

UNIVERSIDAD AUTONOMA CHAPINGO

DIVISION DE CIENCIAS FORESTALES

PROGRAMA DE POSTGRADO

EL CANCRO RESINOSO CAUSADO POR *Fusarium subglutinans*
(Wollenw. y Reink.) Nelson, Tousson y Marasas, UNA NUEVA
ENFERMEDAD DE *Pinus* spp. EN MEXICO.

T E S I S

Que como Requisito parcial
para Obtener el Grado de
Maestro en Ciencias en:
CIENCIAS FORESTALES



DIRECCION ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

P R E S E N T A :

JESUS JAIME GUERRA SANTOS

CHAPINGO, MEXICO

1995

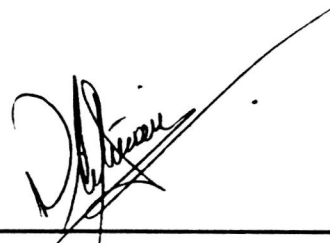


DX 85188
- 151244

16
Esta tesis fue realizada bajo la dirección del Comité Asesor indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

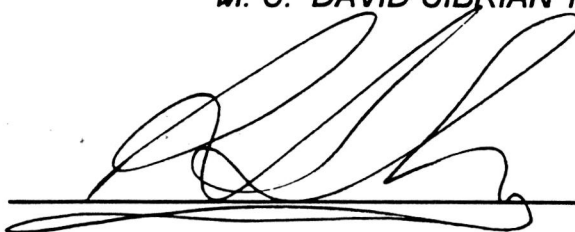
**MAESTRO EN CIENCIAS EN:
CIENCIAS FORESTALES.**

PRESIDENTE



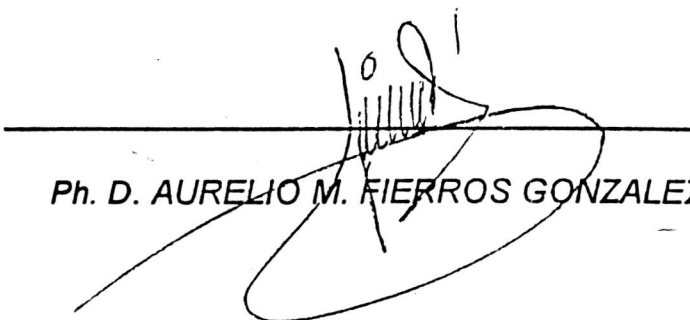
M. C. DAVID CIBRIAN TOVAR

ASESOR



Ph. D. SEBASTIAN ROMERO COVA

ASESOR



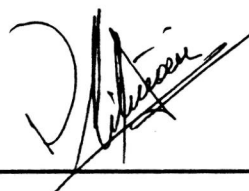
Ph. D. AURELIO M. FIERROS GONZALEZ

CHAPINGO, MEXICO. 1995

29/7/

EL JURADO DEL EXAMEN DE GRADO FUE INTEGRADO POR:

PRESIDENTE



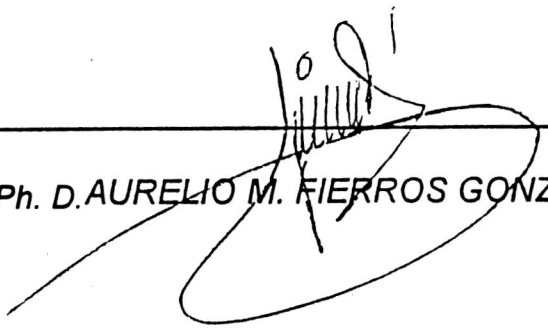
M.C. DAVID CIBRIAN TOVAR

ASESOR



Ph. D. SEBASTIAN ROMERO COVA

ASESOR



Ph. D. AURELIO M. FIERROS GONZALEZ

REPRESENTANTE DE LA COORDINACION GENERAL DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



M.C. CECILIO MENDOZA ZAMORA

REPRESENTANTE DE LA COORDINACION DEPARTAMENTAL DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



Ph. D. HUGO RAMIREZ MALDONADO

Dedicado:

Con gran amor, cariño y respeto a Lily, Angel Jesús, Alberto y Claudio Andrés, mi esposa e hijos, gracias por su paciencia.

A Heriberto Guerra Vega, gracias por tu ejemplo Papá, en tu memoria.

A Agustina, Luis, Cristina, Asunción, Israel y Lucero, mi madre y hermanos, por el cariño y apoyo que siempre he tenido y a la Sra. Enedina Gómez Salazar, por su valiosa compañía.

Al Ex-Colegio Superior de Agricultura Tropical.
A mis amigos de la Carrera de Ingeniería Agrícola de la
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

Agradezco a:

al Dr. David Cibrián Tovar, por el apoyo recibido durante mi estancia en la Universidad Autónoma Chapingo, como estudiante y compañero de trabajo.

La División de Ciencias Forestales, por todo el apoyo recibido en el transcurso de mi estancia y en el desarrollo del presente trabajo, de manera muy particular al programa de postgrado.

Los miembros del comité asesor en especial al Dr. Sebastián Romero Cova, y a los Drs. Aurelio M. Fierros G. y Hugo Ramírez M., así como al M en C. Cecilio Mendoza Z. por sus comentarios y sugerencias.

Ing. J. Tulio Méndez M. por su apoyo en la parte estadística del trabajo.

Mis compañeros y amigos de la División de Ciencias Forestales de la UACH, por el apoyo y estímulo que siempre he recibido, en especial a la Srita. Ma. Marcos Martínez C., Wenceslao Sánchez M., Rosalio Mejía Vázquez e Ing. Rodolfo Campos Bolaños, por su apoyo en el laboratorio e invernadero. También al personal del vivero de la DiCiFo, por la ayuda recibida en el trabajo de invernadero.

En los recorridos de campo siempre conté con el apoyo de compañeros y amigos, a todos ellos deseo expresar mi sincero agradecimiento: Miguel Acosta M., Jaime Villa C., José Villa C., Edgar Patiño A., José C. Mercado B., Antonio Plancarte B., Ricardo A. Peralta D., Gustavo Cruz B., Santiago Salazar, Fernando Nájera, José Córdova, Jaime Flores L. a éste último agradezco también la ayuda en la toma de algunas de las fotografías que aparecen en el presente trabajo.

Mis compañeros de la Maestría en Ciencias Forestales, de Protección Vegetal y del Colegio de Postgraduados, por los momentos que compartimos juntos.

Mis amigos de la Subdirección de Sanidad Forestal, por sus palabras de aliento.

CONTENIDO

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
RESUMEN.	iii
SUMMARY.	iv
INDICE DE CUADROS.	v
INDICE DE FIGURAS.	vi
1. INTRODUCCION	1
2. OBJETIVOS.	2
3. REVISION DE LITERATURA.	3
3.1. Situación taxonómica de <i>Fusarium subglutinans</i>	3
3.2. Descripción de <i>Fusarium subglutinans</i> .	4
3.3. Distribución y hospedantes.	6
3.4. Etiología del cancro resinoso.	8
3.4.1. Diseminación de esporas del hongo y vectores asociados.	8
3.4.2. Establecimiento y penetración del hongo.	10
3.4.3. Desarrollo y manifestación de síntomas.	12
3.4.5. Desarrollo de signos.	13
3.5. Epifitiología	14
3.5.1. Impacto de la enfermedad.	15
3.5.2. Factores asociados a la enfermedad.	16
3.5.2.1. Factores ambientales.	16
3.5.2.2. Factores silvícolas.	17
3.5.2.3. Factores edáficos.	17
3.5.2.4. Factores genéticos.	18
3.5.2.5. Factores biológicos.	18
3.6. Antecedentes de la enfermedad en México	19
3.7. Prevención y control de la enfermedad.	20
3.7.1. Control químico.	20
3.7.2. Control genético.	21
3.7.3. Control biológico.	22
3.8. Manejo de la enfermedad.	22
3.8.1. Cortas de salvamento.	23
3.8.2. Aclareos.	23
3.8.3. Prácticas en huertos semilleros.	24
3.9. Otras enfermedades asociadas al cancro resinoso.	24

4. MATERIALES Y METODOS.	26
4.1. Recorridos de campo.	26
4.2. Colecta y manejo de muestras.	28
4.3. Preservación y traslado del material colectado.	28
4.4. Datos de colecta.	28
4.5. Descripción de sintomatología.	29
4.6. Procedimiento de aislamiento y purificación.	29
4.7. Elaboración de preparaciones.	31
4.8. Inoculación.	31
4.8.1. Inoculación preliminar, diferentes tipos de inoculación	31
4.8.2. Inoculación general, en forma de "T" en diferentes puntos de la planta	32
4.9. Preparación de material para inoculación general.	32
4.10. Incubación	37
4.11. Análisis estadístico.	37
4.11.1. Prueba de Cochran.	38
4.11.2. Prueba de rangos de Friedman y comparaciones múltiples.	39
4.12. Reaislamiento de hongos inoculados.	41
4.13. Identificación.	42
5. RESULTADOS Y DISCUSION.	43
5.1. Distribución y sintomatología del cancro resinoso en México.	43
5.2. Aislamiento del agente causal de la enfermedad.	47
5.3. Pruebas preliminares de inoculación.	48
5.3.1. Diferentes formas de inoculación	48
5.3.2. Diferentes puntos de inoculación.	49
5.3.3. Inoculación de cepas de pinos de la misma especie.	50
5.4. Inoculación general.	51
5.4.1. Infección en plántulas inoculadas.	51
5.4.2. Desarrollo de la enfermedad considerando tres niveles de infección.	55
5.4.3. Desarrollo de la sintomatología.	58
5.4.4. Desarrollo de la infección de 14 cepas inoculadas en 12 especies de pino	58
5.4.4.1. Infección en 7 especies inoculadas con 10 o mas cepas.	63
5.4.4.2. Infección en 5 especies inoculadas con 8 o menos cepas.	73
5.4.5. Prueba de Cochran.	78
5.4.6. Prueba de rangos de Friedman y comparaciones múltiples.	81
5.5. Reaislamiento de las cepas inoculadas.	84
5.6. Identificación del agente causal de la enfermedad.	87
6. CONCLUSIONES.	90
7. SUGERENCIAS.	91
8. BIBLIOGRAFIA.	92
9. APENDICE.	98

RESUMEN

El presente trabajo se desarrolló para conocer las características de la enfermedad conocida como "cancro resinoso de los pinos". Se determinó que la enfermedad está presente en 13 Estados del país, principalmente en las regiones Centro y Norte. Los hospedantes fueron 19 especies de pinos que incluyen especies de todos los grupos. La enfermedad afecta árboles de diferentes edades, produciendo sintomatología variable, desde marchitamientos de brotes sin flujos obvios de resina hasta lesiones en fuste con grandes flujos de resina. Los esporodoquios sólo se encontraron en las especies de *P. douglasiana* y *P. radiata*. Se probó la patogenicidad del agente causal mediante la inoculación de 14 cepas del hongo en 12 diferentes especies de pinos; también se estudió el avance y desarrollo de la infección en las plantas de pino inoculadas y se encontró que hubo diferencias significativas ($P:0.05\%$) entre especies ya que el hongo avanzó más rápidamente en las especies *P. cembroides*, *P. montezumae*, *P. greggii*, *P. pseudostrobus* y *P. patula*, que en *P. ayacahuite*, *P. leiophylla*, *P. douglasiana*, *P. michoacana*, *P. halepensis* y *P. pringlei*. También se demostró que del conjunto de cepas aisladas, las provenientes de *P. pseudostrobus*, *P. arizonica*, *P. discolor* y *P. leiophylla*, fueron las más patógenas. Por último, se dan a conocer las características del hongo asociado que corresponden a *Fusarium subglutinans*.

SUMMARY

This research work was performed to learn the characteristics of the fungous disease known as pine pitch canker. It was found in 13 States of the country, particullary in the northern and central regions of México. The hosts were 19 pine species including all pine groups. The disease affects trees of different ages, showing variability in symptomatology, from shoot wilting without resin flow to lesions on stems with heavy resin flow. Sporodoquia were found only in two species of pines, *Pinus douglasiana* and *P. radiata*. The pathogenicity of the causal agent was tested inoculating 14 strains on 12 different species of pine. Also the advance and development of the infection in the inoculated pine seedlings were studied. The results show that were significant differences at the probability of 0.05%, the fungus advances more quickly in 5 species *P. cembroides*, *P. montezumae*, *P. greggii*, *P. pseudostrobus* and *P. patula*, than in *P. ayacahuite*, *P. leiophylla*, *P. douglasiana*, *P. michoacana*, *P. halepensis* and *P. pringlei*. Also it was demonstrated that the strains (isolated) from *P. pseudostrobus*, *P. arizonica*, *P. discolor* and *P. leiophylla*, were more pathogenic than the other strains. Finally the characteristics of the fungus under study are presented. The causal agent on this basis it was clasified as *Fusarium subglutinans* (Wollenw & Reink) Nelson Tousson y Marasas.

ÍNDICE DE CUADROS

PAG.

1. Distribución y hospedantes del cancro resinoso en 1976.	6
2. Distribución y hospedantes del cancro resinoso en 1987.	7
3. Distribución y hospedantes del cancro resinoso de 1987-1993.	8
4. Inoculación general de las cepas de <i>Fusarium subglutinans</i> realizada en doce especies de pino, Chapingo, México 1992	36
5. Caracterización de la nomenclatura utilizada en las cepas inoculadas	36
6. Distribución, hospedantes y sintomatología del cancro resinoso de las especies de pino estudiadas en México, 1992.	46
7. Resultados de la inoculación preliminar de cepas de <i>Pinus pseudostrobus</i> , mediante cinco formas de inoculación en plántulas de la misma especie, realizadas en marzo de 1991 en Chapingo, México.	49
8. Resultados de la inoculación general considerando las plántulas que presentaron infección calificadas con "1" y la que no presentaron infección con "0".	54
9. Cantidad de plántulas con sintomatología de la enfermedad, del total de plántulas inoculadas (las cifras se acumularon para la siguiente lectura), Chapingo, México 1992.	55
10. Resultados de la inoculación general, considerando todas las plantas con infección y frecuencia acumulada por especie, Chapingo, México 1992.	57
11. Porcentaje de infección en relación al número de plántulas inoculadas con <i>Fusarium subglutinans</i> para cada especie, efectuados el 22 de febrero de 1992 y que presentaron la sintomatología de la enfermedad, en Chapingo, México.	58
12. Frecuencia acumulada por especie, tomando en cuenta el avance de la infección, considerando 3 niveles de infección.	61
13. Porcentaje de infección de las plántulas inoculadas, considerando tres niveles de infección.	61
14. Crecimiento en diámetro (cm) de las colonias sembradas de los reislamientos a los 5 días de siembra.	86
15. Crecimiento en diámetro (cm) de las colonias sembradas de los reislamientos a los 10 días de siembra.	86

ÍNDICE DE FIGURAS

TITULO	PAG.
1. Proceso de aislamiento y purificación de organismos presentes en el cancro resinoso a partir de material vegetal enfermo. A. Desinfección en hipoclorito de sodio. B. Enjuague en agua destilada esterilizada. C. Secado en papel filtro esterilizado. D y E . Siembra en medio de cultivo. F, G, H, I Transferencia a partir de crecimiento micelial para obtener cepas puras. J. Incubación a temperatura de 24-32°C. K. Cepa pura del hongo.	30
2. Preparación de colonias para usarlas como inóculo. A y B. Fraccionando las colonias con sacabocado. C y D. Separando el inóculo y pasando a cajas limpias. E y F. Aspecto de las cajas con diferentes tipos de inóculo.	34
3. Inoculación de <i>Fusarium subglutinans</i> en plántulas de <i>Pinus spp.</i> A. Desprendiendo los fascículos del talluelo. B. Haciendo una incisión vertical. C. Haciendo la incisión horizontal. D. Separando la epidermis de la plántula. E. Poniendo al inóculo en contacto con la planta. F. Sellando la herida. G. Envolviendo la herida con gasa. H. Aspecto general de una plántula inoculada. Técnica desarrollada por el autor.	35
4. Sintomatología de la enfermedad de muestras colectadas en el campo. A. Aspecto de árboles enfermos. B. Hojas caídas en forma de bandera. C. Flujo de resina en fustes. D. Esporodocios en ramas. E. Cancros en ramas. F. Muerte descendente. G. Doblamiento de los brotes. H. Resina embebida en la madera. I. Cambio de coloración en la madera.	45
5. Aspecto general de las plántulas en el invernadero A. al momento de la inoculación; B. A los 14 días; C. A los 28 días; D. A los 60 días de la inoculación.	52
6. Reacción de plantas a la inoculación. A. Planta testigo, obsérvese las hojas verdes arriba del punto de inoculación. B. Muerte de la parte superior a la herida; C y D. Adopción de la dominancia de brotes nuevos; E. Reacción de plantas en tres puntos de inoculación; F. Muerte de todo el crecimiento superior al punto de inoculación. G y H. Flujo de resina en plantas inoculadas.	53

7.	Sintomatología típica en plantas inoculadas obsérvese el doblamiento del brote al inicio de la infección. A. <i>Pinus montezumae</i> ; B. <i>P. rudis</i> ; C. <i>P. michoacana</i> ; D. <i>P. douglasiana</i> ; E. <i>P. leiophylla</i> ; F. <i>P. greggii</i> ; G. <i>P. pseudostrobus</i> ; H. <i>P. patula</i> ; I. <i>P. pringlei</i> .	56
8.	Aspectos de los lotes de nueve diferentes especies a los 28 días de la inoculación.	59
9.	Aspectos de los lotes de diferentes especies al final de las pruebas de patogenicidad	60
10	Porcentaje de infección acumulado en relación al total de 12 especies inoculadas con <i>Fusarium subglutinans</i> , practicadas el 22 de Febrero de 1992, en Chapingo México.	62
11.	Valores acumulados de tres niveles de intensidad de infección, de 14 cepas de <i>Fusarium subglutinans</i> inoculadas en plántulas de <i>Pinus ayacahuite</i> . Chapingo, México. 22 de Febrero de 1992.	66
12.	Valores acumulados de tres niveles de intensidad de infección, de 14 cepas de <i>Fusarium subglutinans</i> inoculadas en plántulas de <i>Pinus pseudostrobus</i> . Chapingo, México. 22 de Febrero de 1992.	67
13.	Valores acumulados de tres niveles de intensidad de infección, de 14 cepas de <i>Fusarium subglutinans</i> inoculadas en plántulas de <i>Pinus montezumae</i> . Chapingo, México. 22 de Febrero de 1992.	68
14.	Valores acumulados de tres niveles de intensidad de infección, de 14 cepas de <i>Fusarium subglutinans</i> inoculadas en plántulas de <i>Pinus douglasiana</i> . Chapingo, México. 22 de Febrero de 1992.	69
15.	Valores acumulados de tres niveles de intensidad de infección, de 14 cepas de <i>Fusarium subglutinans</i> inoculadas en plántulas de <i>Pinus patula</i> . Chapingo, México. 22 de Febrero de 1992.	70
16.	Valores acumulados de tres niveles de intensidad de infección, de 12 cepas de <i>Fusarium subglutinans</i> inoculadas en plántulas de <i>Pinus michoacana</i> . Chapingo, México. 22 de Febrero de 1992.	71

17. Valores acumulados de tres niveles de intensidad de infección, de 10 cepas de *Fusarium subglutinans* inoculadas en plántulas de *Pinus leiophylla*. Chapingo, México. 22 de Febrero de 1992. 72
18. Valores acumulados de tres niveles de intensidad de infección, de 8 cepas de *Fusarium subglutinans* inoculadas en plántulas de *Pinus rudis*. Chapingo, México. el 22 de Febrero de 1992. 73
19. Valores acumulados de tres niveles de intensidad de infección, de 14 cepas de *Fusarium subglutinans* inoculadas en plántulas de *Pinus halepensis*. Chapingo, México. 22 de Febrero de 1992. 74
20. Valores acumulados de tres niveles de intensidad de infección, de 8 cepas de *Fusarium subglutinans* inoculadas en plántulas de *Pinus cembroides*. Chapingo, México. 22 de Febrero de 1992. 75
21. 21. Valores acumulados de tres niveles de intensidad de infección, de 6 cepas de *Fusarium subglutinans* inoculadas en plántulas de *Pinus greggii*. Chapingo, México. 22 de Febrero de 1992. 76
22. Valores acumulados de tres niveles de intensidad de infección, de 2 cepas de *Fusarium subglutinans* inoculadas en plántulas de *Pinus pringlei*. Chapingo, México. 22 de Febrero de 1992. 77
23. Aspectos del desarrollo de colonias de *Fusarium subglutinans* en el proceso de aislamiento y purificación: A-D. Diferentes aspectos de las colonias del aislamiento; E y H. Crecimiento de colonias purificadas mostrando la coloración típica; I. Cepa del hongo en cultivo puro para su preservación. 85
24. Aspectos del desarrollo de colonias de *Fusarium subglutinans* en el proceso de reisolamiento. A. Reisolamiento de la cepa inoculada en *P. maximinoi*. B. Colonias de las 9 especies usadas en las pruebas de reisolamiento. C. Colonias del hongo aisladas de *P. durangensis* y *P. rudis*. D. Comparación de una colonia de *P. rudis* con y sin incubación. E y F. Colonias puras cuando cubrieron completamente la caja con medio de cultivo. G. Polifilides de *Fusarium subglutinans*. H. Microconidios y macroconidios. 89

1. INTRODUCCIÓN

En México en 1987, se reconoció por primera vez a la enfermedad denominada como CANCRO RESINOSO DE LOS PINOS, desde entonces se consideró importante para la silvicultura de bosques y plantaciones de coníferas y se iniciaron inspecciones, mismas que demostraron su ocurrencia en varios Estados de la República Mexicana. Por lo anterior en el Laboratorio de Patología Forestal de la División de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma Chapingo (DiCiFo-UACH), se inició un trabajo de investigación para determinar el agente causal de la enfermedad. Se obtuvieron resultados favorables en el estudio de la enfermedad, ya que se logró aislar e identificar al hongo *Fusarium subglutinans* (Wollenw. & Reink.) Nelson, Toussoun & Marasas. como agente causal.

El cancro resinoso de los pinos es una de las enfermedades más importantes en los pinos del sur de Estados Unidos. En México aún no se han evaluado los daños que causa, pero es posible que tengan una magnitud similar a la que presenta en aquel país.

La importancia en México puede radicar en la gran cantidad de especies de pinos que pueden ser susceptibles, además de considerarse como una enfermedad de alto potencial, sobretodo si se tiene en cuenta que la tendencia en nuestro país es al establecimiento de plantaciones comerciales, las cuales podrán tener mayor susceptibilidad al ataque por agentes dañinos que las que tienen los bosques naturales. Por tanto se hace necesario un buen conocimiento de los agentes adversos, particularmente de enfermedades fungosas.

Al inicio del presente estudio la información acerca de esta enfermedad en particular era muy escasa, no se conocía nada sobre su distribución, ni tipo de hospedantes asociados, la sintomatología de la enfermedad era confusa, por lo que se hizo necesario establecer una línea de investigación que permitiera conocer algunas de estas características.

Por lo anterior, para el desarrollo de nuevas estrategias de manejo y conocimiento de la enfermedad, fue necesario obtener mayor información del agente causal, así como de las condiciones en que mejor se desarrolla, su distribución en los bosques de México, así como su rango de hospedantes y la susceptibilidad que muestran. Dado que esta información no existía se planteó el presente trabajo con los siguientes objetivos.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

Determinación de la importancia del cancro resinoso causado por *Fusarium subglutinans* como enfermedad del género *Pinus* en México.

2.2. OBJETIVOS PARTICULARES.

2.2.1. Determinación de la distribución de la enfermedad en los bosques del país.

2.2.2. Determinación de los hospedantes que ataca y el grado de susceptibilidad que muestran.

2.2.3. Descripción de la sintomatología de la enfermedad.

2.2.4. Confirmación de la identificación del agente causal de la enfermedad.

3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Situación taxonómica de *Fusarium subglutinans*

Para identificar especies de *Fusarium* se utilizan las características morfológicas del cultivo y su nomenclatura se basa en ejemplares tipo. Existe el problema de que algunos de los cultivos ya no existen o están irreconocibles, lo que hace extremadamente difícil la identificación de especies del género. Tal es el caso del hongo que se estudió, el cual desde su primera identificación fue denominado con varios nombres. Con base en la gran cantidad de cambios que ha tenido el agente causal, los especialistas revisaron la nomenclatura en 1985. De sus publicaciones se extrajo la siguiente información.

En 1946 se determinó que el hongo causal de la enfermedad era una especie de *Fusarium*, posiblemente de la sección Liseola. (Hepting y Roth, 1946). Posteriormente, fue transferido a la sección Lateritium, porque en aquel tiempo, se consideró erróneamente que el hongo no producía microconidios ni clamidosporas, (Dwinell, Barrows-Broadus y Kuhlman, 1985). No obstante lo anterior, en 1949 el hongo fue denominado *Fusarium lateritium* (Nees) Emend. Snyder y Hansen f.sp. *pini* Hept. (Snyder, Toole y Hepting, 1949), cambiando al mismo tiempo de sección, debido a que sí produce microconidios. Esto se comprobó a finales de la década de los años 70, en que se encontró que muchos aislamientos comunes de *Fusarium* provenientes de tejidos con el daño del cancro resinoso, produjeron abundantes microconidios en cabezuelas, pero no clamidosporas, por lo que se le dió la asignación de *F. moniliforme* Sheld. var. *subglutinans* Wollenw. & Reink. en la sección Liseola. (Dwinell y Phelps, 1977; Dwinell, 1978).

En aislamientos posteriores, realizados a partir de brotes con cancro en huertos semilleros, se obtuvieron aislamientos que fueron identificados como *F. moniliforme* var. *subglutinans*, de la sección Liseola, y patógeno de cultivos agrícolas. Hasta ese tiempo se consideraba como un hongo saprófito en pino, al realizar inoculaciones en diferentes especies de pino mostraron patogenicidad (Dwinell, 1978). Estos aislamientos reprodujeron síntomas del cancro en plántulas de *P. elliotii* var. *elliotii* y *P. taeda*, pero otras especies de *Fusarium* aisladas, incluyendo *F. lateritium*, no infectaron plántulas de pino. Con lo anterior se confirmó que *F. moniliforme* var. *subglutinans* debe ser el nombre correcto del agente causal.

Lo anterior se complementó cuando cinco aislamientos provenientes de pinos produjeron peritecios fértiles en apareamientos de cultivos monospóricos, además de que se logró aislar a *Gibberella fujikuroi* (Saw) Wollenw var. *subglutinans* Edwards. (Kuhlman, Dwinell, Nelson y Booth, 1978). Sin embargo, la fase teleomórfica sólo se encontró en cultivo, por lo cual, la compatibilidad sexual no pudo ser usada para identificación rutinaria, porque los aislamientos sexualmente infértiles son más comunes que los fértiles.

En 1983 se elevó a categoría de especie la variedad mencionada y el nombre asignado fue *Fusarium subglutinans*. Lo anterior se basó en la presencia de polifiálides y la ausencia de microconidios en cadena, este criterio se corroboró cuando los polifiálides se observaron en cultivos de 14 a 30 días de edad, que provinieron de aislamientos de diferentes especies de pino (Nelson, Toussoun y Marasas, 1983). Los polifiálides son contrastantes con los fiálides simples de *F. moniliforme*, que sólo tienen un apertura final en cada estructura unicelular. Ambas estructuras pueden ser originadas de cualquier conidióforo simple no ramificado o de partes de la ramificación compleja de éstos (Kuhlman *et al.*, 1978).

