



DOI: [10.29298/rmcf.v15i83.1446](https://doi.org/10.29298/rmcf.v15i83.1446)

Artículo de investigación

Control biológico de *Fusarium circinatum* Nirenberg & O' Donnell 1998 con *Trichoderma harzianum* Rifai 1969 en *Pinus devoniana* Lindl.

Biological control of *Fusarium circinatum* Nirenberg & O' Donnell 1998 with *Trichoderma harzianum* Rifai 1969 in *Pinus devoniana* Lindl.

María Alejandra Ortega Cerón¹, Elizabeth Hernández Acosta², Silvia Edith García Díaz^{1*}, Antonio Villanueva Morales¹

Fecha de recepción/Reception date: 10 de octubre de 2023.

Fecha de aceptación/Acceptance date: 16 de febrero de 2024.

¹División de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo. México.

²División de Suelos, Universidad Autónoma Chapingo. México.

*Autor para correspondencia; correo-e: edith65@gmail.com

*Corresponding author; e-mail: edith65@gmail.com

Resumen

La secadera o mal de almácigo causada por *Fusarium circinatum* es un problema importante en la producción de planta en viveros forestales. El objetivo de esta investigación fue evaluar a *Trichoderma harzianum* como alternativa para controlar de manera preventiva a *F. circinatum* con el método de aplicación y la utilización de dos mezclas de sustratos: (1) turba de musgo, agrolita y vermiculita, y (2) aserrín, corteza de pino y turba de musgo. Se utilizaron tres formas de aplicación de *T. harzianum*: al sustrato, a la semilla y sin el hongo; lo que dio un total de 12 tratamientos con arreglo factorial completamente al azar (2×3×2). Se evaluó el efecto del sustrato, la forma de aplicación de *T. harzianum* y su interacción sobre la patogenicidad e incidencia de *F. circinatum* y las propiedades morfológicas de las plántulas. Los resultados indicaron que las características morfológicas en el crecimiento de la cepa coinciden con los descritos para *F. circinatum* y resultó ser patogénica, ya que causó enfermedad. La patogenicidad de *F. circinatum* disminuyó en aquellos tratamientos en los que se adicionó *T. harzianum* al sustrato, y presentó una respuesta positiva en la mezcla a base de aserrín con lo cual se aseguró una mejor calidad de planta. La aplicación de *T. harzianum* al sustrato y el uso de la mezcla a base de aserrín pueden servir como una alternativa para el control de *F. circinatum*, además de proveer mejores índices de calidad de planta.

Palabras clave: Biocontrol, calidad de planta, fitopatógeno, *Fusarium circinatum* Nirenberg & O' Donnell 1998, hongo antagonista, incidencia.

Abstract

The drying or seedbed evil caused by *Fusarium circinatum* is a problem of importance in plant production in

forest nurseries. The aim of this study was to assess *Trichoderma harzianum* as an alternative to prevent *F. circinatum* with the method of application and the use of two mixtures of substrates: (1) Peat moss, agrolite and vermiculite, and (2) Sawdust, pine bark and peat moss. Three forms of application of *T. harzianum* were made: to the substrate, to the seed and without the fungus, which gave a total of 12 treatments with completely at random factorial arrangement (2×3×2). The effect of the substrate was evaluated, the form of application of *T. harzianum* and its interaction on the pathogenicity and incidence of *F. circinatum* and the morphological properties of the seedlings. The results indicate that the morphological characteristics in the growth of the strain coincide with those described for *F. circinatum* and turned out to be pathogenic when causing disease. The pathogenicity of *F. circinatum* decreased in those treatments where *T. harzianum* was applied to the substrate, showing a positive response in the sawdust-based mixture and ensuring a better plant quality. The application of *T. harzianum* to the substrate and the use of sawdust-based mixture can serve as an option for the *F. circinatum* fungus, providing better plant quality indexes.

Key words: Biocontrol, plant quality, phytopathogen, *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell 1998, antagonistic fungus, incidence.

Introducción

México pierde alrededor de 47 770 hectáreas de cobertura forestal al año debido a actividades antropogénicas, por lo que se ha buscado el desarrollo de programas de reforestación que permitan su recuperación (Gómez, 2021). Para ello, se emplea planta de calidad proveniente de un vivero forestal que garantice sanidad y características morfo-fisiológicas necesarias para su establecimiento en campo (Buamscha *et al.*, 2012; Sáenz *et al.*, 2014). La calidad de la planta está determinada por condiciones fisicoquímicas que sean idóneas para su producción.

Una de las taxa más utilizados en los programas de reforestación es *Pinus devoniana* Lindl., por su adaptabilidad y beneficios económicos. Esta especie generalmente se produce en sustrato a base de musgo de turba o *peat moss*, vermiculita y agrolita (55:35:10) con fertilizante de lenta liberación (30-15-10); sin embargo, se ha observado que estas mezclas favorecen el desarrollo de plagas y enfermedades (Conafor, 2001; Sáenz-Romero, 2014).

Los hongos fitopatógenos son los agentes más dañinos por su acelerada reproducción, por lo que es necesario realizar muestreos constantes para evitar

enfermedades (Murace y Aprea, 2011). *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell 1998 afecta a plántulas de pino desde la etapa de semilla, ocasiona daños en el embrión e hipocótilo, causa doblamiento del tallo, pudrición de raíz, decoloración de acículas y la muerte. Su presencia puede provocar pérdidas de 40 hasta 100 % de la planta producida (González *et al.*, 2008; García-Díaz *et al.*, 2017).

