas de <i>Gmelina arborea</i> clonal en el vivero del INISEFOR en La Palma de Puerto Jiménez, Pacífico Sur de Costa Rica.....	49

Control preventivo químico o biológico en la aparición y avance de la Pudrición del tallo en plantas de melina clonal (*Gmelina arborea* Roxb.)

RESUMEN GENERAL

El proceso desarrollado en un vivero de reproducción vegetativa constituye un eslabón fundamental en el éxito de la producción clonal intensiva. Las técnicas y procedimientos desarrollados necesariamente están sujetos a cambios continuos, vinculados con la generación de conocimiento científico que cubra los vacíos de información existentes en la actualidad. Una de las áreas que debe abordarse es la de las patologías que podrían registrar efectos negativos sobre la producción; las cuales, incluso desde antes de que se presenten, deben considerarse amenazas y, por ende, es imperioso el desarrollo de medidas eficientes, tanto a nivel preventivo como curativo. Debido a lo anterior, la finalidad de este trabajo fue determinar el agente de control más eficiente en prevenir la aparición o detener el avance de la enfermedad aquí denominada *Pudrición del tallo*, en plantas de melina clonal producidas en el vivero La Amapola del INISEFOR – UNA. Para esto, primero se desarrolló una escala mediante la que se pudiese evaluar el estado de avance de la patología en mención, la que se validó al aplicarse durante el ciclo de producción de plantas de nueve distintos genotipos (1, 2, 3, 6, 8, 9, 12, 15 y 16). Posteriormente, se evaluó la efectividad de control de cinco tratamientos: un testigo absoluto, tres agentes de control químico y uno de control biológico (T, Benomil, Azoxystrobin, Caldo Bordelés y *Trichoderma* sp, respectivamente). Las variables utilizadas para determinar la efectividad fueron la incidencia y severidad de la enfermedad a lo largo de todo el proceso de reproducción vegetativa, así como la mortalidad de plantas. Se realizaron Análisis de Varianza y Prueba de Medias de Tukey entre tratamientos para identificar las diferencias estadísticas ($\alpha=0,05$). La escala desarrollada para esta enfermedad indica que sus primeros indicios son puntos, estrías o manchas en la base del tallo que evolucionan hasta comprometerlo hasta que se quiebra y la planta muere. La escala tiene tres niveles de severidad, inicia en 0, una planta sana sin síntomas visibles de la enfermedad y finaliza en nivel 3 cuando la base del tallo se ha podrido, se quiebra y muere. Los clones 16 y 8, así como el 15 y 1,

registraron la menor y mayor susceptibilidad respectivamente. El ensayo para el control de la patología registró una mortalidad total de 4,53 %, el tratamiento testigo presentó un valor significativamente mayor a los tratamientos de control, por otra parte, Q3 y B fueron los de menor mortalidad. De la misma manera, T registró los mayores valores en cuanto a incidencia y severidad de la patología a lo largo de todas las etapas del proceso de reproducción vegetativa. Se identifica a Q2 y Q1 (Azoxystrobin y Benomil, respectivamente) como los agentes de mejor control, tanto en la aparición como en el avance de la enfermedad. El comportamiento del tratamiento B (*Trichoderma* sp.) sugiere la posibilidad de implantar un control de la enfermedad alternado entre este agente biológico con los químicos seleccionados y con esto disminuir la carga química del proceso productivo.

Palabras clave: Severidad e incidencia de la patología, reproducción vegetativa, enfermedades forestales, Costa Rica.

ABSTRACT

The process developed in a vegetative reproduction nursery constitutes a fundamental link in the success of intensive clonal production; the techniques and procedures developed in it are necessarily subject to continuous changes, linked to the generation of scientific knowledge that covers the current information gaps. Without a doubt, one of the areas that must be addressed is the pathologies that could have adverse effects on production, which, even before they occur, should be considered as threats and, therefore, it is imperative to develop efficient measures, both preventive and curative. For this reason, the purpose of this work was to determine the most efficient control agent in preventing the appearance or stopping the advance of the disease here called “*Stem rot*” in clonal melina plants produced in the La Amapola nursery from INISEFOR - UNA. For this, we first developed a scale by which the state of progress of the disease in question could be evaluated, which was validated when applied during the production cycle of plants of nine different genotypes. Subsequently, the effectiveness of five treatments to control the disease was evaluated: absolute control, three chemical control agents, and one biological control (T, Benomil, Azoxystrobin, Caldo Bordelés and

Trichoderma sp). The variables used to determine the effectiveness were the incidence and severity of the disease throughout the entire vegetative reproduction process and plant mortality. Analysis of Variance and Tukey's Test of Means were performed between treatments to identify statistical differences ($\alpha = 0.05$). The scale developed for this disease indicates that its first signs are spots, striae, and spots at the base of the stem that evolve to compromise the stem, which breaks, and the plant dies. The scale has three levels of severity, starting at "0", for a healthy plant without visible symptoms of the disease, and ends at level "3" when the base of the stem has rotted, cracks, and finally dies. Clones 16 and 8 and 15 and 1 registered the lowest and highest susceptibility, respectively. The test for the control of the pathology registered a total mortality of 4.53%, the Control treatment presented a significantly higher value than the control treatments, while Q3 and B were the ones with the lowest mortality. In the same way, T registered the highest values in terms of incidence and severity of the pathology throughout all stages of the vegetative reproduction process. Q2 and Q1 (Azoxistrobina and / or Benomil, respectively) were identified as the most effective agents to control the onset and progression of the disease. The observed behavior of treatment B (*Trichoderma* sp.) suggests that implementing a disease control that alternates this biological agent with the selected chemicals, can reduce the chemical load of the production process.

Keywords: Severity and incidence of the disease, vegetative reproduction, forest diseases, Costa Rica.

INTRODUCCIÓN GENERAL

Gmelina arborea (melina) es una especie nativa del sureste asiático, de gran importancia comercial y considerada como una de las mejores y más confiables maderas en la zona (Singh, Kumar, Senthilkumar & Singh, 2006; Singh & Ansari, 2014). Se utiliza como materia prima para productos de construcción, embalaje, artesanía, fabricación de papel y forraje, entre otros (Kumar, 2007). De la misma manera, ha sido estudiada ampliamente y tomada en cuenta en los programas de mejoramiento genético gracias a su rendimiento productivo y económico (Lauridsen & Kjaer, 2002).

En Costa Rica, la melina es la segunda especie más utilizada en la reforestación con fines de producción forestal, superada únicamente por la teca (INEC, 2015), así como una de las de mayor progreso en los programas de mejoramiento genético. Todo el conocimiento generado sobre esta ha maximizado la producción por unidad de superficie (Ávila, Murillo, Murillo y Sandoval, 2015a), hasta el punto de ocupar un rol fundamental como generadora de materia prima para la industria forestal. Esto principalmente en productos de embalaje para el sector agroexportador y en la industria de construcción (Ávila, Murillo, Murillo y Sandoval 2015b; Murillo, Salas, Murillo y Ávila, 2016).

A pesar de sus bondades, ninguna inversión está exenta de amenazas y la silvicultura clonal no es la excepción (Burdon, 2006). Según la Coordinación General de Conservación y Restauración (2010) y Aparicio-Rentería Viveros-Viveros y Rebolledo-Camacho (2013) el éxito de la reforestación clonal depende principalmente de la composición genética y el vigor del material reproducido en vivero. Por esto, las actividades silviculturales en el vivero deben aplicarse, de manera estricta e intensiva (Chacón y Murillo, 2005). Un aspecto adicional por tomar en cuenta es que la baja variabilidad genética del material reproducido en el vivero clonal lo expone a un riesgo latente de la aparición de nuevos microorganismos que atentan contra la integridad sanitaria del vivero y, de esa manera, puede afectar a uno o varios de los genotipos reproducidos (Bishir y Roberds, 1997; Burley, 2001; Agrios, 2008).

La gestión adecuada de tales riesgos depende de un profundo conocimiento y comprensión de estos (Burdon, 2006). La herramienta más sencilla y utilizada en la patología forestal para comprender ciertos problemas es el triángulo de la enfermedad, cuyos vértices están conformados por tres factores: un hospedero susceptible, el patógeno y un ambiente favorable. Este último elemento influye directamente en el nivel de impacto en la incidencia y severidad de cada patología (Cobb y Metz, 2017). Adicionalmente, Riley, Williamson y Maloy (2002) y Bock, Poole, Parker y Gottwald (2010) recalcan la necesidad de tener un criterio sólido para determinar un desvío de la *normalidad* en detrimento de la salud. Lo anterior, porque una evaluación imprecisa e inexacta implica acciones incorrectas y, por ende, un mal manejo de enfermedades

cuyo efecto se reflejará en la calidad de las plantas al no cumplir con los estándares del mercado (Acosta, Murace y Aprea, 2010; Acosta, 2018).

Por otra parte, Anggraeni y Mindawati (2011) recalcan la importancia de conocer los tipos y niveles de ataque de las enfermedades y con esto el desarrollo de medidas preventivas o curativas, de manera efectiva y eficiente. Si a lo anterior se suma el alto costo que representa la producción de plantas para el proceso de reforestación (Navarro y Rodríguez, 1985), surge la necesidad de implantar metodologías de control de plagas y enfermedades. No obstante, estas prácticas han variado a través de los años debido al desarrollo del conocimiento científico (Garber, Hudson, Norcini, Jones, Chase y Bondari, 1996).

En los últimos años, el control químico ha sido el método más empleado para el combate de enfermedades, debido a su efectividad en interferir en las funciones vitales de los microorganismos patógenos (Ripanti Calderón, Vilorio y Perrin, 2006; Solano-Bonilla y Brenes-Chacón, 2012). No obstante, esta práctica genera impactos negativos, tanto en la salud humana como en el ambiente (Pérez *et al.*, 2010; Castillo *et al.*, 2012; Tao *et al.*, 2020). En consecuencia, ha surgido como metodología alternativa el uso de agentes biológicos en los que microorganismos antagonistas erradican aquellos patógenos perjudiciales con una eficacia similar a los productos químicos sin el daño que estos causan (Molina Mercader *et al.*, 2006; Hernández-Lauzardo *et al.*, 2007).

Académicos responsables del vivero La Amapola, del Instituto de Investigación y Servicios Forestales de la Universidad Nacional de Costa Rica (INISEFOR-UNA), han desarrollado un paquete tecnológico exitoso para la reproducción vegetativa de nueve genotipos de melina. El estricto protocolo aplicado ha permitido identificar una patología, provocada por un hongo, sobre las plantas producidas que se denominó *Pudrición del tallo*, pero mantuvo el nivel de daño entre el 5 % a máximo 8 % de todos los individuos, a lo largo de los últimos ciclos productivos. A pesar de que se considera un valor relativamente bajo, representa una amenaza sanitaria que podría comprometer la integridad del vivero, como ha sucedido en otros dedicados a la misma actividad. Es por todo lo que se planteó, que esta investigación se propuso como objetivo determinar el agente controlador más eficiente en prevenir la aparición y avance de la pudrición del

tallo en plantas de melina clonal de *Gmelina arborea* (Roxb.), producidas en el vivero La Amapola del INISEFOR - UNA que se convierta en un insumo para la tecnificación del paquete de reproducción vegetativa aplicado y que permita minimizar la mortalidad y maximizar la productividad.

Para lograrlo se planteó la necesidad de contar con dos capítulos; el primero elaboró una escala diagramática de fácil aplicación para determinar la severidad del ataque de la enfermedad y mediante esta identificar diferencias entre clones en cuanto a la incidencia y severidad, es decir, su susceptibilidad a la enfermedad. Con esos insumos se determinó el efecto preventivo de controladores químicos y biológicos sobre la pudrición del tallo, en el proceso de reproducción vegetativa de esta colección de clones de melina.

REFERENCIAS

Acosta, N. (2018). Identificación de enfermedades en las especies forestales producidas en la Unidad de Vivero Forestal de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP [PhD Thesis]. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales.

Acosta, N., Murace, M. y Aprea, A. (2010). Diagnóstico de enfermedades en vivero forestal: Resultados preliminares. Jornadas Forestales de Entre Ríos (XXIII, Concordia, AR) (en línea). Memoria Concordia, AR, INTA. Consultado, 29.

Agrios, G. (2008). Fitopatología. Limusa, México. Editorial Limusa, S. A.

Anggraeni, I. y Mindawati, N. (2011). Serangan Hama dan Penyakit pada *Gmelina* (*Gmelina arborea* Roxb.) di Hutan Rakyat. Tekno Hutan Tanaman. (Pest and disease attack on *Gmelina* (*Gmelina arborea* Roxb.) at Private Forest Land). 4 (2), 85-92.

Aparicio-Rentería, A., Viveros-Viveros, H. y Rebolledo-Camacho, V. (2013). Huertos semilleros clonales: una alternativa para los programas de reforestación en Veracruz. Revista Mexicana de Ciencias Forestales, 4 (20), 90-97. DOI: <https://doi.org/10.29298/rmcf.v4i20.373>

Ávila, C., Murillo, R., Murillo, O. y Sandoval, C. (2015 b). Desarrollo juvenil de clones de *Gmelina arborea* Roxb. de dos procedencias, en sitios planos del Pacífico Sur de Costa Rica. *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, 12 (28), 23–35.

Ávila, C., Murillo, R., Murillo, O. y Sandoval-Sandoval, C. (2015 a). Interacción genotipo sitio para dos conjuntos clonales de *Gmelina arborea* Roxb. en sitios planos del Pacífico Sur de Costa Rica. *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, 12 (29), 2–14.