3.2. Descripción de *Fusarium subglutinans*

Las características del hongo han sido estudiadas a diferentes niveles, desde su crecimiento en medio de cultivo hasta las características microscópicas específicas.

Características de la colonia del hongo

El color de la colonia, tanto para aislamientos de pino como de otros hospedantes, es el siguiente: presenta micelio aéreo blanco a blanco grisáceo, de textura algodonosa, afelpada y es generalmente denso. Frecuentemente las colonias cambian de tonalidad a medida que se desarrollan, pudiéndose encontrar colores tales como el salmón pálido, morado vináceo, rosa morado y morado intenso; asimismo, el agar presenta cierta tinción, que varía desde violeta, rojo vivo hasta morado oscuro. (Kuhlman *et al.*, 1978 y Barrows Broaddus, 1987).

Tipo de conidióforos

Las hifas son hialinas cuando jóvenes, cambiando a rosa y finalmente morado. (Barrows-Broaddus, 1987). Los aislamientos con abundante producción de esporas, provenientes de árboles de pino, originan fiálides simples y polifiálides (Kuhlman *et al.*, 1978). Los conidióforos denominados como fiálides (monofiálides y polifiálides) pueden ser formados en cualquier conidióforo no ramificado o en células conocidas como fialosporas, los polifiálides también presentan ramificación compleja con modelos de crecimientos simpódicos. Los polifiálides son contrastantes con los fiálides simples, los cuales tienen únicamente una apertura final en cada estructura unicelular (Kuhlman *et al.*, 1978).

Tipo de esporas.

Los cultivos de *F. subglutinans* siempre son descritos como abundantes productores de microconidios, sin embargo, aparentemente la abundancia de microconidios parece ser una característica menos importante que la forma de los macroconidios. Los microconidios sólo se presentan en falsas cabezuelas nunca en cadenas (Kuhlman *et al.*, 1978). El tamaño y la forma de los conidios son los siguientes: Los microconidios tienen de 0 a 3 septas y miden de 8 a 12 por 2.5 a 3.0 μm ; son de forma oval a subclavados. Los macroconidios son de pared delgada, en forma de hoz con 3 a 5 septas y miden 32 a 53 x 3 a 4.5 μm (Barrows-Broadus, 1987). Los conidios no septados y con una septa son los microconidios, las esporas con dos septas pueden ser micro o macroconidios y las esporas con tres o mas septas siempre son macroconidios (Kuhlman *et al.*, 1978). Los conidios presentan consistentemente buena germinación (40 - 90%) (Blakeslee *et al.*, 1978). En relación a la producción de otro tipo de esporas, como las clamidosporas, estas no están presentes en aislamientos hechos de pino; sin embargo en muchos aislamientos es común encontrar cuerpos parecidos a esclerocios de color azul negro y han sido considerados por otros autores como un estado inicial de la formación de peritecios (Kuhlman *et al.*, 1978).

Cuerpos de reproducción asexuales

Aunque la enfermedad fue reportada desde 1946 no se conocía la existencia de los cuerpos de reproducción asexual del hongo. En 1978 se detectó que en *P. elliotii* hubo canchales resinosos, donde se formaron cuerpos de reproducción asexual (esporodoquios) del patógeno, consistentemente en ramas de 3 cm de diámetro (Blakeslee *et al.*, 1978a). El hongo produce esporas en estas pequeñas estructuras que tienen forma de cojinetes de color rosa salmón, y que son menores de 3 mm de ancho, a manera de pústulas, que se localizan muy frecuentemente en las pequeñas depresiones que dejan las cicatrices de los fascículos de las hojas muertas que caen de las ramas infectadas o de ramas que están a punto de morir o ya murieron (Blakeslee *et al.*, 1978a; Dwinell *et al.*, 1985; Blakeslee, Dwinell y Anderson, 1980).

Cuerpos de reproducción sexuales

La fase sexual del hongo, *Gibberella fujikuroi* var. *subglutinans*, se logró formar en medio de cultivo a base de paja de trigo y V-8 Agar y las características del hongo aparecieron en la superficie del medio cuando se aparearon 2 colonias compatibles en aislamientos provenientes de pino. Las ascosporas que se formaron tuvieron un promedio en tamaño de 21-23 μm de largo, más de la mitad presentaron 3 septas y muchos tuvieron una forma irregular. La temperatura de desarrollo fue de 21 a 24°C y se mantuvieron bajo luz negra. Estos datos concuerdan con investigaciones hechas anteriormente, para cultivos de la misma especie, pero aislados de otros hospedantes (Kuhlman, 1982).

3.3. Distribución y hospedantes.

El cancro resinoso es una enfermedad fungosa de daño intermitente de los pinos del sur (USDA Forest Service, 1976). La enfermedad se ha observado en Florida y Georgia, y en otros Estados del Sur (Blakeslee, Miller y Barnard, 1981). Es muy severa en *P. elliotii* y *P. virginiana*, reduciendo el crecimiento y algunas veces matando árboles de gran tamaño, otros pinos afectados son *P. echinata*, *P. palustris*, *P. taeda*, *P. clausa*. Para 1976, la enfermedad se encontró presente desde Virginia al Sur de Florida, y en la parte del medio oeste hacia Tennessee y Louisiana, La incidencia es especialmente alta en plantaciones de *P. elliotii* en áreas localizadas dentro de varios sitios de Florida y Sur de Georgia. La distribución y hospedantes para 1976 se resumen en el siguiente cuadro:

CUADRO 1. Distribución y hospedantes del cancro resinoso en 1976.

Especies Hospedantes	Distribución
<i>P. elliotii</i> var <i>elliotii</i>	Florida
<i>P. elliotii</i> var <i>densa</i>	Florida
<i>P. echinata</i>	Mississippi, Tennessee y Virginia
<i>P. taeda</i>	Áreas semilleras Carolina del Norte, Mississippi y Georgia
<i>P. palustris</i>	Georgia
<i>P. virginiana</i>	Carolina del Norte
<i>P. clausa</i>	Florida

Fuente. USDA Forest Service, 1976.

Para 1977 se incluyen como hospedantes del cancro resinoso además de las especies ya mencionadas, a *P. rigida*, *P. sylvestris*, *P. pungens* y *P. strobus*. El hongo *F. subglutinans*, también ha producido infecciones cuando es inoculado en plántulas de pino; e igualmente su patogenicidad ha sido demostrada en *P. elliotii* en árboles de 3 años de edad en campo (Dwinell y Phelps 1977, Hepting, 1977). Para 1977, el cancro resinoso en bosques de Carolina del Sur fue de importancia económica en rodales de *P. elliotii* pero el daño fue menor cuando la infección se presentó en rodales mezclados de *P. virginiana*, *P. echinata* y *P. taeda* (Kraus y Witcher, 1977).

Las plantaciones más severamente dañadas en Florida son de *P. elliotii* var *elliotii* (Dwinell y Phelps 1977). La mayor severidad se ha encontrado en *P. elliotii* var *elliotii*, pero también son susceptibles: *P. virginiana*, *P. echinata*, *P. taeda*, *P. sylvestris*, *P. elliotii* var *densa*, *P. pungens*, *P. strobus* y *P. clausa* (Blakeslee, Dwinell y Anderson, 1980), asimismo el agente causal del cancro resinoso fue aislado de árboles maduros de *P. taeda*, *P. elliotii*, *P. elliotii* var *densa*, *P. virginiana*, *P. palustris*, *P. echinata*, *P. strobus* y *P. sylvestris*, provenientes de Carolina del Norte y del Sur, Georgia, Florida y Mississippi (Kuhlman *et al.*, 1978).

También se presenta en plántulas de *Pinus elliottii* var *elliottii*, y se ha detectado en camas de almácigo de *P. taeda* (Blakeslee, Miller y Barnard, 1981). El cancro resinoso también se ha encontrado presente desde Virginia hasta el sur de Florida y el oeste de Mississippi (Kulhman y Cade, 1985; Barnard y Blakeslee, 1987). También se detectó en Haití, asociado a *P. occidentalis* (Dwinell y Phelps 1977; Barnard y Blakeslee, 1987). En el siguiente Cuadro se resume la distribución conocida para 1987.

CUADRO 2. Distribución y hospedantes del cancro resinoso en 1987.

Hospedante	Distribución
<i>P. clausa</i>	Florida.
<i>P. echinata</i>	Alabama, Carolina del Norte, Mississippi, Tennessee, Virginia.
<i>P. elliottii</i> var <i>densa</i>	Florida.
<i>P. elliottii</i> var <i>elliottii</i>	Florida, Georgia.
<i>P. occidentalis</i>	Haití.
<i>P. palustris</i>	Georgia.
<i>P. pungens</i>	Carolina del Norte, Virginia.
<i>P. radiata</i>	Síntomas observados por inoculación de plantas
<i>P. rigida</i>	Carolina del Norte y Virginia
<i>P. serotina</i>	Carolina del Norte
<i>P. strobus</i>	Carolina del Norte
<i>P. sylvestris</i>	Síntomas observados por inoculación de plantas.
<i>P. taeda</i>	Georgia, Alabama, Mississippi, Carolina del Norte, Carolina del Sur y Texas.
<i>P. virginiana</i>	Tennessee, Alabama, Carolina del Norte.

Fuente: Barrows-Broadus, 1987.

En general, la distribución de la enfermedad sigue los rangos de susceptibilidad natural de las especies. Como puede observarse en el Cuadro anterior, en *P. radiata* y *P. sylvestris* las plántulas inoculadas con *F. subglutinans* desarrollaron la sintomatología de la enfermedad (Barrows-Broadus, 1987). No solamente por patogenicidad en la inoculación, al menos para *P. radiata*, ya que el patógeno fue recientemente identificado y asociado con este pino a lo largo de la costa de California en 1986. Las pruebas de compatibilidad fungosa sugieren que *F. subglutinans* es de introducción reciente en California (Correll et al., 1991). En este mismo Estado, además de *P. radiata*, se ha encontrado en: *P. halepensis*, *P. muricata*, *P. pinea*, *P. coulteri*, *P. ponderosa*, *P. torreyana*, *P. contorta* y *P. canariensis* (McCain, Koehler y Tjosvold, 1987; Correll et al., 1991; Storer y Dallara, 1992).

La enfermedad se ha encontrado en otros países (Barnard y Blakeslee, 1987). En Japón, se logró aislar al hongo a partir de canchales presentes en *P. luchensis*, y su patogenicidad se probó en *P. radiata* y *P. virginiana*, pero al parecer se trata de un patotipo para esa especie. (Muramoto y Dwinell, 1990). En Rusia se ha encontrado a *F. moniliforme* en *P. sylvestris* donde produce síntomas similares a estos que se mencionan, el hongo en su proceso de crecimiento puede producir giberelinas (Kukharskaya, 1990).

La enfermedad también se ha reportado en Haití como se mencionó anteriormente. (Dwinell y Phelps 1977; Barnard y Blakeslee, 1987). En Irak se ha encontrado a *Gibberella fujikuroi* var. *subglutinans* además de otros hongos relacionados con Damping off de *P. brutia*. (Khalisy *et al.*, 1981).

En el Cuadro 3, se presentan las especies de pino que se incluyeron como hospedantes para el año de 1993, aparte de los ya citados.

Cuadro 3. Distribución y hospedantes del cancro resinoso de 1987 a 1993.

HOSPEDANTE	DISTRIBUCIÓN
<i>P. radiata</i>	California
<i>P. halepensis</i>	California
<i>P. muricata</i>	California
<i>P. pinea</i>	California
<i>P. coulteri</i>	California
<i>P. ponderosa</i>	California
<i>P. torreyana</i>	California
<i>P. contorta</i>	California
<i>P. canariensis</i>	California
<i>P. luchensis</i>	Japón
<i>P. sylvestris</i>	Rusia
<i>P. brutia</i>	Irak

3.4. Etiología del cancro resinoso

3.4.1. Diseminación de esporas del hongo y vectores asociados

La época de diseminación es de julio a noviembre; teniendo como fuente de inóculo a los esporodoquios (Blakeslee *et al.*, 1978a), las infecciones son iniciadas por los conidios que son generados en estas estructuras, estos conidios también se pueden producir en galerías o estructuras que producen algunos insectos. Las infecciones pueden ocurrir durante todo el año; en otoño es cuando la dispersión se ve favorecida principalmente por la presencia de tormentas acompañadas por viento. La dispersión máxima se da en la época de lluvias. Las esporas al ser diseminadas son llevadas por el viento a nuevos hospedantes, los cuales, si presentan algún tipo de

herida, permiten la entrada de los conidios al árbol; no obstante lo anterior, se ha encontrado inóculo viable durante todo el año (Dwinell *et al.*, 1985), también en huertos semilleros, se han encontrado esporas en agua de lluvia, cayendo de ramas muertas que permanecen en la copa de los árboles infectados y en el aire alrededor del árbol (Kuhlman *et al.*, 1982).

Asimismo, algunos insectos presentes en los pinos están íntimamente relacionados con el inicio de nuevas infecciones, el hongo requiere necesariamente de heridas y normalmente no penetra a tejidos intactos (Dwinell *et al.*, 1985), sin estas heridas el hongo no puede atacar a la planta hospedante (Dwinell, Ryan y Kuhlman, 1977).

Los insectos hacen heridas que son fácilmente invadidas por esporas del patógeno que se encuentran presentes en el aire. El picudo *Pissodes nemorensis* está activo durante el otoño, cuando hay mayor diseminación de esporas, y al alimentarse de brotes verdes, facilita la penetración del hongo en las heridas que produce. Otros insectos que atacan a los brotes son *Dioryctria spp.* y *Rhyacionia spp.*, principalmente *Rhyacionia subtropica* (Schmidt y Underhill, 1974; Blakeslee, Dwinell y Anderson, 1980; Dwinell *et al.*, 1985).

Se sabe también que los descortezadores del género *Ips spp.* están asociados con la enfermedad, estos insectos atacan preferentemente cuando los árboles están a punto de morir. La evidencia de su presencia (primariamente *Ips grandicollis*) fue observada en muchos de los árboles muertos (Blakeslee y Oak, 1979). Por otra parte, *Ips mexicanus* e *I. paraconfusus* también se encuentran asociados al cancro resinoso en *Pinus radiata* en California. Experimentalmente los adultos de *Ips paraconfusus* contaminados, transmitieron la enfermedad a plántulas y pinos maduros y se produjeron canchros (Fox; Wood y Koehler, 1990; Fox *et al.* 1991).

El patógeno *F. subglutinans* inoculado a los pinos por *Ips spp.* En comparación con otros hongos asociados a descortezadores, tuvo un crecimiento reducido y en manchones; todos los estadios de *Ips* lo adquirieron de manera natural, transportando los propágulos; *Ips spp.* y *Pityophthorus carmelii* atacaron tallos de pinos sanos, ramas y fustes, infectando 92% de las ramas, lo cual sugiere que estas especies de insectos pueden diseminar el hongo de partes enfermas a partes sanas del árbol. *F. subglutinans* fue aislado de *Ips spp.* y *Pityophthorus carmelii*, capturados en múltiples trampas con varios atrayentes, y que emergieron de pinos infectados con cancro resinoso y rodajas expuestas a resinosis inducida por el hongo (Fox, Wood y Koehler, 1990; Fox *et al.*, 1991).

Asimismo el cancro resinoso se encontró asociado en *Pinus radiata* en California, con las actividades de *Pityophthorus carmelii* y *Conophthorus radiatae*, individuos de *Pityophthorus carmelii* contaminados por el hongo transmiten la enfermedad a plántulas. El hongo también fue aislado de los túneles de entrada y de larvas en conos infectados con estos insectos, aunque *Pityophthorus carmelii*

ocasionalmente ataca conos, raramente ambos insectos tienen ataques concurrentes. También se aisló al hongo de *C. radiatae* capturados en trampas. Se sugiere que *P. carmelii* y *C. radiata* diseminan inicialmente al patógeno, mientras que *Ips spp*, debido a su actividad; incrementan las infecciones locales causando canchales en tallos y matando árboles infectados (Fox, Wood y Koehler, 1990 y Fox *et al.*, 1991).

También se tiene que *F. subglutinans* fue recuperado del 25% de individuos de *Ernobius punctulatus* atrapados en trampas pegajosas. Estos Anobidos se encontraron con frecuencia en conos y yemas que también estuvieron infestadas por pupas de *C. radiatae* y *P. carmelii*. El hongo fue aislado de 25% de adultos y 40% de pupas de *C. radiatae*, este insecto fue capturado muy raramente y no se considera abundante. Sin embargo, ya que sólo una pequeña cantidad de esporas puede ser suficiente para la infección y que estos insectos rutinariamente se alimentan en pinos sanos, pueden ser un factor importante para la diseminación de la enfermedad. Otros insectos importantes como las chicharritas, salivazo, chinches, picudos del follaje, no transmiten el patógeno de árboles infectados a plántulas cuando éstas se encuentran aisladas (Fox, Wood y Koehler, 1990 y Fox *et al.* 1991).

El descortezador *Dendroctonus terebrans*, también está asociado con la enfermedad, pero se presenta en muy raras ocasiones (Blakeslee y Oak, 1979). Los insectos *Leptoglossus corculus*, *Tetyra bipunctata*, *Cydia spp* y *Megastigmus atedius*, que atacan estróbilos femeninos, conillos y conos, eventualmente transportan al hongo que causa el cancro resinoso (Dwinell *et al.*, 1985).

3.4.2. Establecimiento y penetración del hongo

Hasta ahora, aparte de los insectos asociados, las infecciones están comúnmente relacionadas con factores ambientales y el hongo requiere necesariamente de heridas (Dwinell *et al.*, 1985). Sin heridas por insectos *F. subglutinans* probablemente no podría atacar a la planta hospedante (Dwinell *et al.*, 1977). El hongo invade la madera de ramas y tejido del tallo principal, la madera cambia de coloración debido tanto al avance del hongo como al mecanismo de respuesta del árbol, una de las respuestas principales es el flujo de resina. Las heridas, son infectadas rápidamente por esporas del hongo presentes en el aire; también sirven como punto de entrada los daños hechos por el viento y por el granizo, así mismo se conoce que el hongo puede infectar y permanecer activo en agallas ocasionadas por *Cronartium* (Blakeslee, Dwinell y Anderson, 1980). La velocidad y grado de respuesta del hospedante, a partir de la invasión del hongo por las heridas es variable (Dwinell *et al.*, 1985; Valluri y Soltes, 1988).

Barrows-Broadbush y Dwinell (1983), realizaron estudios histopatológicos los cuales revelaron que la colonización del hongo y su crecimiento están confinados al área adyacente del punto de infección. La tilosis se forma dentro de los canales resiníferos adyacentes a la herida. En plántulas el hongo invade más fácilmente hacia abajo que hacia arriba del nodo. Conforme avanza el patógeno, se acumula resina en las células afectadas de la corteza, las cuales se desintegran rápidamente y son delimitadas por una capa del peridermio. Una zona de reacción se forma distal a la herida en el xilema, esta zona es abarcada por células parenquimatosas, las cuales parecen ser regenerativas. Los ductos de resina que contienen tilosis aumentan según el avance del hongo, que crece rápidamente de manera intercelular; las células acumulan resina antes de necrosarse y desintegrarse.

A medida que el hongo crece va atacando las células del parenquima a través del tallo, produciendo huecos en la corteza, rayos y médula; donde los tejidos son desintegrados. Las hifas se observan fácilmente, son numerosas en las cavidades dejadas por las células corticales, ductos de resina y rayos; las traqueidas del xilema son tapadas con resina y el hongo no ataca sus paredes celulares; la formación de paredes peridermales en la corteza y en la zona de reacción de las células del parenquima en el xilema no detienen el progreso de la infección; las células tipo parenquima parecen ser particularmente vulnerables al ataque del hongo. En los pequeños canales de resina, las células epiteliales forran los ductos y el parenquima de los rayos asociados y se hipertrofian, luego el hongo las degrada (Barrows-Broadbush y Dwinell, 1983).

Cuando la infección ya es muy vieja y las ramas están completamente muertas, en la superficie de las ramas se forman los primordios de esporodoquios. Se observa formación de lesiones en respuesta a la inoculación; el hospedante resiste a una infección severa, formando gran cantidad de paredes de parenquima regenerativo, en la corteza y en la médula, en donde posteriormente se lignifica. Muchas de las células lignificadas de la médula se ven como traqueidas y probablemente funcionen como tales, para permitir el transporte de agua, éstas sustituyen a las traqueidas normales del xilema que fueron tapadas con resina y otros metabolitos. En el xilema la orientación de las traqueidas cambia según avanza el hongo, de manera que en una vista transversal, se observan con una disposición tangencial. Las paredes de parénquima de tipo regenerativo se forman en el lado opuesto del tallo, es decir, enfrente del avance del hongo y proporcionan nuevos tejidos para mantenimiento continuo del tallo; después de que el hongo destruye los tejidos de respuesta formados en la médula, los tejidos arriba y abajo del punto de inoculación son progresivamente delimitados por peridermio de la corteza y eventualmente tapados (Barrows-Broadbush y Dwinell, 1983).

3.4.4. Desarrollo y manifestación de síntomas

Existe una gran variedad de síntomas, que se presentan después de que se inició la infección y se observan en diferentes partes vegetativas como: ramas, fustes, brotes, yemas y follaje. Estos síntomas incluyen: muerte descendente de brotes terminales y puntas, síntomas del follaje, formación de canchros, flujos de resina y cambios de coloración en la madera. A continuación se describe cada uno de ellos.

Muerte descendente

Este síntoma se presenta en gran cantidad de especies de pino en Estados Unidos, generalmente se observa durante el verano. La punta muere y en la corteza hay emisión de resina e inicio de la formación de canchros (Dwinell Ryan y Kuhlman, 1977; Dwinell y Phelps, 1977; USDA, 1976; McCain *et al.*, 1987), la copa queda marcadamente rala debido al daño (Dwinell y Phelps, 1977). En árboles resistentes se observa la muerte de brotes laterales, en cambio en especies susceptibles la muerte se inicia desde la punta y llega hasta la mitad de la copa. También se provoca la formación de pequeñas escobas de bruja, las cuales se desarrollan como brotes adventicios, debido a infecciones repetidas (Dwinell, Ryan y Kuhlman, 1977).

Síntomas en el follaje y brotes

Durante los períodos de mayor infección el primer síntoma en el follaje es el cambio de coloración, las acículas se tornan cloróticas y amarillentas, crecen anormalmente y posteriormente mueren adquiriendo un color café rojizo brillante. Los brotes se doblan formando ganchos, parecidos a los que producen barrenadores de brotes del género *Eucosma* (Blakeslee, Dwinell y Anderson, 1980). Los brotes muertos permanecen en la copa por varios años y son indicios de la presencia de la enfermedad (Dwinell, Ryan y Kuhlman, 1977). Las hojas, en brotes recientemente muertos, son de color amarillo a café rojizo, posteriormente cambian a café verdoso y gris oscuro (Dwinell y Phelps, 1977). En muchos casos la yema apical muere y una yema lateral secundaria toma la dominancia. Con lo anterior, en el fuste ocurren deformaciones en forma de sinuosidades ó curvaturas, o bien en forma de horqueta en el tallo principal (USDA, 1976).

Flujo de resina

Los brotes infectados típicamente exudan gran cantidad de resina, en el punto de infección o cerca de éste (Barnard y Blakeslee, 1987). El flujo de resina se expande completamente, antes de la muerte de los tejidos debido a la infección, el grado de resinación es bastante intenso, aunque puede ser poco en canchros hendidos (Dwinell, Ryan y Kuhlman, 1977). La cantidad de resina exudada, depende de la especie de pino infectado (Barnard y Blakeslee, 1987). Cuando el tallo es completamente infectado, la parte superior muere, presentándose además un flujo de resina intenso y la impregnación de resina en tejidos del xilema (Barnard y Blakeslee, 1987), cuando la reacción es intensa, se llega a cubrir una gran superficie del fuste (Blakeslee, Dwinell y Anderson, 1980).

Cancros

Estos constituyen uno de los síntomas clásicos, y se observan en fustes, ramas y brotes. El cancro es un área visible muerta, generalmente de extensión limitada en la epidermis o corteza de la planta (French, 1978; Dwinell y Phelps, 1977). El hongo invade tejidos de ramas y tallos, originando cancos localizados. La resina fluye abundantemente de los tejidos enfermos (Dwinell, Ryan y Kuhlman, 1977; Blakeslee, Dwinell y Anderson, 1980).

Los cancos dan como resultado, aparte de la muerte descendente, que la copa quede con poco follaje (Dwinell y Phelps, 1977), pueden estrangular rápidamente el tallo, matando la porción arriba de éste (USDA, 1976). En los brotes los cancos son generalmente anuales; mientras que en ramas grandes y fustes son perennes (Dwinell y Phelps, 1977). Frecuentemente no matan al brote durante el primer año de infección, aunque sí se desarrollan durante el invierno y la primavera, pudiendo estrangular a las ramas grandes y formar los cancos perennes (Blakeslee, Dwinell y Anderson, 1980).

Siempre que se presenta el cancro, el follaje cambia de coloración. Los cancos pequeños sin incisiones alrededor de las ramas, se presentan de manera perineal, permaneciendo activos por muchos años (Barnard y Blakeslee, 1987). Los cancos rompen la corteza hacia afuera y la cara del cancro puede ser ligeramente abatida, las capas internas contienen resina que frecuentemente se observa en el duramen. Se debe tener cuidado de no confundir estos síntomas con otro tipo de enfermedades o daños mecánicos (Blakeslee, Dwinell y Anderson, 1980; Dwinell y Phelps, 1977).

Características de la madera

Otra de las características de la enfermedad son los cambios en las propiedades de la madera. La madera debajo del cancro está con resina embebida, presentándose frecuentemente en el centro del fuste (Blakeslee, Dwinell y Anderson, 1980). Al colonizar la madera, ésta se decolora y poco tiempo después se inicia un flujo denso de resina, que humedece los tejidos y les confiere una coloración que varía de clara a oscura, lo más frecuente es que sea café rojizo (USDA, 1976; Dwinell, Ryan y Kuhlman, 1977; Blakeslee *et al.*, 1980; Barnard y Blakeslee, 1987).

3.4.5. Desarrollo de signos

Sólo se tiene como signo de la enfermedad la presencia de cuerpos de reproducción del tipo de esporodoquios. En las ramas infectadas dentro de la copa superior de árboles enfermos, los cuerpos fructíferos son encontrados durante todo el año y se han observado en árboles cuyos rangos de edad son de 10 a 25 años y 5 a 19 m de altura (Blakeslee *et al.*, 1978). Los esporodoquios no siempre están presentes en ramas enfermas aunque cuando se producen, se pueden encontrar en cualquier época del año (Blakeslee *et al.*, 1978; Blakeslee, Dwinell y Anderson, 1980).

Los esporodoquios son producidos rápidamente, tan solo en un período de 2 a 4 semanas después de la caída de las ramas infectadas y pueden persistir por largos periodos de tiempo. Ocasionalmente, segmentos de ramas de 30 cm de largo, infectadas por el hongo pueden contener más de 100 cuerpos de reproducción del patógeno. Si las ramas son colectadas antes del inicio del deterioro avanzado del tejido, los esporodoquios se pueden observar en muchas de estas ramas. Excepto por los conidióforos, el esporodoquio contiene únicamente macroconidios (Blakeslee *et al.*, 1978).