Existen sustratos alternativos elaborados a partir de subproductos del proceso de producción de planta en los viveros forestales, lo que reduce el costo unitario de la planta (Aguilera *et al.*, 2016). Para el control del patógeno hay opciones como el uso del hongo antagonista del género *Trichoderma* Pers. 1794 (Okorski *et al.*, 2014).

Se han realizado estudios enfocados en analizar el efecto de las mezclas de sustrato sobre la patogenicidad de *F. circinatum* como el de García-Díaz *et al.* (2017), quienes evaluaron la patogenicidad del hongo en tres mezclas de sustratos y durante la etapa de germinación de *Pinus greggii* Engelm. ex Parl. Por su parte, Robles *et al.* (2016) evaluaron en etapa de vivero el ataque de *Fusarium oxysporum* Schltdl. 1824 y *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. 1881 en plántulas de *Pinus* spp. Asimismo, Moraga-Suazo *et al.* (2011) compararon la eficacia del control ejercido sobre *F. circinatum* con *Trichoderma* spp. y *Clonostachys* spp. en plántulas de *Pinus radiata* D. Don.

Con base en lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* Rifai 1969 como una alternativa de manejo preventivo a *Fusarium circinatum*, con el método de aplicación y la utilización de dos mezclas de sustrato.

Materiales y Métodos

Área de estudio

El experimento se realizó del 9 de mayo de 2021 al 26 de enero de 2022 en el invernadero de la División de Ciencias Forestales (Dicifo) de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH), en Texcoco, Estado de México; ubicado entre los 19°29'34" N y los 98°53'38" O, a 2 240 msnm. El interior del invernadero se mantuvo a temperatura de 24 °C durante el estudio.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se estableció un experimento factorial completamente al azar (2×3×2) con cuatro repeticiones; los factores evaluados fueron: (A) mezcla de sustrato, con dos niveles (S1 y S2, descritos más adelante), (B) método de aplicación de *T. harzianum*, con tres niveles (aplicación al sustrato, aplicación a la semilla y sin aplicar), y (C) presencia de *F. circinatum*, con dos niveles (presencia o ausencia del hongo). Se evaluó su efecto combinado, por lo que se tuvieron 12 tratamientos (Cuadro 1). La unidad experimental fueron 12 plantas de *P. devoniana* en tubetes de 220 mL. En total, se utilizaron 48 charolas. Las variables respuesta fueron incidencia, severidad y calidad de planta.

Cuadro 1. Tratamientos establecidos para la evaluación de mezclas de sustrato, método de aplicación de *Trichoderma harzianum* Rifai 1969, ausencia y presencia de *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell 1998 en plantas de *Pinus devoniana* Lindl.

Tratamientos	Descripción
T1	S1+ <i>T. harzianum</i> Rifai 1969 al sustrato
T2	S1+ <i>T. harzianum</i> Rifai 1969 al sustrato+ <i>F. circinatum</i> Nirenberg & O'Donnell 1998
T3	S2+ <i>T. harzianum</i> Rifai 1969 al sustrato
T4	S2+ <i>T. harzianum</i> Rifai 1969 al sustrato+ <i>F. circinatum</i> Nirenberg & O'Donnell 1998
T5	S1+ <i>T. harzianum</i> Rifai 1969 a la semilla
T6	S1+ <i>T. harzianum</i> Rifai 1969 a la semilla+ <i>F. circinatum</i> Nirenberg & O'Donnell 1998
T7	S2+ <i>T. harzianum</i> Rifai 1969 a la semilla
T8	S2+ <i>T. harzianum</i> Rifai 1969 a la semilla+ <i>F. circinatum</i> Nirenberg & O'Donnell 1998
T9	S1
T10	S1+ <i>F. circinatum</i> Nirenberg & O'Donnell 1998
T11	S2
T12	S2+ <i>F. circinatum</i> Nirenberg & O'Donnell 1998

S1 = Sustrato 1 (turba de musgo+agrolita+vermiculita); S2 = Sustrato 2 (aserrín de pino+corteza de pino+turba de musgo).

Se realizó un Anava a través del procedimiento *Glimmix* de SAS, versión 13.1 (SAS Institute Inc., 2013) y comparación múltiple de medias con la prueba de *Tukey* a un nivel de significancia de 0.05.

El modelo fue el siguiente:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + C_k + (AB)_{ij} + (AC)_{ik} + (BC)_{jk} + (ABC)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl} \quad (1)$$

Donde:

Y_{ijkl} = Variable por evaluar (incidencia, severidad y calidad de planta)

μ = Media general

A_i = Efecto del i -ésimo nivel del factor A (Mezcla del sustrato)

B_j = Efecto del j -ésimo nivel del factor B (Método de aplicación de *T. harzianum*)

C_k = Efecto del k -ésimo nivel del factor C (presencia de *Fusarium*)

$(AB)_{ij}$ = Interacción de i -ésimo nivel del factor A con j -ésimo nivel del factor B

$(AC)_{ik}$ = Interacción de i -ésimo nivel del factor A con k -ésimo nivel del factor C

$(BC)_{jk}$ = Interacción de j -ésimo nivel del factor B con k -ésimo nivel del factor C

$(ABC)_{ijk}$ = Interacción de i -ésimo nivel del factor A con j -ésimo nivel del factor B con k -ésimo nivel del factor C

ε_{ijkl} = Error estándar

Semilla y sustratos

Se utilizaron dos mezclas de sustrato, S1: turba de musgo, agrolita y vermiculita, y S2: aserrín de pino de 15 días de aserrado, corteza de pino compostada y turba de

musgo, 60:20:20 y se agregó fertilizante *Multicote*[®] 18-6-12, en dosis de 7 g L⁻¹ de sustrato (Cuadro 1). Se colocaron dos semillas de *P. devoniana* por tubete, previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio (NaClO) al 10 % durante 10 minutos, seguido de 24 horas de remojo con agua esterilizada y una segunda desinfección con NaClO al 5 % por 3 min. Se realizó el riego superficial por un mes y posteriormente cada tercer día.