Bishir, J. & Roberds, J. (1997). Limit theorems and a general framework for risk analysis in clonal forestry. *Mathematical Biosciences*, 142(1), 1-11. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0025-5564\(96\)00184-8](https://doi.org/10.1016/S0025-5564(96)00184-8)

Bock, C. H., Poole, G. H., Parker, P. E. & Gottwald, T. R. (2010). Plant Disease Severity Estimated Visually, by Digital Photography and Image Analysis, and by Hyperspectral Imaging. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 29(2), 59-107. DOI: <https://doi.org/10.1080/07352681003617285>

Burdon, R. (2006). Managing risk in clonal forestry. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 1(035). DOI: <https://doi.org/10.1079/PAVSNNR20061035>

Burley, J. (2001). Genetics in sustainable forestry: The challenges for forest genetics and tree breeding in the new millennium. *Canadian Journal of Forest Research*, 31(4), 561-565. DOI: <https://doi.org/10.1139/x00-135>

Castillo, L., Ruepert, C., Ramírez, F., van Wendel, B., Bravo, V., y de la Cruz, E. (2012). Estado de la nación en desarrollo humano sostenible (Informe Final N.º 18; Plaguicidas y otros contaminantes, p. 34). Recuperado de: t.ly/iQxn

Chacón, P. y Murillo, O. (2005). Análisis comparativo de la producción de minijardines clonales hidropónicos y jardines clonales en tierra de melina (*Gmelina arborea* Roxb.). 2(6), 7.

Cobb, R. y Metz, M. (2017). Tree Diseases as a Cause and Consequence of Interacting Forest Disturbances. *Forests*, 8(5), 147. DOI: <https://doi.org/10.3390/f8050147>

Coordinación General de Conservación y Restauración. (2010). Prácticas de reforestación Manual básico. Comisión Nacional Forestal.

Garber, M. P., Hudson, W. G., Norcini, J. G., Jones, R. K., Chase, A. R. & Bondari, K. (1996). Pest Management in the United States Greenhouse and Nursery Industry: I. Trends in Chemical and Nonchemical Control. *HortTechnology*, 6(3), 194b-1200. DOI: <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.6.3.194A>

Hernández-Lauzardo, A. N., Bautista-Baños, S., Gerardo, M., Valle, V., Postal, A. & Cp, M. (2007). Uso de Microorganismos Antagonistas en el Control de Enfermedades Postcosecha en Frutos. 25(1), 9.

Instituto Nacional de Estadística y Censos [INEC]. (2015). VI Censo nacional agropecuario: Resultados generales (1.a ed.). San José, Costa Rica.

Kumar, A. (2007). Growth Performance and Variability in Different Clones of *Gmelina arborea* (Roxb.). *Silvae Genetica*, 56(1-6), 32-36. DOI: <https://doi.org/10.1515/sg-2007-0005>

Lauridsen, E. B. y Kjaer, E. D. (2002). Provenance research in *Gmelina arborea* Linn. Roxb. A summary of results from three decades of research and a discussion of how to use them. 4(1), 15.

Molina Mercader, G., Zaldúa Flores, S., González Vargas, G. y Sanfuentes Von, E. (2006). Selección de hongos antagonistas para el control biológico de *Botrytis cinerea* en viveros forestales en Chile. *Bosque* (Valdivia), 27(2). DOI: <https://doi.org/10.4067/S0717-92002006000200007>

Murillo, O., Salas, A., Murillo, R. y Ávila, C. (2016). Tasa de avance de la pudrición del tronco en melina *Gmelina arborea* Roxb. y posibilidades de manejo. *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, 13(32), 40. DOI: <https://doi.org/10.18845/rfmk.v0i0.2551>

Pérez, N., Infante, C., Rosquete, C., Ramos, A., y González, C. (2010). Disminuyendo la relevancia de los plaguicidas. Alternativas a su uso. 5, 79-87. Recuperado de <https://revistas.um.es/agroecologia/article/view/160601>

Navarro, CM y Rodríguez, E. 1985. Costos de Producción en siete viveros forestales de Costa Rica (en línea). s.l., CATIE. Recuperado de <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A5449e/A5449e.pdf>

ONF. (2019). USOS-Y-APORTES-DE-LA-MADERA-2018.pdf. <https://onfcr.org/wp-content/uploads/2019/11/USOS-Y-APORTES-DE-LA-MADERA-2018.pdf>

Reforma Establece el límite de gasto al Fondo Nacional de Financiamiento Forestal, para proyectos nuevos a financiar por actividades y determinar los montos de pago por actividad, n.º R-167-2019-MINAE. (2019).

Riley, M., Williamson, M. y Maloy, O. (2002). Plant Disease Diagnosis. Plant Health Instructor. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHI-I-2002-1021-01>

Ripanti, F., Calderón, G., Vilorio, M. y Perrin, R. (2006). BASAMID Y FORMOL EN EL CONTROL DE FUSARIUM SP. EN VIVEROS FORESTALES. 11, 70-80.

Singh, S. & Ansari, S. A. (2014). Mass Multiplication of Mature Trees of *Gmelina arborea* Roxb. Through ex vitro Rooting of Rejuvenated Bud Sprouts. Research Journal of Forestry, 8(1), 25-31. DOI: <https://doi.org/10.3923/rjf.2014.25.31>

Singh, S., Kumar, A., Senthilkumar, N. & Singh, A. N. (2006). Strategies for the management of *Calocephala leayana* on *Gmelina arborea*. 132(5), 581-588.

Solano-Bonilla, M. y Brenes-Chacón, D. (2012). Evaluación de métodos de curación de sustratos para la prevención del mal de talluelo. Revista Forestal Mesoamericana Kurú, 9(22), 63. DOI: <https://doi.org/10.18845/rfmk.v9i22.365>

Tao, H., Bao, Z., Jin, C., Miao, W., Fu, Z. & Jin, Y. (2020). Toxic effects and mechanisms of three commonly used fungicides on the human colon adenocarcinoma cell line Caco-2. Environmental Pollution, 263, 114660. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114660>

ARTÍCULOS COMPLETOS DE REVISTA

Severidad de la “*Pudrición del tallo*” en vivero sobre una colección genética de *Gmelina arborea* Roxb.

Severity of “*Stem rot*” in a genetic collection of nursery seedlings of *Gmelina arborea* Roxb.

Andrés Carvajal-Ruiz

Resumen

El objetivo del estudio fue determinar el nivel de susceptibilidad de nueve genotipos de *Gmelina arborea* Roxb. a la aparición de la enfermedad denominada *Pudrición del tallo*. Para esto, se desarrolló una escala diagramática con la cual medir la severidad del ataque de esta enfermedad en plántulas reproducidas vegetativamente. Se revisaron 4000 plantas en busca de los primeros síntomas y se les dio seguimiento para entender el desarrollo de la patología. Como validación, se aplicó la escala diagramática a 100 plantas de cada uno de los nueve clones, producidos para tal fin. Los primeros indicios de la enfermedad son puntos, estrías o manchas, por lo general en la base del tallo, los cuales evolucionan hasta pudrirlo y quebrarlo y la planta muere. La escala diagramática propuesta consta de tres grados de severidad del daño, parte de un nivel 0 donde no hay síntomas visibles y culmina en el grado 3, cuando el tallo del individuo se ha podrido y se produce su muerte. El análisis estadístico identificó diferencias entre genotipos, lo que sugiere un efecto genético en cuanto a la susceptibilidad de la aparición de la patología. Se identifica a los clones 16 y 8, así como al 15 y 1, como los de susceptibilidad baja y alta a la enfermedad respectivamente. A pesar de registrarse valores de incidencia y severidad relativamente bajos, se deben tomar acciones para evitar su aparición o, en su defecto, controlarlo.

Palabras clave: Severidad e incidencia de la patología, reproducción vegetativa, clones, Costa Rica, enfermedad

Abstract

The objective of this research was to determine the level of susceptibility of nine genotypes of *Gmelina arborea* Roxb. to the appearance of the disease called here "Stem rot." A diagrammatic scale was developed to measure the severity of the attack of the pathogen on vegetatively propagated seedlings. For this purpose, four thousand plants were checked and monitored for the first symptoms of the disease to understand the development of the pathology. The scale was applied to 100 plants of each of the nine clones produced to validate it. Statistical analysis was then used to determine the differences between genotypes. The first signs of the disease are spots, stretch marks and/or small necrotic areas usually at the base of the stem. These evolve until the stem rots, compromises its rigidity, breaks, and the plant dies. Based on this, the proposed diagrammatic scale consists of three degrees of severity of damage, i.e., starts from "0", a plant free of visible symptoms, and culminates in "3", which is when the stem has rotted and the plant died. Statistical analyses suggest a genetic effect in terms of the susceptibility of the manifestation of the pathology, by identifying clones 16 and 8, and 15 and 1, as those with low and high susceptibility to the disease, respectively. In spite of registering relatively low incidence and severity values, actions must be taken to prevent its occurrence, or otherwise, to control it.

Keywords: Severity and incidence of the disease, vegetative reproduction, clones, Costa Rica, disease

Introducción

A partir de los años noventa se han implementado en Costa Rica diversas iniciativas ligadas al mejoramiento genético de especies forestales. Este proceso inició con huertos semilleros para después enfocar esfuerzos en una silvicultura clonal actualizada y sistematizada en paquetes tecnológicos para el establecimiento y manejo intensivo de sistemas de producción forestal [1, 2, 3]. Lo anterior en función tanto del uso como de la conservación de los genotipos mejor adaptados a condiciones específicas de sitio o resistentes a enfermedades. Así, los distintos sistemas pueden registrar indicadores productivos y financieros lo suficientemente atractivos que incentiven su uso en una escala comercial [4, 5, 6].

Distintos autores han generado un amplio espectro de conocimiento científico acerca de la especie *Gmelina arborea* Roxb., desde técnicas de propagación hasta sistemas novedosos para su cultivo intensivo en sitios específicos [7, 8, 3, 9, 10, 11]. A partir de esto se ha logrado la reducción de costos de producción y se garantiza material clonal de la calidad y cantidad requeridas para el mercado [12, 13, 14]. Así como la determinación de periodos óptimos de enraizamiento de la especie, tomando en cuenta diámetro y altura de los esquejes [15] y la evaluación del área foliar adecuada para maximizar el enraizamiento de la melina [16].

A pesar de estos esfuerzos, todavía existen vacíos de conocimiento en la reproducción clonal vegetativa de la especie. Por ejemplo, la selección de genotipos resistentes a enfermedades, variabilidad genética y selección de controladores químicos o biológicos eficaces para distintas enfermedades [15]. Estas carencias adquieren importancia en la estandarización del proceso, máxime ante el rol que ha asumido para la industria de la multiplicación de plantas de alta calidad.

En Costa Rica, *G. arborea* se ha convertido en una de las especies forestales que más se establece con fines comerciales debido a su rápido crecimiento, gran adaptabilidad a diferentes sitios y madera muy versátil para la elaboración de productos primarios y secundarios [17, 18, 19, 20]. No obstante, ningún proceso tendiente a generar altos rendimientos está exento de riesgos, y la silvicultura clonal no es la excepción.

Por ejemplo, los problemas fitosanitarios, causados por patógenos inherentes o los que puedan desarrollar la capacidad de infectarla, son parte de los riesgos que pueden causar la muerte parcial o total del individuo o afectar la calidad del producto [20, 21, 22]. La propagación asexual a partir de brotes tiernos o estacas predispone a las especies a presentar problemas fitopatológicos [23]. La etapa de plántula es la más delicada y es cuando se reportan la mayor parte de los ataques por hongos [8]. No obstante, la incidencia de plagas y enfermedades está más influenciada por las condiciones del vivero, el comportamiento del insecto o patógeno, las condiciones ambientales e incluso la excesiva cantidad de plantas en cada bandeja o contenedor, que propiamente si el material proviene de semilla (sexual) o reproducido mediante estacas [25].

Sin embargo, el desarrollo de problemas fitosanitarios en viveros de melina que parecen haber ocasionado serios daños en plantación se han incrementado con el uso de la reproducción vegetativa. Es decir, un material salido de vivero endeble, afectado por alteraciones morfológicas y fisiológicas como lesiones acuosas, clorosis, marchitamiento y podredumbre, causadas por agentes patógenos, impactaría negativamente el desempeño de la plantación forestal [26, 20, 22]. Además, propiciaría que quede expuesto al ataque de otros patógenos como *Nectria* sp. una vez establecido en campo [27, 28].

Para atender lo anterior es trascendental tener claro que la administración de riesgos depende de conocerlos y comprenderlos [29]. Para el caso en estudio, una vez identificado un problema fitosanitario, se debe entender y cuantificar con la mayor prontitud posible para después controlarlo, de manera que no haya una interferencia significativa en el crecimiento de los individuos. Lo anterior se debe aplicar tanto en vivero como en campo, por lo que se puede recurrir ya sea a agentes de control químico o biológico [30] o de ser posible mediante un manejo integrado de la situación. Adicionalmente, la susceptibilidad o tolerancia de los distintos genotipos hacia agentes patógenos debe tomarse en cuenta como un aspecto primordial en el mejoramiento de los procesos.

El Instituto de Investigación y Servicios Forestales de la Universidad Nacional (INISEFOR) posee y multiplica una colección de nueve genotipos de melina. En los últimos ciclos de producción vegetativa se han registrado entre un 5 % y 10 % de las plantas que presentan una pudrición en la base del tallo, precedida por distintos síntomas y signos que se considera necesario registrar e identificar cuanto antes. Se debe tomar en cuenta el peligro que representan las enfermedades fungosas en vivero [31], principalmente si se identifican materiales genéticos más sensibles que podrían llegar a ser devastados.

Es por lo anterior que el presente trabajo se planteó el objetivo de determinar si existen diferencias entre genotipos de melina en cuanto a su tolerancia o susceptibilidad al ataque de la enfermedad denominada *Pudrición del tallo*, registrada en plántulas de melina clonal en fase de vivero. Los resultados de este estudio servirán como un

insumo para el mejoramiento del paquete de reproducción clonal vegetativa aplicado a la especie, el cual debe evolucionar permanentemente en la búsqueda de producir material vegetal de alta calidad y sanidad.