3.5. Epifitología.

El cancro resinoso provoca daños en plantaciones comerciales y en huertos semilleros; los daños directos que produce el hongo en el desarrollo de la enfermedad son: mortalidad de árboles; reducción del crecimiento en altura y diámetro; deformación de tallos; pérdidas de conos y semillas y su disminución en calidad y cantidad (Schmidt y Underhill, 1974; Dwinell y Phelps, 1977; Blakeslee y Oak, 1979; Blakeslee *et al.*, 1980; Dwinell y Barrows-Broadus, 1981 y 1983; Dwinell *et al.*, 1985). Las epifitias son esporádicas, aunque la frecuencia y severidad de la enfermedad se ve incrementada con las prácticas de manejo forestal (Barnard y Blakeslee, 1987). Se han observado epifitias en plantaciones y huertos semilleros (Dwinell y Phelps, 1977). La enfermedad es más severa en huertos donde los árboles han sido heridos de manera natural ó por prácticas silvícolas; pero cuando la infección está presente y no hay ningún tipo de manejo, los árboles enfermos llegan a infectar con mucha facilidad a los árboles sanos (Blakeslee *et al.*, 1980).

El inicio de la infección se detecta en árboles maduros por la apariencia de las características de cambio de coloración rojiza y la caída de los brotes laterales y terminales. La mortandad de brotes se observa más frecuentemente de finales de otoño hasta la primavera (Barnard y Blakeslee, 1987). El hongo ataca fundamentalmente ramas y tallos, y no se ha reportado como un patógeno de raíz (Fox, Wood y Koehler, 1990).

Los árboles de grandes fustes son severamente atacados, aquellos con infecciones múltiples en ramas y tallo, pueden morir en un lapso de un año, dependiendo de la severidad del ataque. En plantaciones los síntomas se presentan durante todo el año (Dwinell *et al.*, 1978)

Cuando se tiene el inicio de una nueva infección, los árboles recientemente enfermos, se presentan aleatoriamente y aparentemente no existe relación con el número y posición con otros árboles infectados con anterioridad, aunado a esto la sanidad del arbolado no tiene efecto en la tasa de incremento de la enfermedad, lo que sugiere que en ocasiones puede existir una fuente de inóculo externa (Schmidt y Underhill, 1974).

3.5.1. Impacto de la enfermedad.

En 1976 se reportaron en Estados Unidos un total de 445 000 ha dañadas por el cancro (Blakeslee *et al.* 1980). Para 1985, sólo para una especie de pino se tuvieron 223 000 ha infectadas por el hongo. La pérdida de volumen se estimó de 51.5 a 113.5 millones de m³ anuales (Dwinell *et al.*, 1985). En rodales en áreas epidémicas, la mortalidad se ha reportado hasta en un 25% y el nivel de infección ha excedido el 90% (Blakeslee *et al.*, 1980). El cancro resinoso causa pérdidas considerables en todas las áreas donde se ha reconocido su presencia (Oak *et al.*, 1982).

Las proyecciones publicadas en 1974 asumen que en los siguientes 25 años se tendrán pérdidas por crecimiento y se incrementará la mortalidad del arbolado debido a la presencia de la enfermedad (Schmidt y Underhill, 1974). En evaluaciones del impacto en el crecimiento de árboles, se encontraron tres aspectos fundamentales. El promedio total de crecimiento en altura de árboles enfermos incluyendo puntas muertas fue menor que el de los árboles sanos; el diámetro promedio de algunos árboles enfermos fue mayor que el de los árboles sanos; esta situación se pudo deber a la respuesta inmunológica del arbolado al ser atacado por el hongo. Por último, en la mayoría de los árboles enfermos la disminución en la tasa de incremento diamétrico normal fue mayor que para árboles sanos (Schmidt y Underhill, 1974).

En una plantación de *P. elliotii* de 23 años de edad, en donde en 1971 se esperaba que el crecimiento fuera de 340 m³/ha, se presentó la enfermedad en forma epifítica y la mortalidad fue evidente en todas las clases de edad. Aproximadamente 2 años después de la primera infección, 24.5% de los árboles en el área había muerto y el 4.1% estuvieron severamente afectados. De todos los árboles remanentes cerca de 94% estaban enfermos. Por lo anterior, la plantación tuvo que ser cosechada antes de su turno técnico. El rendimiento fue 21% menor que el esperado para ese último año de crecimiento. Otras observaciones hechas en plantaciones similares indicaron que el bajo rendimiento se debió a la presencia de la infección (Blakeslee y Oak, 1979). En estas plantaciones los árboles enfermos en comparación con árboles sanos mostraron una reducción de 1 m (3.27 pies) en crecimiento en altura y 0.05 cm en crecimiento en diámetro en dos años observados (Schmidt y Underhill, 1974).

En otro estudio realizado durante cinco años a nivel de rodal con la presencia de la enfermedad, se encontró que el 59% de los árboles enfermos fueron infectados por lo menos una vez durante el período de estudio. El incremento anual de volumen para árboles infectados fue significativamente mayor que el de árboles sanos; nuevamente los árboles enfermos presentaron mayor crecimiento en volumen y el incremento para los árboles infectados fue consistentemente entre 60 y 81%; la diferencia en incremento en volumen fue significativa, esta relación entre el incremento de árboles sanos y enfermos fue evidente en cada parcela de estudio. A partir del segundo año la situación cambió, ya que se presentó una reducción en el incremento en volumen a medida que se aumentó el número de años con infección; los árboles que tuvieron infecciones de uno o dos años, crecieron 6% menos que los árboles sanos; árboles que tuvieron infecciones de 3 y 4 años y aquellos con infección durante 5 años,

experimentaron una reducción de volumen de 20 y 43% respectivamente. El crecimiento esperado para el período de prueba, fue 15% menor debido a la infección (Arvanitis, Godbee y Porta, 1984).

En relación a la producción de conos, al menos una parte del 86% de la disminución en el rendimiento de conos se atribuyó al cancro resinoso en un huerto semillero de *P. taeda* en Mississippi. Así mismo, en una comparación de rendimientos de conos en dos huertos semilleros adyacentes de esta misma especie en Carolina del Sur, uno con muerte descendente de brotes y otro sin indicación aparente de la enfermedad, se presentó que un 28% de la reducción de producción de conos en el huerto se debió al cancro (Dwinell *et al.*, 1985).

El impacto que produce la enfermedad en viveros forestales, se estima en la pérdida de varios miles de plántulas por año. No todas las plántulas infectadas presentan los síntomas foliares al estar en el vivero, ni en el momento del transplante, por lo que cuando las plántulas infectadas son llevadas al campo para su establecimiento, se tendrán pérdidas adicionales debido al gasto de inversión de la plantación de aquellas plantas que no prosperen (Blakeslee, 1981).

3.5.2. Factores asociados a la enfermedad

El cancro resinoso se ve favorecido por varios factores como son: extremos ambientales, silvícolas, edáficos, genéticos y biológicos (USDA, 1976; Dwinell, Ryan y Kuhlman, 1978; Dwinell, Barrows-Broadus y Kuhlman, 1985). Estos factores los hacen susceptibles al ataque de otros agentes, sean insectos o enfermedades (Blakeslee y Oak, 1979). Las especies de rápido crecimiento son más susceptibles y la enfermedad es más severa en plantaciones que en rodales naturales. También, la enfermedad se puede encontrar en gran variedad de tipos de suelo, regímenes de humedad del sitio y diferentes topografías (USDA, 1976). Los pinos vigorosos pueden limitar el daño causado por la enfermedad (Fox, Wood y Koehler, 1990).

3.5.2.1. Factores ambientales

Entre estos factores, destacan los daños producidos por granizo, huracanes y tornados, así como el estrés de humedad. Los daños causados en plantas por granizo y viento sirven como punto de entrada para el hongo. Blakeslee (1981) considera que los huracanes y tornados causan daños y contribuyen para que el cancro resinoso se incremente en algunos huertos semilleros de *P. taeda*, *P. echinata* y *P. virginiana*.

En cuanto al estrés de humedad, el cual ha recibido poca atención, existe una relación directa con la presencia de la enfermedad, la alta humedad en el suelo puede afectar directamente el desarrollo de la enfermedad reduciendo la capacidad del árbol para resistir y tolerar la infección (Blakeslee, 1981). Por otra parte durante la segunda mitad de la rotación del rodal, cuando la demanda de agua es grande, es factible considerar la modificación de los sistemas de drenaje para ayudar a retener mas agua en el sitio durante los períodos de sequía, esto reduce posiblemente el estrés de humedad del árbol, para no tener árboles más susceptibles a la enfermedad (Blakeslee, Dwinell y Anderson, 1980).

3.5.2.2. Factores silvícolas

También se encuentra íntimamente asociada la infección con las actividades silvícolas, tales como la cosecha de conos y con las prácticas de poda de ramas. (Dwinell, Ryan y Kuhlman, 1978); en observaciones hechas de la enfermedad en huertos semilleros de *P. elliotii* var *elliotii*, los canchros se desarrollan en puntos del fuste donde los sujetadores de los cosechadores mecánicos han dañado o removido porciones de la corteza externa, existiendo también la posibilidad de que el hongo se disemine de árbol a árbol por estos sujetadores. También se ha observado la formación de canchros en yemas terminales, en las cuales el hongo puede entrar a través de daños cuando son desprendidas las ramas, por el chicoteo que se produce durante la cosecha mecánica de conos (Dwinell y Phelps 1977). Las infecciones se encuentran frecuentemente en las heridas que dejan los conos de *P. taeda* cuando son removidos de las ramas durante cualquier forma de cosecha (Blakeslee *et al.*, 1980). Una práctica silvícola, como la reducción de la densidad, reducirá el daño por la enfermedad (Blakeslee, 1981).

3.5.2.3. Factores edáficos

En algunos rodales fertilizados, el cancro resinoso podría ser muy dañino (Blakeslee *et al.*, 1980). La fertilización puede incrementar la susceptibilidad a la infección ya que promueve el desarrollo de tejidos más succulentos y alarga el período de crecimiento en el otoño. (Dwinell *et al.*, 1978; Fraederich y Witcher, 1982).

Aunque las relaciones entre la fertilización y la enfermedad causada por *F. subglutinans* se han estudiado en campo e invernadero, la naturaleza de tal relación no esta bien definida, aunque probablemente exista. Sin embargo, la frecuencia y/o severidad de la enfermedad pueden incrementar con la fertilización, bajo ciertas condiciones (Blakeslee, 1981; Soel y Bruck, 1989).

En un estudio de fertilización en rodales enfermos se encontró que la incidencia de la enfermedad fue alta, cuando se aplicó la fertilización, el número de árboles con síntomas de la enfermedad incrementó en los dos años siguientes a la aplicación, y declinó cuatro años después. Todos los árboles que murieron durante el estudio tenían canchros en el tallo, así como también en una gran cantidad de ramas laterales. Para el

quinto año sólo 6% de los árboles murieron por el cancro y la mayoría de estas muertes se presentaron en parcelas que recibieron altas concentraciones de nitrógeno y fósforo. Los efectos de la fertilización en el crecimiento en diámetro también se presentaron, porque la enfermedad frecuentemente redujo la altura del árbol y el crecimiento en diámetro; árboles con el cancro crecieron menos que árboles sanos, sólo un tratamiento de fertilización de nitrógeno produjo igual crecimiento de los árboles sanos y de los enfermos, ninguno de los tratamientos incrementó las tasas de crecimiento de árboles infectados por arriba de los árboles sanos y dos tratamientos redujeron el crecimiento mucho menos que los árboles testigo, es decir, sin fertilización (Fisher, Garbett y Underhill. 1981).

Las aplicaciones tardías de nitrato de amonio para promover la floración, pueden incrementar la susceptibilidad al ataque del patógeno, sin embargo, la incidencia de la enfermedad permaneció alta en rodales adyacentes que no fueron fertilizados (Dwinell *et al.*, 1985).

3.5.2.4. Factores genéticos

La presencia de algunos árboles no infectados en plantaciones y en huertos semilleros severamente enfermos, sugiere que la resistencia genética está presente. Lo anterior se ha demostrado experimentalmente, manteniendo al patógeno en condiciones controladas que semejan condiciones ambientales naturales. En estos experimentos se encontró que árboles individuales difirieron en susceptibilidad al cancro resinoso. Las respuestas a la infección son medidas de dos formas: rápido desarrollo de los cancos (susceptibilidad extrema) y no desarrollo de síntomas (inmunidad aparente). Lo anterior llevó a considerar que pueden existir modelos amplios de fuentes de variación, mismos que pueden conformar una base para el desarrollo de fuentes de resistencia a la enfermedad (Blakeslee y Rockwood, 1978; Blakeslee, 1983).

3.5.2.5. Factores biológicos

La incidencia y severidad del cancro resinoso puede verse influenciada por la presencia de organismos que causan heridas y/o sean vectores, como ya se mencionó anteriormente. Por otra parte se ha observado que algunos pájaros comen larvas y estados inmaduros de insectos en áreas atacadas por el hongo; sin embargo, esta situación es sustancial sólo en algún tiempo, entre la intensidad de la enfermedad y la depredación extensiva subsecuente por los pájaros. Estos animales y otros depredadores y parásitos pueden influir en la población de los insectos y de esta manera influir indirectamente en la enfermedad (Blakeslee, 1981).

3.6. Antecedentes de la enfermedad en México.

La enfermedad conocida como cancro resinoso fue reportada desde 1946 en Estados Unidos, causando daños en *P. virginiana* (Hepting y Roth, 1946). En México, en 1980 se hizo un reporte en relación a la enfermedad conocida como resinosis o cancro del tronco en Michoacán, sin embargo, el agente causal reportado fue *Heterobasidium annosum* (*Fomes annosus*), y sólo se consideró a *Fusarium*, como un hongo presente en el material infectado, pero no como el responsable de la enfermedad (Vázquez-Collazo y Martínez-Barrera, 1980).

La sintomatología descrita en el reporte de 1980, es característica del cancro resinoso; sin embargo, esta enfermedad no fue considerada como importante. El conocimiento de la enfermedad tomó interés nuevamente en 1987, cuando la Subdirección de Sanidad Forestal, detectó en el Estado de Nayarit, la sintomatología de la enfermedad en *Pinus douglasiana* (Com. pers. Ma. Eugenia Guerrero). En el laboratorio de Patología Forestal de la División de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo (DiCiFo- UACH), el autor del presente trabajo realizó aislamientos de muestras provenientes de ese Estado. Los síntomas presentes en el fuste, indicaron la presencia de cáncros y flujo de resina. Las pruebas de laboratorio que se hicieron a partir de rodajas, presentaron un cambio de coloración en la madera, obteniéndose colonias de hongos, en su gran mayoría pertenecientes al género *Fusarium*, pero el diagnóstico se dejó por terminado a nivel genérico.

Para 1988 la propia Subdirección de Sanidad Forestal, inició un trabajo de investigación relacionado con la distribución e incidencia de la enfermedad en rodales de *Pinus douglasiana* en el mismo Estado de Nayarit (Gutiérrez-Rodríguez, 1991). Asimismo Cibrián-Tovar y Villa-Castillo (1988), detectaron la sintomatología de la enfermedad en una plantación de *Pinus douglasiana* en el Estado de Jalisco.

En otros aislamientos realizados también por el autor, de las muestras colectadas en 1987 y 1988 se encontró que el hongo bajo cultivo fue extraordinariamente similar a *Fusarium subglutinans*, adicionalmente los autores citados encontraron las estructuras asexuales de los cuerpos de reproducción del hongo (esporodoquios). Gutiérrez- Rodríguez (1991) menciona que en Nayarit, también fueron encontrados dichos esporodoquios en la misma especie hospedante y reportó como patógeno a *Fusarium moniliforme* var *subglutinans*.

En 1988, en el Estado de Tamaulipas, se encontró la sintomatología en varios individuos de *P. estevezii*¹. De las muestras colectadas en Nayarit, Jalisco y Tamaulipas, se realizaron inoculaciones, previo aislamiento de los hongos asociados a la sintomatología y se demostró su patogenicidad como causante de la enfermedad, de esta manera se encontró la evidencia de que el patógeno ocasiona el mismo tipo de enfermedad que la presente en Estados Unidos.

¹Viaje realizado en conjunto con investigadores de la División de Ciencias Forestales, UACH; Facultad de Ciencias Forestales, UANL; Servicio Forestal de Texas, Servicio Forestal de Estados Unidos con sede en Athens, Georgia.

3.7. Prevención y control de la enfermedad

Hasta 1976, se conocía muy poco acerca del control de la enfermedad. Se realizaron investigaciones probando aspersiones de químicos y otras estrategias de supresión, así mismo, se estudió en forma progresiva para determinar fuentes de inóculo y medios de diseminación del agente causal, también se evaluaron los efectos de sitio, factores culturales y ambientales de la incidencia de la enfermedad, todo esto para proponer medidas de control.

Las recomendaciones para el control del cancro resinoso en plantaciones de *Pinus elliotii* no eran posibles sino hasta hace pocos años. La poca información que existía del modo inicial de la infección y subsecuente diseminación, impedían biológicamente, un control adecuado. Financieramente las pérdidas no justificaban medidas de control directas, podas de porciones enfermas de árboles jóvenes y de alto valor eran posibles, pero se desconocía su costo (Schmidt y Underhill, 1974). Dwinell *et al.*, (1985) establecieron que para ese año, aún no se había desarrollado un programa específico de control o eliminación de la enfermedad. Una aproximación de manejo integrado debe incluir, control químico, control biológico, selección genética para resistencia y prácticas culturales alternas, las cuales se han empezado a desarrollar.

3.7.1. Control químico

A la fecha el conocimiento del control químico no está disponible, aunque investigaciones de algunos materiales parecen prometedores bajo ciertas circunstancias (Barnard y Blakeslee, 1987). Se han realizado investigaciones usando fungicidas sistémicos e insecticidas para el control de insectos vectores (Dwinell y Phelps, 1977), como un tipo de control indirecto, reduciendo de esta manera el número de agentes que provocan heridas o que son vectores del hongo. En áreas asperjadas con insecticidas Dursban M. (chlorpyrifos) se ha reducido significativamente la incidencia del cancro mas que todos los otros tratamientos, debido a su eficacia en el control de insectos vectores. En cambio en árboles tratados con benomyl presentaron de igual manera la misma muerte descendente que los testigos, ya que el aborto de conillos y deterioro de semillas causado por *F. subglutinans* esta intimamente relacionado con la alimentación de insectos que provocan heridas (Dwinell *et al.*, 1985).

En el control de otros agentes similares a *F. subglutinans*, se utilizó benomyl en diferentes concentraciones para el control de *F. moniliforme* y *F. oxysporum* en semillas de *Asparagus* y se encontró que en todos los tratamientos se logró controlar a *F. moniliforme* y solamente en una concentración se eliminó a *F. oxysporum*. En pruebas de laboratorio, cuando se colocaron semillas tratadas con benomyl en cajas sembradas con las dos especies de *Fusarium* se presentó inhibición en el crecimiento de ambas en medio de cultivo (Damicone *et al.*, 1981).

El control químico se justifica económicamente en viveros, huertos semilleros y plantaciones de árboles de navidad, donde se practica un manejo intensivo; en estos lugares se han realizado tratamientos comerciales con productos como Tiabendazol en plántulas de *P. taeda* previamente inoculados con *F. subglutinans*, los productos se usaron de manera sucesiva para comprobar que se pueden prevenir infecciones; se ha probado que el Tiabendazol es una herramienta efectiva para el control del cancro resinoso en plántulas de *P. taeda* en el este de Carolina del Norte, y aún en bajas concentraciones, actuó como limitante del crecimiento de *F. subglutinans in vitro* y en la prevención de la expresión de la sintomatología del cancro en plántulas inoculadas artificialmente en invernaderos. Este fungicida previene la expresión sintomática de *F. subglutinans*, el hongo pudo ser reaislado de tejidos aun cuando el fungicida se aplicó de 5 a 7 días después de la inoculación; esto implica que el tiabendazol puede actuar de manera sistémica en los tejidos del tallo (Runion y Bruck, 1988a).

El Tiabendazol también se ha probado en aspersión local en heridas de tallo; como una aspersión foliar para protección de flores femeninas, conos y semillas y como inyección sistémica terapéutica para canchros de tallos (Dwinell *et al.*, 1985).

El crecimiento del hongo *in vitro* fue suprimido con 0.1 ug de ingrediente activo/ml de tiabendazol y completamente inhibido a 1.0 ug de concentración, se observó control durante 9 semanas, sin embargo, altas concentraciones fueron necesarias para prolongar el control (Bruck, 1983; Runion y Bruck, 1988b). En *Pinus brutia*, que es atacado en almácigos por *F. subglutinans* en Irak. Se ha utilizado tratamiento a la semilla con Captan 50 a 0.3% para su control, cuando interviene como agente del complejo del "damping off" (Khalisy *et al.*, 1981). También se han probado fungicidas como benomyl y bavistin en *Pinus caribaea*, para el control del mismo complejo (Dadwai, Jamaludin y Soni, 1986).

Otro de los productos que se ha utilizado para el control de la enfermedad, de manera indirecta en el control de vectores, con diferentes formulaciones y concentraciones es el Guthion(R), lo más importante de su utilización es que no ha dado resultados visibles de toxicidad en aquellos árboles donde se ha aplicado (Dwinell, Ryan y Kuhlman, 1978)

3.7.2. Control genético

A partir de la década de los 70's también se inició con resultados prometedores la selección de clones resistentes a la enfermedad. La herencia y la asociación genética adquirida que se calculó en cinco pruebas de campo sugieren que la incidencia del cancro resinoso puede ser reducida a través de estrategias genéticas apropiadas. Para ello se pueden usar tres estrategias a corto plazo, las cuales son: a) Uso de una fuente de semilla de una población resistente. b) Uso de semillas de clones resistentes en huertos semilleros y c) Uso de semillas de áreas de producción semillera desarrollados en áreas epidémicas, provenientes de árboles que no estén contaminados (Dwinell y Phelps, 1977).

Las estrategias a largo plazo incluyen nuevas selecciones clonales de huertos, las cuales permitirán reducir significativamente la incidencia de la enfermedad. La resistencia al cancro resinoso no parece estar genéticamente relacionada a buenos crecimientos ó a la resistencia a otras enfermedades como la roya *Cronartium quercuum* [Berk.]. En árboles vigorosos de *P. ellottii* se sugiere que la resistencia genética al cancro resinoso está presente y que la resistencia adquirida significativa se puede realizar mediante estrategias a corto y largo plazo (Rockwood *et al.*, 1988).

3.7.3. Control biológico

Cuando se probó bajo condiciones de laboratorio una bacteria del suelo *Arthrobacter*, se encontró que inhibe el crecimiento de *F. subglutinans*, debido a su amplia diseminación en forma natural, esta bacteria puede influir en la población del patógeno (Blakeslee, 1981).

Barrows-Broadus y otros, han hecho ensayos con la bacteria, pero al parecer no son factibles porque ésta protege cuando las heridas son recientes, hasta de un día, pero es difícil obtener datos acerca de cuando estarán presentes las heridas, esto sólo puede ser anticipado en algunos casos como en la cosecha de conos, después de la cual se pueden hacer aspersiones de *Arthrobacter* para proteger al árbol de la infección de *F. subglutinans* (Barrows-Broadus, Dwinell y Kerr, 1985; Barrows-Broadus y Dwinell, 1985). Aunque en pruebas de campo *Arthrobacter* no protege las heridas que fueron inoculadas y colonizadas por el hongo, algunas cepas reducen la producción conidial subsecuente en estas heridas.

También es necesario considerar que los aislamientos de *Arthrobacter* varían considerablemente en eficacia. Otra opción es la inoculación de cepas avirulentas o débilmente virulentas de *F. moniliforme* var. *moniliforme*, pero esto aún no se ha realizado en forma extensiva (Barrows-Broadus, Teeslink y Kerr, 1983).

3.8. Manejo de la enfermedad

La prevención es el medio más efectivo para reducir pérdidas causadas por *F. subglutinans*, se recomiendan buenas prácticas silvícolas para rodales naturales, por ejemplo, el uso de especies de pino mejor adaptadas para sitios específicos; en plantaciones el uso de especies mas resistentes y/o establecimiento de plantaciones genéticamente resistentes; evitar el estrés de agua y evitar la fertilización excesiva e innecesaria; el saneamiento, la remoción y/o la destrucción de árboles enfermos o ramas infectadas, puede servir para la reducción del inóculo local. El examen de los árboles, ramas y brotes debe hacerse experimentalmente al final del otoño hasta la primavera, se debe buscar resinación externa y resina embebida interna en los tejidos del xilema en el lugar de la infección, ya que estos síntomas son característicos. Otras partes a examinar son las partes bajas de tallos y cuello de la raíz en plántulas muertas o muriendo por la resina adherida con agregados del suelo (Barnard y Blakeslee, 1987).

La experiencia ha mostrado que muchos latizales se han recuperado del ataque del hongo. La recuperación o salvamento de los árboles severamente dañados, es el único método para reducir pérdidas. Si los árboles son removidos antes de que la madera se manche y/o pudra y antes de que de inicio la diseminación del hongo, se pueden usar para la obtención de pulpa y madera aserrada.

Los árboles infectados pueden ser removidos del rodal, durante las operaciones de aclareo para reducir la incidencia de incendios y la fuente de inóculo. En áreas semilleras de gran valor o árboles urbanos, las ramas infectadas pueden ser podadas debajo del cancro para suprimir la enfermedad (USDA Forest Service, 1976).

3.8.1. Cortas de salvamento

La decisión para una corta severa en plantaciones enfermas depende de la incidencia (número de árboles infectados) y la severidad (cantidad de infección en cada árbol) de la enfermedad en el rodal. También se considera el curso esperado en el futuro de la enfermedad y la respuesta de los árboles. Se puede tolerar deformación ligera de fustes y reducción de tasas de crecimiento, en árboles jóvenes dentro rodales moderadamente infectados que tengan un turno largo. Los fustes deformados pueden ser más rápidamente quebrados durante las tormentas. En fustales de *P. elliotii* var *elliottii*, la reducción en crecimiento y la mortalidad obligan una corta intensa previa a la rotación.

En adición, la cosecha de árboles infectados, podría reducir la abundancia del patógeno en el área, reduciendo de ese modo la exposición de rodales cercanos o adyacentes (Blakeslee, Dwinell y Anderson, 1980).

Cuando sea posible, la quema de los restos de las ramas de las podas, podrá reducir la cantidad del patógeno y de este modo minimizar la exposición de rodales adyacentes (Blakeslee *et al.*, 1980).

3.8.2. Aclareos

Cuando sea posible económicamente como una práctica silvícola, se deben considerar los aclareos en plantaciones con una baja incidencia de la enfermedad y que este localizada en zonas de alto riesgo (rodales comerciales en áreas epidémicas).

La reducción de la densidad en plantaciones con poca enfermedad incrementa la resistencia de los árboles a ataques futuros o permitirá una mejor recuperación de infecciones previas. La efectividad de este tipo de aclareos no se ha demostrado, pero la remoción de árboles enfermos durante el aclareo puede limitar futuras pérdidas de volumen comercial por la reducción del nivel de esporas del patógeno en el aire y por minimizar la pérdida de crecimiento en la plantación.