Inoculación con *Trichoderma harzianum*

Se prepararon 14 L de una solución de *T. harzianum* (cepa comercial *PHC*[®] T22) a 1×10^{-7} UFC g⁻¹ de peso seco. La dosis de aplicación fue de 3.4 g L⁻¹ de agua. Los tratamientos con *T. harzianum* al sustrato fueron: T1, T2 (S1) y T3, T4 (S2). Los que recibieron *T. harzianum* con remojo de la semilla por 60 min. fueron: T5, T6 (S1) y T7, T8 (S2); mientras que aquellos sin *T. harzianum* correspondieron a los tratamientos: T9, T10 (S1) y T11, T12 (S2) (Cuadro 1).

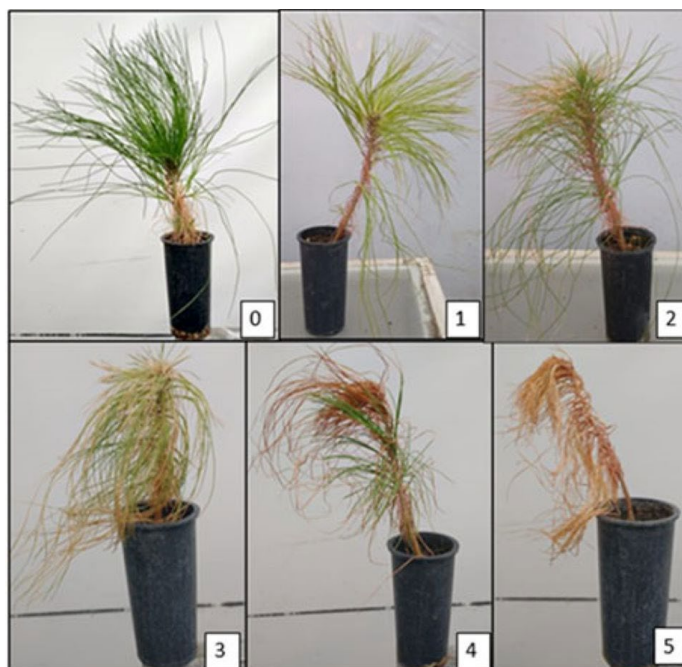
Inoculación con *Fusarium circinatum*

Se utilizó el aislamiento SF11 de *F. circinatum* del vivero forestal de Amealco, Querétaro, proporcionado por el Laboratorio de Patología Forestal de la Dicifo con siete días de crecimiento a temperatura ambiente, en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar BD *Bioxon*[™] (PDA); se preparó una solución de 1.6×10^6 esporas mL⁻¹. En plántulas de dos meses y 20 días (julio de 2021), correspondientes a los tratamientos T2, T4, T6, T8, T10 y T12 (Cuadro 1), se aplicaron 20 mL directo al

sustrato de cada tubete. A las 24 h de la inoculación se inició el conteo de las plantas con presencia de síntomas.

Determinación de la incidencia y severidad

La patogenicidad de *F. circinatum* se evaluó mediante su capacidad para causar enfermedad con los síntomas típicos de la secadera. La incidencia se determinó mediante la mortandad de plantas afectadas con síntomas durante ocho meses. La severidad se estimó mediante la escala diagramática de Townsend y Heuberger (1943) (Figura 1) y la Fórmula 2.



Clase 0 = Planta sana o asintomática; Clase 1 = Acículas caídas o con amarillamiento distal; Clase 2 = Marchitez parcial de la planta; Clase 3 = Marchitez media en la planta; Clase 4 = Marchitez avanzada en la planta; Clase 5 = Planta muerta.

Figura 1. Escala de síntomas causados por *Fusarium circinatum* Nirenberg & O' Donnell 1998 para la estimación de severidad, con base en Townsend y Heuberger (1943).

$$DS (\%) = \left[\frac{\sum nv}{NV} \right] \times 100 \quad (2)$$

Donde:

DS = Severidad

n = Grado de infección acorde a la escala

v = Número de plantas presentes por categoría

N = Grado máximo de infección

V = Número de plantas en total

Los grados de infección acorde a la escala de Townsend y Heuberger (1943) permitieron estimar la severidad, y con los resultados se hizo un análisis de correlación de *Pearson* entre incidencia y severidad.

Identificación morfológica de *Fusarium circinatum*

Al término de la determinación de la incidencia y la severidad, se seleccionó una planta con síntomas por cada tratamiento inoculadas con *F. circinatum* (un total de 24 plantas) para el aislamiento y cultivo en PDA y se almacenaron a 28 °C bajo 24

h de luz (incubadora modelo INCL-11, marca *Prendo*[®]) para obtener los reaislamientos del patógeno y demostrar los postulados de Koch.

La identificación morfológica de *F. circinatum* se realizó a partir de la obtención del aislamiento, esporulación y desarrollo de macroconidios, microconidios, fiálides y coloración del micelio, en tres medios de cultivo: en medio PDA, para examinar la morfología y pigmentación de la colonia, el medio de Agua Agar con hoja de clavel para la formación de macroconidios y fiálides mediante la formación de esporodoquios, y para el desarrollo de circinas se usó el medio Agar Sintético Nutritivo (García-Díaz *et al.*, 2017). Se hicieron 10 montajes permanentes en portaobjetos con glicerina al 100 % y azul de metileno para observar y medir las estructuras del hongo en un microscopio *Leica*[®] modelo DM 2 500. Se utilizaron las claves de Barnett y Hunter (1998) y de Leslie y Summerell (2006).