Materiales y métodos

Área de estudio y material evaluado

La investigación se desarrolló en el vivero de reproducción vegetativa *La Amapola* del INISEFOR, ubicado en la provincia Puntarenas, cantón Golfito, distrito Puerto Jiménez y localidad La Palma (coordenadas geográficas N 8°36'49" y W 83°26'10"). La precipitación media anual del sitio varía entre 3500 mm y 4000 mm, se encuentra en el piso basal tropical, con una temperatura media anual que varía entre 24 °C y 28 °C [32] y en la zona de vida Bosque muy húmedo premontano transición a basal [33].

Las plantas evaluadas en la presente investigación se reprodujeron a partir de la colección clonal de melina del INISEFOR, la cual consta de nueve genotipos utilizados en el establecimiento de sistemas de producción forestal y agroforestal. Los individuos se evaluaron en dos etapas, según la metodología requerida en cada uno.

Construcción de la escala diagramática

Se evaluaron 4000 plantas provenientes de tres producciones distintas de material clonal; todas en la etapa del proceso de reproducción vegetativa denominada aclimatación, es decir, inmediatamente después de salir de los túneles de enraizamiento y antes de la etapa de endurecimiento para salir a campo. En este momento las plantas se encuentran en sustrato de turba fina (*Jiffy*) colocadas en bandejas en el suelo, a 3 m sobre ellas tienen un sarán de 75 % de sombra que filtra la luz que penetra el plástico del invernadero y una altura promedio de 10 cm por encima del sustrato.

Se revisaron todas las plantas y se seleccionaron aquellas que presentaron algún posible síntoma del inicio de la enfermedad. Posteriormente, se clasificaron y agruparon según síntomas y grado de afectación similar. Finalmente, se dejaron en grupos de al

menos 15 plantas por indicio temprano y grado de afectación de la enfermedad. De la misma manera, se seleccionaron 5 grupos de plantas que no registraron ningún síntoma, en apariencia sana, como testigo del ensayo experimental.

Todo el material se colocó en bandejas separadas y se dio seguimiento diario a la evolución de los eventuales síntomas iniciales identificados. Con esto se determinó cuál se desencadenaba en la etapa final de la enfermedad, que necesariamente debía corresponder al tope máximo de la posible escala diagramática. Es decir, la pudrición del tallo y consecuente muerte del individuo.

La Figura 1 presenta tres distintas imágenes que corresponden a ese grado final de la enfermedad. Se trata de un patógeno que se caracteriza por presentar síntomas necróticos [22, 34]. Con base en la evolución de los síntomas iniciales identificados se generó la escala, mediante la cual se determina el nivel de afectación que registra cada individuo que se evalúa.



Figura 1. Síntomas del estado avanzado de la enfermedad pudrición del tallo

Figure 1. Advanced stage symptoms of stem rot

Determinación del Índice de Incidencia y Severidad entre genotipos del conjunto genético evaluado.

Una vez generada la escala, se reprodujeron y evaluaron 100 plantas de cada uno de los nueve clones que comprenden la colección genética. El total de 900 plantas se colocó en 10 bloques de 90 individuos cada uno, que corresponden a 10 plantas de

cada genotipo. La evaluación sobre cada rameto se basó en las siguientes variables dependientes:

1- Índice de Incidencia (I.I. %): corresponde a la presencia o ausencia de la enfermedad (valorado con 1 o 0, respectivamente), a partir de lo que se obtendrá el porcentaje de plantas que registraron síntomas por cada clon, similar a la metodología empleada por [10] (ver Ecuación 1).

$$I.I. \% = \left(\frac{\sum \square\square\square\square\square\square\square\square}{\sum \square\square\square\square\square\square\square\square\square\square\square\square} \right) * 100 \text{ (1)}$$

2- Índice de Severidad (I.S.): se determinó a partir de la aplicación de la escala desarrollada y mediante una modificación a la fórmula [10]. Con base en esta variable, se evidenciaron las posibles diferencias entre genotipos en cuanto al daño provocado por la enfermedad (ver Ecuación 2). Para facilidad de análisis e interpretación, el valor obtenido por medio de la escala (valores absolutos entre 0 y 3) se transformará en una escala porcentual positiva de 0 a 100 (ver Ecuación 3).

$$I.S. = \left(\frac{\sum \square\square 0*1 + \sum \square\square 1*2 + \sum \square\square 2*3 + \sum \square\square 3*4}{\sum \square\square} \right) \text{ (2)}$$

$$I.S. \% = -1 * \left(\frac{1-I.S.}{3} \right) * 100 \text{ (3)}$$

Donde:

$\sum \square\square$ = es la sumatoria del valor de severidad de cada uno de los grados de severidad

I.S.= es el resultado arrojado por el índice de severidad

Estas variables se evaluaron al finalizar la etapa de endurecimiento, es decir, aproximadamente a la semana seis después de haberse colocado el material en el túnel de enraizamiento, justo cuando están listas para ir a campo. En esa etapa las plantas reciben toda la luz que penetra el plástico del invernadero, tienen riego restringido según el protocolo para generar cierto nivel de estrés que las prepare para las posibles condiciones de campo y registran una altura promedio entre 15 cm y 20

cm. Es en este momento que se clasificaron los clones en tolerancia alta, media y baja a la enfermedad.

Finalmente, con la información recopilada sobre incidencia y severidad por clon (variables dependientes) se llevó a cabo un Análisis de Varianza y Prueba de Medias de Tuckey mediante el *software* InfoStat/L [35], con base en las cuales se identificaron las diferencias estadísticamente significativas entre genotipos ($p < 0,05$).

Resultados y discusión

Sistematizar la información obtenida de la evaluación de las plantas de melina clonal permitió organizar secuencialmente la sintomatología de la enfermedad, para posteriormente esquematizarla en la escala de severidad propuesta. En términos generales, el 7 % (280) de las 4000 plantas evaluadas para la construcción de la escala diagramática presentó alguno de los síntomas iniciales de la enfermedad. El valor de incidencia se considera bajo si se compara con el 30 % reportado [25] para la enfermedad de ruptura de la base del tallo en melina clonal asociada con *Sclerotium* sp. en la India. Se registró el porcentaje de aparición de cada uno de los indicios de la enfermedad, solo o combinados (Figura 2).

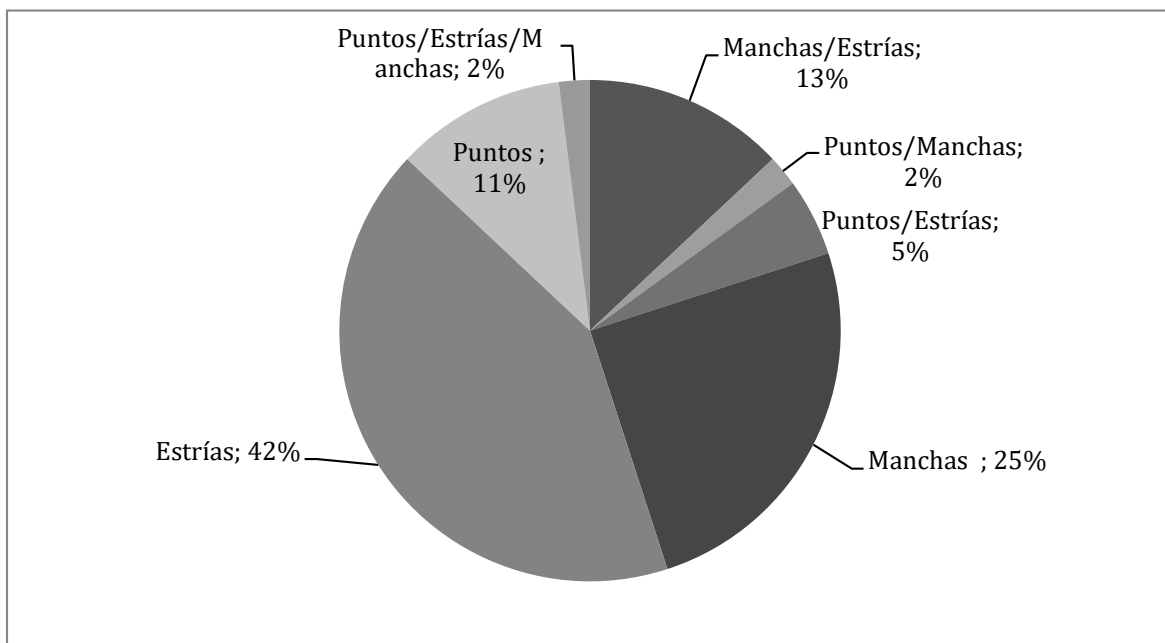


Figura 2. Porcentaje de los síntomas de la enfermedad presentados en las plantas enfermas de la población evaluada de *Gmelina arborea* Roxb.

Figure 2. Percentage of disease symptoms presented in sick plants of the evaluated population of *Gmelina arborea* Roxb.

En esas 280 plantas el síntoma que más se repitió fue la presencia de estrías, seguido por manchas de color marrón claro a oscuro y puntos de diversos tamaños (42 %, 24 % y 11 %, respectivamente). Asimismo, se presentó la combinación de síntomas, 13 % de las plantas registraron estrías y manchas de color marrón, 4 % puntos y estrías y, finalmente, un 2 % con la aparición de los tres principales síntomas (puntos-estrías-manchas). Estos síntomas concuerdan con lo reportado por [8] para la enfermedad del cuello de la raíz en plantas entre uno y dos meses de edad, además, para un tipo de antracnosis en individuos de cuatro meses, ambas en melina y en vivero.

A partir de lo observado, la evolución sintomatológica parte de cambios en la coloración del tejido epidérmico, así como puntuaciones o estrías longitudinales. La Figura 3 presenta la escala diagramática para determinar el grado de avance de la enfermedad y la severidad en cada individuo evaluado. En la mayoría de las plantas los síntomas inicialmente aparecen en los primeros 2 cm por debajo de la parte superior del *jiffy*. Esto evidencia la necesidad de revisar el tallo de la planta incluso por debajo del sustrato para asegurar que no haya síntomas. Por otra parte, en sus inicios, la afectación del patógeno es superficial, por lo que en su primera etapa no compromete la rigidez del tallo.



Figura 3. Escala diagramática del avance de la *Pudrición del tallo* en plántulas de melina (*Gmelina arborea*) clonal en el vivero del INISEFOR en La Palma de Puerto Jiménez, Pacífico Sur de Costa Rica

Figure 3. Diagrammatic scale of the progress of *Stem Rot* in clonal melina seedlings at the INISEFOR nursery in La Palma, Puerto Jiménez, South Pacific of Costa Rica

Según la escala de la Figura 3, en la primera etapa de afectación (Grado 1), las manchas tienen una forma asimétrica de coloración café claro que no cubre más de un tercio de la circunferencia del tallo. Por lo general, en este primer nivel todavía no se presentan estrías, ya sean longitudinales o forma de punto. No obstante, en caso de presentarse, estas tienden a ser de un color oscuro y no más largas a 0,5 cm. La estría longitudinal abarca un tamaño que no supera más de un tercio de la circunferencia del tallo. Las estrías con forma de punto tienden a ser muy pequeñas, con un diámetro igual o inferior a 0,1 cm. En caso de presentarse

alguna de las estrías descritas, estas no tienen secreción de líquidos a simple vista o con lupa (30x).

El Grado 2 de la enfermedad se caracteriza por una zona de afectación que se extiende hasta abarcar dos terceras partes de la circunferencia del tallo y las zonas necrosadas pueden avanzar, tanto en sentido longitudinal como radial. En este punto no se encuentran indicios aislados, sino que aparecen combinaciones de dos o incluso los tres síntomas reportados. Asimismo, en la zona afectada se puede observar la secreción de un líquido claro como respuesta del árbol ante las heridas sufridas, las cuales registran una mayor profundidad del daño y causan la afectación en la rigidez del tallo.

En la etapa final (Grado 3), la infección compromete en su totalidad la zona basal del tallo, por lo que cede y se quiebra, con lo que finalmente se genera el deceso de la planta. La coloración de la zona varía entre marrón oscuro a negro. Los individuos infectados no presentaron en ninguna de las fases anotadas daños o cambios en la composición, coloración o estructura, tanto de las hojas como de las raíces, incluso en este último nivel. Este resultado sugiere la necesidad de no basar la evaluación de sanidad de plantas de melina clonal en solo la apariencia de su follaje, con lo que resulta indispensable revisarlas en la base de los tallos y un poco más abajo, antes de colocarlas en las cajas en las que se transportarán al sitio de plantación.

El Cuadro 1 presenta los distintos niveles de la enfermedad, sistematizados mediante la escala diagramática generada en la evaluación de 4000 plántulas de melina clonal. El Grado 0 correspondió a un esqueje completamente sano, es decir, sin ningún tipo de evidencia de daño, mientras que el Grado 3 corresponde a una plántula con el tallo podrido totalmente, lo que produce la ruptura y muerte.