La remoción de árboles severamente infectados y de bajo vigor, puede eliminar algunos sitios de crecimiento de *Pissodes nemorensis*, un insecto que es vector del hongo y que puede hacer heridas que son fácilmente infectadas. Estos aclareos deberán hacerse entre diciembre y mayo excepto durante una sequía ó cuando los descortezadores son problema en el área. Adicionalmente se debe hacer tratamiento a los tocones para el control de *Heterobasidion annosum*, cuando las áreas aclaradas tengan alto riesgo para este tipo de pudrición (Blakeslee *et al.*, 1980).

3.8.3. Prácticas en huertos semilleros

Evitar hacer heridas en árboles, especialmente de julio a noviembre, porque sirven como medio de entrada para el hongo, esta acción puede reducir la presencia de la enfermedad. Las cosechadoras provocan heridas en el punto de contacto o a través de la copa; tomar especial cuidado para minimizar el daño.

La cosecha de conos es mejor hacerla por corte que por arranque, ayudará a reducir las heridas, ya que la cosecha de conos las produce durante el período de infección crítico y puede dar como resultado una gran cantidad de infecciones en toda la copa. Las chapeadoras pueden provocar heridas en los tallos del árbol o en las raíces superficiales, por lo que se deben evitar, en la medida de lo posible, este tipo de daños (Blakeslee *et al.*, 1980).

3.9. Otras enfermedades asociadas al cancro resinoso

Se tiene información acerca de que otras enfermedades están presentes junto con el cancro resinoso, se ha encontrado que *F. subglutinans* coloniza rápidamente tejidos infectados por roya (Dwinell *et al.*, 1985). El hongo ha sido aislado de agallas de *Cronartium fusiforme* en *P. taeda* en Florida y Georgia (Dwinell *et al.*, 1978; Blakeslee, Dwinell y Anderson, 1980), el hongo probablemente entra a las agallas a través de las heridas que hacen algunos insectos (Dwinell *et al.*, 1978).

Otra enfermedad importante que se ha encontrado cuando el cancro está presente es el manchado azul de la madera ocasionado por *Ceratocystis spp.* El manchado no es aparente y sólo se detecta cuando algunas trozas son disectadas, en estas trozas está presente el daño por *Ips spp.*, pero se desconoce la asociación de la muerte del arbolado con el manchado de la madera, la presencia de insectos y el mismo cancro resinoso (Blakeslee y Oak, 1979).

La enfermedad también se encuentra asociado a la presencia de nemátodos como es el caso del nemátodo de la marchitez del pino *Bursaphelenchus xylophilus* (Dwinell *et al.*, 1985).

Otra enfermedad asociada con la muerte de estróbilos femeninos, conillos y conos de algunas especies de pino es causada por el hongo del cancro resinoso. En 1975, se presentó esta enfermedad inexplicable en estróbilos femeninos de *P. elliotii* var. *elliotii*. Aislamientos de tejidos del gametofito y del embrión de lotes de semillas que presentaron pobres porcentajes de germinación, produjeron numerosos cultivos de *F. subglutinans* provenientes tanto de semillas con y sin daños externos visibles. Dos de estos cultivos fueron usados subsecuentemente para evaluar la patogenicidad del hongo en estróbilos femeninos de un año y conos verdes del segundo año. Los resultados de las pruebas de inoculación en estróbilos demostraron en dos años sucesivos que *F. subglutinans* fue patogénico para los estróbilos femeninos tanto de primero como de segundo año y para semillas.

En promedio el 41% de los estróbilos femeninos inoculados estuvieron necróticos doce semanas después de la inoculación, comparadas con 4% de los testigos y un promedio de 59% de las escamas en la inoculación de conos verdes de segundo año, fueron necróticas en las primeras 6 semanas, comparadas con 8% de los testigos.

El hongo fue aislado consistentemente de las escamas, axilas y semillas extraídas de conos muertos y de áreas necróticas de conos dañados. Muchas semillas extraídas de conos necróticos y de áreas necróticas de conos dañados contenían masas de micelio o tejido del gametofito severamente dañado.

El hongo fue también aislado de tejidos internos de semilla de *P. taeda* aunque en mucha menor frecuencia que en *P. elliotii*. La patogenicidad fue comprobada a través de inoculación experimental en conos de la misma especie.

Por lo anterior, se puede decir que *F. subglutinans* puede causar serias pérdidas de conos y semillas, puede estar presente en tejidos internos de la semilla y no ser detectado fácilmente sino sólo con técnicas de aislamiento destructivas (Bramlet *et al.*, 1979; Miller y Bramlet, 1979; Miller, 1984; Barrows-Broaddus, 1990). Actualmente el uso de técnicas de radio-diagnóstico da la posibilidad de detectar la presencia de semillas dañadas en determinados lotes, debido a algún factor biótico, sin necesidad de destruir las semillas.

Como ya se mencionó anteriormente el hongo también se encuentra asociado al complejo del "damping off" en varias especies de pino (Khalisy *et al.*, 1981; Dadwai, Jamaludin y Soni, 1986; Huang y Kulhman, 1990)

4. MATERIALES Y MÉTODOS

Para cumplir los objetivos del presente trabajo, se desarrolló la metodología que se describe a continuación. Se hicieron recorridos de campo, para definir la distribución y precisar la sintomatología presente en los árboles. En estos recorridos también se hicieron colectas de material patológico, que sirvió para determinar al agente causal de la enfermedad. En el laboratorio se realizó el aislamiento, purificación e identificación del cancro resinoso y de sus agentes asociados. En el invernadero se hicieron pruebas de patogenicidad y se definieron características morfológicas del hongo.

4.1. Recorridos de campo

Los recorridos se efectuaron por varios Estados del país, su ubicación geográfica se indica a continuación:

Distrito Federal

- Km. 65 Carretera México-Cuernavaca, Delegación Tlalpan; altitud 2700 m. Bosque de pino con árboles aislados, muestras tomadas a orilla de la carretera. Límites con el Estado de Morelos.

Durango

- Los Altares, Municipio Santiago Papasquiaro. Bosque de pino, altitud 2450 m.
- Localidad situada a 14 km. de la ciudad de Tepehuanes. Bosque de pino-encino-junipero con árboles jóvenes

Guerrero

- Municipio de Taxco, Trayecto carretera Ixtapan de la Sal a Taxco. Bosque de pino, altitud 2200 hasta 2750 y límites con la parte Sur del Estado de México.

Hidalgo

- Parque Nacional El Chico. Bosque de pino. altitud 2700 a 2800 m.
- Trayecto de la carretera Tulancingo-Poza Rica hasta los límites con el Estado de Veracruz (Huayacocotla). Bosque de pino, altitud 1800 m.

Jalisco

- Sierra de Tapalpa, aserradero de la Sierra de Tapalpa. Muestras provenientes de bosque de pino maduro, obtenidas del aserradero de la UCODEFO.
- Sección 2 de la Unidad de Administración Forestal Atenquique a 15 km. de Cd, Guzmán. Plantación coetánea de *Pinus douglasiana*, con individuos de 8 m de altura, altitud 2000 a 2200 m.

México

- Municipio de Amecameca. Plantación de árboles de Navidad y áreas forestales aledañas a la plantación, altitud promedio 2400 m.
- Camino a Tlmacas. Bosque de pino, altitud 2800 m.
- Zonas aledañas a Valle de Bravo. Bosque de pino encino. Altitud 2500 m.
- Camino al Nevado de Toluca: Bosque de pino, altitud 2900 m.
- Camino Sultepec a Sultepequito. Bosque de pino, altitud 2100 a 2200 m.
- Nanchitilla. Bosque de pino, altitud 1600 m.
- Tlatlaya. Bosque de pino, altitud 1400 m.
- Chapingo. Áreas arboladas del campus universitario, altitud 2250.

Michoacán

- Rancho Las Cañas, municipio de Santa Clara del Cobre. árboles aislados, altitud 1900 a 2200 m.
- Trayecto Patzcuaro, Huiramangaro, Pichátaro y Nahuatzen, bosque de pino, altitudes 2200, 2300, 2400 y 2500 m.
- San Lorenzo, Capácuaro, desviación de la carretera hacia el Paricutín, bosque de pino-encino, altitud 2200 m.

Morelos

- Municipio Tres Marías y Km. 75 carretera México-Cuernavaca límites con el Distrito Federal, bosque disperso de pino, altitud 2870 a 2900 m.

Nuevo León

- Municipio de Galeana, carretera Linares-San Roberto. Árboles esparcidos con vegetación de pino-encino, altitud 1600 m
- Santa Clara, municipio de Galeana, carretera Galeana-Dr Arroyo, bosque de pino, altitud 1900 m.

Puebla

- San Juan Tetla, campo experimental del CIFAP, bosque de pino, altitud 2500 m.
- Localidad a orilla de la carretera a 15 km. de Zacatepec, carretera Zacatepec-Perote, bosque de pino, altitud 2100 m

Tamaulipas

- Cerro del Diente, municipio de San Roberto, bosque de pino, altitud 1800 m.

Tlaxcala

- Terrenate, trayecto carretera Apizaco-Huamantla, vegetación de pino muy dispersa, altitud 2300 m.

Veracruz

- Municipio de Perote, km 50 carretera Zacatepec-Perote, bosque de pino muy perturbado, altitud 2200 m.
- Colonia 20 de Noviembre, municipio de Perote, bosque de pino, altitud 2400 m.
- Huayacocotla, trayecto carretera Tulancingo-Huayacocotla a 10 km. de esta ciudad, bosque natural, rodeado de plantaciones de *Pinus patula*, altitud 2300 m.

4.2. Colecta y manejo de muestras

La colecta de muestras se hizo cortando las ramas de los árboles con una tijera telescópica, se buscó que el largo de las ramas permitiera tener muestras de material con los síntomas y con la finalidad de buscar señales de la enfermedad de años anteriores a la infección. Ya cortadas las ramas se seccionaron en trozos de menor tamaño y se guardaron en bolsas de polietileno de 60 x 60 cm, para facilitar su transporte.

4.3. Preservación y traslado del material colectado

Con el material deseado, se procedió según el tipo de muestra. La preservación del material se inició desde el campo, para su mejor traslado, se procuró mantener el material lo más fresco posible, cuidando no exponerlo directamente al sol y se refrigeró tan pronto estuvo en el laboratorio. Posteriormente, se realizó el procesamiento en el laboratorio, tratando de que este proceso no se hiciera en un lapso mayor a dos semanas de haber colectado las muestras, para evitar problemas de degradación y contaminación. El material colectado se transportó al laboratorio y se dividió a manera de tener 50% como material fresco y 50% de material para prensas botánicas, para su conservación y herbario. El material fresco se utilizó para realizar el diagnóstico en laboratorio.

4.4. Datos de colecta

Se llevó un control de las muestras que se colectaron, para ir determinando en que lugares se presentó la enfermedad y así conocer su distribución y hospedantes. Los datos que se consideraron fueron: Localidad, incluyendo paraje, municipio y Estado, donde se hizo la colecta; hospedante del cual fue tomada la muestra, fecha de colecta, altitud, tipo de vegetación; apariencia general de la planta, distribución de la enfermedad en el terreno, insectos y otras enfermedades presentes.

En el laboratorio y posterior al traslado de muestras se procedió con las siguientes actividades.

4.5. Descripción de sintomatología

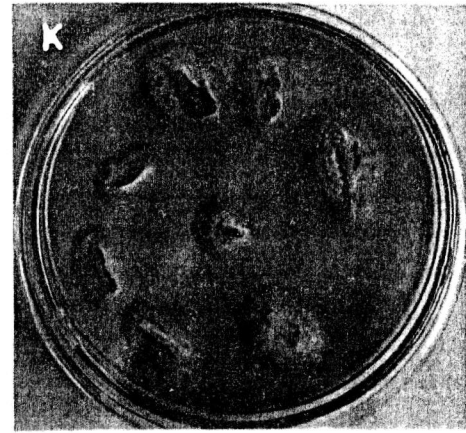
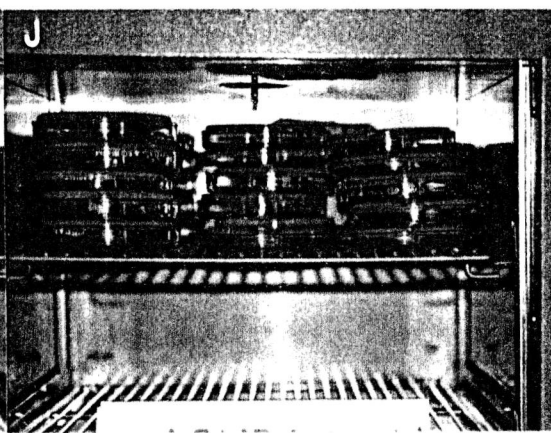
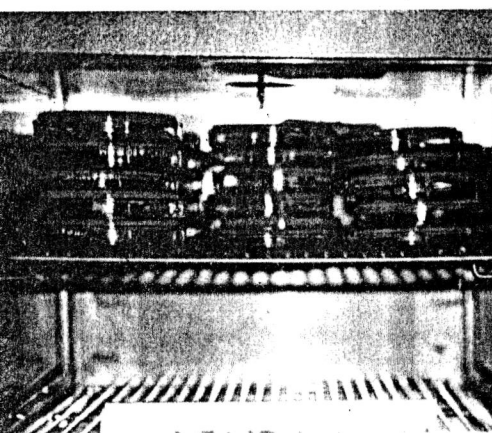
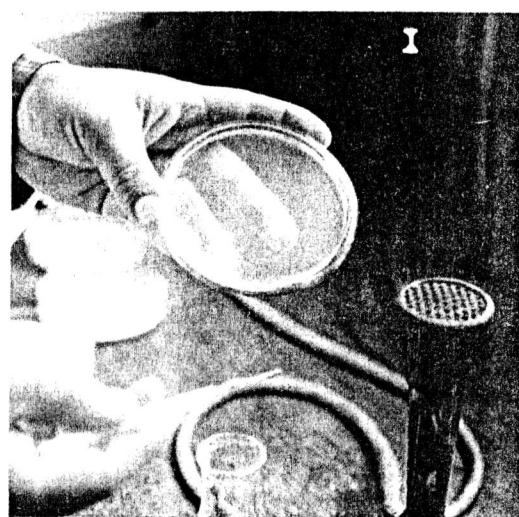
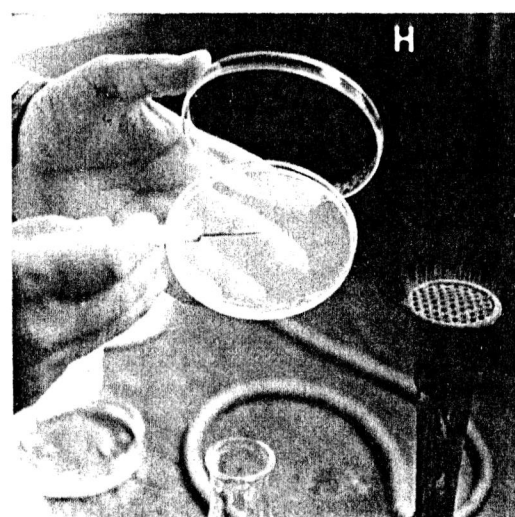
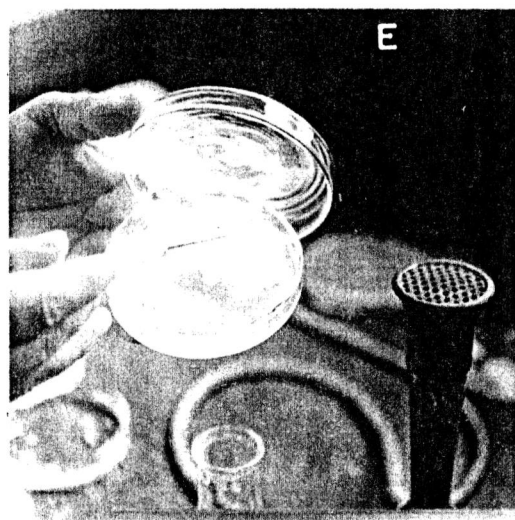
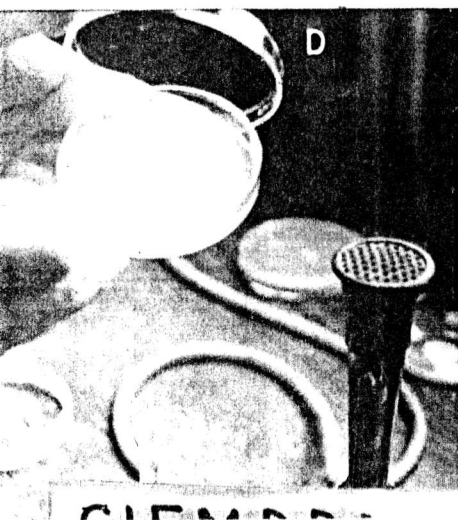
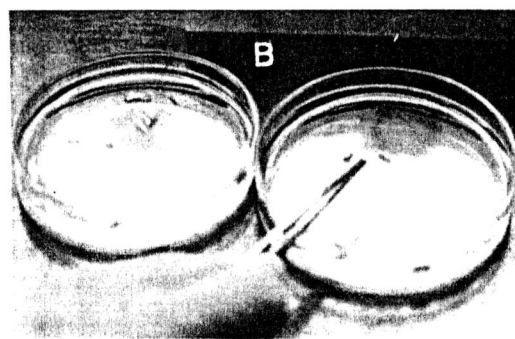
De las muestras colectadas se hizo el proceso correspondiente, que inició con la descripción de la sintomatología, considerando los diferentes tipos de síntomas presentes como son: coloración del follaje, muerte descendente, presencia de canchales, flujo de resina, corteza quebrada, cambio de coloración en la madera, resina embebida, daños por insectos y presencia de cuerpos de reproducción.

4.6. Procedimiento de Aislamiento y Purificación

En la Figura 1 se muestra el procedimiento de aislamiento y purificación, mismo que se explica a continuación.

- a. Se cortó el material vegetal enfermo de un tamaño aproximado de 1 cm², que consistió de parte sana y parte enferma.
- b. Se colocaron los pedazos en una caja de Petri, sometiéndolas a desinfección superficial con solución de hipoclorito de sodio al 1%.
- c. Se enjuagaron con agua destilada esterilizada durante un minuto o hasta que el material dejó de oler a cloro.
- d. Los pedazos de tejido enfermo se colocaron en papel filtro previamente esterilizado, para eliminar el exceso de agua.
- e. Con la ayuda de una aguja de disección se realizó la siembra en medio de cultivo, se colocaron los pedazos en una caja de Petri conteniendo el medio, bajo condiciones de esterilidad. Inicialmente se usaron medios de cultivo selectivos, destacando los siguientes: PCNB-Agar, Harina de Maíz-Agar, Papa-Dextrosa-Agar, Papa-Sucrosa-Agar, de acuerdo a técnicas previamente descritas por diferentes autores (Nash y Snyder, 1962; Booth, 1977; Ulloa y Hanlin, 1970).
- f. Se incubó en la cámara de crecimiento a una temperatura de 24 a 32°C y se hicieron observaciones cada 24 horas.
- g. Cuando se presentó crecimiento micelial, alrededor de las muestras sembradas, se hicieron purificaciones a cajas limpias con medio de cultivo PSA de las colonias que presentaron crecimiento.
- h. Ya que se obtuvo crecimiento en las cajas, se transfirieron a tubos con medio de cultivo inclinado, para utilizarlos como colección.
- i. Los tubos que fueron sembrados con los hongos, se conservaron en refrigeración, desde que el crecimiento del hongo cubrió la superficie del tubo con medio de cultivo inclinado.
- j. Cada uno de los hongos aislados se conservaron para realizar las pruebas de inoculación y para su identificación.

Figura 1. Proceso de aislamiento y purificación de organismos presentes en el cancro resinoso a partir de material vegetal enfermo. **A.** Desinfección en hipoclorito de sodio. **B.** Enjuague en agua destilada esterilizada. **C.** Secado en papel filtro esterilizado. **D y E .** Siembra en medio de cultivo. **F, G, H, I** Transferencia a partir de crecimiento micelial para obtener cepas puras. **J.** Incubación a temperatura de 24-32°C. **K.** Cepa pura del hongo.



4.7. Elaboración de preparaciones

Del material que presentó síntomas del cancro resinoso, signos, así como de las colonias que se obtuvieron en el proceso de aislamiento y purificación, se elaboraron preparaciones fijas semipermanentes, para la identificación de los hongos pertenecientes al género *Fusarium*.

Con las colonias obtenidas en el proceso de aislamiento y purificación, fue preparado el material que serviría para realizar las diferentes pruebas de inoculación, como se describe a continuación.

4.8. Inoculación

Las cepas correspondientes, una vez identificadas, fueron para inoculadas en plántulas sanas de la misma especie de donde se realizaron los aislamientos. Se realizaron varias pruebas de inoculación que incluyeron: ensayos de inoculación, inoculación preliminar e inoculación general. Ya hechas las inoculaciones, las plantas se mantuvieron en el invernadero para propiciar condiciones para el desarrollo de la enfermedad. De esta manera se obtuvieron datos para conocer el grado de susceptibilidad de los hospedantes y la patogenicidad de los hongos aislados.

4.8.1. Inoculación preliminar, diferentes tipo de inoculación

Para poder decidir qué forma de inoculación era la más adecuada, se realizaron varias pruebas preliminares. Las formas de inoculación fueron las siguientes:

a. Heridas de fascículo. Se quitaron varios fascículos de hojas de la parte del brote que se inoculó y se aplicó con una jeringa con aguja hipodérmica, 1 ml de solución de conidios (ajustado aproximadamente a 5×10^5 , contados en una cámara de Newbauer).

b. Punción con aguja. Se hicieron heridas con la punta de una aguja de disección en el lugar de inoculación y se aplicó 1 ml de solución de conidios.

c. Punción e inyección. Se hicieron heridas con aguja hipodérmica y con el aplicador se fue presionando para que saliera la solución de conidios, cada vez que se hacía una herida.

d. Raspado. Con la ayuda de una navaja de bisturí en la epidermis del brote y se colocaron porciones de 0.78 cm² de medio de cultivo conteniendo micelio del hongo.

e. Heridas en forma de T. Se hizo una herida y en ésta se colocaron porciones similares que en la inoculación anterior.

Las inoculaciones se hicieron en plántulas de *P. pseudostrobus*, inoculadas con cepas aisladas de la misma especie, usando un total de cinco plántulas por cada forma de inoculación. Los resultados de esta prueba se pueden observar en el Cuadro 7 del capítulo de resultados.

Por los resultados obtenidos en las pruebas anteriores, las cuales serán analizadas en el siguiente capítulo, se determinó que la inoculación en forma de "T", fue la más adecuada para realizar la prueba de inoculación general.

4.8.2. Inoculación general en forma de "T" en diferentes puntos de la planta

Se hizo una primera prueba con *Pinus douglasiana*, haciendo la inoculación en tres puntos diferentes de la planta, que fueron: brote, internodo y base del tallo.

El punto de inoculación que se determinó en base a la prueba anterior, fue la de inoculación en el brote, se inocularon nueve especies diferentes, con cepas procedentes de la misma especie de pino.

4.9. Preparación de material para inoculación general

En las Figuras 2 y 3 se pueden observar los procedimientos de inoculación, mismos que se describen a continuación:

- a. Las cajas de Petri con medio de cultivo conteniendo las colonias de los hongos, se dejaron crecer hasta que la superficie del medio se cubriera completamente por micelio del hongo.
- b. Ya que se tuvo lista la colonia y bajo condiciones de esterilidad, se procedió a fraccionar el medio de cultivo, haciendo pequeños trozos circulares de 1 cm de diámetro, hechos con la ayuda de un sacabocado en toda la superficie de la caja.
- c. Cada uno de los círculos cortados, se fue pasando a una caja de Petri limpia y esterilizada, hasta completar la cantidad necesaria para realizar las inoculaciones (Figura 2).
- d. Se hicieron heridas en el talluelo de las plantas con una navaja de bisturí, realizando dos cortes uno longitudinal y otro transversal, de manera que la herida tuviera una forma de "T".
- e. Con la punta de la navaja se abrió la epidermis del talluelo de la plántula hasta que dejara a la vista el xilema.

- f. Con la navaja se tomó un pedazo del inóculo de las cajas y la superficie del medio de cultivo, donde se encontraba el micelio del hongo, se puso directamente en contacto con la parte de la plántula donde se realizó la herida.
- g. Ya que se puso el inóculo en contacto con la plántula, la epidermis se utilizó para tapar parte del medio de cultivo y se presionó para asegurar su contacto, de manera que cubriera toda la herida.
- h. Con un pedazo de gasa se cubrió al medio de cultivo y a la herida, amarrando alrededor del talluelo (Figura 3).
- i. Cada plántula se etiquetó, poniendo la clave de la cepa correspondiente con la especie de donde se aisló y la fecha de inoculación, quedando en la etiqueta un letrero como el siguiente:

R2 (<i>P. pseudostrobus</i>) 22-feb-1992

Lo anterior significa que R2 es la cepa inoculada, *P. pseudostrobus* es la especie a la que se hizo la inoculación y por último la fecha de inoculación.

- j. Los riegos se realizaron diariamente en las dos primeras semanas de la inoculación, para que el sustrato quedara a saturación; a partir de la tercera semana, los riegos se hicieron cada tercer día y se procuró mantener la tierra de los envases a capacidad de campo y con ello lograr un ambiente de humedad relativa alta.
- k. Las observaciones se realizaron a partir de los 28 días de realizada la inoculación y se hicieron cada tres días. Cada plántula fue calificada de acuerdo a los siguientes criterios:

Calificación de 1 cuando la plántula presentó dobléz de la parte terminal distal al punto de inoculación.

Calificación de 2 cuando la plántula presentó además del dobléz un cambio de coloración de verde a café rojizo en el follaje distal al punto de inoculación.

Calificación de 3 cuando el brote distal al punto de inoculación estaba completamente seco.