Estándares morfológicos para evaluar la calidad de planta

A los ocho meses de la siembra, se seleccionaron cinco plantas centrales de cada charola (20 plantas por tratamiento, lo que resultó en un total de 240); se extrajeron del cepellón y se sumergieron en agua para lavar y no lastimar las raíces. Posteriormente, se efectuaron las mediciones de diámetro de tallo (*D*) (sección en la que se diferencia de la raíz principal) con vernier digital marca *Lenfech*[®] modelo TXD-a33, y altura de la parte aérea (*A*) (sección en la que se distingue de la raíz principal al ápice de la yema terminal) con una regla de acero inoxidable marca *Cline*[®] modelo H-6 560.

Cada planta fue seccionada a nivel del cuello, y ambas secciones, follaje y raíz, se colocaron en una bolsa de papel etiquetada con los datos del tratamiento para su

secado en una estufa *Felisa*[®] modelo Fe-143 a 70 °C durante 72 h. Se evaluó el peso seco de la raíz (*PSR*) y el peso seco de la parte aérea (*PSA*). Se determinó la relación peso seco de la parte aérea sobre el peso seco de la raíz (*PSA/PSR*), Índice de Esbeltez (*IE*), altura de planta (cm) entre diámetro (mm) e Índice de Calidad de *Dickson* (*ICD*), con la Ecuación $PST/(A/D)+(PSA/PSR)$ (*Dickson et al.*, 1960). Las plántulas se pesaron en una balanza analítica *OHAUS*[®] modelo Galaxy 2000.

Resultados

Determinación de la incidencia y severidad

Los síntomas por *F. circinatum* en las plantas iniciaron en la semana 12 después de la inoculación; se presentaron acículas cloróticas, color café rojizo y secamiento de follaje, doblamiento apical, pudrición de la raíz y muerte (Figura 2). Dichos síntomas coinciden con los dados a conocer por Flores-Pacheco (2017) y García-Díaz *et al.* (2017).



A = Pudrición a nivel de cuello; B = Acículas cloróticas y retorcidas, doblamiento de punta; C = Muerte descendente de la planta.

Figura 2. Síntomas observados en plantas de *Pinus devoniana* Lindl. inoculadas con *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell 1998.

El análisis de varianza reveló que no existen diferencias entre los sustratos (S1 y S2) y su interacción con la aplicación de *T. harzianum* sobre la incidencia. Por el contrario, el método de aplicación de *T. harzianum*, la presencia de *F. circinatum* y sus interacciones mostraron diferencias significativas sobre las variables respuesta a un $\alpha=0.05$ (Cuadro 2 muestra los $Pr>F$ correspondientes al Anava de cada variable).

Cuadro 2. Determinación del efecto de la mezcla, aplicación de *Trichoderma harzianum* Rifai 1969 y presencia de *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell 1998 sobre la incidencia en plantas de *Pinus devoniana* Lindl.

Efecto	F-valor	Pr>F
Aplicación de <i>T. harzianum</i> Rifai 1969	11.32	0.0002
<i>Fusarium circinatum</i> Nirenberg & O'Donnell 1998	805.31	<0.0001
Mezcla× <i>Fusarium circinatum</i> Nirenberg & O'Donnell 1998	1.21	0.2793
Aplicación de <i>T. harzianum</i> Rifai 1969× <i>Fusarium circinatum</i> Nirenberg & O'Donnell 1998	12.23	<0.0001

Debido a que existieron diferencias entre la forma de aplicación con *T. harzianum* y la presencia de *F. circinatum* sobre la incidencia de la enfermedad, fue necesario realizar una prueba de *Tukey* (Cuadro 3).

Cuadro 3. Evaluación de incidencia y severidad de la enfermedad causada por *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell 1998 en plántulas de *Pinus devoniana* Lindl.

Número de tratamiento	Descripción	% incidencia	% severidad
T1	S1+ <i>T. harzianum</i> Rifai 1969 al sustrato	5c	4.16d
T2	S1+ <i>T. harzianum</i> Rifai 1969 al sustrato+F. <i>circinatum</i> Nirenberg & O'Donnell 1998	46b	26.16c
T3	S2+ <i>T. harzianum</i> Rifai 1969 al sustrato	3c	2d
T4	S2+ <i>T. harzianum</i> Rifai 1969 al sustrato+F. <i>circinatum</i> Nirenberg & O'Donnell 1998	42b	25.16c
T5	S1+ <i>T. harzianum</i> Rifai 1969 a la semilla	4c	2.83d
T6	S1+ <i>T. harzianum</i> Rifai 1969 a la semilla+F. <i>circinatum</i> Nirenberg & O'Donnell 1998	59a	33b
T7	S2+ <i>T. harzianum</i> Rifai 1969 a la semilla	4c	2.73d
T8	S2+ <i>T. harzianum</i> Rifai 1969 a la semilla+F. <i>circinatum</i> Nirenberg & O'Donnell 1998	58a	24.83c
T9	S1	4c	2.33d
T10	S1+F. <i>circinatum</i> Nirenberg & O'Donnell 1998	66a	33.99ab
T11	S2	3c	2.33d
T12	S2+F. <i>circinatum</i> Nirenberg & O'Donnell 1998	63a	37.5a

S1 = Sustrato 1 (turba de musgo, agrolita y vermiculita); S2 = Sustrato 2 (aserrín de pino, corteza de pino y turba de musgo). Letras iguales por columna indican que no hay diferencias significativas ($p \geq 0.05$) y letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con la prueba de *Tukey* ($p \leq 0.05$).