Cuadro 1. Escala diagramática para categorizar la severidad de la pudrición del tallo en plántulas de melina (*Gmelina arborea*) clonal

Table 1. Diagrammatic scale to categorize the severity of stem rot in clonal melina (*Gmelina arborea*) seedlings

Grado de severidad	Síntomas asociados
0	Una planta sana, no hay evidencia de síntomas visibles.
1	<p>Planta con estría longitudinal o conjunto de ellas. Tienen en la mayoría de las ocasiones una extensión de hasta 0,5 cm. Este indicio puede presentarse en una combinación con una mancha de coloración café que las envuelve.</p> <p>Planta con mancha que presenta forma asimétrica de coloración, desde café claro hasta café oscuro y que puede presentar casos con una combinación con estría en esta fase inicial.</p>
2	La zona de afectación se extiende hasta abarcar las dos terceras parte de la zona basal del individuo, extendiéndose, tanto en sentido longitudinal como radial, lo que afecta la rigidez del tallo. Tiene una predominancia de estrías agrupadas de un tamaño mayor o igual a 0,5 cm. Con una mancha envolvente de color café oscuro. Evidencia secreción de líquido en la zona afectada.
3	La infección compromete en su totalidad la zona basal del tallo, el cual, lo deja sin rigidez y por lo tanto, cede y quiebra y produce el deceso. La coloración de la zona es entre marrón oscuro a negro.

Al proponer una escala, esta debe coincidir sintomatológicamente con las características expresadas por la enfermedad [10], además, debe ser objetiva, funcional y fácil de utilizar. Al respecto, la generada en esta investigación logra registrar y entender el progreso de la enfermedad y con esto evaluar el grado de severidad que provoca la pudrición del tallo en plántulas de melina clonal. Además, en principio, la aplicación de la escala no depende del paquete

tecnológico empleado en la reproducción vegetativa de la especie, el cual puede ser tecnificado o artesanal, con lo que su ámbito de uso sería muy amplio.

Una vez verificada la empleabilidad de la escala, se procedió a aplicarla sobre 100 plantas de cada uno de los nueve clones multiplicados por el INISEFOR. Las diferencias en susceptibilidad en la aparición de la enfermedad entre genotipos se presentan en el Cuadro 2. En este se muestra que 8 de los 9 clones evaluados registraron la presencia de síntomas iniciales de la enfermedad (incidencia) en menos del 30 % de sus plantas, únicamente el clon 1 presentó un valor superior.

Cuadro 2. Índices de Incidencia y Severidad de la *podrición del tallo* por genotipo en plantas de melina clonal, evaluados en el vivero La Amapola, La Palma, Puerto Jiménez, Costa Rica

Table 2. Incidence and Severity indexes of stem rot per genotype in clonal melina plants, evaluated at the La Amapola nursery, La Palma, Puerto Jiménez, Costa Rica

Clones	Severidad (plantas * clon ⁻¹)				Incidencia (%)	Índice Severidad	Índice Severidad (%)
	0	1	2	3			
16	90	10	0	0	10 a	1,10	2,5 a
8	90	9	1	0	10 a	1,10	3,0 ab
12	86	14	0	0	14 ab	1,14	3,5 ab
2	85	14	1	0	15 ab	1,19	4,8 ab
9	83	16	1	0	17 ab	1,18	4,5 ab
6	81	18	1	0	19 ab	1,20	5,0 ab
3	79	17	3	1	21 abc	1,26	6,5 ab
15	71	26	3	0	29 bc	1,32	8,0 bc
1	62	32	2	4	38 c	1,48	12,0 c
Promedio	81	17	1	0,5	19	1,21	5,5

Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$)

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la susceptibilidad de la aparición de la enfermedad entre clones. Los resultados sugieren 3 grupos que se podrían catalogar como de baja, media y alta incidencia. Los clones 16 y 8 registraron los porcentajes menores de incidencia (10 % cada uno), además de

solo presentar plantas en los niveles 0 y 1 de la escala, por lo que se podrían denominar como de baja susceptibilidad a la aparición de la enfermedad.

Por el contrario, el 15 y 1 presentaron la mayor presencia de la enfermedad, con incidencia de 29 % y 38 %, respectivamente. Por este motivo, son estadísticamente diferentes al 16 y 8 y se catalogan como de alta susceptibilidad. Los 5 genotipos restantes (12, 2, 9, 6 y 3) registraron valores de incidencia muy similares entre sí, por lo que se agrupan como de susceptibilidad media. El resultado anterior es importante al identificar que solo los clones 1 y 3 registraron plantas en el grado 3 de la escala, lo que apunta a dos posibilidades: la primera sería tener mayores cuidados y atención sobre su reproducción vegetativa y, la segunda, eliminarlos (al menos momentáneamente) de la colección clonal que se multiplica con fines de reforestación comercial.

Al respecto, se apuntan la necesidad de ser muy cuidadosos con la producción de plantas que serán utilizadas en sistemas de producción forestal [29], ya que es un posible foco en campo para que se esparzan distintos tipos de enfermedades. Por lo tanto, es indispensable entender mejor los microorganismos, las posibles causas de patologías y su manejo.

Como es de esperar en un proceso patológico, la mayor parte de las plántulas que presentaron síntomas correspondientes a la presencia de la enfermedad se encontraron en el grado de severidad 1 en el que resalta la aparición de estrías, puntos o manchas que envuelven menos de un tercio de la circunferencia del tallo. A pesar de encontrarse plantas de seis clones catalogadas como de grado 2, fueron hasta un máximo de 3 individuos por cada 100 plantas evaluadas, lo que brinda posibilidades de actuar antes de que migren a grado 3.

El comportamiento mostrado en el ensayo es normal [36, 31], al obtener un porcentaje de incidencia general para la población de 19 %, lo que se cataloga como relativamente bajo. Lo anterior se ratifica al comparar este resultado con el 30 % de incidencia del patógeno *Sclerotium* sp [25]. Esto por ser altamente

resistente a condiciones desfavorables, con lo que consigue persistir en determinados momentos para desarrollar posteriormente la enfermedad [24]

Situación similar a la registrada en incidencia se presentó en la evaluación de la severidad (Cuadro 2). Los clones con el menor valor, es decir, el resultado más favorable, son el 16, 8 y 12. Lo contrario sucede para el 15 y 1, lo que es congruente con la incidencia descrita. Los restantes 4 genotipos registraron valores muy cercanos al promedio poblacional, lo que representa una ventana abierta de posibilidades para manejar esta situación.

Se deben tomar decisiones cuanto antes con estos clones para que no se presente un 60 % de severidad del ataque del hongo *Sclerotium* sp. sobre material clonal en vivero [26]. El hecho de que se registraran resultados similares entre clones, tanto en la incidencia como en la severidad, fortalece la investigación, principalmente en el aspecto del conocimiento generado para la toma de decisiones con base en datos obtenidos científicamente. Una correcta identificación del patógeno, así como la determinación de la naturaleza e intensidad del daño es esencial para adoptar estrategias de manejo adecuadas, con el fin de evitar un aumento en el precio, como consecuencia de la pérdida de plantas en vivero [37].

Conclusiones y recomendaciones

La escala diagramática desarrollada resultó efectiva para identificar y categorizar desde los rasgos iniciales de la enfermedad (puntos, manchas y estrías) hasta su evolución final con la quebradura del tallo como consecuencia de su pudrición. Lo anterior se ratificó en la validación, al aplicarla sobre los nueve genotipos. A pesar de registrarse valores de incidencia y severidad relativamente bajos, se debe identificar el patógeno para determinar formas de evitar su aparición o en su defecto controlarlo.

Los análisis estadísticos sugieren un efecto genético en cuanto a la susceptibilidad de la aparición de la patología. Se identifica, por un lado, a los clones 16 y 8 y, por

el otro, al 15 y 1 como los de susceptibilidad baja y alta a la enfermedad, respectivamente. Por lo tanto, no se recomienda multiplicar el clon 1 para establecimiento de sistemas de producción, al menos hasta que se identifique el agente causante de la enfermedad y su mecanismo de control.

Referencias

[1] D. Arias, “Morfometría del árbol en plantaciones forestales tropicales.” Costa Rica. Revista Forestal Kurú 2(5). Noviembre, 2005

[2] J. Vallejos, y Y. Badilla. F. Picado. O. Murillo, “Metodología para la selección e incorporación de árboles plus en programas de mejoramiento genético forestal.” Agronomía Costarricense, 33 (1), p.105-119. Octubre, 2010

[3] M. Espitia, O. Murillo, C. Castillo, “Ganancia genética esperada en melina (*Gmelina arborea* Roxb.) en Córdoba (Colombia)”. Revista Árvore, 40(1), 71-80. <https://doi.org/10.1590/0100-67622016000100008> Febrero, 2015

[4] H. Fassola, “Subprograma pinos en región mesopotámica – *Araucaria angustifolia*. En Norverto, C. (ed.). Mejores árboles para más forestadores: el programa de producción de material de propagación mejorado y el mejoramiento genético en el Proyecto Forestal de Desarrollo”. pp. 43-56. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca, y Alimentos, Buenos Aires, Argentina. Febrero, 2005.

[5] J. Cornelius y L. Ugarte, “Introducción a la Genética y Domesticación Forestal para la Agroforestería y Silvicultura.” Lima, Perú. Centro mundial para la agroforestería (ICRAF). 124 p. 2010

[6] C. Ávila-Arias, R. Murillo-Cruz, O. Murillo-Gamboa, y C. Sandoval-Sandoval, “Desarrollo juvenil de clones de *Gmelina arborea* Roxb. de dos procedencias, en sitios planos del Pacífico Sur de Costa Rica”, Revista Forestal Mesoamericana Kurú, vol. 12, n.o 28, p. 23, diciembre, 2014, DOI: 10.18845/rfmk.v12i28.2097.

- [7] F. Rojas Rodríguez, D. Arias Aguilar, R. Moya Roque, A. Meza Montoya, O. Murillo Gamboa, y M. Arguedas Gamboa, “Manual para productores de Melina”, 2013.
- [8] E. J. Umana, P. I. Akwaji, A. A. Markson, y S. E. Udo, «*Gmelina arborea* Roxb.: associated mycoflora and diseases in Cross River State, Nigeria», *Global J Sci Front Res*, vol. 15, pp. 1–11, 2015.
- [9] C. Ávila-Arias, R. Murillo-Cruz, y O. Murillo-Gamboa, “Selección de clones superiores de dos conjuntos genéticos de *Gmelina arborea* en el Pacífico Sur de Costa Rica”, *Revista de Ciencias Ambientales*, vol. 49, n.o 1, p. 17, jun. 2015, doi: 10.15359/rca.49-1.2.
- [10] A. Salas-Rodríguez, O. Murillo-Gamboa, R. Murillo-Cruz, C. Ávila-Arias, y X. Mata-Granados, “Evaluación de la severidad de la pudrición del tronco en *Gmelina arborea* Roxb.”, *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, vol. 13, n.o 32, p. 1, abr. 2016, doi: 10.18845/rfmk.v0i0.2547.
- [11] M. González-Rojas, R. Murillo-Cruz, y C. Ávila-Arias, “Crecimiento inicial de *Gmelina arborea* Roxb. aplicando diferentes tratamientos de fertilización en el Pacífico Sur de Costa Rica”, *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, vol. 13, n.o 33, p. 29, jun. 2016, doi: 10.18845/rfmk.v13i33.2575.
- [12] R. Campos, T. Pereira, G. Saraiva, P. Graziotti, y N. De Barros, “Influence of leaf area reduction on clonal production of *Eucalyptus* seedlings.” *Cerne*, 16(3): 251-257. 2010.
- [13] C. E. Moraes, R. C. de M. Fonseca, y M. Rui, “Influence of leaves in rooting of minicuttings of *eucalyptus* hybrids”, *Nucleus*, vol. 11, n.o 1, pp. 101-106, abr. 2014, doi: 10.3738/1982.2278.995.
- [14] O. Murillo-Gamboa, Y. Badilla-Valverde, y S. Barboza-Flores, “Costos de producción en ambiente protegido de clones para reforestación”, *Revista Forestal*

Mesoamericana Kurú, vol. 15, n.o 37, pp. 15-24, jun. 2018, doi: 10.18845/rfmk.v15i37.3599.

[15] J. P. Villegas-Espinoza, R. Murillo-Cruz, C. Ávila-Arias, y W. Hernández-Castro, “Influencia del área foliar en el enraizamiento de genotipos superiores de *Gmelina arborea* Roxb.”, Revista Forestal Mesoamericana Kurú, vol. 14, n.o 34, p. 13, dic. 2016, doi: 10.18845/rfmk.v14i34.2995.

[16] J. P. Villegas-Espinoza, R. Murillo-Cruz, C. Ávila-Arias, y W. Hernández-Castro, «Período óptimo de enraizamiento de clones superiores de *Gmelina arborea* Roxb.», Revista de Ciencias Ambientales, vol. 51, n.o 1, p. 1, may 2017, doi: 10.15359/rca.51-1.1.

[17] F. Cardoza, “Determinación de la rentabilidad de la producción de madera de las especie *Gmelina arborea*. Economía e inversiones forestales y agroforestales en el trópico.” Turrialba, Costa Rica: CATIE. 2009.

[18] ONF. “Usos y aportes de la madera en Costa Rica: Estadísticas 2014.” ONF: Heredia, Costa Rica. (2014).

[19] F. R. Rodríguez, “Principales especies forestales introducidas en Costa Rica”, Revista Forestal Mesoamericana Kurú, vol. 2, n.o 4, pp. 88–100, 2005.

[20] C. L. Anuagasi, J. A. Onuorah, y R. N. Okigbo, «Fungal pathogens affecting seedlings of *Gmelina arborea* Roxb. and *Tectona grandis* Lf and effect of three plant extracts», IJAT, vol. 13, pp. 307–330, 2017.

[21] M. J. Wingfield y D. J. Robison, “Diseases and insect pests of *Gmelina arborea*: real threats and real opportunities”, New Forests, vol. 28, n.o 2/3, pp. 227-243, sep. 2004, doi: 10.1023/B:NEFO.0000040950.01256.ed.