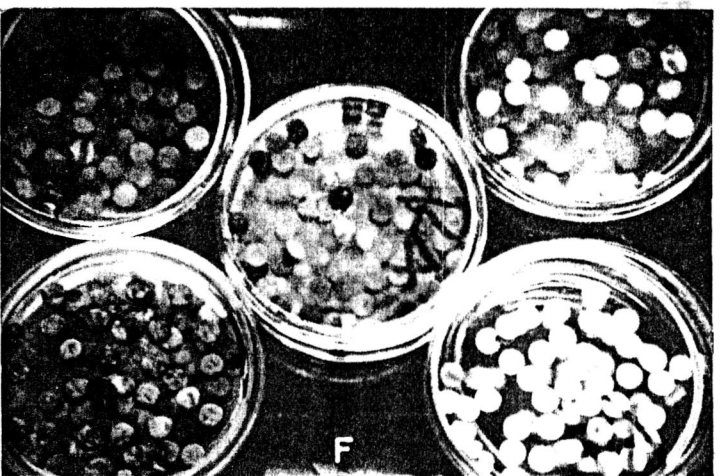
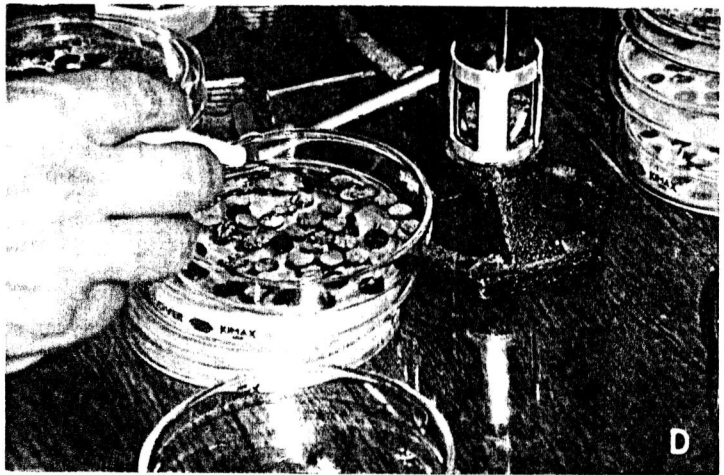
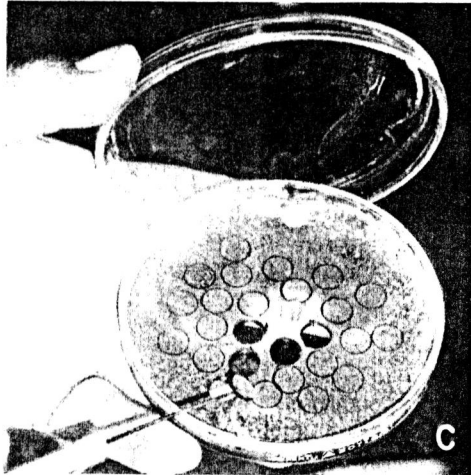
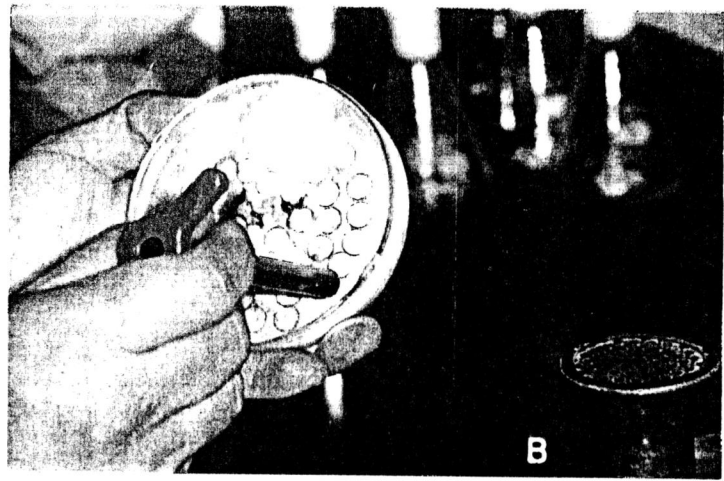
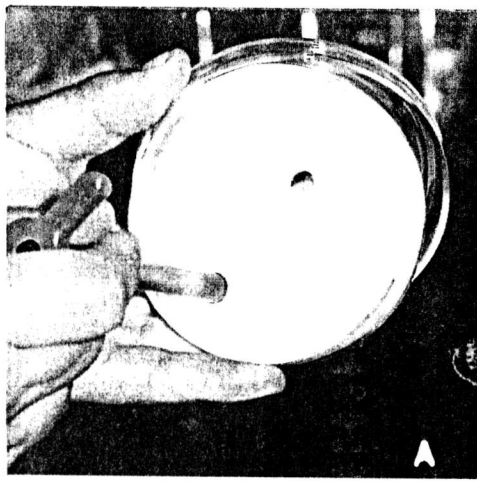


Figura 2. Preparación de colonias para usarlas como inóculo. A y B. Fraccionando las colonias con sacabocado. C y D. Separando el inóculo y pasando a cajas limpias. E y F. Aspecto de las cajas con diferentes tipos de inóculo

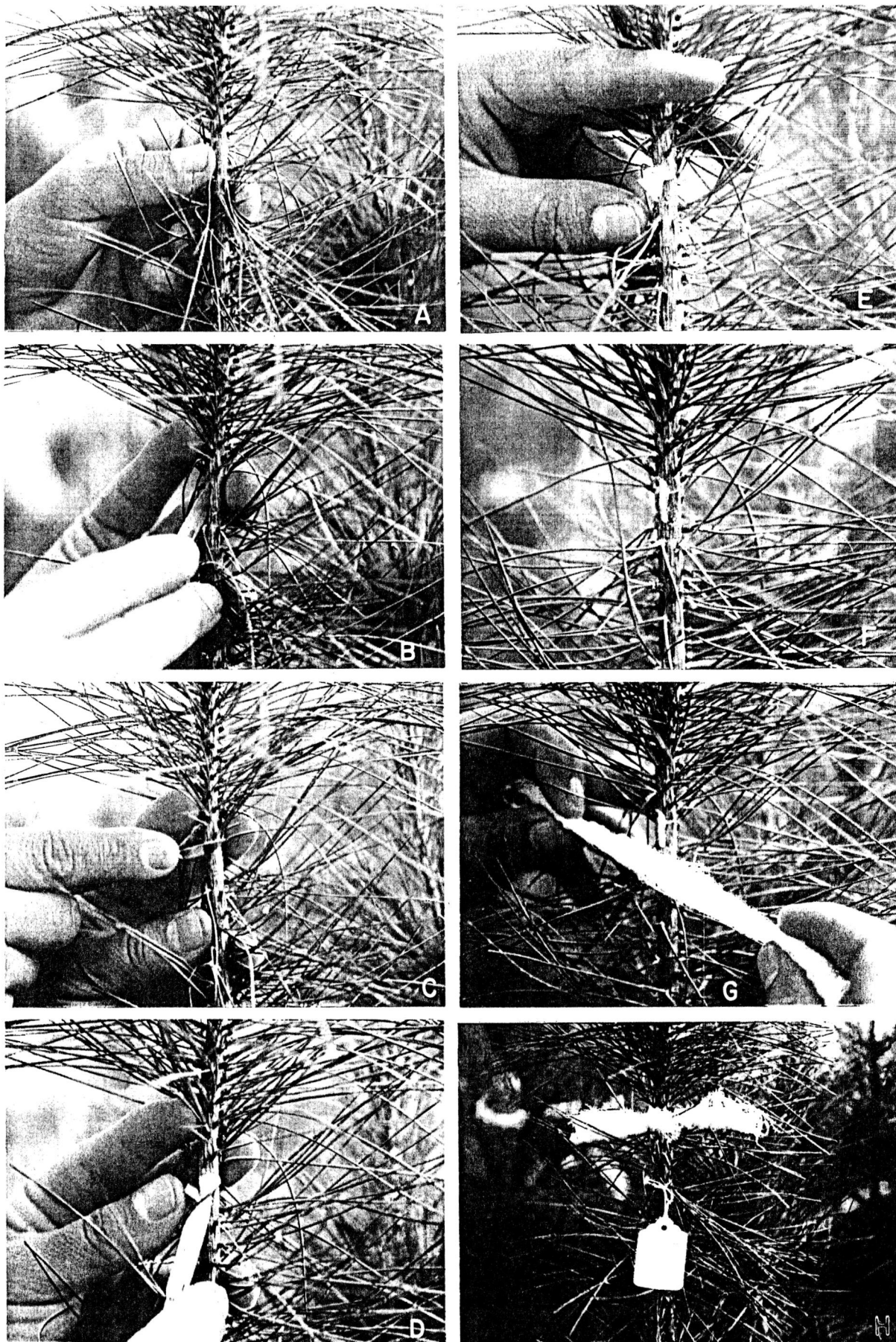


Figura 3. Inoculación de *Fusarium subglutinans* en plántulas de *Pinus spp.* A. Desprendiendo los fascículos del talluelo. B. Haciendo una incisión vertical. C. Haciendo la incisión horizontal. D. Separando la epidermis de la plántula. E. Poniendo al inóculo en contacto con la planta. F. Sellando la herida. G. Envolviendo la herida con gasa. H. Aspecto general de una plántula inoculada. Técnica desarrollada por el autor.

En el Cuadro 4, se observan cuáles fueron las cepas inoculadas en las 12 especies de plántulas de pino. En el Cuadro 5 se da la especie de procedencia de las diferentes cepas, según la clave utilizada.

CUADRO 4. Inoculación general de las cepas de *Fusarium subglutinans* realizadas en 12 especies de pino. Chapingo, México 1992.

ESPECIE	CEPAS INOCULADAS															
<i>P. ayacahuite</i>	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	A1	A2	A3	A4	A5	--	
<i>P. pseudostrobus</i>	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	A1	A2	A3	A4	A5	--	
<i>P. montezumae</i>	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	A1	A2	A3	A4	A5	--	
<i>P. douglasiana</i>	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	A1	A2	A3	A4	A5	--	
<i>P. patula</i>	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	A1	A2	A3	A4	A5	--	
<i>P. michoacana</i>	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	A1	A2	A3	--	--	--	
<i>P. leiophylla</i>	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	--	A1	--	A3	--	--	--	
<i>P. rudis</i>	R1	R2	--	--	R5	R6	--	R8	--	A1	--	A3	--	--	--	
<i>P. halepensis</i>	--	R2	--	--	R5	--	R7	R8	--	A1	A2	A3	--	A5	--	
<i>P. cembroides</i>	--	R2	R3	R4	--	--	R7	--	R9	A1	--	A3	--	A5	--	
<i>P. greggii</i>	R1	R2	R3	--	R5	--	R7	--	--	--	--	--	--	--	--	
<i>P. pringlei</i>	--	R2	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	A6	

CUADRO 5. Caracterización de la nomenclatura utilizada en las cepas inoculadas.

CEPA	PROCEDENCIA DEL AISLAMIENTO
R1	<i>P. maximinoi</i>
R2	<i>P. pseudostrobus</i>
R3	<i>P. arizonica</i>
R4	<i>P. discolor</i>
R5	<i>P. montezumae</i>
R6	<i>P. rudis</i>
R7	<i>P. oocarpa</i>
R8	<i>P. douglasiana</i>
R9	<i>P. durangensis</i>
A1	<i>P. leiophylla</i>
A2	<i>P. michoacana</i>
A3	<i>P. ayacahuite</i>
A4	<i>P. hartwegii</i>
A5	<i>P. cembroides</i>
A6	<i>P. pringlei</i>

Se tiene la denominación de "R" y "A". Las cepas "R" son aquellas que se obtuvieron como reaislamientos de la prueba de inoculación preliminar y las cepas "A" para aquellas cepas que se utilizaron por primera vez como inóculo y que recientemente se habían aislado de su hospedante. Las cepas "R" se utilizaron debido a que, ya se tenía la certeza de que eran patógenas, por lo menos en la especie de pino de la que fueron aisladas y, además, sirvió para probar su patogenicidad en especies diferentes, ya que existía la posibilidad de que las cepas originales hubieran perdido su patogenicidad, puesto que se habían mantenido durante mucho tiempo creciendo *in vitro*.

4.10. Incubación

Ya hecha la inoculación, las plantas se dejaron en el invernadero de la DiCiFo-UACH en Chapingo, México, en donde se mantuvieron bajo condiciones no controladas de temperatura y humedad, pero que permitieron el desarrollo de los síntomas de la enfermedad.

Para comparar las características de patogenicidad del hongo, se realizaron pruebas estadísticas, las cuales permitieron comparar a las distintas cepas y su respuesta en las especies de plántulas a las que fueron inoculadas.

4.11. Análisis estadístico

4.11.1. Prueba de Cochran

Para poder analizar los resultados de las inoculaciones, se propuso la prueba de Cochran, que permite comparar estadísticamente las cepas inoculadas en cada uno de los hospedantes, se utilizó como criterio de comparación la respuesta a la inoculación, es decir, al desarrollo o no de la infección, después de que el hongo estuvo en contacto con la herida provocada en la planta. Los tratamientos fueron cada una de las cepas inoculadas más el testigo, los cuales fueron aplicados a cinco especies diferentes que constituyen los bloques, se determinaron inicialmente únicamente cinco especies a inocular, ya que estuvieron representadas en bloques completos, todas ellas inoculadas con las 14 cepas utilizadas en las pruebas de inoculación. Esta prueba se planteó para conocer si al menos una de las cepas, sin determinar cuál, tiene un efecto en la respuesta a la inoculación por parte de los hospedantes probados.

Los datos evaluados fueron considerados con base en la respuesta de la inoculación de la cepas, que puede resultar de dos formas, SI infección y NO infección. Los datos son, entonces: 1 cuando se presenta la infección y 0 cuando no hay infección.

Los datos se aplicaron a los cinco bloques de las cinco especies para las cuales se tuvieron los tratamientos con todas las cepas. A continuación se muestra la forma como se arreglan los datos.

BLOQUE	TRATAMIENTO (cepas)														TOTAL
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
<i>P. ayacahuite</i>															B1
<i>P. pseudostrobus</i>															B2
<i>P. montezumae</i>															B3
<i>P. douglasiana</i>															B4
<i>P. patula</i>															B5
	c1	c2	c3											c14	N

Las suposiciones de esta prueba son:

1. Los bloques representados por las especies de plantas inoculadas con diferentes cepas, fueron seleccionados aleatoriamente para cada una de las plántulas de toda la población, para todos los bloques posibles, constituidos por las plantas de la misma especie.
2. Los resultados de los tratamientos pueden ser dicotomizados, en una forma común para cada uno de ellos, dentro de cada bloque, de manera que los resultados estén listados como ya se mencionó, con "0" cuando no hay infección y "1" cuando hay infección en las plantas inoculadas y que la infección es debida a la presencia del hongo.

Prueba de hipótesis.

Ho: Al menos una de las 14 cepas, cada una inoculada en cada una de 5 especies de pino, es (son) capaz (ces) de producir la enfermedad.

Ha: Ninguna de las 14 cepas, inoculadas en cada una de las 5 especies de pino es capaz de producir la enfermedad.

NOTA. El testigo no debe producir la enfermedad, puesto que no existe inóculo en contacto con la planta.

La fórmula que se utilizó para el cálculo de T en la prueba de Cochran fué la siguiente:

$$T = c (c-1) \frac{\frac{N}{\sum (C_j - c)}}{\sum [B_i (c - B_i)]}$$

Donde: T = Estadístico de la Prueba de Cochran.

c = Número total de cepas inoculadas.

C_j = Valor que se obtiene de sumar los valores obtenidos de la respuesta de cada una de las cepas a la inoculación.

B_i = Suma de los valores de las respuestas por especie (infección o no infección)

N = Es el gran total de los valores de las respuestas de las cepas al ser inoculadas

Regla de decisión: Rechace H₀ si T calculada es mayor que T tabulada del estadístico de Cochran (Conover, 1980).

4.11.2. Prueba de rangos de Friedman y comparaciones múltiples.

Esta prueba se planteó para conocer el efecto que tiene cada una de las cepas del hongo, sobre las especies en las que fueron inoculadas, considerando que el valor de la respuesta a la inoculación es el valor de respuesta acumulado de las cinco plantas inoculadas, considerando el valor de la respuesta de 1 cuando se presentó la infección; entonces, si tenemos 5 plantas inoculadas con una misma cepa, el valor puede ser desde 0 hasta 5.. La prueba nos permite conocer el efecto global en cada una de las especies de pino que fueron inoculadas con las cepas y nos permite comparar por separado cada una de las especies, puesto que no todas fueron inoculadas con las 14 cepas de prueba.

Las suposiciones de la prueba son las siguientes:

1. Las variables b-k, donde b es la especie de pino y k la késima cepa inoculada son variables aleatorias y mutuamente independientes, los resultados dentro de una especie de pino inoculada no tienen influencia con los resultados dentro de otra especie de pino también inoculada.

2. Dentro de cada bloque, constituido por todas las plantas de la misma especie de pino, a las observaciones de respuesta de la inoculación, se les pueden asignar rangos, de acuerdo a algún criterio de interés. En este caso el criterio que se siguió fue el de asignar rangos según el número de plantas que presentaron la infección, de acuerdo al total de plantas inoculadas por cepa.

Prueba de hipótesis

Ho: Los tratamientos de las cepas de hongos inoculados tienen el mismo efecto de producir la infección en las plántulas inoculadas de las diferentes especies de pinos.

Ha: Al menos uno de los tratamientos es diferente.

La fórmula que se utiliza para calcular el estadístico es la siguiente:

$$T2 = \frac{(b - 1) [B2 - b k (K - 1)^2 / 4]}{A2 - B2}$$

Donde: $T2$ = Estadístico de la Prueba de Rangos de Friedman.

b = Número total de especies inoculadas.

k = Número total de cepas inoculadas

$A2$ = Es un término utilizado para el cálculo del Estadístico de Friedman, calculado de la siguiente forma:

$$A2 = \sum_{i=1}^i \sum_{j=1}^j [R(X_{ij})]^2$$

R = Es el rango de las observaciones

X_{ij} = Son las observaciones de las especies a la respuesta de la inoculación

$B2$ = Es otro término utilizado para el cálculo del estadístico de Friedman, calculado de la siguiente forma:

$$B2 = \frac{1}{b} \sum R_j^2$$

Regla de decisión: Rechace H_0 al nivel de significancia de alfa 0.05, si $T2$ excede el valor de T tabulada con doble entrada donde $k_1 = k - 1$ y $k_2 = (b - 1)(k - 1)$. (Conover, 1980).

Para efectuar la prueba de rangos de Friedman, se realizó lo siguiente:

A. Los datos de los resultados son tabulados, de manera que la tabla de datos está constituida por los valores que pueden obtenerse para las respuestas de cinco plántulas a la inoculación de las diferentes cepas, por lo que dichos valores pueden variar desde 0, cuando ninguna de las plántulas inoculadas presentó infección, hasta 5, cuando todas las plántulas inoculadas presentaron la infección. La siguiente tabla muestra como deben ser acomodados los valores.

C E P A S	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<i>P. ayacahuite</i>	*														
<i>P. pseudostrobus</i>															
<i>P. montezumae</i>															
<i>P. douglasiana</i>															
<i>P. patula</i>															

*en los espacios se anota el valor obtenido en las lecturas de infección observadas.

B. En la tabla se asignan los rangos a los bloques, de acuerdo al tamaño de la muestra para cada uno de los bloques considerados en la prueba, los rangos varían desde 1, para el menor valor obtenido en el bloque hasta 15, rango que se asigna al máximo valor obtenido en el bloque.

C. En caso de empates, es decir, cuando el valor para los rangos se repite en las diferentes lecturas se requiere sacar los rangos para los valores que presentan empates. El rango de cada valor repetido es la suma de los rangos de esos valores, esto, por ejemplo, si el valor se repite 9 veces, se hace la sumatoria siguiente: $1+2+3+4+5+6+7+8+9$ igual a 45, dividido por el número de veces que se repite el valor (9) el rango para cada celda que tenga el valor repetido será 5, entonces los rangos obtenidos, podrán anotarse en la tabla anterior para su cálculo en la prueba de rangos de Friedman.

4.12. Reaislamiento de hongos inoculados

Una vez observada la sintomatología, se hicieron los reaislamientos de los hongos inoculados a partir de plántulas que desarrollaron la infección, y se hizo de la misma manera que los aislamientos originales efectuando la operación descrita en el punto 4.7 de este mismo capítulo, con la finalidad de completar los postulados de Koch. logrando la purificación de la cepa, se comparó con la cepa original, se realizaron preparaciones semipermanentes para su identificación.

Se realizó un procedimiento GLM de SAS, para comparar la velocidad de crecimiento de las colonias que crecieron en el reaislamiento de las cepas utilizadas en la prueba de inoculación preliminar y con el diámetro de crecimiento de las colonias, se obtuvieron datos acerca del crecimiento de las diferentes colonias de *F. subglutinans*, usadas en la inoculación.

4.13. Identificación.

A partir de las preparaciones obtenidas en las pruebas de aislamiento, purificación y reaislamiento, se inició la identificación, se llevo a cabo a nivel macroscópico y a nivel microscópico, se recurrió a la ayuda de las claves de Snyder y Hansen (1940) y Booth (1977). En el primer caso se consideraron las siguientes características: coloración de la parte aérea (micelio), cambio de coloración en el medio de cultivo, tiempo de desarrollo de la colonia y tiempo en presentar estructuras de reproducción.

En el segundo caso, se hicieron observaciones con el microscopio tratando de identificar las estructuras típicas y se tuvo cuidado de observar macroconidios, microconidios y polifialides características del hongo. Para completar la identificación se realizaron mediciones de microconidios y macroconidios, con la ayuda del micrómetro ocular adaptado al microscopio compuesto; se midieron un total de 100 esporas de cada tipo.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Este capítulo se inicia con la presentación de los resultados de las observaciones realizadas en las diferentes salidas de campo, haciendo una descripción de la sintomatología observada en los hospedantes de las diferentes localidades; se concluye con un resumen de su distribución. Posteriormente se presentan los resultados de las inoculaciones hechas, analizándolas de forma cualitativa y cuantitativa. Asimismo se discute el desarrollo de la infección de 12 especies de pino, inoculadas con diferentes cepas de *F. subglutinans*. Por último se presenta la identificación del agente causal de la enfermedad.

5.1. Distribución y sintomatología del cancro resinoso en México.

Los recorridos de campo se hicieron en un total de 13 entidades de la República Mexicana: Distrito Federal, Durango, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Puebla, Tamaulipas, Tlaxcala y Veracruz. Se revisaron 19 especies de pino, algunas representadas en más de una entidad. Se presentó una gran variedad de rangos altitudinales, desde los 1400 msnm hasta los 2900 msnm, ambas en el Estado de México, que fue donde se realizó la mayor cantidad de recorridos. En otros Estados también hubo variación desde los 1800 msnm hasta los 2900 msnm, principalmente a lo largo del eje Neovolcánico, como en los Estados de Jalisco, Michoacán, México, Distrito Federal, Tlaxcala, Puebla y Veracruz; asimismo se presentó variación de altitud en los Estados del Norte del País. Se observó una gran variedad de sintomatología. Un síntoma siempre presente fue el flujo de resina a lo largo de los fustes; este flujo varió según la especie, desde ser poco obvio *P. ayacahuite*, *P. radiata*, *P. michoacana*, *P. arizonica* y *P. oocarpa*, hasta abundante y fácilmente visible como en *P. discolor*, *P. leiophylla*, *P. douglasiana*, *P. pringlei* y *P. halepensis*.

La presencia de la muerte descendente se observó en 3 especies, destacando en *P. halepensis* localizados en Chapingo, en esta localidad la enfermedad se caracteriza por una muerte progresiva que tarda mucho tiempo en manifestarse, pero termina matando al árbol.

Los síntomas en hojas, no estuvieron presentes de manera constante en todas las especies, ocho especies estudiadas no presentaron ningún tipo de síntoma en el follaje, aunque fué el síntoma más característico en algunos árboles, los cuales mostraron cambio de coloración en el follaje, manifestado por una clorosis, ésta se presentó en 12 especies, encontrándose tonalidades variables, en algunas especies fue muy tenue, mientras que en otras el cambio de coloración fue evidente, ya que las partes afectadas tuvieron color café rojizo; cuando se presentó esta coloración, se denominó la sintomatología como marchitez, y generalmente ocurrió en las puntas de las ramas. Por último en *P. durangensis* hubo doblamiento en forma de ganchos de los brotes infectados, éstos fueron parecidos a los que ocasionan los barrenadores de brotes del género *Eucosma* (Lepidoptera: Tortricidae) (Cuadro 6).

Sin duda la presencia de canchros fue de las características más importantes que se observaron a nivel de campo y que se consideran íntimamente asociados con la enfermedad. Los canchros se observaron en todas las especies excepto en *P. leiophylla* y *P. cembroides*. Se manifestó de diferente forma, en algunas especies fueron sólo puntos cubiertos con resina, pasando por los de tamaño pequeño, hasta los alargados y prominentes, estando con o sin resina; presentes la mayoría de las veces en el fuste y en las ramas de algunos individuos.

Acompañando siempre a los canchros, se presentó el flujo de resina, sólo en *P. montezumae* no se presentó este síntoma. El flujo se manifestó de diferentes formas, como grumos o costras de manera incipiente (pero que se diferenciaron de los ataques de insectos descortezadores, ya que no se presentan ni excrementos, ni orificios de entrada de insectos), con flujo superficial poco intenso, hasta un flujo abundante y en forma de hilos. En ocasiones los canchros fueron tan severos, que dentro del mecanismo de defensa de los árboles, se presentó una ruptura de la corteza, de manera violenta hacia la parte externa, dejando al cancro completamente expuesto y con abundante resina, este síntoma se presentó en 13 especies.

Al revisar los canchros, después de retirar la corteza y la resina se pudo notar el cambio de coloración en la madera, que también se considera como característico de la enfermedad, sólo en *P. cembroides* no se presentó el cambio de coloración.

Aunado al cambio de coloración, el síntoma de resina embebida en la madera se presentó en 17 especies.

Se encontraron asociados cuatro especies de insectos con los canchros, pero pudo determinar el papel que juegan en relación al desarrollo de la enfermedad, éstos fueron: *Eucosma sonomana*, *Pityophthorus sp.*, *Dendroctonus frontalis* y *Rhyacionia sp.*, en varias ocasiones se encontraron también insectos de la familia Cecyilidomidae.

En todas las especies colectadas se realizó el proceso de aislamiento y purificación correspondiente, obteniéndose siempre al agente causal de la enfermedad, sin embargo, no todas las cepas aisladas fueron inoculadas en los diferentes hospedantes en la prueba de inoculación, inoculando únicamente 16 cepas en 12 hospedantes diferentes.

En la Figura 4 se observa la sintomatología que presentaron a nivel de campo las diferentes especies estudiadas y en el Cuadro 6 se presenta un resumen de la sintomatología observada en los hospedantes de las diferentes localidades.

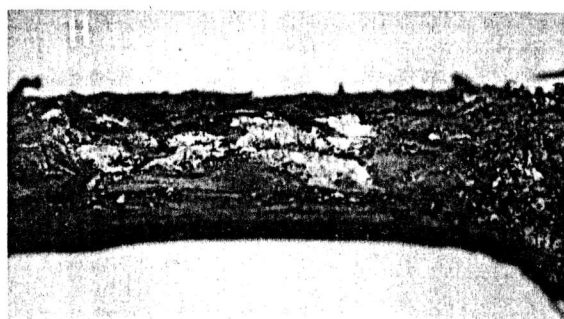
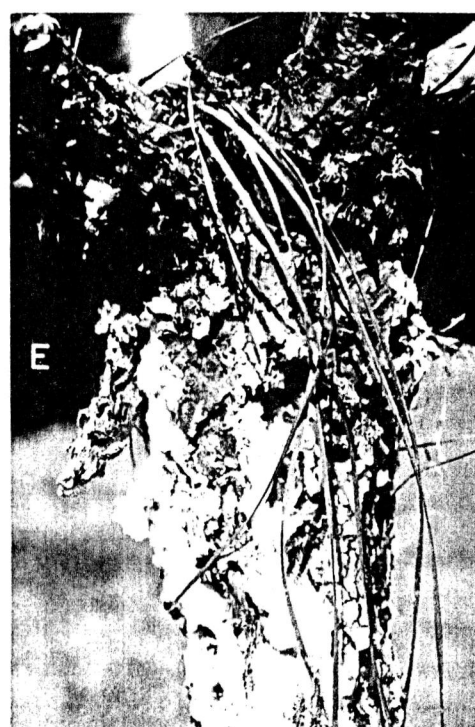


Figura 4. Sintomatología de la enfermedad de muestras colectadas en el campo. A. Aspecto de árboles enfermos. B. Hojas caídas en forma de bandera. C. Flujo de resina en fustes. D. Esporodoquios en ramas E. Cancros en ramas. F. Muerte descendente. G. Doblamiento de los brotes. H. Resina embebida en la madera. I. Cambio de coloración en la madera.