Valores expresados como la media de cada variable de respuesta.

El análisis de incidencia de la enfermedad indicó que los valores bajos (3 a 5 %), estuvieron en los tratamientos en ausencia de *F. circinatum*, y los tratamientos con mayor incidencia fueron en los que se inoculó *F. circinatum*; esto es, de 46 % (T2), 42 % (T4), 59 % (T6), 58 % (T8), 66 % (T10) y 63 % (T12). Lo anterior demuestra la importancia del patógeno sobre la pérdida de la producción de planta. Las plantas con aplicación de *T. harzianum* directamente al sustrato presentaron 13 a 16 % menos de incidencia, en comparación con la aplicación a la semilla. Donde no se aplicó *T. harzianum* fue 20 % menor, comportamiento similar al de S1 y S2. El

método de aplicación de *T. harzianum* fue el que tuvo mayor efecto, debido a una menor incidencia de la enfermedad cuando se aplicó al sustrato (Cuadro 4).

Cuadro 4. Determinación del efecto del método de aplicación de *Trichoderma harzianum* Rifai 1969 sobre la incidencia de la enfermedad en plantas de *Pinus devoniana* Lindl.

Método de aplicación	% incidencia
Sin <i>Trichoderma harzianum</i> Rifai 1969	8.5a
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai 1969 a la semilla	7.8125a
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai 1969 al sustrato	6b

Letras iguales por columna indican que no hay diferencias significativas ($p \geq 0.05$) y letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con la prueba de *Tukey* ($p \leq 0.05$).

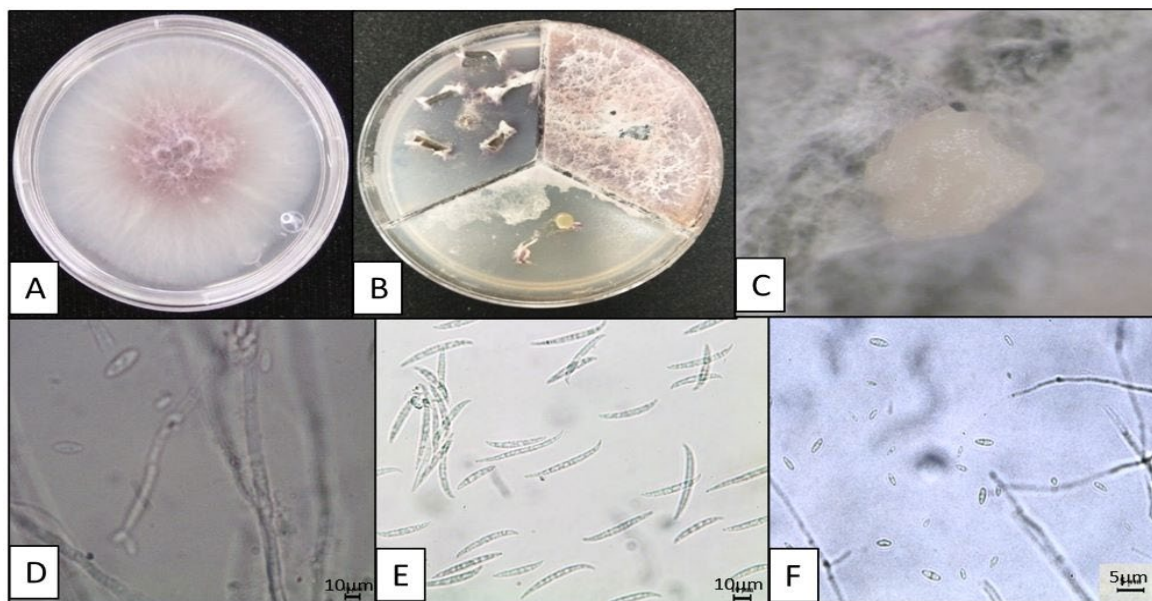
La estimación del grado de infección permitió realizar la prueba de correlación de *Pearson* con la finalidad de medir la relación entre incidencia y severidad, con la cual se obtuvo un valor de 0.98617; lo cual indica que a mayor incidencia, más severidad (Cuadro 5).

Cuadro 5. Correlación de *Pearson* entre incidencia y severidad de *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell 1998 con *P*-valor de < 0.0001 .

	Incidencia	Severidad
Incidencia	1	0.986 <0.0001
Severidad	0.986 <0.0001	1

Identificación morfológica de *Fusarium circinatum*

Se obtuvieron colonias de color blanco con tonalidades fucsia, tornándose violeta fuerte, con pigmentación violeta (Figura 3A y 3B), escasa formación de esporodocios de color anaranjado pálido (Figura 3C), macroconidios delgados, curvos, con 2-4 septos, con predominio de 3 (Figura 3E), de $28-44 \times 3.3-3.9 \text{ nm}^{-2}$, de $39 \times 3.8 \text{ nm}^{-2}$ en promedio y con una célula apical curvada y basal poco desarrollada; finalmente, microconidios de forma ovoide a alantoide, unicelulares, que se desarrollan sobre mono y polifialides (Figura 3D y 3F), con hifas estériles en forma de espiral conocidas como circinas. Estas características y mediciones coinciden con las registradas para *F. circinatum* por Flores-Pacheco (2017), García-Díaz *et al.* (2019) y O'Donnell *et al.* (2022).



A = Micelio algodonoso color púrpura; B = Desarrollo en tres medios;

C = Esporodoquios; D = Monofialides de los microconidios 40X; E = Macroconidios alantoides con célula basal poco desarrollada; F = Microconidios.