[22] Burchett, S; y Burchett, S. (2018). Plant pathology. Garland Science, Taylor & Francis

- [23] X. Scheldeman, "Distribution and potential of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) and highland papayas (*Vasconcellea* spp.) in Ecuador", PhD Thesis, Ghent University, 2002.
- [24] C. Mohanan, N. Ratheesh, L. Nair, y K. Rajesh, "Disease problems in root trainer forest nurseries in Kerala State and their management. Division of Forest Pathology." Kerala Forest Research Institute. Kerala State, India. 12 p. 2005. <http://www.metla.fi/julkaisut/workingpapers/2005/mwp011-02.pdf>
- [25] S. Rahayu, "The occurrence of pest and disease of *Gmelina arborea* from clonal and seed material in the nurseries: a case study in East Kalimantan, Indonesia. In: Proceedings of the Seventh Meeting of IUFRO Working Party: Diseases and Insects in Forest Nurseries." Hawaii, USA. 136 p. 2010. <file:///D:/Downloads/70304-hilo09.pdf>
- [26] B. Callan, Introduction to forest diseases, Rev. Victoria, B.C: Forestry Canada, Forest Insect and Disease Survey, Pacific Forestry Centre, 2001.
- [27] T. Birchler, R. W. Rose, A. Royo, y M. Pardos, «La planta ideal: revisión del concepto, parámetros definitorios e implementación practica», vol. 7, p. 13, 1998.
- [28] C. O'Reilly, M. Keane, y N. Morrissey, «The importance of plant size for successful forest plantation establishment», p. 5, 2002.
- [29] R. Burdon, "Managing risk in clonal forestry." CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources, vol. 1, n.o 35, nov. 2006, doi: 10.1079/PAVSNNR20061035.
- [30] I. Anggraeni, y N. Mindawati, "Serangan Hama dan Penyakit pada *Gmelina* (*Gmelina arborea* Roxb.) di Hutan Rakyat." Tekno Hutan Tanaman. 4 (2): 85–92. (2011).
- [31] V. R. Rai y T. Mamatha, «Seedling diseases of some important forest tree species and their management», en Diseases and Insects in Forest Nurseries. Proceedings of the 5th Meeting of IUFRO Working Party S, 2005, vol. 7, pp. 6–8.

[32] M. Kappelle, Ed., Ecosistemas del Área de Conservación Osa (ACOSA), 1. ed. Santo Domingo, Costa Rica: INBio, 2003.

[33] L. Holdridge, Ecología: basada en zonas de vida. San José, Costa Rica: Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. (1978).

[34] E. H. Franz, M. Begon, J. L. Harper, y C. R. Townsend, "Ecology: Individuals, Populations and Communities", Journal of Range Management, vol. 41, n.o 6, p. 524, nov. 1988, doi: 10.2307/3899533.

[35] J. A. Di Rienzo, F. Casanoves, M. G. Balzarini, L. González, M. Tablada, y C. W. Robledo, InfoStat. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.: Grupo InfoStat, FCA, 2008.

[36] P. A. Arneson, «Plant Disease Epidemiology», The Plant Health Instructor, 2001, doi: 10.1094/PHI-A-2001-0524-01.

[37] G. Mathew, "Nursery pests of forest tree species and their management". s.f; [online]. Available in: [https://scholar.google.co.cr/scholar?hl=en&as_sdt=0%2C5&as_vis=1&q=NURSER Y+PESTS+OF+FOREST+TREE+SPECIES+AND+THEIR+MANAGEMENT+George+Mathew+India&btnG=](https://scholar.google.co.cr/scholar?hl=en&as_sdt=0%2C5&as_vis=1&q=NURSER+Y+PESTS+OF+FOREST+TREE+SPECIES+AND+THEIR+MANAGEMENT+George+Mathew+India&btnG=)

Control de aparición y avance de la “*Pudrición del tallo*” en viveros clonales de *Gmelina arborea* Roxb.

Control of occurrence and advancement of “*Stem Rot*” in clonal nurseries of *Gmelina arborea* Roxb.

Andrés Carvajal-Ruiz

Resumen

El objetivo de la presente investigación fue determinar el agente químico o biológico más efectivo en el control de la aparición y avance de la enfermedad denominada Pudrición del tallo en vivero clonal. El diseño estadístico de Bloques Completos al Azar incluyó cinco tratamientos: un testigo absoluto (T), un agente biológico (B) y tres químicos (Q1, Q2 y Q3). Además, se utilizaron tres genotipos identificados en ensayos previos como susceptibles a esta enfermedad. Los tratamientos se aplicaron en la hidratación del *jiffy*, antes de colocar el material en los microtúneles de enraizamiento y en el momento de ingresar las plantas a la etapa de aclimatación. Las plantas se evaluaron al salir de los microtúneles, al terminar la aclimatación y al finalizar su endurecimiento. El tratamiento T registró la mayor mortalidad mientras que Q3 y B la menor. T siempre registró los mayores valores en cuanto a incidencia y severidad de la patología. Se identifica a Q2 y Q1 como los agentes que presentaron el mejor control, tanto en la aparición como en el avance de la enfermedad. El comportamiento de B (*Trichoderma* sp.) deja latente la posibilidad de un control de la enfermedad que alterne este agente biológico con los químicos seleccionados y con esto la disminución de la carga química del proceso productivo.

Palabras clave: enfermedades forestales, control químico, control biológico, reproducción vegetativa, Costa Rica

Abstract

The objective of the present investigation was to determine the most effective chemical and / or biological agent in the control of the appearance and advance of the disease called Stem rot in clonal nursery. The randomized Complete Blocks

statistical design used, included five treatments: an absolute control (T), a biological agent (B) and three chemicals (Q1, Q2 and Q3); In addition, three genotypes identified in previous tests as susceptible to this disease were used. The treatments were applied in the hydration of the jiffy, before placing the material in the micro-rooting tunnels and at the moment of entering the plants to the acclimatization stage. The plants were evaluated when leaving the micro-tunnels, at the end of acclimatization and at the end of their hardening. Treatment T registered the highest mortality while Q3 and B the lowest. T always registered the highest values in terms of incidence and severity of the pathology. Q2 and Q1 were identified as the agents that presented the best control both in the onset and progression of the disease. The behavior of B (*Trichoderma* sp.) leaves latent the possibility of a disease control that alternates this biological agent with the selected chemicals and with it the reduction of the chemical load of the production process.

Keywords: forest diseases, chemical control, biological control, vegetative reproduction, Costa Rica

Introducción

Un vivero de reproducción vegetativa es un sistema de producción intensivo de escala comercial (Chacón y Murillo 2005). Los procesos que en este se llevan a cabo influyen directamente en la calidad de la plantación forestal (para este caso en particular) y en la cantidad y calidad del producto final (O'Reilly *et al.* 2002, Abarran-Alvarado *et al.* 2012). Un retraso en la producción de las plantas provocaría pérdidas económicas a lo largo de toda la cadena de producción y valor agregado. Sin embargo, si se trata de daños en los individuos debido a plagas o enfermedades, las consecuencias serían más graves. Por esto, los paquetes tecnológicos y procesos en general, deben ser objeto de mejoras constantes que anticipen todo tipo de contratiempos, incluyendo problemas fitosanitarios (Chacón y Murillo 2005, Pildain y Errasti 2012).

Los riesgos de todo sistema de producción deben identificarse y comprenderse. Uno de estos riesgos corresponde a las enfermedades, entendidas como

alteraciones morfológicas o fisiológicas desfavorables y progresivas de un individuo, hasta el punto de que producen manifestaciones visibles como consecuencia de la acción del agente externo (González 1976). Para que una alteración cualquiera se considere una enfermedad se necesita conocer la *normalidad* de una planta, es decir, tasa de crecimiento, colores, apariencia y senescencia, entre otros aspectos, para tener un criterio sólido e identificar una desviación en detrimento de lo normal (Riley *et al.* 2002).

Adicionalmente, para que una enfermedad suceda, se necesita de la interacción de tres factores que se denominan: el triángulo de la enfermedad. Este incluye las tres aristas de un hospedero susceptible, el patógeno virulento y un ambiente favorable o conducente. La ausencia de uno bastaría para que no se desarrolle una enfermedad o patología (Obregón 2017) o al menos minimizaría la incidencia o severidad (Moreno-Vega 2017). Para minimizar los riesgos de aparición de enfermedades en el proceso de reproducción vegetativa la clave es no permitir que se complete el triángulo mencionado.

Según agente causal, las enfermedades pueden presentar sintomatologías variadas, aparecer en una etapa específica o estadio de la vida del huésped o atacar cualquier estructura de la planta (Florido y Batalon 2002, Ripanti *et al.* 2006, Juárez-Becerra *et al.* 2010, Obregón 2016). Al respecto, Agrios (1997) y Callan (2001) destacan a los hongos como los patógenos de mayor importancia, esto porque permanecen dentro del huésped por periodos prolongados o incluso de manera permanente y desarrollan sintomatología en cualquier momento. Lo anterior podría implicar a plantas endebles que no cumplen con la calidad necesaria para el suministro del mercado y con esto se produce un efecto negativo sobre el ciclo restante de producción forestal (Acosta *et al.* 2010, Acosta 2018).

El uso de productos preventivos y las prácticas de desinfección e inocuidad durante el proceso son factores determinantes para la sanidad y, por consiguiente, el éxito de una técnica como la propagación vegetativa (Dirr y Heuser 2006, Mora 2017). Distintos agentes de origen químico o biológico han sido estudiados como protectores del ataque de hongos, tanto a nivel preventivo como curativo. El

método más usado es el control químico, cuyas sustancias generalmente interfieren con las funciones respiratorias del patógeno (Ripanti *et al.* 2006, Okigbo y Odurukwe 2013, Okigbo *et al.* 2015).

No obstante, el uso de controladores químicos o biológicos se vuelve poco efectivo en el tiempo, debido a la resistencia que los patógenos adquieren como consecuencia de la constante exposición a estos productos (Pérez 2004, Olivera y Rodríguez 2014). Aunado a lo anterior, distintos autores reportan que los clones son más susceptibles al ataque de patógenos en viveros, en especial aquellos generadores de podredumbre del tallo, como consecuencia de las condiciones de humedad, de su rápido crecimiento dentro del vivero (lo que produce gran competencia) y de la baja diversidad genética del material clonal (Bishir y Roberds 1997, Okigbo y Odurukwe 2013). Esto genera la necesidad de modificar y adaptar las medidas para la administración del riesgo de ataque de estos microorganismos dentro del sistema productivo de un vivero clonal.

Gmelina arborea no está exenta del ataque de distintas plagas o enfermedades, a pesar de ser una especie con propósitos comerciales, gracias a características deseables como adaptabilidad a diferentes condiciones de sitio, crecimiento sobresaliente, fácil aserrío y versatilidad de usos (Rojas Rodríguez *et al.* 2013, Fonafifo 2010). Algunos de los patógenos que han sido reportados para melina son *Diaporthe* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Nectria* sp.; mientras que *Aratinga canicularia*, *Basiliscus basiliscos*, *Dasypus novemcintus*, *Apatelodes* sp., *Hylesia* sp., son parte de los vertebrados e insectos que atacan a esta especie forestal (Arguedas 2004).

Ravishankar-Rai y Mamatha (2015) recalcan el peligro que representan las enfermedades fungosas en vivero, a las que se les debe brindar especial atención. A pesar de esto, es muy poca o nula la información que se encuentra en la literatura respecto a agentes de control químico o biológico que permitan minimizar el impacto de una enfermedad en este sistema de producción. Los productos que se aplican corresponden al intento de adaptar lo que se utiliza en la

agricultura, con el inconveniente de que cada especie responde distinto a los distintos estímulos y agentes externos.

Otro aspecto que se debe tomar en cuenta es lo reportado por ONF (2019), quien apunta que la industria de la madera se encuentra en crisis, lo que la obliga a reducir los costos a lo largo de toda la cadena de producción forestal para poder mantenerse en el mercado. Por otra parte, Navarro y Rodríguez (1985) afirman que la producción de plantas representa un alto costo en el proceso de reforestación y que su eficiencia no solo se debe medir en términos productivos, sino en el costo que este proceso implique. Es decir, se debe contar con información científicamente robusta para tomar decisiones en el vivero clonal que incrementen la eficiencia y relación beneficio-costos de la reproducción vegetativa de la melina.

Diez años en el pasado, el Instituto de Investigación y Servicios Forestales de la Universidad Nacional (INISEFOR) inició la investigación y multiplicación de un conjunto de clones de *G. arborea*. Se ha creado un paquete tecnológico que contiene las acciones por llevar a cabo antes, durante y después del establecimiento del sistema de producción con la especie (no publicado). Adicionalmente, se creó un estricto protocolo para la reproducción vegetativa de la melina a partir de plantas madre.

En los últimos años, en otros viveros de Costa Rica en los que también se reproduce vegetativamente la especie se ha evidenciado la aparición de un hongo cuyo ataque es fulminante si no se toman las medidas adecuadas. En 2018, la mortalidad de plantas en el vivero del INISEFOR compatibles con esta patología fue de 10 %, sin tener la seguridad de que se trate del mismo patógeno. Esta cifra justifica llevar a cabo un estudio al respecto para brindar soluciones a corto plazo a los problemas que se puedan presentar e incrementar en el futuro en cualquier vivero de producción clonal de Costa Rica.

Con base en lo que se planteó, esta investigación pretendió determinar el agente de control más eficaz en la aparición y avance de la enfermedad denominada

Pudrición del tallo, como un insumo en la mejora de la eficiencia en la producción clonal al mitigar posibles impactos que genere en el proceso de producción del vivero. Al incorporar agentes de controles químicos y biológicos, mediante esta investigación se podrían sentar las bases de un manejo integrado de la patología que contribuya a minimizar la carga química en el proceso de reproducción vegetativa de la melina.