CUADRO 6. Distribución, hospedantes y sintomatología del cancro resinoso de las especies estudiadas en México, 1992.

ESTADO/HOSPEDANTE	LOCALIDAD	ALTITUD	MUERTE DESCEN	SÍNTOMAS EN HOJAS	CANCROS	CORTEZA QUEBRADA	FLUJO	RESINA	CAMBIO COLOR	RESINA EMBEBIDA	INSECTOS* ASOCIADOS
DISTRITO FEDERAL											
<i>P. pseudostrobus</i>	Tlahuac	2700	NO	NO	EN RAMAS	NO	POCO INTENSO	SI	SI	NO	
DURANGO											
<i>P. durangensis</i>	Los Altares	2430	SI	DOBLEZ	EN RAMAS	SI	POCO, GRUMOS	SI	SI	NO	
<i>P. discolor</i>	Tepehuanes	2100-2200	NO	CLOROSIS	PROFUSOS	NO	ABUNDANTE	SI	NO	NO	
GUERRERO											
<i>P. pringlei</i>	Taxco	2200-2750	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	
HIDALGO											
<i>P. rudis</i>	El Chico	2700-2800	NO	NO	PEQUEÑOS	NO	EN COSTRAS	SI	NO	NO	
JALISCO											
<i>P. leiophylla</i>	Sierra Tapalpa	2350	NO	NO	MUY GRANDES	SI	ABUNDANTE	SI	SI	NO	
<i>P. douglasiana</i>	Atenquique	2200	SI	SI	EN EL FUSTE	SI	ABUNDANTE	SI	SI	<i>Eucosma sonomana</i>	
ESTADO DE MEXICO											
<i>P. pseudostrobus</i>	Amecameca	2700	NO	CLOROSIS	CON RESINA	SI	ABUNDANTE	SI	SI	<i>Pithiophthorus</i>	
<i>P. leiophylla</i>	Amecameca	2700	NO	CLOROSIS	NO DEFINIDO	NO	EN GRUMOS	SI	SI	NO	
<i>P. ayacahuite</i>	Amecameca	2700	NO	MARCHITAS	ALARGADOS	SI	INCIPIENTE	SI	SI	NO	
<i>P. pringlei</i>	Sultepec	1500-2200	NO	CLOROSIS	MUY LARGOS	SI	POCO ABUNDANTE	SI	SI	<i>D. frontalis</i>	
<i>P. radiata</i>	Tlamacas	2700	SI	MARCHITAS	PEQUEÑOS	NO	POCO ABUNDANTE	SI	SI	NO	
<i>P. hartwegii</i>	Tlamacas	2900	NO	CLOROSIS	PRESENTES	SI	POCO FLUJO	SI	NO	NO	
<i>P. halepensis</i>	Chapingo	2250	SI	CLOROSIS	PEQUEÑOS	SI	ABUNDANTE	SI	SI	NO	
MICHOACAN											
<i>P. oocarpa</i>	Ario de rosales	1900-2200	NO	MARCHITEZ	PROMINENTES	NO	POCO ABUNDANTE	SI	SI	<i>Rhyacionia sp</i>	
<i>P. maximinoi</i>	Phichataro	2200-2500	NO	NO	GRUMOS	NO	SUPERFICIAL	SI	NO	<i>Eucosma sonomana</i>	
<i>P. montezumae</i>	Pichataro	2200-2500	NO	NO	PEQUEÑOS	SI	EN HILOS	SI	SI	NO	
<i>P. michoacana</i>	Paricutín	2200	SI	NO	PEQUEÑOS	SI	POCO ABUNDANTE	SI	NO	NO	
MORELOS											
<i>P. pseudostrobus</i>	Limites D.F.	2870	NO	NO	PEQUEÑOS	NO	POCO ABUNDANTE	SI	SI	NO	
<i>P. hartwegii</i>	Limites D.F.	2900	NO	CLOROSIS	PEQUEÑOS	SI	ABULTAMIENTOS	SI	NO	NO	
NUEVO LEON											
<i>P. arizonica</i>	Galeana	1600	NO	CAFE	ALARGADOS	SI	ABULTAMIENTOS	SI	SI	NO	
<i>P. cembroides</i>	Galeana	1900	NO	CLOROSIS	NO APARENTE	NO	TODO EL FUSTE	NO	NO	NO	
PUEBLA											
<i>P. montezumae</i>	San Juan Tetla	2500	NO	CLOROSIS	PEQUEÑOS	NO	NO ABUNDANTE	SI	NO	NO	
<i>P. oaxacana</i>	Zacatepec	2300	NO	LIGERO	ALARGADOS	NO	POCO FLUJO	SI	SI	NO	
TAMAULIPAS											
<i>P. estevezii</i>	San Carlos	1800	NO	CLOROSIS	PRESENTES	SI	PRESENTE	SI	SI	NO	
TLAXCALA											
<i>P. rudis</i>	Terrenate	2100	NO	NO APAREN	PEQUEÑOS	NO	FORMA GRUMOS	SI	NO	NO	
VERACRUZ											
<i>P. montezumae</i>	Perote	2400	NO	CLOROSIS	POCOS	NO	NO SE OBSERVO	SI	NO	NO	
<i>P. oaxacana</i>	Perote	2300	NO	CLOROSIS	ALARGADOS	NO	POCO ABUNDANTE	SI	SI	NO	

* También se encontraron insectos de la familia Cecyidomidae.

En el Apéndice 1 se pueden consultar los registros realizados a nivel de campo de todas las especies, que presentaron asociación con el cancro resinoso así como la sintomatología detallada.

En relación a la enfermedad existe la posibilidad de que se encuentre en otras entidades, como en Coahuila, en el área de la Sierra de San Antonio de las Alazanas (com. pers. J.D. Flores-Flores), así como también en el Estado de Guerrero en el área de Cd. Altamirano (com. pers. Sanidad Forestal del Estado).

Por otra parte, se realizaron recorridos de campo en los Estados de Chiapas y Oaxaca; al parecer la enfermedad no está presente en estas dos entidades. Por lo que respecta al Estado de Chihuahua, se ha observado la sintomatología en ciertas localidades y es posible que esté presente en dicho Estado.

En estos cinco Estados se hace necesaria una mayor investigación para el conocimiento de la enfermedad y para comprobar si efectivamente se encuentra o no.

En cuanto a la distribución de la enfermedad en los Estados de Aguascalientes, Baja California, Baja California Sur, Colima, Guanajuato, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora y Zacatecas, no se tiene ningún reporte, por lo que existe la necesidad de realizar recorridos de campo. En los Estados del Sureste: Campeche, Quintana Roo, Tabasco y Yucatán, no fueron considerados por no presentar distribución natural de pinos; pero es factible realizar una inspección en las zonas donde se han establecido plantaciones con especies de pino.

5.2. Aislamiento del agente causal de la enfermedad

Todo el material colectado, se procesó para obtener el aislamiento del hongo, siguiendo la técnica descrita para este fin. De todas las muestras colectadas se obtuvo a *Fusarium subglutinans* en cultivos puros, aunque la velocidad de crecimiento fue muy variable para los diferentes hospedantes; así como la homogeneidad de crecimiento del hongo, ya que mientras en algunos aislamientos se presentó crecimiento en todos los pedazos de material vegetal sembrados, en otros fue de manera muy escasa, pero finalmente de todos los hospedante se logró el aislamiento del hongo.

En el aislamiento se utilizó el medio de cultivo PCNB-agar, pero sin agregarle Estreptomycin. El uso de este medio fue de una alta eficiencia, tanto en los aislamientos como en los reaislamientos; sin embargo, el uso de la técnica tradicional de desinfección, dió mejores resultados que en la que se propone el uso de alcohol etílico, como agente desinfectante. El proceso se inició a partir de material vegetal con la sintomatología de la enfermedad; posterior a esto y ya que se obtuvo crecimiento del hongo, se realizaron transferencias a PDA y PSA, para el crecimiento del hongo en cultivos puros y para formar una colección micológica en tubos. Parte de este material fue usado como material de inóculo. El medio de cultivo mayormente utilizado para cultivos puros y para colección fue PSA, ya que en pruebas en laboratorio se obtuvieron mejores crecimientos en este medio que en PDA.

De manera general siempre se hicieron pruebas de esterilidad con los medios utilizados, ya que se menciona que estas pruebas deben ser hechas cuando se intenta hacer aislamientos de muestras traídas del campo. Alguna contaminación puede ser evidente después de 3 a 5 días de haber vaciado el medio de cultivo en las cajas (Nash y Snyder, 1962).

De todas las muestras colectadas se obtuvo crecimiento del agente causal, y si bien se presentaron agentes contaminantes, éstos no restringieron el aislamiento del hongo. En las pruebas de esterilidad fueron desechadas aquellas cajas que presentaron contaminación evidente.

Al realizar el reisolamiento de plántulas de *P. leiophylla* se pudo notar el crecimiento de la colonia en PCNB-Agar a los cinco días de haber realizado la siembra y mostraron un crecimiento micelial muy uniforme, aunque muy ralo expandido y blanquecino, que se fue oscureciendo a rosado oscuro a medida que pasó el tiempo. Es importante recalcar la uniformidad del crecimiento de *F. subglutinans* como punto para la comprobación de los postulados de Koch. Al hacer las transferencias de la colonia a PSA, se notó el cambio de coloración rojo violeta a púrpura.

Todos los aislamientos realizados pudieron de ser usados para las inoculaciones; pero no todas las cepas fueron inoculadas; ésto se debió fundamentalmente a la poca disponibilidad de plantas en el vivero. Por estas razones se hizo una selección para cepas aisladas de la misma especie, usándose para la inoculación la cepa más representativa, ya que varias especies se encontraron en diferentes Estados de la República, como fue el caso de *P. pseudostrobus* que se encontró asociada a la enfermedad en cinco Estados y sólo se usó la cepa del Estado de México para hacer las inoculaciones.

5.3. Pruebas preliminares de inoculación

En este apartado se presentan los resultados de las diferentes pruebas de inoculación realizadas, para conocer la patogenicidad de los hongos aislados, así como la susceptibilidad de algunos hospedantes. Al mismo tiempo, las inoculaciones hechas de manera preliminar, sirvieron para realizar, posterior a la manifestación de la enfermedad, los reisolamientos de cepas, para completar los postulados de Koch y así determinar que los agentes aislados son los que provocan la enfermedad, en los distintos hospedantes en que se encuentran asociados, ya que fueron capaces de producir la enfermedad en las plantas con la que estuvieron en contacto.

5.3.1. Diferentes formas de inoculación

La primera prueba consistió en la realización de cinco diferentes formas de inoculación; en el Cuadro 7 se observan los resultados de esta primera prueba. Los resultados obtenidos en esta prueba permitieron hacer la decisión de la técnica mas adecuada para continuar con las siguientes pruebas de inoculación.

CUADRO 7. Resultados de la inoculación preliminar de cepas de *Pinus pseudostrobus* mediante cinco formas de inoculación en plántulas de la misma especie, realizadas en marzo de 1991 en Chapingo, México.

Forma de inoculación	Nº. de plántulas inoculadas	Nº. de plántulas con síntomas	Porcentaje Infección
Herida a fascículos	5	0	0
Punción con aguja	5	0	0
Punción e inyección	5	1	20
Raspado	5	2	40
Herida en "T"	5	5	100

Por los resultados obtenidos, podemos mencionar que similar a lo que la literatura reporta algunos de estos métodos utilizados son altamente eficientes. Como es el caso de diferentes concentraciones de conidios por ml de suspensión acuosa, que en varias concentraciones aplicadas ha producido infección (Kuhlman, 1987). O bien inoculaciones en las que una pequeña cantidad de conidios, es capaz de iniciar una nueva infección (Fox, Wood y Koehler, 1990). Asimismo, con otras formas de inoculación, como la punción e inyección, desarrollan fácilmente la infección, presentando las plántulas inoculadas un excesivo flujo de resina, así como la formación de canchales. (Blakeslee *et al.*, 1988). Como se puede observar en el Cuadro 4, algunas de estas formas de inoculación no dieron resultados similares a los citados anteriormente. Se puede observar, que sólo aquellas plantas que fueron inoculadas con la herida en forma de "T", presentaron la sintomatología en las cinco plántulas inoculadas, teniendo un 100% de eficacia, por lo cual se eligió esta forma de inoculación para hacer las siguientes pruebas. Una de las razones que explican por qué las otras formas no dieron resultado, es que algunas cepas tenían mucho tiempo creciendo en condiciones de laboratorio y se pensó en la posibilidad de que hubieran perdido parte de su patogenicidad.

5.3.2. Diferentes puntos de inoculación

Los resultados de la segunda prueba preliminar se iniciaron a partir de lo obtenido de la prueba anterior, se eligió a la inoculación en forma de "T" como la mejor forma de inoculación. Con base en esto se procedió a la segunda forma de inoculación. Se inoculó un total de cinco plantas por cada punto de inoculación. Los resultados muestran que de los tres puntos de inoculación; las plantas inoculadas a nivel de brote fueron mayormente afectadas por la presencia del hongo, manifestada

fundamentalmente por el cambio de coloración en el follaje; la sintomatología se presentó de manera homogénea; las otras plantas inoculadas en otro punto, como fueron, la inoculación en la base del tallo, sólo se presentó una planta enferma y en el internodo dos plantas, por las cinco que fueron inoculadas en el brote, donde todas presentaron infección; con base en lo anterior, se determinó que el punto de inoculación fuera en el brote.

5.3.3. Inoculación de cepas en pinos de la misma especie

Con base en los resultados obtenidos en la segunda prueba preliminar de inoculación, se realizó la tercera prueba preliminar, usando nueve especies de pino, inoculando cepas del hongo en un total de cinco plantas por especie, con cepas aisladas de la misma especie de que fueron aisladas; del total de plantas inoculadas, solamente en cinco plantas no se presentó la enfermedad, teniendo en total una infección del 85.7%. Los síntomas se observaron a las ocho semanas de haber realizado la inoculación, aunque los cambios de coloración se observaron a las seis semanas. De las especies inoculadas, *P. douglasiana* mostró la formación de canchales y flujo de resina importante a lo largo de los tallos, esto se pudo observar a los tres meses de haber realizado la inoculación; presentándose adicionalmente una sintomatología similar a la observada en el campo. Únicamente para esta especie la inoculación se hizo en el mes de abril y repetida en el mes de junio presentándose las mismas características en ambas inoculaciones.

En las diferentes especies de plántulas inoculadas se observó que las hojas con coloración café rojiza, permanecen adheridas a las ramas, aunque en algunas ocasiones se encuentran de esta manera debido a la presencia de resina.

En algunas especies como *P. patula* y *P. pseudostrobus*, que fueron inoculados en el brote principal, se forma una gran cantidad de brotes adventicios en el cuello del tallo y es posible que se trate de una respuesta a la muerte del brote principal, ya que empiezan a aparecer poco tiempo después de que el brote inicia su cambio de coloración. Por otra parte, hay un estímulo en el crecimiento de la yemas laterales, cuando el brote principal es inoculado y en el crecimiento de la plántula estos llegan a ser de mayor tamaño que el brote principal inoculado y que ya presentaba muerte por la infección del hongo.

No obstante lo anterior, se consideró que esta inoculación no fue confiable, debido a dos razones, la primera a que sólo se tuvieron como testigo plantas de *P. pseudostrobus*, haciendo únicamente la herida en forma de "T" cubierta con gasa; y la segunda razón por que sólo se probó la cepa en su misma especie. A pesar de lo anterior la forma de inoculación se consideró altamente efectiva. Al mismo tiempo, las plantas aquí inoculadas fueron utilizadas para hacer los reaislamientos, que serán discutidos posteriormente.

5.4. Inoculación general

La inoculación general se realizó en un total de 12 especies, inoculando un total de 14 cepas; como ya se mencionó, no todas las cepas fueron inoculadas en todas las especies.

5.4.1. Presencia de la infección en plántulas inoculadas.

En primera instancia se hizo un análisis de la plantas que sí presentaron la infección; los resultados que se pueden observar en el Cuadro 8, donde se presenta la calificación de las plántulas que sí mostraron la infección con 1 y la que no presentaron infección con 0. La manifestación de algún tipo de síntoma, fué calificada como presencia de la infección y sí el follaje permaneció siempre de color verde, fué evaluado como no infectado, en la Figura 5 se observan aspectos de los lotes en el invernadero, después de la inoculación. Es importante señalar que en todo el proceso de inoculación ninguno de los testigos dió señales de la presencia de la enfermedad, es necesario resaltarlo, ya que algunos trabajos como Dwinell (1978) y Miller y Bramlett (1982) mencionan cierta mortalidad en los testigos y en el presente estudio, no se presentó ningún cambio en ellos; únicamente se pudo observar la reacción a la herida provocada en la inoculación, como un mecanismo de defensa de las plántulas; asimismo, el brote distal al punto de inoculación, se tornó amarillento y posteriormente café rojizo; las yemas laterales adoptaron la dominancia. Cuando la infección estuvo bastante avanzada, se observó un flujo de resina y el brote murió completamente, como se observa en la Figura 6.

Como se puede observar, en el siguiente Cuadro, la cantidad de plántulas que presentaron infección es el 69.19% con algún nivel de infección. En cuanto a nivel de especie, ninguna mostró algún tipo de resistencia a la inoculación del hongo del cancro resinoso, ya que la especie que menos plantas enfermas presentó fué *P. ayacahuite* con 13 (Cuadro 8).

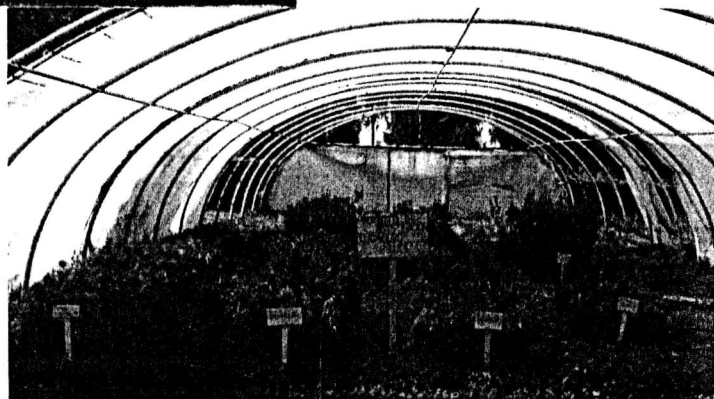
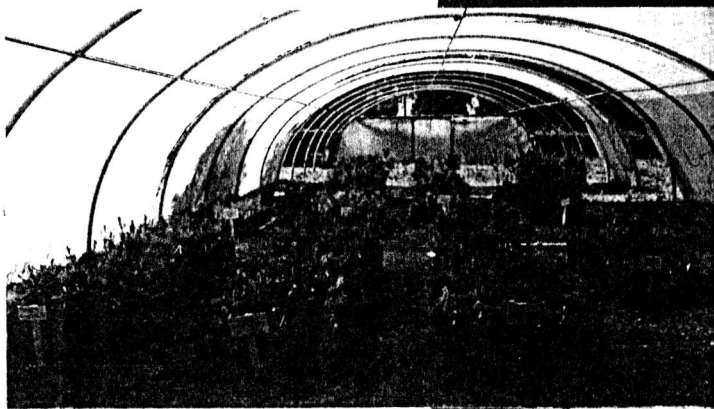
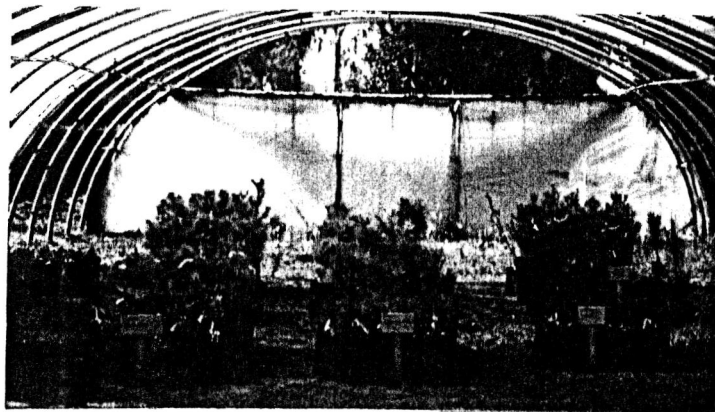


Figura 5. Aspecto general de las plántulas en el invernadero **A.** al momento de la inoculación; **B.** A los 14 días; **C.** A los 28 días; **D.** A los 60 días de la inoculación.



Figura 6. Reacción de plantas a la inoculación. **A.** Planta testigo, obsérvese las hojas verdes arriba del punto de inoculación. **B.** Muerte de la parte superior a la herida; **C** y **D.** Adopción de la dominancia de brotes nuevos; **E.** Reacción de plantas en tres puntos de inoculación; **F.** Muerte de todo el crecimiento superior al punto de inoculación. **G** y **H.** Flujo de resina en plantas inoculadas.

CUADRO 8. Resultados de la inoculación general considerando las plántulas que presentaron infección calificadas con "1" y las que no presentaron infección con "0".

<i>Pinus ayacahuite</i>						<i>Pinus pseudostrobus</i>						<i>P. montezumae</i>						<i>P. douglasiana</i>					
ÁRBOL	1	2	3	4	5	ÁRBOL	1	2	3	4	5	ÁRBOL	1	2	3	4	5	ÁRBOL	1	2	3	4	5
Testigo	0	0	0	0	0	Testigo	0	0	0	0	0	Testigo	0	0	0	0	0	Testigo	0	0	0	0	0
A5	0	0	0	0	0	A5	1	0	1	0	1	A5	1	1	1	1	1	A5	0	1	1	0	0
A4	0	0	0	0	0	A4	1	1	0	1	1	A4	0	1	1	0	1	A4	1	1	0	0	1
A3	0	0	0	1	0	A3	1	0	1	1	1	A3	1	1	0	0	0	A3	0	0	0	1	1
A2	0	0	0	0	0	A2	1	0	1	1	0	A2	1	1	1	0	0	A2	1	1	1	1	1
A1	1	1	1	0	0	A1	0	0	1	1	1	A1	1	1	1	1	1	A1	1	0	1	1	1
R9	0	0	0	0	0	R9	0	1	1	1	1	R9	1	1	1	1	1	R9	1	0	1	1	1
R8	0	0	0	0	0	R8	1	0	0	0	1	R8	1	0	1	1	0	R8	1	0	0	1	1
R7	0	0	1	0	0	R7	0	0	0	0	0	R7	1	1	0	1	0	R7	1	1	1	0	1
R6	0	0	0	0	0	R6	1	1	1	1	1	R6	1	1	1	1	1	R6	1	1	0	1	0
R5	0	0	0	0	0	R5	1	1	1	0	1	R5	0	1	0	1	1	R5	1	1	1	1	1
R4	0	0	0	0	1	R4	1	1	1	1	1	R4	1	1	1	1	1	R4	0	0	1	1	1
R3	1	0	1	0	1	R3	1	1	1	1	1	R3	1	1	1	1	1	R3	1	1	0	1	1
R2	0	0	0	1	0	R2	1	1	1	1	1	R2	1	1	1	1	1	R2	1	1	1	1	1
R1	0	0	0	0	0	R1	1	1	1	1	1	R1	1	1	1	1	1	R1	1	1	1	1	1

<i>Pinus patula</i>						<i>P. michoacana</i>						<i>P. leiophylla</i>						<i>Pinus rudis</i>					
ARBOL	1	2	3	4	5	ARBOL	1	2	3	4	5	ARBOL	1	2	3	4	5	ARBOL	1	2	3	4	5
Testigo	0	0	0	0	0	testigo	0	0	0	0	0	Testigo	0	0	0	0	0	Testigo	0	0	0	0	0
A5	0	1	0	0	0	A3	1	1	1	1	1	A3	0	1	1	1	1	A5	1	1	1	1	1
A4	1	0	0	0	1	A2	0	1	0	1	1	A1	1	1	1	1	1	A4	1	1	1	1	1
A3	1	1	1	1	1	A1	1	1	0	1	0	R8	0	1	0	1	0	A1	1	1	1	1	1
A2	1	1	1	1	1	R9	1	1	1	0	1	R7	0	1	0	0	0	R6	1	1	1	1	1
A1	1	1	1	1	1	R8	0	1	0	0	0	R6	1	1	1	0	0	R8	0	1	1	1	1
R9	1	1	1	1	1	R7	0	1	1	1	1	R5	0	1	0	0	0	R5	1	1	1	0	1
R8	1	1	1	1	1	R6	1	0	0	1	1	R4	0	1	0	0	0	R2	1	1	1	1	1
R7	1	1	1	1	1	R5	1	0	1	0	0	R3	0	0	0	0	0	R1	1	1	1	1	1
R6	1	1	1	1	1	R4	1	1	1	1	1	R2	1	0	0	0	0						
R5	1	1	1	1	1	R3	1	1	1	1	1	R1	1	0	0	0	1						
R4	1	1	1	1	1	R2	1	1	1	1	1												
R3	1	1	1	1	1	R1	1	1	1	1	1												
R2	1	1	1	1	1																		
R1	1	1	1	1	1																		

<i>P. halepensis</i>						<i>P. cembroides</i>						<i>Pinus greggii</i>						<i>Pinus pringlei</i>					
ARBOL	1	2	3	4	5	ARBOL	1	2	3	4	5	ARBOL	1	2	3	4	5	ARBOL	1	2	3	4	5
Testigo	0	0	0	0	0	Testigo	0	0	0	0	0	Testigo	0	0	0	0	0	Testigo	0	0	0	0	0
A5	0	0	0	0	0	A5	1	1	1	1	1	R7	1	1	1	1	0	A6*	1	0	0	0	1
A3	0	0	0	0	0	A3	1	1	1	1	1	R5	1	1	1	1	1	R2	0	1	1	0	0
A2	1	1	1	1	0	A1	1	1	1	1	1	R4	1	0	0	1	0						
A1	1	0	0	1	0	R9	1	1	1	1	1	R3	1	1	1	1	1						
R8	0	1	0	0	0	R7	1	1	1	1	1	R2	1	0	1	0	1						
R7	0	0	0	1	0	R4	1	1	1	1	1	R1	1	1	1	0	1						
R5	1	0	0	0	1	R3	1	1	1	1	1												
R2	0	1	1	0	0	R2	1	1	1	1	1												

* Cepa aislada de *P. pringlei* y nada mas inoculada en esta especie

5.4.2. Desarrollo de la enfermedad considerando tres niveles de infección

Para poder determinar los niveles de infección, se utilizó la escala de infección, constituida por tres niveles, ya descritos previamente. Con base en los niveles de infección propuestos, en el Cuadro 9, se presentan los resultados por especie de las plantas que mostraron la respuesta a la inoculación; ninguna de las especies mostró resistencia a la infección, aunque algunas presentaron muy baja incidencia a la enfermedad, como es el caso de *P. ayacahuite*, que de 70 plántulas inoculadas sólo 13 presentaron infección, lo que representa el 18.5% de infección. En relación a susceptibilidad intermedia, tenemos a *P. halepensis* con 27.5% de infección y tanto *P. pringlei*, como *P. leiophylla*, tuvieron 40% de infección. El resto de las plántulas presentaron una alta susceptibilidad, teniendo en todas las especies arriba del 70% de infección y destacando *P. cembroides*, donde el total de plántulas inoculadas presentaron los síntomas de la enfermedad, teniendo un 100% de infección. Asimismo, es importante señalar que *P. patula* y *P. greggii*, no presentaron asociación del cancro resinoso a nivel de campo, pero mostraron una alta susceptibilidad en la inoculación de cepas aisladas de otros hospedantes.