Figura 3. Características de *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell 1998.

Estándares morfológicos para evaluar la calidad de planta

La evaluación de calidad de planta con las variables individuales no mostró diferencias significativas entre los tratamientos, pero, por otro lado, en el análisis del *ICD*, existen diferencias en los tratamientos del S2 con valores >1 con respecto al S1, que son inferiores. Sáenz *et al.* (2014) consideran los valores ≥ 0.5 como de alta calidad para especies cespitosas; las cifras en este estudio fueron superiores, por lo que se clasifican como de alta calidad. En el *ICD* no se observaron diferencias significativas en el método de aplicación de *T. harzianum* (Cuadro 6).

Cuadro 6. Índices de calidad de planta de *Pinus devoniana* Lindl. en dos sustratos con *Trichoderma harzianum* Rifai 1969 y *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell 1998.

Núm.	Tratamiento	Alt (cm)	Diam (mm)	PSA (gr)	PSR (gr)	IR	PSA/PSR	ICD
T1	S1+ <i>T. harzianum</i> Rifai 1969 al sustrato	16.105ab	7.3abc	3.875abcd	1.09f	2.245ab	3.554a	0.859e
T2	S1+ <i>T. harzianum</i> Rifai 1969 al sustrato+F. <i>circinatum</i> Nirenberg & O'Donnell 1998	13.47ab	6.775c	3.08d	0.995f	2.125ab	3.054abcd	0.843e
T3	S2+ <i>T. harzianum</i> Rifai 1969 al sustrato	15.555ab	7.375abc	4.43ab	2.12a	2.145ab	2.096fg	1.538ab
T4	S2+ <i>T. harzianum</i> Rifai 1969 al sustrato+F. <i>circinatum</i> Nirenberg & O'Donnell 1998	14.215ab	7.79abc	4.425ab	1.765abcd	2.073ab	2.522cdefg	1.448abc
T5	S1+ <i>T. harzianum</i> Rifai 1969 a la semilla	13.745ab	7.92ab	4.1abc	1.28ef	1.765ab	3.20ab	1.095cde

T6	S1+ <i>T. harzianum</i> Rifai 1969 a la semilla+ <i>F. circinatum</i> Nirenberg & O'Donnell 1998	15.645ab	7.24bc	3.415cd	1.11f	2.245ab	3.137abc	0.864e
T7	S2+ <i>T. harzianum</i> Rifai 1969 a la semilla	16.585ab	8.145ab	4.54a	1.9abc	2.14ab	2.44defg	1.439abc
T8	S2+ <i>T. harzianum</i> Rifai 1969 a la semilla+ <i>F. circinatum</i> Nirenberg & O'Donnell 1998	12.56b	8.225ab	4.07abc	1.85abc	1.615b	2.231efg	1.628a
T9	S1	16.805ab	8.485a	4.255abc	1.54cde	2.043ab	2.849bdce	1.223bcde
T10	S1+ <i>F. circinatum</i> Nirenberg & O'Donnell 1998	17.015a	7.2bc	3.525bcd	1.38ef	2.413a	2.598bcdef	1.005de
T11	S2	16.475ab	7.445abc	3.855abcd	2.04ab	2.315a	1.897g	1.478abc
T12	S2+ <i>F. circinatum</i> Nirenberg & O'Donnell 1998	12.505b	7.205bc	3.345cd	1.635bcde	1.898ab	2.074fg	1.349abcd

S1 = Sustrato 1 (turba de musgo+agrolita+vermiculita); S2 = Sustrato 2 (aserrín de pino+corteza de pino+turba de musgo); *Alt* = Altura; *Diam* = Diámetro; *PSA* = Peso seco aéreo; *PSR* = Peso seco radical; *IR* = Índice de robustez; *ICD* = Índice de Calidad de *Dickson*. Letras iguales por columna indican que no hay diferencias significativas ($p \geq 0.05$) y letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con la prueba de *Tukey* ($p \leq 0.05$).

El análisis de varianza mostró que existen diferencias significativas entre S1 y S2. El sustrato 2 a base de aserrín fue significativo para el *ICD*, con un $\alpha=0.05$. En el Cuadro 7 se muestran los $Pr > F$ correspondientes al Anava de cada variable.

Cuadro 7. Efecto de la mezcla de dos sustratos, con aplicación de *Trichoderma harzianum* Rifai 1969 y presencia de *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell 1998 sobre los índices de calidad de planta de *Pinus devoniana* Lindl.

Efecto	F-valor	Pr > F
Mezcla	40.58	<0.0001

De acuerdo con la comparación múltiple de medias de *Tukey*, el sustrato 2 (S2) a base de aserrín tuvo diferencias significativas para el *ICD* como se observa en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Prueba de comparación múltiple de medias por mezcla de sustrato para el Índice de calidad de *Dickson* en plantas de *Pinus devoniana* Lindl.

Mezcla de Sustrato	<i>ICD</i>
(S1) Turba de musgo, agrolita y vermiculita	0.9814b
(S2) Aserrín de pino, corteza de pino y turba de musgo	1.4799a

De acuerdo con la prueba de *Tukey*. Letras iguales por fila indican que no hay diferencias significativas ($p \geq 0.05$).

Discusión

Los resultados de este estudio indican que *Fusarium circinatum* causó síntomas de doblamiento apical, pudrición de tallo a nivel de cuello y acículas amarillentas tornándose a color rojizo y posteriormente la muerte, lo cual coincide con los resultados de Flores-Pacheco (2017) y García-Díaz *et al.* (2017).