Materiales y métodos

Ubicación del estudio y material evaluado

La investigación se desarrolló en el vivero de reproducción vegetativa *La Amapola* del INISEFOR, ubicado en la provincia Puntarenas, cantón Golfito, distrito Puerto Jiménez y localidad La Palma (coordenadas geográficas N 8°36'49" y W 83°26'10"). La precipitación media anual del sitio varía entre 3500 mm y 4000 mm, se encuentra en el piso basal tropical de 0 a 500 m.s.n.m. y registra una temperatura media anual en un rango de 24 °C a 28 °C (Ecosistemas del Área de Conservación Osa 2003). Se ubica en la zona de vida bosque muy húmedo premontano transición a basal (bmh-P6) (Holdridge 1978).

Los genotipos estudiados corresponden a la colección clonal de *Gmelina arborea*, propiedad del INISEFOR, quienes la multiplican para el establecimiento de sistemas de producción forestal y agroforestal. Las plantas utilizadas en la presente investigación se produjeron específicamente para tal fin y se evaluaron al finalizar las tres etapas que comprende el protocolo de reproducción vegetativa aplicado en el vivero La Amapola, es decir, enraizamiento, aclimatación y endurecimiento.

Descripción del diseño experimental

El ensayo se estableció mediante un diseño estadístico de bloques completos al azar (BCA), con 5 bloques (repeticiones) en el que cada uno contenía los 5 tratamientos evaluados (Cuadro 1). En una investigación previa, Carvajal *et al.* (2020) identificaron los genotipos más susceptibles al ataque de esta enfermedad

(1, 3 y 15). Con base en este, se evaluarán 10 plantas de cada uno de estos clones por tratamiento para un total de 750 plantas en el ensayo. Además, se evaluarán 5 bloques, 5 tratamientos por bloque, 10 plantas por cada tratamiento y 3 clones.

Cuadro 1. Tratamientos evaluados para el control de la pudrición del tallo

Table 1. Treatments evaluated to control stem rot

Tratamiento	Descripción	Método de acción
T	Testigo absoluto: sin agentes de control biológico o químico	
B	Agente de control biológico: <i>Trichoderma</i> sp.	
Q1	Agente de control químico #1: Ingrediente activo Benomil	Sistémico
Q2	Agente de control químico #2: Ingrediente activo Azoxystrobin	Sistémico
Q3	Agente de control químico #3: Ingrediente activo Caldo Bordelés	Contacto

Como agente de control biológico, se aplicó un consorcio de varias especies del género *Trichoderma*, las cuales se multiplican en el Laboratorio de Biocontroladores del Tecnológico de Costa Rica, Sede Santa Clara de San Carlos. Antes de esta investigación, se han realizado estudios exploratorios entre este laboratorio y el INISEFOR, por lo que se tenía una idea del potencial de la *Trichoderma* sp. en el control de hongos patógenos que afectan a la melina (Solano-Jiménez *et al.* 2015).

Los tres agentes químicos se seleccionaron a partir del criterio experto de la encargada del Laboratorio de Biocontroladores del TEC (coautora de esta investigación), quien tiene amplia experiencia en la efectividad de distintos fungicidas. Además, se demostró la efectividad de estos ingredientes activos (Díaz 2018, Mozombite 2012, Kurioka et al. 2013). En el Cuadro 2 se presenta la dosis empleada para los diferentes tratamientos.

Cuadro 2. Dosis de producto formulado aplicada para cada uno de los tratamientos.

Table 2. Dose of formulated product applied for each of the treatments.

Tratamiento	Dosis del producto formulado
T	Solamente agua sin ningún agente de control
B	3,1 L en 27 litros de agua
Q1	54 g en 27 litros agua
Q2	54 g en 27 litros de agua
Q3	135 g en 27 litros de agua

Los cinco tratamientos se aplicaron en tres distintos momentos durante el desarrollo del ensayo. El primero fue al hidratar los *jiffys*, los que se introdujeron en una cubeta que contenía ya fuera solo agua, agua con el agente biológico o agua con cada uno de los productos químicos, según correspondiera. Posteriormente, los esquejes cosechados del jardín de multiplicación clonal se colocaron en estos. Las siguientes dos aplicaciones se hicieron por medio de aspersores manuales de un litro (dosis adecuada a ese volumen de agua) y directamente en la zona basal del esqueje en la que, según Carvajal *et al.* (2020), aparecen los primeros síntomas de la enfermedad en la mayoría de los casos.

Posteriormente, se realizaron dos bombeos completos en lados opuestos de la sección basal de los esquejes. La primera de esas dos aplicaciones se llevó a cabo cuando las plantas estaban listas en las bandejas para ingresar a los microtúneles de enraizamiento. La segunda, inmediatamente después de salir de los microtúneles, es decir, al pasar a la etapa de aclimatación.

Variables evaluadas

Las 750 plantas que comprendían el estudio completo se evaluaron al finalizar cada una de las tres etapas que son parte del protocolo de reproducción vegetativa. Es decir, enraizamiento al salir del microtúnel, al cumplir el periodo de aclimatación y endurecimiento al estar listas para ir a campo. Las variables dependientes que se determinaron en cada planta y sobre las cuales se basó el análisis de resultados y conclusiones fueron:

1- Incidencia (%): presencia o ausencia de la enfermedad (1 o 0, respectivamente), a partir de lo que se obtendrá el porcentaje de plantas por tratamiento y clon, adaptado de la metodología empleada por (Salas-Rodríguez *et al.* 2016) (Ecuación 1).

$$I.I \% = \left(\frac{\sum \square\square\square\square\square\square\square\square}{\sum \square\square\square\square\square\square\square\square\square\square\square\square\square\square} \right) * 100 \quad (1)$$

2- Severidad: para tal fin se aplicó la escala diagramática desarrollada por Carvajal *et al.* (2020) (Ecuación 2). Para facilitar el análisis e interpretación el valor obtenido por medio de la escala (valores absolutos entre 0 y 3) se transformó en una escala porcentual positiva de 0 a 100 (Ecuación 3).

$$I.S. = \left(\frac{\sum sv0 + \sum sv1*2 + \sum sv2*3 + \sum sv3*4}{\sum \square\square\square\square\square\square\square\square\square\square\square\square\square\square} \right) \quad (2)$$

$$I.S (\%) = -1 * \left(\frac{1-\square}{4} \right) * 100 \quad (3)$$

Donde:

$\sum \square\square$ = es la sumatoria del valor de severidad de cada uno de los grados de severidad

I.S.= es el resultado arrojado por el índice de severidad

Se le dio seguimiento a la incidencia y severidad en las tres distintas etapas del protocolo. Lo anterior, con el propósito de identificar el tratamiento más efectivo en

la prevención de la enfermedad y el que lograba continuar el proceso de reproducción vegetativa con menor incidencia y severidad a pesar de que la planta presentara síntomas iniciales. Una vez identificado el(los) agente(s) de control más efectivo(s), se extrajo la información de incidencia y severidad para los tres clones evaluados para determinar si la aplicación compensaría la susceptibilidad genética a la enfermedad..

Análisis de datos

A los datos recopilados sobre incidencia y severidad (variables dependientes) por tratamiento y clon (variables independientes) se les aplicó un Análisis de Varianza y Prueba de Medias de Tukey para identificar posibles diferencias estadísticas para las variables independientes ($\alpha=0,05$). Lo anterior mediante el uso del *software* estadístico InfoStat/L (Di Rienzo *et al.* 2008).

Resultados y discusión

El ensayo registró una mortalidad total de 4,53 % (34 plantas), considerada baja, ya que es menor a la mitad de la presentada en promedio en 2018 en el vivero La Amapola. La etapa de aclimatación registró una mortalidad mayor que las de enraizamiento y endurecimiento, quienes obtuvieron valores muy bajos y similares entre ellas (Figura 1 A). Lo anterior denota que, durante el proceso de reproducción vegetativa, se debe tener especial cuidado y atención sobre las plantas una vez que salen de los túneles de enraizamiento.

Por otra parte, de la mortalidad total registrada, el 2,54 % se atribuyó al clon 1, seguidos por el clon 15 y el 3 con porcentajes pequeños y similares entre sí (Figura 1 B). Esa mayor cantidad de plantas muertas en este clon coincide con la tendencia habitual del genotipo 1 presentada en cada ciclo de producción del vivero la Amapola¹ (información no presentada ni publicada).

¹ Alvarado, W. 30 junio 2020. Mortalidad en vivero la Amapola. (Conversación telefónica). Heredia, Costa Rica.

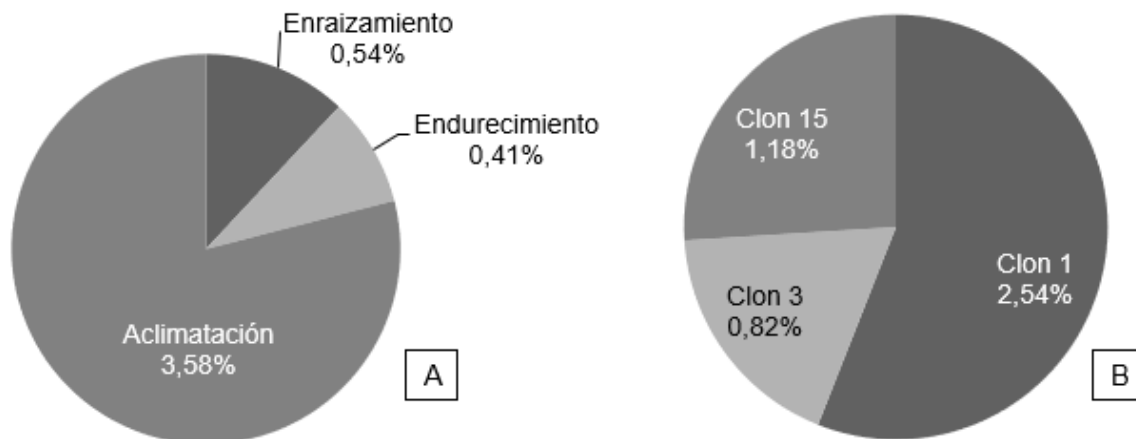


Figura 1. Porcentaje de mortalidad según etapa productiva (A) y clon (B)

Figure 1. Mortality percentage according to production stage (A) and clone (B)

En lo que respecta a la mortalidad registrada para cada uno de los tratamientos evaluados, se presentó el siguiente orden: T > Q1 > Q2 > Q3 = B, con 14, 7, 5, 4 y 4 individuos muertos, respectivamente (Figura 2). El tratamiento testigo resultó significativamente superior a los cuatro que incluyeron algún agente de control, de manera que si el valor de mortalidad registrado para T se excluyera, el ensayo habría registrado tan solo 2,67 % de individuos muertos. Lo anterior establece la importancia de incluir la aplicación de alguno de estos tratamientos como parte del protocolo de reproducción vegetativa, con lo que se obtendría un valor promedio de mortalidad 75 % inferior al registrado en 2018.

El otro aspecto por resaltar es que el agente de control biológico presentó el menor valor de mortalidad, el que fue igual al agente de control químico Q3 (Figura 2). Este resultado sugiere la posibilidad de encontrar alternativas que contribuyan a minimizar la carga química del proceso de reproducción vegetativa que se hace en el vivero La Amapola.

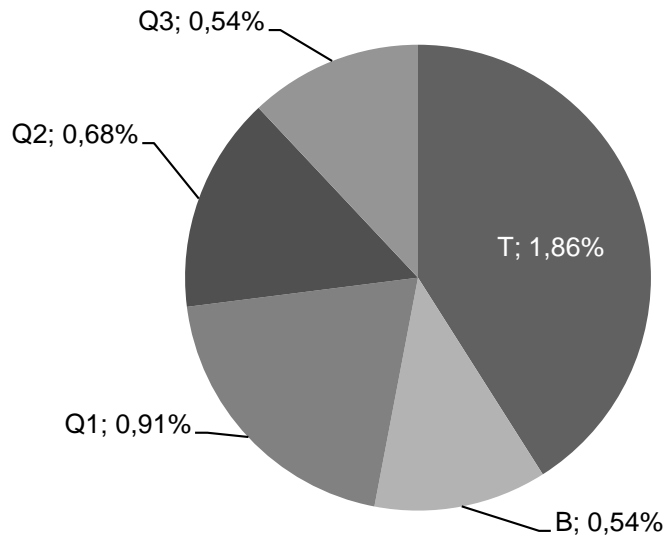


Figura 2. Porcentaje de mortalidad registrado en los tratamientos evaluados

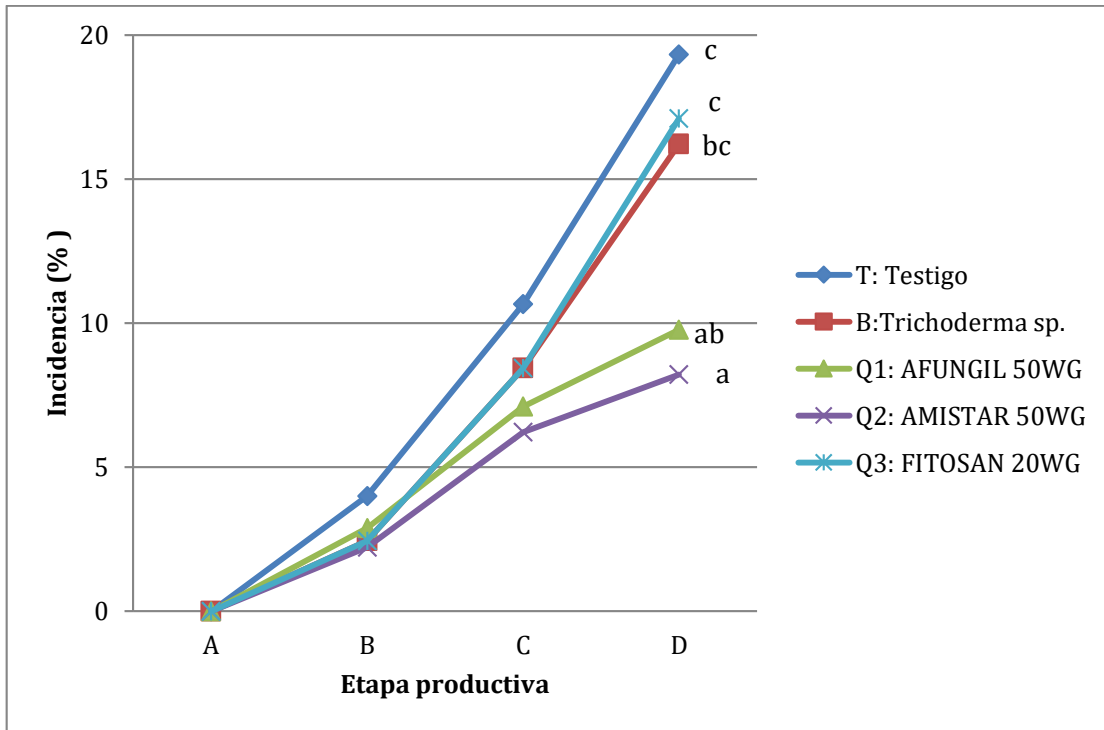
Figure 2. Mortality (%) registered in the evaluated treatments

Aunque determinar la mortalidad final de plantas, tanto por tratamiento como por clon, es necesario para una correcta toma de decisiones. De igual forma, el estudiar el efecto del uso de distintos agentes de control en la aparición y el avance en el tiempo de la enfermedad, resulta igualmente crucial. En la Figura 3 se presentan los valores promedio de incidencia (A) y severidad (B), en cada una de las etapas del proceso de reproducción vegetativa, por efecto de los tratamientos evaluados.