Se hicieron un total de 15 lecturas, utilizando la escala propuesta para conocer el avance de la infección; la primera a los 28 días en promedio de haber realizado la inoculación, haciéndola el 24 de marzo. En la Figura 7 se observa el primer síntoma de la enfermedad, caracterizado por el doblamiento de los brotes, en la mayoría de las especies y por el cambio de coloración en otras. Las primeras 11 lecturas se hicieron con intervalos de tres días y las cuatro restantes cada cinco días, la última lectura se hizo el 20 de mayo de 1992 (Cuadro 9).

CUADRO 9. Cantidad de plántulas con sintomatología de la enfermedad, del total de plántulas inoculadas (las cifras se acumularon para la siguiente lectura), Chapingo, México 1992.

ESPECIE	L E C T U R A S														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<i>P. ayacahuite</i>	2	2	2	2	3	3	6	6	6	6	7	10	10	12	13
<i>P. pseudostrobus</i>	22	36	38	39	41	44	46	46	46	46	47	48	52	60	60
<i>P. montezumae</i>	6	35	39	46	46	47	52	54	54	55	56	57	57	62	62
<i>P. rudis</i>	3	22	27	32	33	35	36	36	37	38	38	38	38	38	38
<i>P. douglasiana</i>	2	20	33	34	35	38	43	45	45	47	49	50	50	50	50
<i>P. patula</i>	26	44	46	50	51	53	56	56	57	61	61	61	61	63	63
<i>P. greggii</i>	0	9	10	10	10	11	12	16	16	16	17	18	19	23	23
<i>P. michoacana</i>	8	22	26	28	28	29	31	31	32	34	38	41	42	45	45
<i>P. cembroides</i>	0	8	12	14	17	26	27	30	31	32	33	34	35	40	40
<i>P. leiophylla</i>	5	11	13	13	13	13	13	13	14	17	17	19	19	20	20
<i>P. pringlei</i>	0	6	4	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	4	4
<i>P. halepensis</i>	0	2	3	3	3	3	4	4	5	6	7	7	8	11	11



Figura 7. Sintomatología típica en plantas inoculadas obsérvese el doblamiento del brote al inicio de la infección. A. *Pinus montezumae*; B. *P. rudis*; C. *P. michoacana*; D. *P. douglasiana*; E. *P. leiophylla*; F. *P. greggii*; G. *P. pseudostrobus*; H. *P. patula*; I. *P. pringlei*.

Como se observa en la Figura 7, la reacción principal a la infección varía en cada una de las especies. Asimismo en el Cuadro 9, se presenta el número de plantas con infección en cada lectura; se distingue cuales especies tuvieron desarrollo lento de la infección y fueron: *P. ayacahuite*, *P. pringlei*, *P. halepensis* y *P. leiophylla*; especies con desarrollo intermedio de la infección, *P. greggii*, *P. douglasiana*, *P. michoacana* y *P. montezumae* y especies con rápido desarrollo de la enfermedad, *P. pseudostrobus*, *P. rudis*, *P. cembroides*; destacando por un desarrollo más rápido que cualquier especie *P. patula*; situación se hace importante si se recuerda que en este pino no se encontró asociado al hongo del cancro resinoso a nivel de campo

En el Cuadro 10, se observan los niveles de infección alcanzados, de acuerdo a la sintomatología que presentaron los testigos, y se nota que no existe diferencia entre el porcentaje alcanzado, considerando tres niveles de infección y cuando se consideró el porcentaje de infección en el total de plantas inoculadas, esto indica que los niveles de infección son solamente útiles para conocer el avance de la infección y su manifestación en los síntomas que se observan a medida que se desarrolla la infección, y el uso de los tres niveles, proporciona únicamente información en relación a la infección que produce a nivel de especie en las plántulas inoculadas.

CUADRO 10. Resultados de la inoculación general, considerando todas las plantas con infección y frecuencia acumulada por especie, Chapingo, México 1992

ESPECIE	CEPAS	TOTAL DE PLANTAS		FRECUENCIA EN 15 LECTURAS			
	INOCULADAS	INOCULADAS	CON SÍNTOMA	PORCENTAJE	POR ALCANZAR 1	ACUMULADA 2	PORCENTAJE
<i>P. ayacahuite</i>	14	70	13	18.5	210	28	13
<i>P. pseudostrobus</i>	14	70	60	85.7	210	145	69
<i>P. montezumae</i>	14	70	62	88.5	210	103	77
<i>P. rudis</i>	8	40	38	95	120	108	90
<i>P. douglasiana</i>	14	70	50	34	35	38	43
<i>P. patula</i>	14	70	63	90	210	180	85
<i>P. greggii</i>	6	30	23	76.6	90	47	52
<i>P. michoacana</i>	12	60	45	75	180	112	62
<i>P. cembroides</i>	8	40	40	100	120	80	66
<i>P. leiophylla</i>	10	50	20	40	150	49	32
<i>P. pringlei</i>	2	10	4	40	30	6	20
<i>P. halepensis</i>	8	40	11	27.5	120	22	18

1. Este valor es el máximo que puede alcanzar y se logra cuando todas las plantas están infectadas a nivel 3

2. Nivel de infección acumulado en las plantas que tuvieron infección.

5.4.3. Desarrollo de la sintomatología

Como ya se mencionó el primer síntoma observado fue un doblamiento del brote en forma de gancho, el cual es muy similar al daño causado por el barrenador de los brotes *Eucosma sonomana*. El brote doblado presenta una clorosis leve que se va haciendo más oscura a medida que se desarrolla la enfermedad (obsérvese la Figura 7); posterior a esto se va notando un cambio de coloración que inicia con un café ligero hasta volverse un café rojizo. El primer síntoma en las plantas que se tenían bajo condiciones de invernadero se presentó a los 19 días de haber realizado la inoculación, en algunas plántulas de la mayoría de las especies; después, se fue generalizando en muchas de ellas, aumentando de manera diferente en cada una de las especies como podemos observar en la Figura 8 y comparativamente, en la Figura 9 se observan las mismas plantas al final de las pruebas de patogenicidad. En esta última Figura se observa el contraste de aquellas plantas que presentaron susceptibilidad a la infección por el hongo inoculado

5.4.4. Desarrollo de la infección de 14 cepas inoculadas en 12 especies de pino.

En el Cuadro 11 se puede observar el desarrollo de la infección de las 12 especies inoculadas, en las 15 lecturas realizadas en el desarrollo del experimento de inoculaciones.

CUADRO 11. Porcentaje de infección en relación al número de plantas inoculadas con *Fusarium subglutinans* para cada especie, efectuados el 22 de febrero de 1992 y que presentaron la sintomatología de la enfermedad en Chapingo, México.

ESPECIE	LECTURAS														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<i>P. ayacahuite</i>	2.8	2.8	2.8	2.8	4.2	4.2	8.5	8.5	8.5	8.5	10	14.2	14.2	17.1	18.5
<i>P. pseudostrobus</i>	31.4	51.4	54.2	55.7	58.5	62.8	65.7	65.7	65.7	65.7	67.1	68.6	74.2	85.7	85.7
<i>P. montezumae</i>	8.5	50	55.7	65.7	65.7	67.1	74.2	77.1	77.1	78.5	80	81.4	81.4	88.5	88.5
<i>P. rudis</i>	7.5	50	67.5	80	82.5	87.5	90	90	92.5	95	95	95	95	95	95
<i>P. douglasiana</i>	2.8	28.6	47.1	48.5	50	54.2	61.4	64.2	64.2	67.1	70	71.4	71.4	71.4	71.4
<i>P. patula</i>	37.1	62.8	65.7	71.4	72.8	75.7	80	80	81.4	87.1	87.1	87.1	87.1	90	90
<i>P. greggii</i>	0	30	33.3	33.3	33.3	36.6	40	53.3	53.3	53.3	56.6	60	63.3	76.6	76.6
<i>P. michoacana</i>	13.3	36.6	43.3	46.6	46.6	48.3	51.6	51.6	53.3	56.6	63.3	68.3	70	75	75
<i>P. cembroides</i>	0	20	30	35	42.5	65	67.5	75	77.5	80	82.5	85	87.5	100	100
<i>P. leiophylla</i>	10	22	26	26	26	26	26	26	28	34	34	38	38	40	40
<i>P. pringlei</i>	0	60	40	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	40	40
<i>P. halepensis</i>	0	5	7.5	7.5	7.5	7.5	10	10	12.5	15	17.5	17.5	20	27.5	27.5

Del Cuadro 11 se obtienen las gráficas del porcentaje de infección donde se puede observar el desarrollo de la enfermedad y podemos notar que de menor a mayor susceptibilidad se encuentra *P. ayacahuite*, siguiendo *P. halepensis*, *P. pringlei*, *P. leiophylla*, *P. greggii* y *P. douglasiana*, como las primeras seis especies de menor susceptibilidad y las especies de mayor susceptibilidad son: *P. michoacana*, *P. pseudostrobus*, *P. montezumae*, *P. patula*, *P. rudis* y *P. cembroides*, esta última especie con la totalidad de las plántulas inoculadas que presentaron el desarrollo de la infección, es decir el 100% como se muestra en la Figura 9.

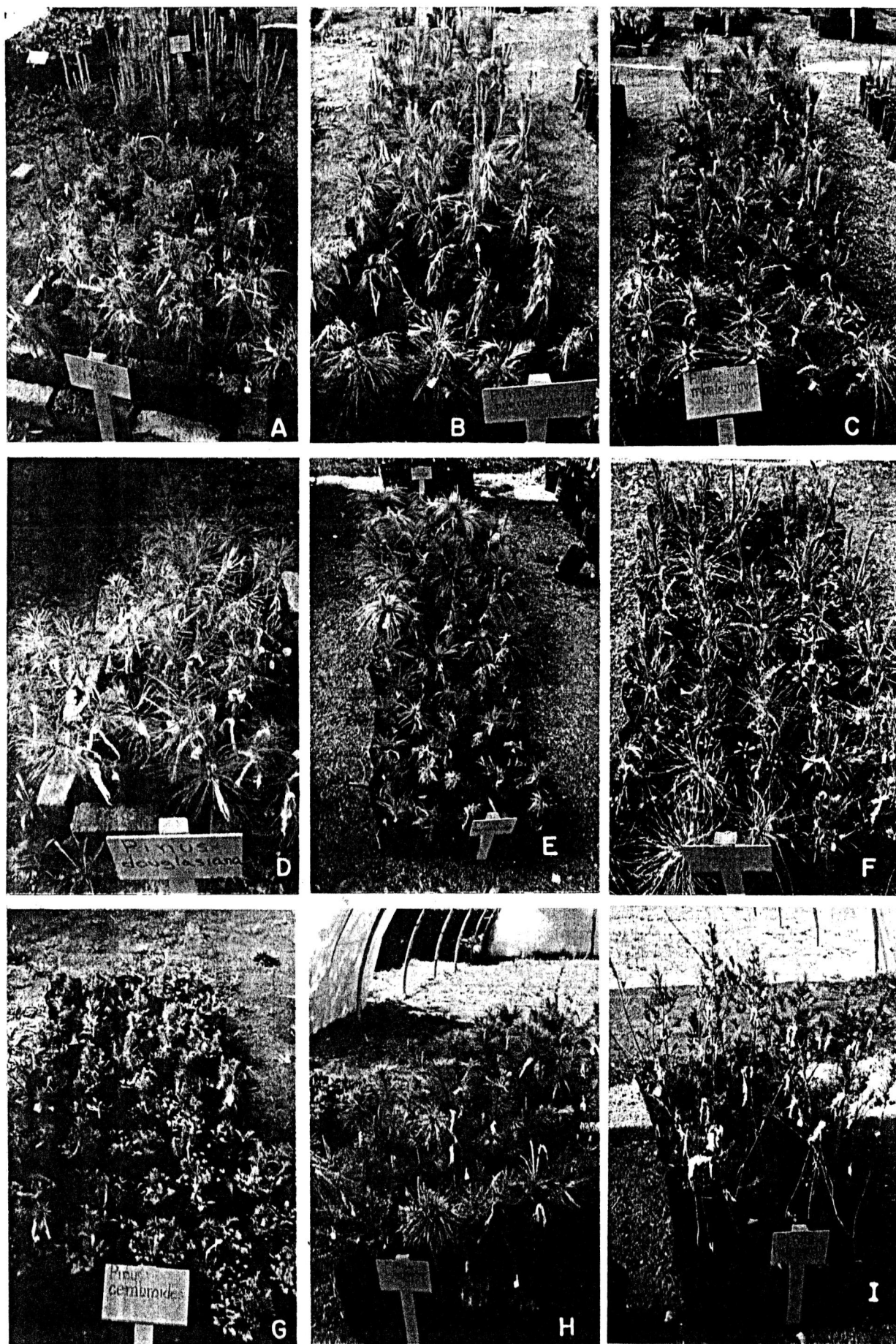


Figura 8. Aspectos de los lotes de 9 diferentes especies a los 28 días de la inoculación.



Figura 9. Aspectos de los lotes de diferentes especies, al final de las pruebas de patogenicidad.

En el Cuadro 12 podemos observar la frecuencia acumulada real de la infección después de las 15 lecturas realizadas para conocer el avance de la infección. Con los datos de este cuadro se generó el Cuadro 13 donde se obtuvo el cálculo del porcentaje de infección acumulada, para cada una de las especies inoculadas.

CUADRO 12. Frecuencia acumulada por especie, tomando en cuenta el avance de la infección, considerando 3 niveles de infección1/.

ESPECIE	L E C T U R A S														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<i>P. ayacahuite</i>	2	4	4	4	5	5	12	13	15	15	19	26	27	35	39
<i>P. pseudostrobus</i>	25	59	64	68	93	107	114	117	120	122	129	135	146	163	180
<i>P. montezumae</i>	6	40	47	64	71	80	100	107	116	130	153	161	163	175	186
<i>P. rudis</i>	3	25	31	38	46	56	82	83	93	103	103	103	108	112	114
<i>P. douglasiana</i>	2	22	46	57	72	92	111	117	123	128	136	140	142	146	149
<i>P. patula</i>	31	82	103	122	128	140	153	157	160	167	177	178	181	185	187
<i>P. greggii</i>	0	9	10	11	11	15	22	26	28	34	36	37	47	55	63
<i>P. michoacana</i>	8	30	41	61	63	70	79	82	85	92	98	106	112	128	132
<i>P. cembroides</i>	0	8	12	15	20	32	39	46	47	54	64	69	85	103	120
<i>P. leiophylla</i>	5	17	21	23	28	34	34	36	38	44	45	47	49	53	55
<i>P. pringlei</i>	0	6	4	4	5	6	6	6	6	6	6	6	6	9	12
<i>P. halepensis</i>	0	2	2	2	3	4	7	8	10	12	15	16	22	25	31

1/ Los niveles de infección considerados fueron: 1. Doblamiento del brote. 2. Doblamiento y clorosis. 3. Muerte del brote.

CUADRO 13. Porcentaje de infección de las plántulas inoculadas, considerando 3 niveles de infección1/.

ESPECIE	L E C T U R A S														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<i>P. ayacahuite</i>	0.9	1.9	1.9	1.9	2.3	2.3	5.7	6.1	7.1	7.1	9.0	12.3	12.8	16.6	18.5
<i>P. pseudostrobus</i>	11.9	28	30.4	32.3	44.2	50.9	54.2	55.7	57.1	58	61.4	64.2	69.5	77.6	85.7
<i>P. montezumae</i>	2.8	19	22.3	30.4	33.8	38	47.6	50.9	55.2	61.9	72.8	76.6	77.6	83.3	88.5
<i>P. rudis</i>	2.5	20.8	25.8	31.6	38.3	46.6	68.8	69.1	77.5	85.8	85.8	85.8	90	93.3	95
<i>P. douglasiana</i>	0.9	10.4	21.9	27.1	34.2	43.8	52.8	57.7	58.5	60.4	64.7	66.6	67.6	69.5	70.9
<i>P. patula</i>	14.7	39	49	58	60.9	66.6	72.8	77.7	76.1	79.5	84.2	84.7	86.1	88	89
<i>P. greggii</i>	0	10	11.1	12.2	12.2	16.6	24.4	28.8	31.1	37.7	40	41.1	52.2	61.1	70
<i>P. michoacana</i>	4.4	16.6	27.7	33.8	35	38.8	43.8	45.5	47.2	41.1	54.4	58.8	62.2	71.1	73.3
<i>P. cembroides</i>	0	6.6	10	12.5	16.6	26.6	32.5	38.3	39.1	45.1	53.3	57.5	70.8	85.5	100
<i>P. leiophylla</i>	3.3	11.3	14	15.3	18.6	22.6	22.6	24	25.3	28.3	30	31.3	32.6	35.3	36.6
<i>P. pringlei</i>	0	20	13.3	16.6	20	20	20	20	20	20	20	20	20	30	40
<i>P. halepensis</i>	0	1.6	1.6	1.6	2.5	3.3	5.8	6.6	8.3	10	12.5	13.3	18.3	20.8	25.8

1/ Los niveles de infección considerados fueron: 1. Doblamiento del brote. 2. Doblamiento y clorosis. 3. Muerte del brote.

Con base en los Cuadros 12 y 13 se obtiene la Figura 10 donde se muestra el desarrollo de la infección de las plántulas inoculadas, considerando los tres niveles de infección propuestos.

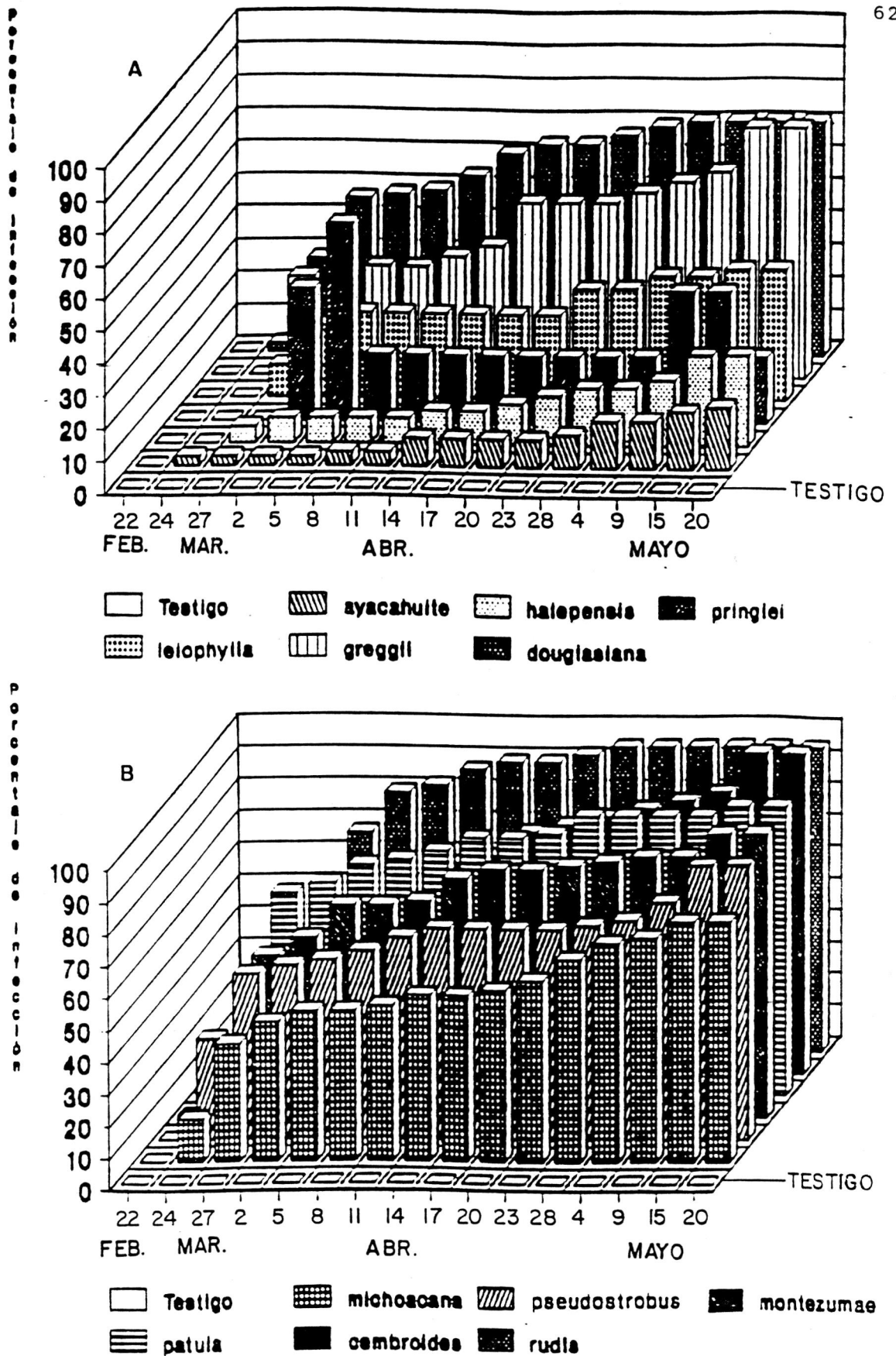


Figura 10. Porcentaje de infección acumulado en relación al total de 12 especies inoculadas con *Fusarium subglutinans*, realizadas el 22 de Febrero de 1992, Chapingo México.

5.4.4.1. Infección en las siete especies inoculadas con 10 ó más cepas.

A continuación se presenta el avance de la enfermedad en 7 especies de pinos. Este avance se calificó utilizando los criterios de rapidez en la aparición de los síntomas de las plantas al ser inoculadas.

En la Figura 11 tenemos que del total de 70 plántulas inoculadas de *P. ayacahuite*, con 14 cepas, sólo 13 plantas mostraron susceptibilidad a la inoculación, la cepa LEIOPHYLLA en 4 plántulas, la cepa DOUGLASIANA en 2 plántulas, la cepa ARIZONICA en 3 plántulas; las cepas AYACAHUITE, DISCOLOR, PSEUDOSTROBUS, MAXIMINOI produjeron infección en una plántula. El resto de las cepas no produjo ningún tipo de síntoma en las plántulas inoculadas, como se puede observar en la Figura 11A, las cepas MONTEZUMAE, RUDIS, OOCARPA, DURANGENSIS, MICHOACANA, HARTWEGII y CEMBROIDES no provocaron ningún tipo de síntoma en las plantas inoculadas. En la Figura 11B se observa a las cepas que sí produjeron la infección, pero fue muy poco el daño producido, sólo la cepa LEIOPHYLLA ocasionó a 4 plantas el nivel de infección 3; la cepa aislada de esta misma especie sólo produjo la enfermedad en una planta, lo que indica poca susceptibilidad de esta especie al hongo aún con su misma cepa.

En *Pinus pseudostrobus* se presentó una alta incidencia de la enfermedad, observándose la infección en un total de 50 plántulas del total de 70 inoculadas, esto representa el 85.7% de infección, todas las cepas produjeron infección; 7 de ellas fueron capaces de producir la infección en todas las plántulas inoculadas; las cepas MONTEZUMAE, DURANGENSIS, AYACAHUITE, HARTWEGII y CEMBROIDES produjeron infección en 4 plántulas inoculadas; la cepa MICHOACANA la produjo en 3 plántulas y solamente la cepa OOCARPA lo hizo en 2 plántulas (Figura 12). En la Figura 12A se observa a las cepas que menor efecto tuvieron en la infección, en cambio en la Figura 12B, se nota que todas las cepas presentaron una alta capacidad de infección. La cepa PSEUDOSTROBUS fue la más agresiva en su misma especie, lo que indica una alta susceptibilidad en la misma especie de la que fué aislada.

En *Pinus montezumae* también hubo alta incidencia de la enfermedad en las plántulas inoculadas, del total de 70 se presentó la enfermedad en 62, que representa el 88.5% de infección, al igual que en *P. pseudostrobus*, todas las cepas tuvieron la capacidad de producir la infección; 9 cepas lo hicieron en las 5 plántulas inoculadas; la cepa OOCARPA y MICHOACANA la produjeron en 4 plántulas y las cepas MONTEZUMAE, DOUGLASIANA y AYACAHUITE lo hicieron en 3 plántulas (Figura 13), ésto indica que más del 50% de las plántulas inoculadas con cualquier cepa presentaron la infección, siendo las menos agresivas, las cepas que infectaron sólo 3 plántulas, como se observa en la Figura 13A; a partir de la cepa OOCARPA hasta la cepa ARIZONICA que fué la más agresiva de todas en esta especie (Figura 13B). La cepa aislada en esta misma especie, tuvo un efecto de susceptibilidad moderada, al infectar sólo 3 plántulas y ser tan solo la segunda con menor agresividad de todas las cepas.

En *Pinus douglasiana*, del total de 70 plántulas inoculadas, la infección se presentó en 50, pero sólo las cepas PSEUDOSTROBUS, MONTEZUMAE y HARTWEGII fueron capaces de producir la infección en las 5 plántulas inoculadas; las cepas ARIZONICA, OOCARPA, DURANGENSIS y LEIOPHYLLA produjeron la infección en 4 plántulas; las cepas MAXIMINOI, DISCOLOR, RUDIS, DOUGLASIANA y HARTWEGII lo hicieron en 3 plántulas, y las cepas AYACAHUITE y CEMBROIDES sólo provocaron la infección en 2 plántulas, no obstante lo anterior se presentó un alto porcentaje de infección, el 71.4%, a pesar de que el desarrollo de la infección fué muy heterogéneo y al observar el daño en esta especie no se nota muy severo (Figura 14). En general en esta especie se observa un desarrollo de infección no muy agresivo, alcanzando muy bajos niveles de infección en 7 cepas (Figura 14B), y mayor agresividad en las siguientes cepas (Figura 14B) y solamente teniendo 3 cepas que infectaron a las 5 plántulas inoculadas. La cepa aislada de esta misma especie, presentó un comportamiento raro, ya que en inoculaciones anteriores (ensayos) presentó una alta capacidad de infección, y en esta inoculación sólo tuvo la capacidad de infectar 3 plántulas, siendo la cuarta cepa menos agresiva.

En *Pinus patula*, el desarrollo de la infección fue muy alta, las cepas de la 1 a la 12 tuvieron la capacidad de producir la enfermedad en las 5 plántulas inoculadas, la cepas HARTWEGII y CEMBROIDES tardaron mucho tiempo en reproducir la sintomatología de la enfermedad en las plántulas inoculadas y sólo lo hicieron en 2 y 1 plántulas respectivamente; esta especie fue donde se desarrolló la infección más rápidamente que en cualquier otra especie y junto con *P. cembroides* presentó una alta susceptibilidad en las plántulas inoculadas, como puede observarse en la Figura 15. Es importante señalar que en esta especie no se encontraron daños causados por la enfermedad a nivel de campo, por lo que se debe tener cuidado en áreas aledañas a rodales infectados y que están dañados con el hongo del cancro resinoso. En la prueba realizada se comprobó su susceptibilidad por la vía de la inoculación de 14 cepas distintas a las cuales a todas fue susceptible, por lo que es sumamente fácil que sea atacado a nivel de campo cuando se presenten las condiciones adecuadas para la presencia de la enfermedad. Se reconoce que *P. patula* estuvo en condiciones obviamente distintas a las de su ambiente natural. En Chapingo la humedad relativa es menor que en su área de distribución y es posible que el árbol estuviera en condiciones de estrés que facilitaron el desarrollo de la enfermedad.