Gordon *et al.* (2015) señalan que el uso de turba de musgo se asocia con una mayor susceptibilidad para *F. circinatum*, pues obtuvieron una incidencia de 97 % al inocular un aislado de pino en planta de maíz, y en esta investigación, dicho sustrato (S1) inoculado en plantas de *P. devoniana* registró 66 %. Por su parte, Aguilera *et al.* (2016) mencionan que los sustratos con aserrín y corteza de pino son usados con gran éxito en viveros del centro de México, ya que el aserrín es un subproducto abundante, económico y que permite el desarrollo de plantas con

buenas características morfológicas. A esto puede sumarse que el surgimiento de la enfermedad es ligeramente menor; en este estudio se obtuvo una presencia de 63 % con el S2, respecto a 66 % con el S1, aunque estadísticamente no hubo diferencias. Sin embargo, García-Díaz *et al.* (2017) concluyeron que la incidencia de la enfermedad es menor en los sustratos a base de aserrín.

El análisis de varianza demostró que el factor significativo es la aplicación de *T. harzianum* al sustrato al presentar baja incidencia y severidad; dichos resultados coinciden con los de García-Díaz *et al.* (2017), en los cuales el daño provocado por *F. circinatum* fue menor en aquellos tratamientos en los que se aplicó *T. harzianum* a las plantas de *Pinus greggii*. Igualmente, lo estipulado concuerda con lo consignado por Moraga-Suazo *et al.* (2011), quienes señalan que al aplicar *Trichoderma* a plantas de *Pinus radiata*, la incidencia se reduce más de 20 %. Okorski *et al.* (2014) concluyen que *Trichoderma* se utiliza como agente de biocontrol para enfermedades forestales.

El análisis del *ICD* señala que existen diferencias en los tratamientos del S2 al obtener valores mayores a 1 con respecto al S1, que son inferiores. Esto se considera dentro de la clasificación de "alta calidad" de acuerdo con los parámetros establecidos para especies cespitosas, como citan Rueda *et al.* (2012) y Sáenz *et al.* (2014). Los resultados concuerdan con los de Vicente-Arbona *et al.* (2019), quienes al evaluar el *ICD* en plantas de *P. greggii* en diferentes mezclas de sustrato obtuvieron mejores respuestas en la mezcla con formulación similar al S2 (aserrín de pino, corteza de pino y turba de musgo) (Aguilera *et al.*, 2016).

Conclusiones

Fusarium circinatum es patogénico en plántulas de *Pinus devoniana*, se pudo observar que el método de aplicación con *Trichoderma harzianum* al sustrato disminuye la incidencia y severidad de la enfermedad para utilizarse de manera preventiva. Se observa que la calidad de planta basada en el Índice de Calidad de Dickson para especies cespitosas tiene valores más altos en aquellos individuos que se desarrollan en el sustrato a base de aserrín y la aplicación de *Trichoderma harzianum* al sustrato.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad Autónoma Chapingo, al fondo sectorial Conahcyt y al proyecto A-S-67865 del Fondo Sectorial Conafor-Conahcyt, titulado "Monitoreo, evaluación de daños, manejo preventivo y control de la secadera y pudrición de raíz causados por *Fusarium* spp., y las moscas fungosas *Bradysia* y *Lycoriella*" por el apoyo para hacer posible el desarrollo de este proyecto.

Conflicto de interés

Los autores del presente trabajo declaran no presentar ningún tipo de conflicto de interés.

Contribución por autor

María Alejandra Ortega Cerón: trabajo de campo, laboratorio y redacción del manuscrito; Elizabeth Hernández Acosta: dirección de la investigación y revisión del manuscrito; Silvia Edith García Díaz: asesoría en el trabajo de investigación de laboratorio e invernadero y revisión del manuscrito; Antonio Villanueva Morales: análisis estadístico, diseño experimental y revisión de la redacción del manuscrito.

Referencias

Aguilera R., M., A. Aldrete, T. Martínez T. y V. M. Ordaz C. 2016. Producción de *Pinus pseudostrobus* Lindl. con sustratos de aserrín y fertilizantes de liberación controlada. Revista Mexicana de Ciencias Forestales 7(34):7-19. Doi: 10.29298/rmcf.v7i34.79.

Barnett, H. L. and B. B. Hunter. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. American Phytopathological Society. St. Paul, MN, United States of America. 218 p.

Buamscha, M. G., L. T. Contardi, R. K. Dumroese, J. A. Enricci, ... y K. M Wilkinson. 2012. Producción de plantas en viveros forestales. Consejo Federal de Inversiones (CFI), Centro de Investigación y Extensión Forestal Andino Patagónico (CIEFAP) y Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Buenos Aires, C, Argentina. 220 p.

Comisión Nacional Forestal (Conafor). 2001. *Pinus devoniana* Lindley. SIRE-Paquetes Tecnológicos. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (Conabio) y Programa Nacional de Reforestación (Pronare). <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/13/957Pinus%20devoniana.pdf>. (21 de mayo de 2021).

Dickson, A., A. L. Leaf and J. F. Hosner. 1960. Quality appraisal of White spruce and White pine seedling stock in nurseries. The Forestry Chronicle 36(1):10-13. Doi: 10.5558/tfc36010-1.