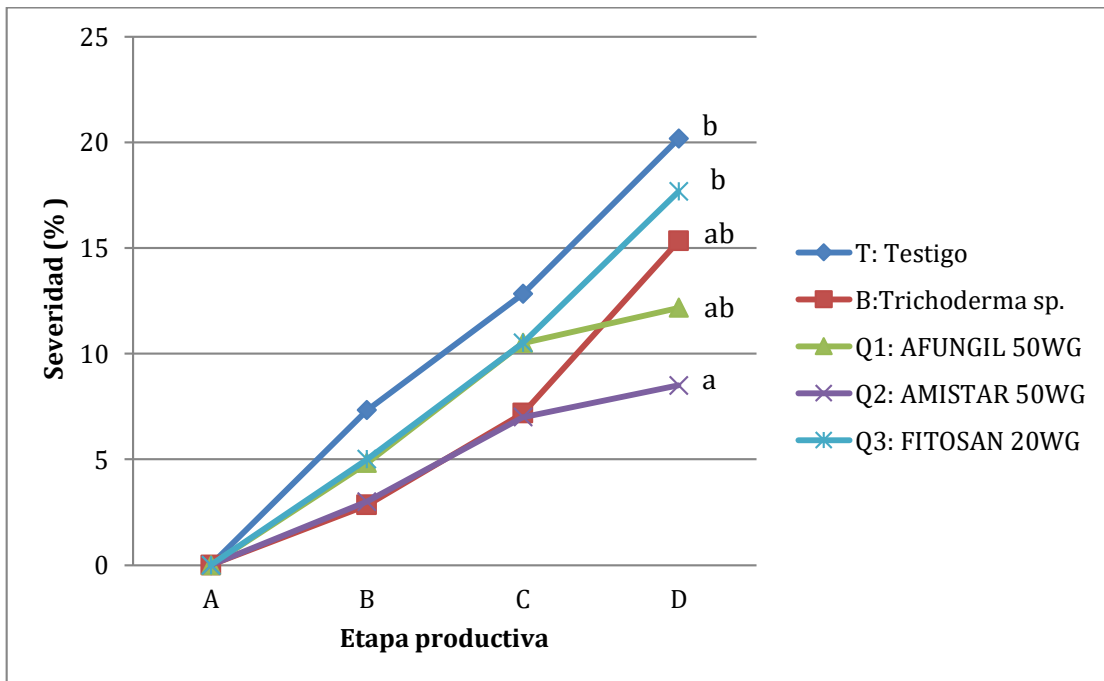
La evaluación realizada a las plantas después de su salida de los microtúneles de enraizamiento evidenció dos aspectos importantes. En primer lugar, los cuatro agentes de control estudiados tuvieron prácticamente el mismo efecto conteniendo la aparición de la enfermedad, con presencia de síntomas en un 2,5 % de las plantas. En segundo lugar, el tratamiento testigo (T) registró un valor de incidencia (4 %) significativamente superior a los demás, y esto se mantendrá en todas las evaluaciones realizadas a lo largo del ciclo de reproducción vegetativa (Figura 3 A). En la etapa de aclimatación, T registró la mayor incidencia de plantas con síntomas de la patología (10,7 %). Las plantas sometidas a los agentes de control

presentaron una incidencia máxima de 8,4 % para B y Q3, y Q2 registró la incidencia menor (6,2 %).

El orden anterior de los tratamientos, en cuanto a la incidencia registrada de la enfermedad, se mantuvo en la evaluación al finalizar la etapa de endurecimiento. Es decir, cuando las plantas estuvieron listas para ir a campo. El tratamiento T se aleja de los demás al registrar el mayor valor. Por otra parte, los resultados para Q1 y Q2 sugieren un efecto residual mayor y más efectivo en controlar el avance de la enfermedad, ya que ambos registran valores de incidencia por debajo del 10 %. En la evaluación realizada en la etapa de endurecimiento, T, B y Q3 registraron una tendencia exponencial-logarítmica, la cual se caracteriza por el aumento progresivo de la enfermedad en los primeros estadios de una epidemia (López, 2000). El mismo autor apunta que esta tendencia sugiere que no hubo ningún efecto de estos tratamientos sobre la incidencia de la enfermedad en los individuos evaluados. A pesar de que los valores de incidencia registrados por T, B y Q3 se consideran altos en comparación con Q1 y Q2, se encontraron significativamente por debajo del 30 % de incidencia registrado por Rahayu (2010) en la evaluación realizada a la enfermedad de ruptura de la base del tallo en melina clonal, asociada con *Sclerotium* sp. en la India.



A



B

Las letras mayúsculas corresponden a las etapas de la reproducción vegetativa: A- Cosecha, B- Enraizamiento, C- Aclimatación y D- Endurecimiento. Letras minúsculas corresponden a diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, prueba de medias de Tukey ($\alpha=0,05$).

Figura 3. Incidencia (A) y Severidad (B) de la *podrición del tallo* por etapa productiva y tratamiento en plantas de melina clonal, evaluados en el vivero La Amapola, La Palma, Puerto Jiménez, Costa Rica

Figure 3. Incidence (A) and Severity (B) of *stem rot* by productive stage and treatment in clonal melina plants, evaluated in the La Amapola nursery, La Palma, Puerto Jiménez, Costa Rica

Los resultados sobre el avance la severidad en el tiempo para los tratamientos, presentan el mismo patrón que en las etapas de enraizamiento y aclimatación. Es decir, el tratamiento T registró los valores más altos en cuanto a la severidad. Caso contrario, al aplicar cualquiera de los agentes de control estudiados las plantas presentaron una menor severidad del ataque de la enfermedad.

Por otra parte, Q2 y B registraron los valores menores en ambas etapas, hasta el punto de ser los únicos con menos de 10 % al finalizar la aclimatación. Este resultado sugiere que ambos tratamientos lograron minimizar la aparición de la enfermedad, y su avance en el tiempo. Lo anterior resulta de gran importancia al sugerir que en el futuro se podría llevar a cabo un manejo de la que disminuya la carga química, al recurrir a este agente biológico.

En la etapa de endurecimiento T y Q2 se mantienen como los de mayor y menor valor de severidad con 20,2 % y 8,5 %, respectivamente, con una diferencia de casi tres veces. Los tratamientos T y Q3 presentaron el mismo comportamiento exponencial-logarítmico, lo que implica que la tasa de afección sobre los individuos no ha decrecido (López 2000). A pesar de que T registró un valor que se considera muy alto en comparación con Q2, este es apenas una tercera parte del 60 % de severidad reportado por Rahayu (2010) producto del ataque de *Sclerotium* sp., causante de la ruptura de la base del tallo, en melina clonal estudiada en India.

El tratamiento Q2 logró disminuir la pendiente del incremento, por lo que se identifica como el más significativo en cuanto al control del avance de la patología evaluada, ya que es el único en mantener un valor menor al 10 %. Por otra parte, se deben resaltar los resultados para Q1 y B para el primero sugieren tener un

efecto residual significativo, debido a que en esta última etapa se identifica como el segundo mejor agente en minimizar la severidad.

Lo anterior es lo opuesto a lo registrado para el tratamiento B que, hasta la etapa de aclimatación, era capaz de disminuir la severidad igual que el mejor agente químico. En esta etapa se disparó hasta llegar a un valor de 15,3 %, lo que lo coloca como el tercer mejor agente de control. Si se toma en cuenta que no se llevó a cabo una aplicación de los distintos agentes de control al pasar de aclimatación a endurecimiento, el resultado sugiere que el efecto residual de la *Trichoderma* sp. es muy limitado en el tiempo. Entonces, para obtener mejores resultados se deben llevar a cabo aplicaciones más constantes a lo largo del proceso de reproducción vegetativa.

Los resultados en la etapa de endurecimiento, indican que únicamente los tratamientos Q2 y Q1 registraron valores por debajo del promedio general, tanto para incidencia como para severidad (Cuadro 3). Por otra parte, el análisis de varianza ratifica que el patrón presentado por Q2 (AMISTAR 50 WG) en la Figura 3, resultó estadísticamente distinto de Q3 y T. Pese de no poder diferenciarse Q2 de Q1 en incidencia y de Q1 y B en cuanto a la severidad, el peso del efecto de este tratamiento en el control de la patología estudiada lo identifican como el agente más efectivo en la aparición y avance de la pudrición del tallo.

Como se mencionó, se resalta el efecto obtenido por el tratamiento Q1 (AFUNGIL 50WG). por tener un control aceptable de la patología. El cual permite contar con un segundo agente químico para llevar a cabo una rotación adecuada de productos y con esto disminuir la posibilidad de que el patógeno causante logre crear resistencia. Por otra parte, los resultados obtenidos hasta la etapa de aclimatación sugieren que el tratamiento B (*Trichoderma* sp.) puede lograr un control aceptable. Este es un importante hallazgo en el proceso que debe continuarse para que eventualmente pueda implementarse en un manejo de la enfermedad que no dependa solo de agentes químicos.

Cuadro 3 Incidencia y Severidad de la *podrición del tallo* por tratamiento en plantas de melina clonal, evaluados en última etapa productiva del vivero La Amapola, La Palma, Puerto Jiménez, Costa Rica

Table 3. Incidence and Severity of *stem rot* by treatment in clonal melina plants, evaluated in the last productive stage of the La Amapola nursery, La Palma, Puerto Jiménez, Costa Rica

Tratamiento	Incidencia (plantas * clon ⁻¹)				Incidencia (%)	Severidad (%)
	0	1	2	3		
Q2	77	59	9	5	8,2 a	8,5 a
Q1	76	63	6	5	9,8 ab	12,2 ab
B	70	66	8	6	16,2 bc	16,7 ab
Q3	73	60	5	12	17,1 c	17,7 b
T	64	64	8	14	19,3 c	20,2 b
Promedio	72	63	7	8	14,1	14,8

Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas, prueba medias Tukey ($\alpha=0,05$)



Fuente: Carvajal *et al.* (2020).

Figura 4. Escala diagramática del avance de la *podrición del tallo* en plántulas de Gmelina arborea clonal en el vivero del INISEFOR en La Palma de Puerto Jiménez, Pacífico Sur de Costa Rica

Figure 4. Diagrammatic scale of the progress of *Stem Rot* in clonal melina seedlings at the INISEFOR nursery in La Palma, Puerto Jiménez, South Pacific of Costa Rica

Adicionalmente, la mayoría de los individuos evaluados en los tratamientos Q2, Q1 y B se encontraron en los grados 0 y 1 de la enfermedad (Cuadro 3) (Figura 4), según la escala descrita por Carvajal *et al.* (2020), lo que sustenta su selección como los más adecuados para su control. Los síntomas en estas plantas se limitaron a pequeños puntos y estrías, así como manchas superficiales que no superan el 33 % de la superficie de la circunferencia del tallo. Por otra parte, los tratamientos Q3 y T fueron los que registraron un número de plantas evaluadas en los grados 2 y 3 (Figura 4) de la enfermedad superior al promedio (Cuadro 3).

En una investigación previa desarrollada por Carvajal *et al.* (2020), los tres clones utilizados en la presente investigación se identificaron como de alta susceptibilidad genética a la enfermedad. Por este motivo, se intentó identificar el efecto que causaron los dos agentes de control químico (Q2 y Q1) sobre estos genotipos, que son los que ejercieron un mejor control de la enfermedad. Tanto en incidencia como para severidad se registró el mismo patrón, los clones 1 y 3 presentaron valores inferiores al promedio general, mientras que el 15 obtuvo valores superiores a la media de ambas variables evaluadas (Cuadro 4).

Cuadro 4. Incidencia y Severidad de la *podrición del tallo* por genotipo en plantas de melina clonal, evaluados en el vivero La Amapola, La Palma, Puerto Jiménez, Costa Rica

Table 4. Incidence and Severity of *stem rot* per genotype in clonal melina plants, evaluated in the La Amapola nursery, La Palma, Puerto Jiménez, Costa Rica

Clon	Incidencia (%)	Severidad (%)
1	15,0	6,9
3	16,7	6,1
15	23,0	10,0
Promedio	18,2	7,7

El sombreado en el cuadro identifica el clon que registró valores superiores al promedio general.

Los resultados sugieren que, a pesar de que los clones 1 y 3 presentaron susceptibilidad genética a la aparición y avance de la enfermedad, la aplicación de Amistar 50WG o Afungil 50WG la compensaría hasta el punto de registrar valores de severidad considerados como bajos (Cuadro 4). Chacón y Murillo (2005) apuntan que actividades culturales en el vivero que demuestren su beneficio en maximizar la eficiencia del proceso deben aplicarse de manera estricta e intensiva. Mejorar estos primeros eslabones de la cadena de producción forestal podría amortiguar el impacto negativo que sufre la industria de la madera recientemente (ONF 2019). Sin embargo, en el futuro se debe cuantificar el verdadero efecto de estos avances.

Aunque los valores presentados por el clon 15 en ambas variables se consideran altos, no superan los reportados por Rahayu (2010) producto del ataque de *Sclerotium* sp. en material clonal en India. Lo anterior refuerza la tesis de que ninguno de los genotipos debería eliminarse de la base genética, eventualmente podrían utilizarse para objetivos o necesidades en el futuro.

Conclusiones y recomendaciones

En total se registró una mortalidad de 34 plantas y la mayor parte correspondió al tratamiento Testigo (41 %), mientras que los tratamientos Q3 y B (Caldo Bordelés y *Trichoderma* sp., respectivamente) presentaron tan solo un 12 % cada uno. A lo largo de todas las etapas del proceso de reproducción vegetativa evaluadas, T siempre registró los valores mayores, en cuanto a incidencia y severidad de la patología, comparado con los cuatro agentes de control. Hasta la etapa de aclimatación, los tratamientos B y Q2 presentaron los valores menores de severidad. No obstante, en la etapa de endurecimiento, B se ubicó como la tercera mejor alternativa para el control, lo que sugiere que este agente biológico tiene un efecto residual limitado y deben darse aplicaciones más frecuentes.

Se identificó a Q2 y Q1 (Azoxystrobin y Benomil, respectivamente) como los agentes que presentaron el mejor control, tanto en la aparición como en el avance de la enfermedad.. Esto resulta fundamental porque permitiría la rotación de los

productos, disminuyendo la posibilidad de que el patógeno desarrolle resistencia para alguno de estos plaguicidas

El comportamiento observado del tratamiento B (*Trichoderma* sp) en las etapas de enraizamiento y aclimatación, con respecto a Q2 (Azoxystrobin), quien fue el de mejor rendimiento en el control de la enfermedad; sugiere la posibilidad de implantar un control preventivo que alterne este agente biológico con los químicos seleccionados, previa evaluación. Esto puede crear las bases de un manejo integrado de la enfermedad pudrición del tallo y con esto disminuir la carga química del proceso productivo.

Referencias

Abarran-Alvarado, D; Sosa-Pérez, G; Sigala-Rodríguez, JA; Martínez-Salvador, N; Jacinto-Soto, R. 2012. Influencia de la calidad de planta en la supervivencia y crecimiento de plantaciones forestales en Chihuahua.

Acosta, N. 2018. Identificación de enfermedades en las especies forestales producidas en la Unidad de Vivero Forestal de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP. PhD Thesis. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales.

Acosta, N; Murace, M; Aprea, A. 2010. Diagnóstico de enfermedades en vivero forestal: resultados preliminares. Jornadas Forestales de Entre Ríos (XXIII, Concordia, AR) (en línea). Memoria Concordia, AR, INTA. Consultado 29.

Agrios, G. 1997. Plant Pathology. Academic Press. 4 ed.

Arguedas, M. 2004. Problemas fitosanitarios de la melina (*Gmelina arborea* (Roxb.) en Costa Rica. 1(2):75-83.

Bishir, J; Roberds, J. 1997. Limit theorems and a general framework for risk analysis in clonal forestry. Mathematical Biosciences 142(1):1-11. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0025-5564\(96\)00184-8](https://doi.org/10.1016/S0025-5564(96)00184-8)

Callan, B. 2001. Introduction to forest diseases. Rev. Victoria, B.C, Forestry Canada, Forest Insect and Disease Survey, Pacific Forestry Centre, (Forest pest leaflet, no. 54). 15 p.

Carvajal, A; Ávila, C; Murillo, R; Chaverri, P. 2020. Severidad de la “Putridión del tallo” en vivero sobre una colección genética de *Gmelina arborea* Roxb. 18(42): De próxima publicación.

Chacón, P; Murillo, O. 2005. Análisis comparativo de la producción de minijardines clonales hidropónicos y jardines clonales en tierra de melina (*Gmelina arborea* Roxb.). 2(6):7.

Di Rienzo, JA; Casanoves, F; Balzarini, MG; González, L; Tablada, M; Robledo, CW. 2008. InfoStat. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Grupo InfoStat, FCA.

Díaz, J. 2018. Diagnóstico y control in vitro de enfermedades fungosas de orquídeas (*Dendrobium* sp y *Phalaenopsis* sp) del vivero de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto. Bachillerato. Tarapoto - Perú, Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto. 52 p.

Dirr, M; Heuser, C. 2006. The reference manual of woody plant propagation: from seed to tissue culture. 2 ed. Portland, United States, Timber press. 410 p.

Florido, L; Batalon, J. 2002. *Gmelina arborea* (Roxb.). Research information series on ecosystems.

Fonafifo. 2010. Estadísticas de PSA obtenidas desde 1998-2008. (Información sin publicar).

González, L. 1976. Introducción a la Fitopatología (en línea). San José, Costa Rica, IICA, vol.29.

Holdridge, L. 1978. Ecología: basada en zonas de vida. San José, Costa Rica: Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas.

Juárez-becerra, G; Sosa-Morales, M; López-Malo, L. 2010. Hongos fitopatógenos de alta importancia económica: descripción y métodos de control. 4(2):14-23.

Kappelle, M. (Ed.). (2003). Ecosistemas del Area de Conservación Osa (ACOSA) (1. ed.). INBio.

Kappelle, M. ed. 2003. Ecosistemas del Area de Conservación Osa (ACOSA). 1. ed. Santo Domingo, Costa Rica, INBio, (Serie Ecosistemas de Costa Rica ; The ecosystems of Costa Rica series, no. vol. 2 = vol. 2). 496 p.

Kurioka, M; Martirena, V; Mulvany, JC. 2013. Evaluación de metabolitos inducidos en plantines de *Eucalyptus Grandis* Y *E. Globulus* creciendo en vivero sobre sustrato inoculado con *Trichoderma harzianum*. Bachillerato. Montevideo Uruguay, Universidad de la República. 94 p.

Molina Mercader, G; Zaldúa Flores, S; González Vargas, G; Sanfuentes Von, E. 2006. Selección de hongos antagonistas para el control biológico de *Botrytis cinerea* en viveros forestales en Chile (en línea). Bosque (Valdivia) 27(2). DOI: <https://doi.org/10.4067/S0717-92002006000200007>

Mora, H. 2017. Efecto de diferentes tratamientos sobre la propagación vegetativa de clones superiores de caoba (*Swietenia macrophylla* king) en condiciones de invernadero. Licenciatura. Heredia, Costa Rica, Universidad Nacional de Costa Rica. 99 p.

Moreno-Vega, A. 2017. Control de plagas y enfermedades forestales. Mundi-Prensa Libros. España. 254 p.

Mozombite, JL. 2012. Efecto de diferentes niveles de aplicación orgánica (humus de lombriz) en la producción de ají charapita (*Capsicum Frutescens*) en un suelo ultisol de Pucallpa. Bachillerato. Pucallpa - Perú, Universidad Nacional de Ucayali. 50 p.

Navarro, CM; Rodríguez, E. 1985. Costos de Producción en siete viveros forestales de Costa Rica (en línea). s.l., CATIE. Disponible en <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A5449e/A5449e.pdf>

O'Reilly, C; Keane, M; Morrissey, N. 2002. The importance of plant size for successful forest plantation establishment. (Serie Reproductive Material) 5:5.

Obregón, V. 2016. Guía para la identificación de las enfermedades del pimiento en invernadero (en línea). s.l., INTA. Disponible en https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta-guia_identificacion_de_las_enfermedades_de_pimiento_en_invernadero_0.pdf

Obregón, V. 2017. Guía para la identificación de las enfermedades de las Cucurbitáceas..pdf. INTA.

Okigbo, R; Opara, P; Anuagasi, C. 2015. Efficacy of extracts of water yam (*Dioscorea alata*) and aerial yam (*Dioscorea bulbifera*) peels in the control of white yam (*Dioscorea rotundata*) rot. 11:20.

Okigbo, RN; Odurukwe, CN. 2013. Occurrence and Control of Fungal Rot Pathogens of Yams (*Dioscorea* spp) with Leaf Extracts of *Chromola odorata*, *Carica papaya* and *Aspilia africana*. 2(3).

Olivera, V; Rodríguez, L. 2014. Evaluación de crecimiento, sanidad y resistencia a heladas de tres híbridos de *Eucalyptus grandis* con aplicación de bio estimulantes, *Trichoderma harzianum* (Trichosoil®) y Quitosano (Biorend®), en plantación. Bachillerato. Montevideo, Uruguay, Universidad de la República. 125 p.

ONF. 2019. Precios de la madera de las especies más comercializadas. s.l., s.e.

Pérez, N. 2004. Manejo ecológico de plagas. Ciudad de La Habana, Cuba, Centro de Estudios de Desarrollo Agrario y Rural-CEDAR.

Pildain, MB; Errasti, A. 2012. Hongos patógenos de Pinos en la Patagonia y su asociación con plagas entomológicas. (Serie Manejo Integrado de Plagas Forestales) 12:14.

Rahayu, S. 2010. The occurrence of pest and disease of *Gmelina arborea* Roxb. from clonal and seed material in the nurseries: a case study in east kalimantan, indonesia. Hawaii, USA., s.e., (Proceedings of the Seventh Meeting of IUFRO Working Party: Diseases and Insects in Forest Nurseries.). 136 p. p.

Ravishankar-Rai, V; Mamatha, T. 2015. Seedling diseases of some important forest tree species and their management. :51-64.

Riley, M; Williamson, M; Maloy, O. 2002. Plant Disease Diagnosis (en línea). Plant Health Instructor . DOI: <https://doi.org/10.1094/PHI-I-2002-1021-01>

Ripanti, F; Calderón, G; Vilorio, M. 2006. Basamid y formol en el control de *fusarium* sp. en viveros forestales. (En línea). 11. Disponible en <https://ebookcentral.proquest.com>

Rojas-Rodríguez, F; Arias-Aguilar, D; Moya-Roque, R; Meza-Montoya, A; Murillo-Gamboa, O; Arguedas-Gamboa, M. 2013. Manual para productores de Melina. .

Rueda-Sánchez, A; Benavides-Solorio, JDD; Saenz-Reyez, JT; Muñoz Flores, HJ; Prieto-Ruiz, JÁ; Orozco Gutiérrez, G. 2018. Calidad de planta producida en los viveros forestales de Nayarit. Revista Mexicana de Ciencias Forestales 5(22):58-73. DOI: <https://doi.org/10.29298/rmcf.v5i22.350>

Salas-Rodríguez, A; Murillo-Gamboa, O; Murillo-Cruz, R; Ávila-Arias, C; Mata-Granados, X. 2016. Evaluación de la severidad de la pudrición del tronco en *Gmelina arborea* Roxb. Revista Forestal Mesoamericana Kurú 13(32):01. DOI: <https://doi.org/10.18845/rfmk.v0i0.2547>

Solano-Jiménez, LF; Mata-Granados, X; Murillo-Gamboa, O. 2015. Efecto de extractos de metabolitos de dos aislados nativos *Trichoderma* sp. sobre el crecimiento y desarrollo de brotes juveniles de melina (*Gmelina arborea* Roxb. ex

Sm.) bajo condiciones de minitúnel. Revista Forestal Mesoamericana Kurú
12(29):53. DOI: <https://doi.org/10.18845/rfmk.v12i29.2255>

CONCLUSIONES GENERALES

La escala diagramática desarrollada resultó efectiva para identificar y categorizar desde los rasgos iniciales de la enfermedad (puntos, manchas y estrías) hasta su evolución final con la quebradura del tallo como consecuencia de su pudrición. Lo anterior se ratificó al aplicarla sobre los nueve genotipos. A pesar de registrarse valores de incidencia y severidad relativamente bajos, se debe poner énfasis en identificar el patógeno para determinar formas de evitar su aparición o, en su defecto, controlarlo.

A lo largo de todas las etapas del proceso de reproducción vegetativa evaluadas, T siempre registró los mayores valores en cuanto a incidencia y severidad de la patología, comparado con los cuatro agentes de control. Hasta la etapa de aclimatación, los tratamientos B y Q2 presentaron los valores menores de severidad. No obstante, en la etapa de endurecimiento, B se ubicó como la tercera mejor alternativa para el control, lo que sugiere que este agente biológico tiene un efecto residual limitado y deben darse aplicaciones más frecuentes.

Se identifica a Q2 y Q1 (Azoxystrobin y Benomil, respectivamente) como los agentes que presentaron el mejor control, tanto en la aparición como en el avance de la enfermedad. Esto es fundamental en la rotación de productos que minimice la posibilidad de que el patógeno desarrolle resistencia.

El comportamiento observado del tratamiento B (*Trichoderma* sp.) sugiere la posibilidad de implantar un control de la enfermedad que alterne este agente biológico con los químicos seleccionados, previa evaluación. Esto puede crear las bases de un manejo integrado de la enfermedad *pudrición del tallo* y con esto la disminución de la carga química del proceso productivo.