- Flores-Pacheco, J. A. 2017. Chancro resinoso del pino (*Fusarium circinatum*): Historia, evolución, dispersión y estrategias de manejo. *Nexo Revista Científica* 30(1):19-42. Doi: 10.5377/nexo.v30i01.5170.
- García-Díaz, S. E., A. Aldrete, D. Alvarado-Rosales, D. Cibrián-Tovar, ... y A. Equíhua-Martínez. 2017. Efecto de *Fusarium circinatum* en la germinación y crecimiento de plántulas de *Pinus greggii* en tres sustratos. *Agrociencia* 51(8):895-908. <https://www.redalyc.org/pdf/302/30253817006.pdf>. (13 de octubre de 2023).
- García-Díaz, S. E., A. Aldrete, D. Alvarado-Rosales, D. Cibrián-Tovar and J. T. Méndez-Montiel. 2019. *Trichoderma harzianum* Rifai as a biocontrol of *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell in seedlings of *Pinus greggii* Engelm. ex Parl. in three substrates. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 25(3):353-367. Doi: 10.5154/r.rchscfa.2018.12.088.
- Gómez D., T. 2021. *Los desafíos ambientales de México en el 2021*. Mongabay. <https://es.mongabay.com/2021/01/desafios-ambientales-mexico-2021-acuerdo-de-escazu-nuevas-leyes-bosques-clima/>. (4 de septiembre de 2022).
- González P., B., C. Pintos V., J. P. Mansilla V., O. Aguin C. y R. Pérez O. 2008. Presencia de especies de *Fusarium* sobre semillas de *Pinus* spp. en Galicia. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales* (26):149-154. Doi: 10.31167/csef.v0i26.9740.
- Gordon, T. R., C. L. Swett and M. J. Wingfield. 2015. Management of *Fusarium* diseases affecting conifers. *Crop Protection* 73:28-39. Doi: 10.1016/j.cropro.2015.02.018.
- Leslie, J. F. and B. A. Summerell. 2006. *The Fusarium laboratory manual*. Blackwell Publishing. Ames, IA, United States of America. 388 p.
- Moraga-Suazo, P., A. Opazo, S. Zaldúa, G. González and E. Sanfuentes. 2011. Evaluation of *Trichoderma* spp. and *Clonostachys* spp. strains to control *Fusarium circinatum* in *Pinus radiata* Seedlings. *Chilean Journal of Agricultural Research* 71(3):412-417. Doi: 10.4067/S0718-58392011000300011.

- Murace, M. y A. Aprea. 2011. *Enfermedades forestales. Generalidades*. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de la Plata (UNLP). https://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/20946/mod_resource/content/1/2011Enfermedades%20forestales.%20Generalidades..pdf. (15 de noviembre de 2023).
- O'Donnell, K., B. K. Whitaker, I. Laraba, R. H. Proctor, ... and D. M. Geiser. 2022. DNA sequence-based identification of *Fusarium*: A work in progress. *Plant Disease* 106(6):1597-1609. Doi: 10.1094/PDIS-09-21-2035-SR.
- Okorski, A., T. Oszako, J. A. Nowakowska and A. Pszczółkowska. 2014. The possibilities of biologically protecting plants against diseases in nurseries, with special consideration of Oomycetes and *Fusarium* fungi. *Leśne Prace Badawcze (Forest Research Papers)* 75(3):301-321. Doi: 10.2478/frp-2014-0029.
- Robles Y., L., S. G. Leyva M., A. Cruz G., M. Camacho T., D. Nieto Á. y J. M. Tovar P. 2016. *Fusarium oxysporum* Schltdl. y *Fusarium solani* (Mart). Sacc. causantes de la marchitez de plántulas de *Pinus* spp. en vivero. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 7(36):25-36. Doi: 10.29298/rmcf.v7i36.57.
- Rueda S., A., J. de D. Benavides S., J. Á. Prieto-Ruiz, J. T. Sáenz R., G. Orozco-Gutiérrez y A. Molina C. 2012. Calidad de planta producida en los viveros forestales de Jalisco. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 3(14):69-82. Doi: 10.29298/rmcf.v3i14.475.
- Sáenz R., J. T., H. J. Muñoz F., C. M. Á. Pérez D., A. Rueda S. y J. Hernández R. 2014. Calidad de planta de tres especies de pino en el vivero "Morelia", estado de Michoacán. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 5(26):98-111. Doi: 10.29298/rmcf.v5i26.293.
- Sáenz-Romero, C. 2014. Guía técnica para la planeación de la reforestación adaptada al Cambio Climático. Comisión Nacional Forestal (Conafor). Zapopan, Jal., México. 72 p.
https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/80238/Guia_Tecnica_para_la_Planeacion_de_la_Reforestacion.pdf. (21 de mayo de 2021).

SAS Institute Inc. 2013. SAS/STAT® 13.1 User's Guide. The GLIMMIX Procedure. SAS Institute Inc. Cary, NC, United States of America. 375 p. <https://support.sas.com/documentation/onlinedoc/stat/131/glimmix.pdf>. (13 de octubre de 2023).

Towsend, G. R. and J. W. Heuberger. 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicides experiments. *The Plant Disease Reporter* 27(17):340-343. <https://eurekamag.com/research/025/008/025008582.php>. (15 de noviembre de 2023).

Vicente-Arbona, J. C., V. Carrasco-Hernández, D. A. Rodríguez-Trejo y A. Villanueva-Morales. 2019. Calidad de planta de *Pinus greggii* producida en sustratos a base de aserrín. *Madera y Bosques* 25(2):e2521784. Doi: 10.21829/myb.2019.2521784.



Todos los textos publicados por la **Revista Mexicana de Ciencias Forestales** –sin excepción– se distribuyen amparados bajo la licencia *Creative Commons 4.0 Atribución-No Comercial (CC BY-NC 4.0 Internacional)*, que permite a terceros utilizar lo publicado siempre que mencionen la autoría del trabajo y a la primera publicación en esta revista.