En *Pinus michoacana* fueron inoculadas un total de 12 cepas, todas lograron producir infecciones, sólo que la cepa DOUGLASIANA únicamente lo hizo en una plántula, por lo que se considera débilmente patógena, en cambio las cepas MAXIMINOI, PSEUDOSTROBUS, ARIZONICA, DISCOLOR y AYACAHUITE lograron infectar las 5 plántulas inoculadas; la cepa MONTEZUMAE infectó 2 plántulas; las cepas RUDIS, LEIOPHYLLA y MICHOACANA infectaron 3 plántulas y las cepas OOCARPA y DURANGENSIS infectaron 4 plántulas; el total de plántulas que presentaron la infección fue de 45 que representa el 75% del total de las plántulas inoculadas (Figura 16). La cepa aislada de esta misma especie, no fue tan agresiva como algunas otras, infectando 3 plántulas, sin embargo el nivel de infección general se considera alto, siendo en susceptibilidad la quinta en importancia de todas especies.

En *Pinus leiophylla* se inoculó un total de 10 cepas, de las cuales sólo la cepa LEIOPHYLLA desarrolló la infección en las 5 plántulas inoculadas, indicando alta susceptibilidad únicamente para su misma cepa; la cepa AYACAHUITE presentó infección en 4 de las plántulas; la cepa RUDIS en 3 plántulas; las cepas MAXIMINOI y DOUGLASIANA en 2 plántulas; las cepas PSEUDOSTROBUS, DISCOLOR, MONTEZUMAE y OOCARPA únicamente pudieron infectar una plántula y además la cepa ARIZONICA no tuvo ningún efecto en esta especie, al no presentarse la infección en las plántulas inoculadas, no obstante lo anterior, la respuesta de la planta hospedante se considera como de susceptibilidad, debido a que la cepa aislada de esta especie presentó un alto grado de infección (Figura 17).

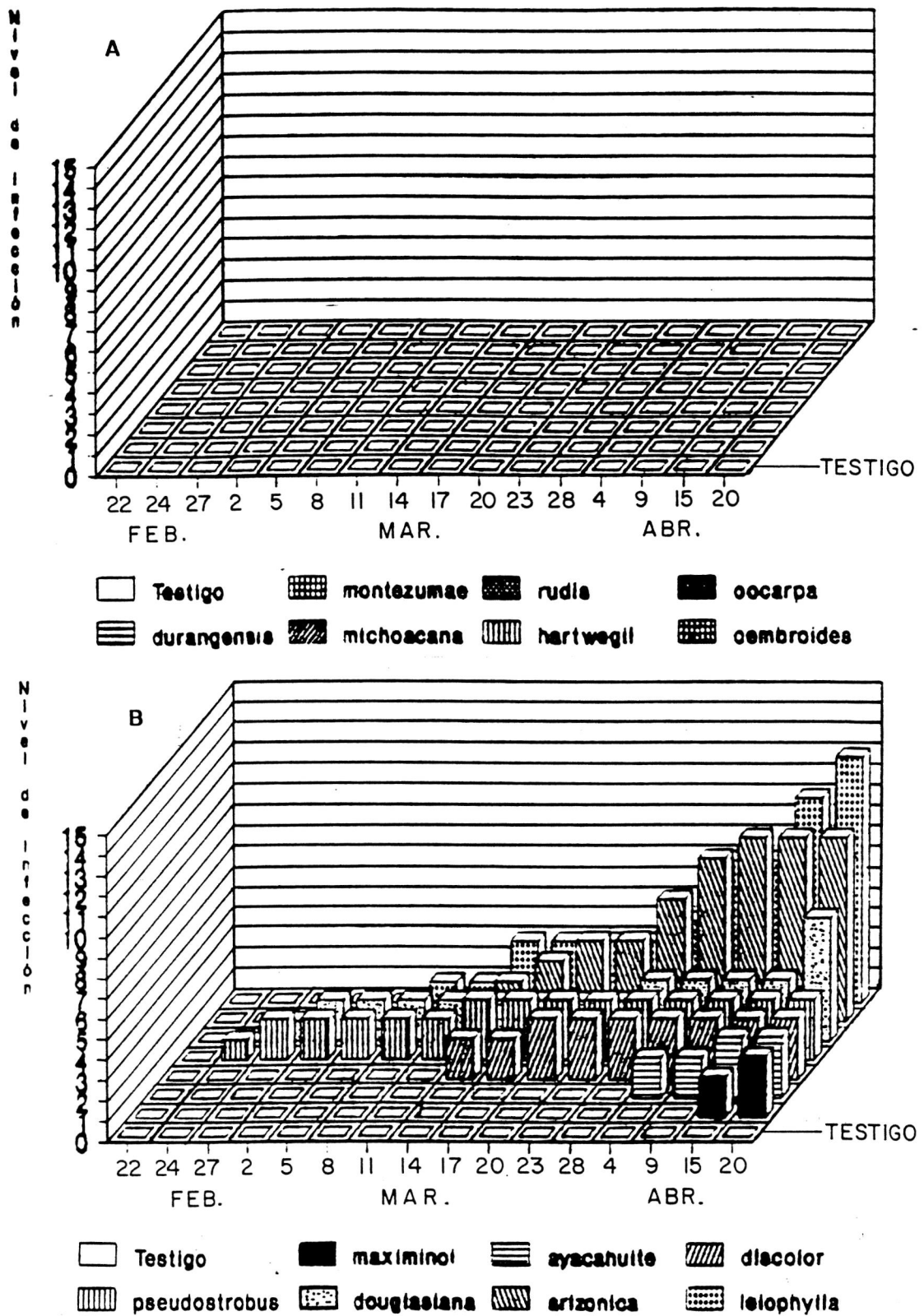


Figura 11. Valores acumulados de tres niveles de intensidad de infección, de 14 cepas de *Fusarium subglutinans* inoculadas en Plántulas de *Pinus ayacahuite*, Chapingo, México. 22 de Febrero de 1992.

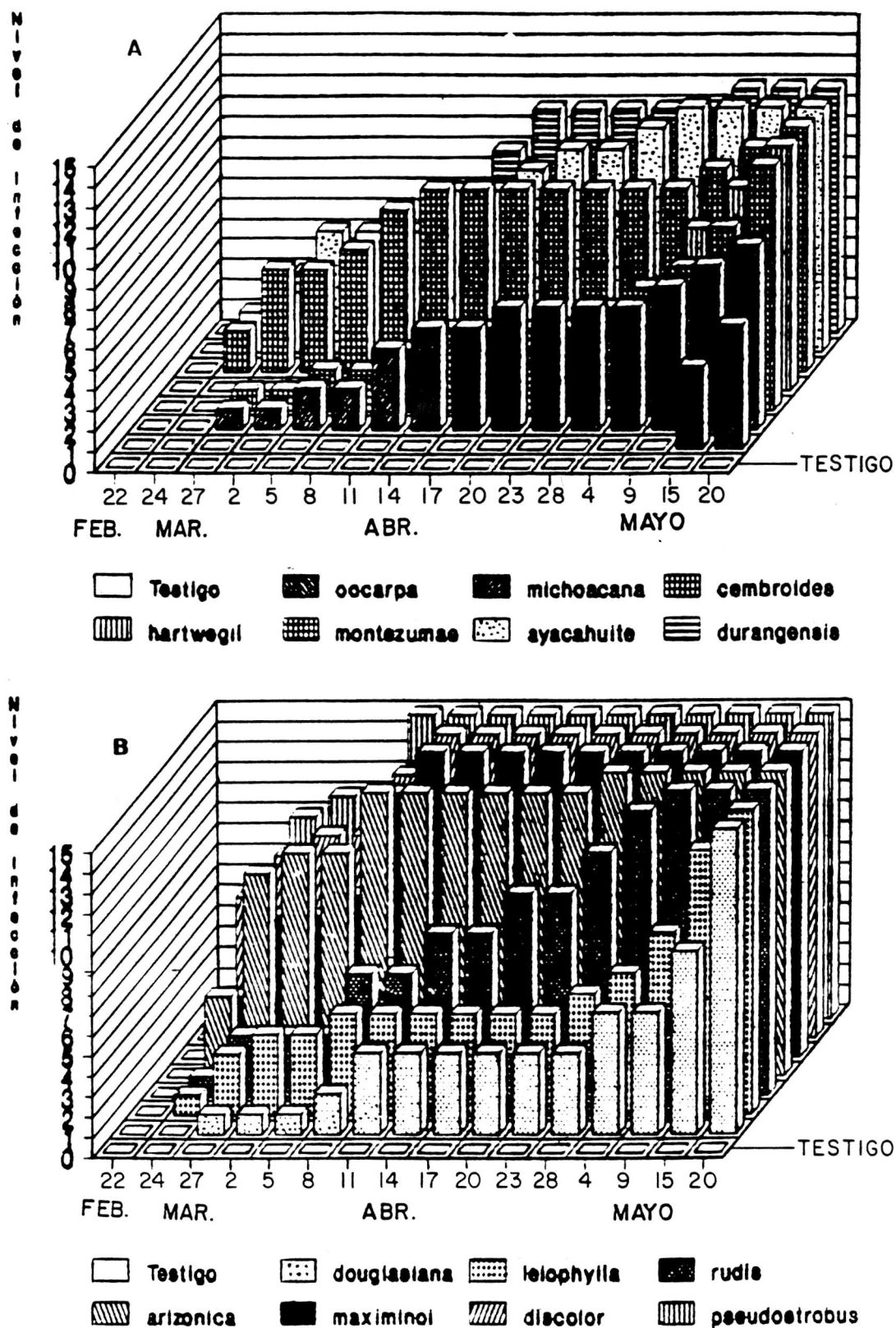


Figura 12. Valores acumulados de tres niveles de intensidad de infección, de 14 cepas de *Fusarium subglutinans* inoculadas en Plántulas de *Pinus pseudostrobus*, Chapingo, México. 22 de Febrero de 1992.

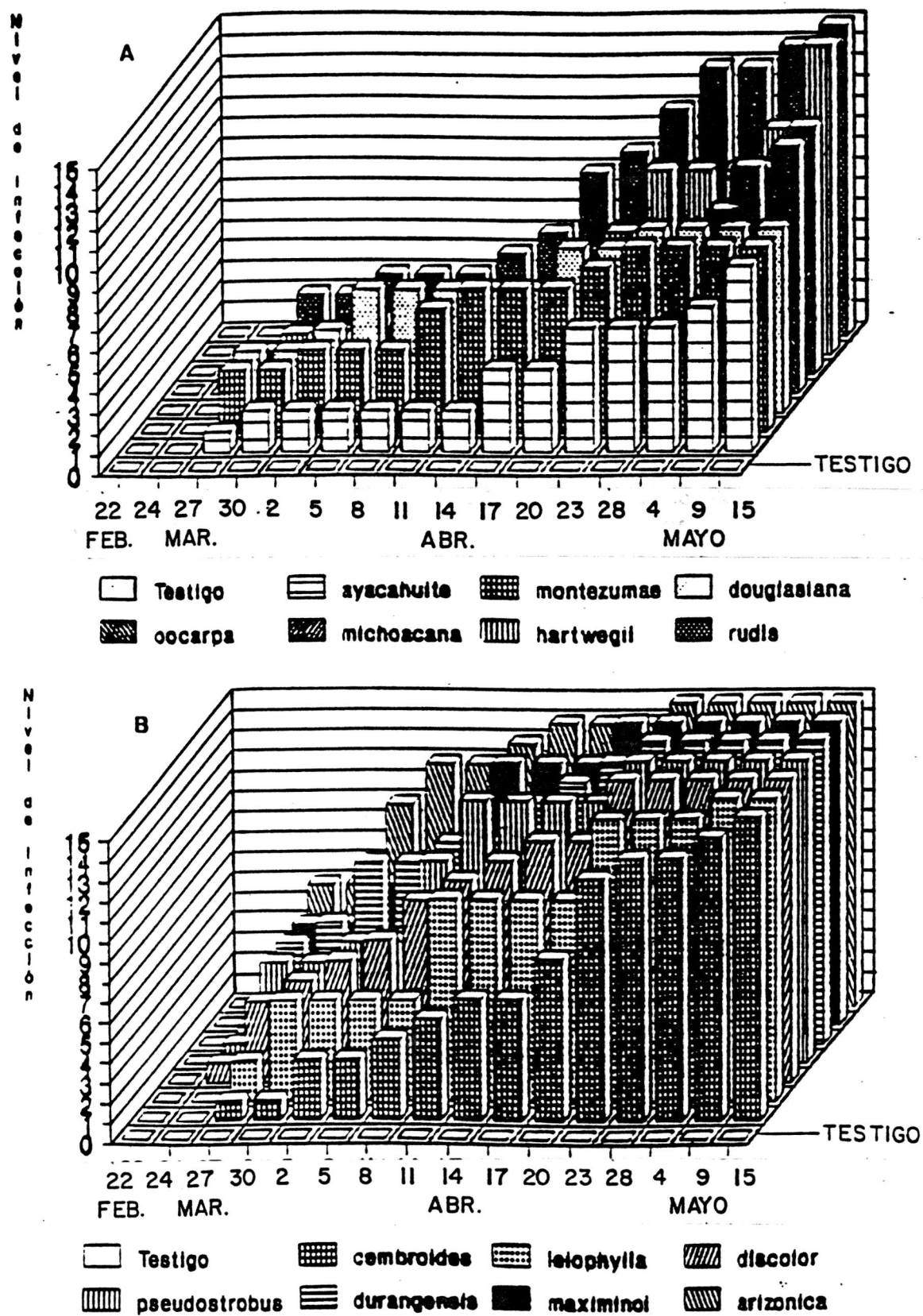


Figura 13. Valores acumulados de tres niveles de intensidad de infección, de 14 cepas de *Fusarium subglutinans* inoculadas en plántulas de *Pinus montezumae*. Chapingo, México, 22 de Febrero de 1992.

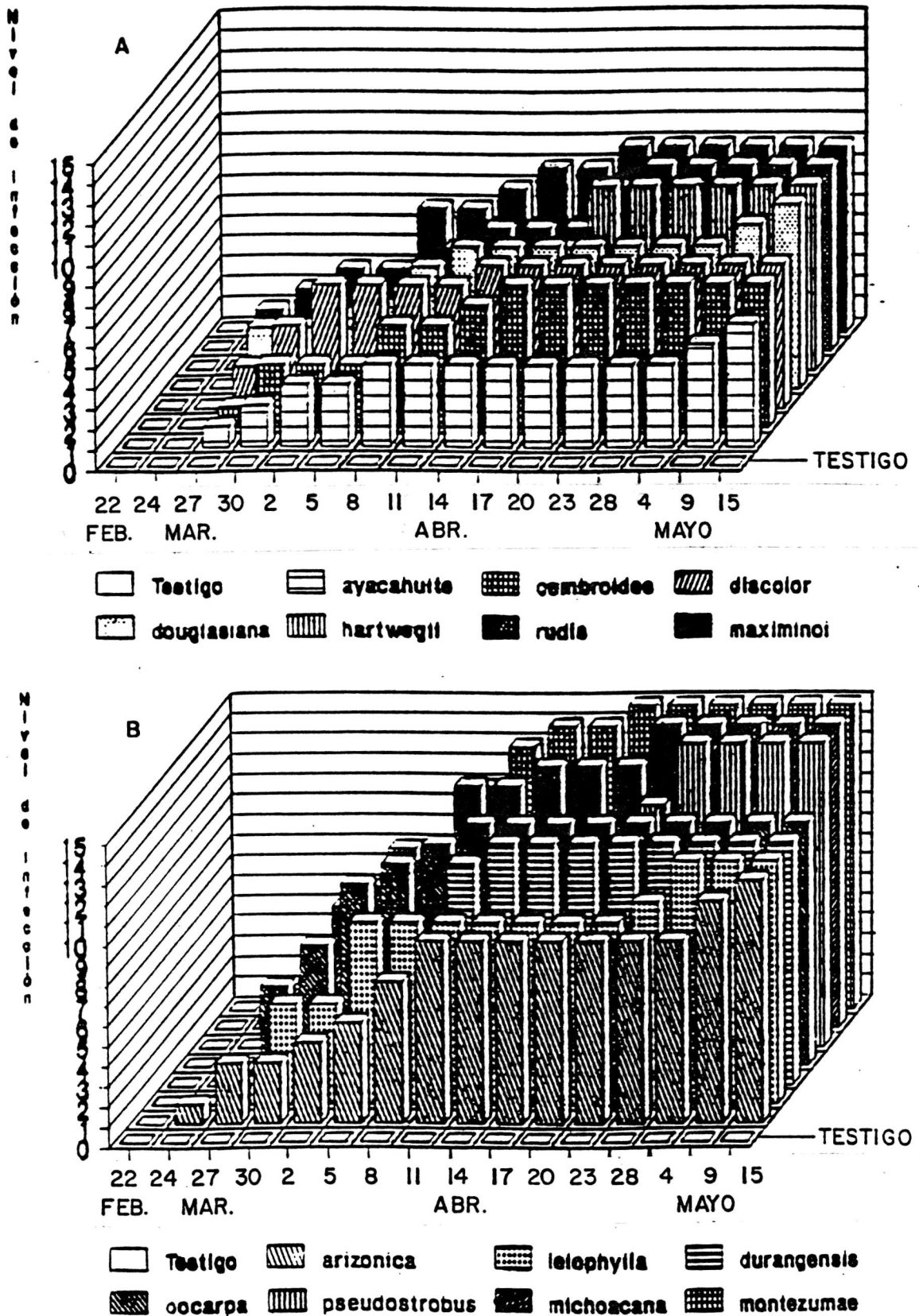


Figura 14. Valores acumulados de tres niveles de intensidad de infección, de 14 cepas de *Fusarium subglutinans* inoculadas en plántulas de *Pinus douglasiana*. Chapingo, México, 22 de Febrero de 1992.

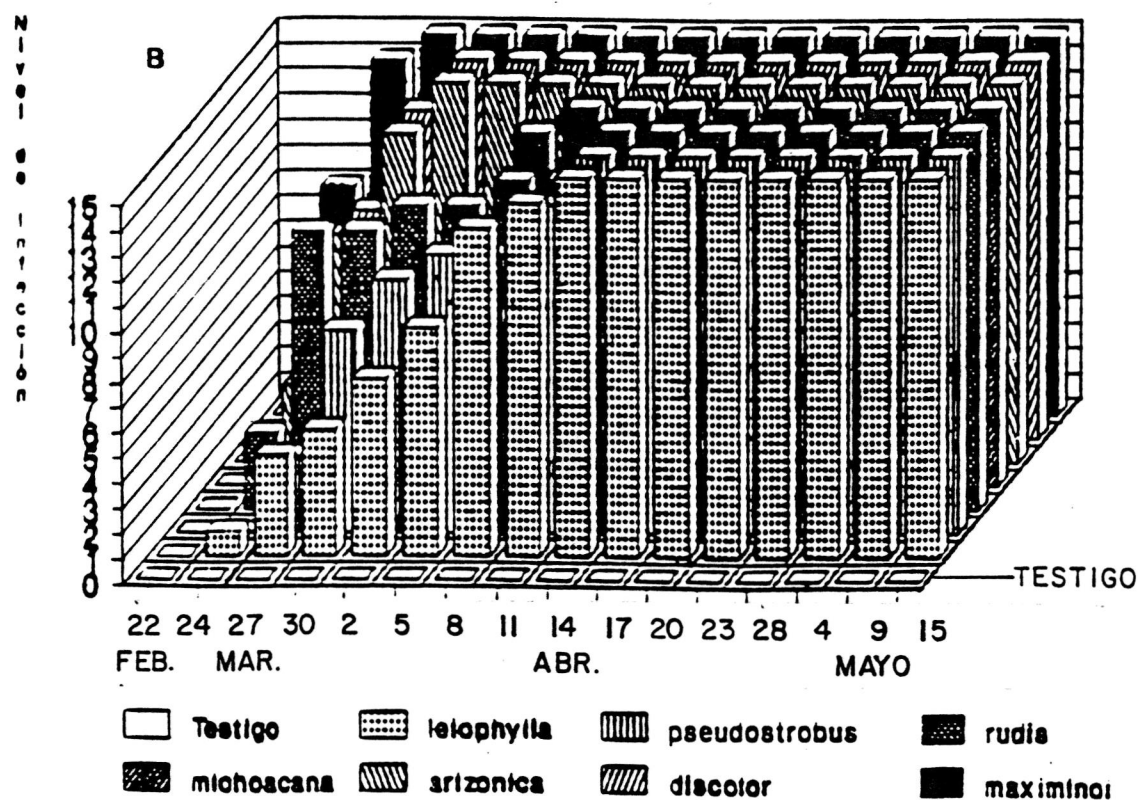
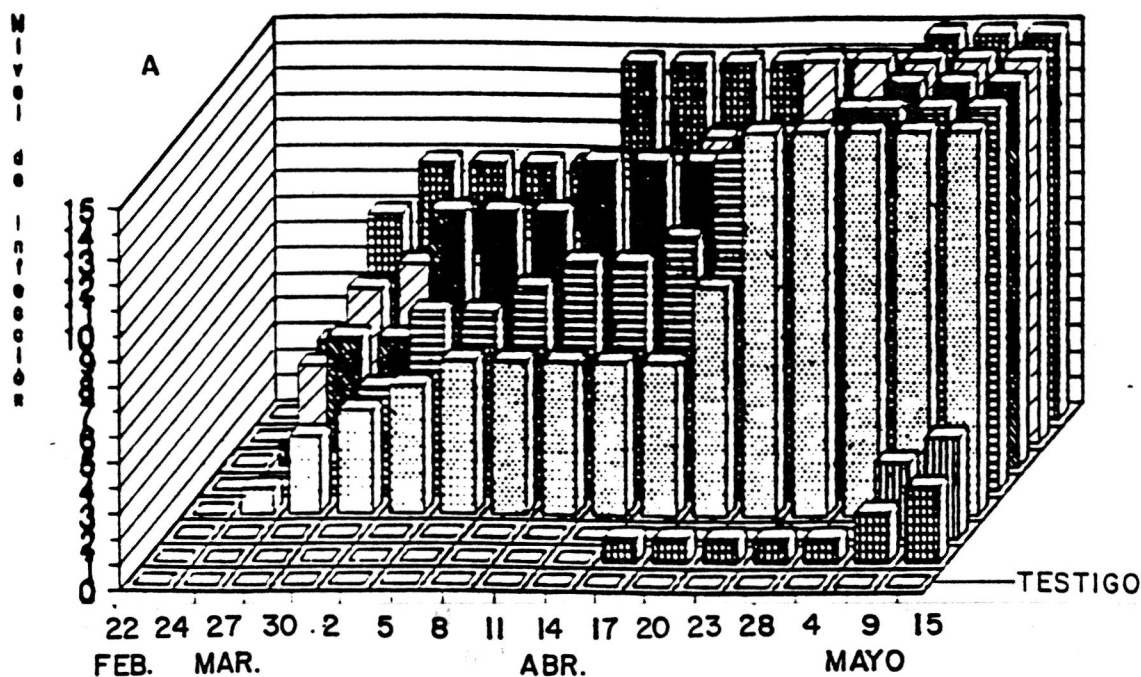


Figura 15. Valores acumulados de tres niveles de intensidad de infección, de 14 cepas de *Fusarium subglutinans* inoculadas en plántulas de *Pinus patula*. Chapingo, México, 22 de Febrero de 1992.

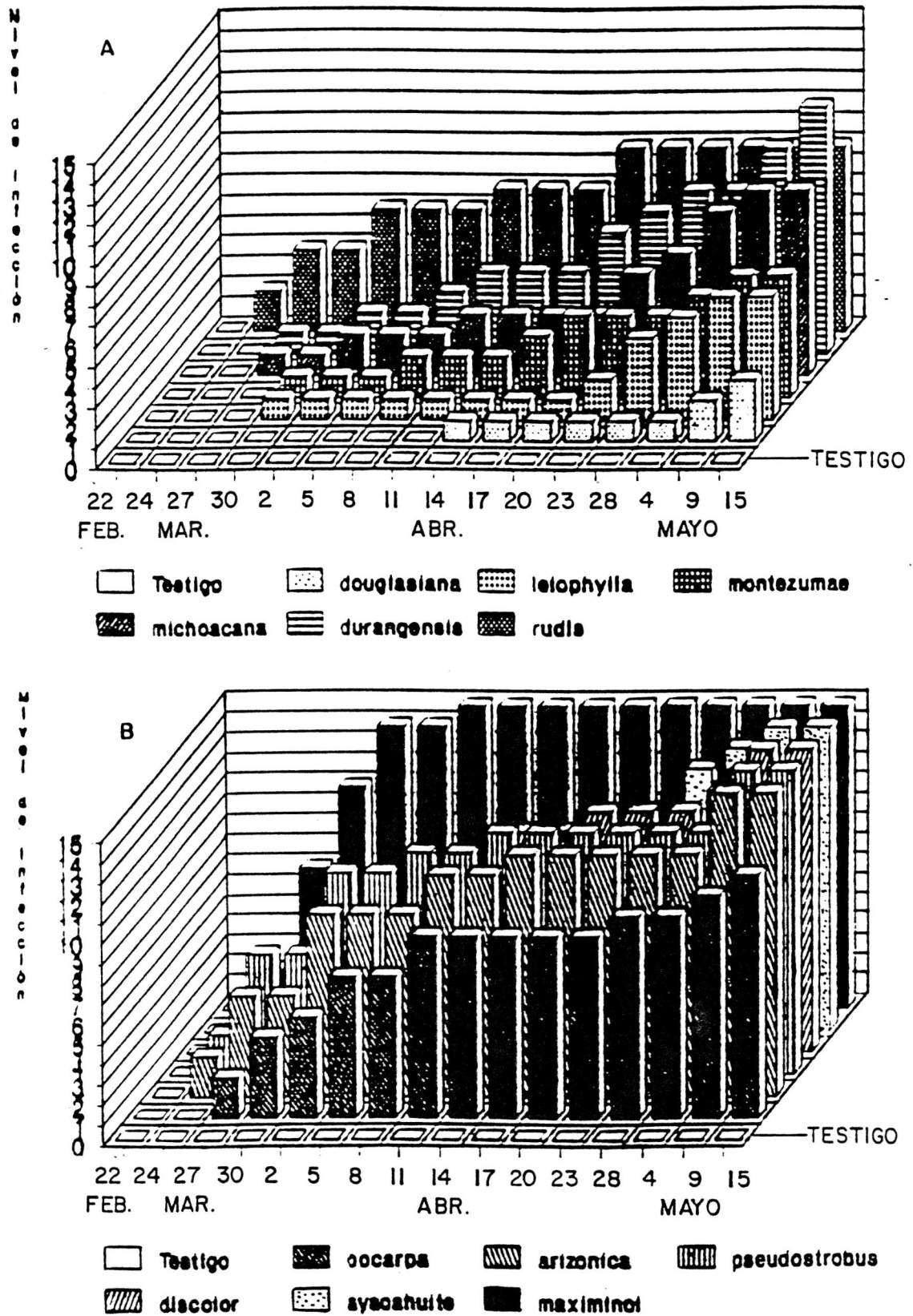


Figura 16. Valores acumulados de tres niveles de intensidad de infección, de 12 cepas de *Fusarium subglutinans* inoculadas en plántulas de *Pinus michoacana*. Chapingo, México, 22 de Febrero de 1992.

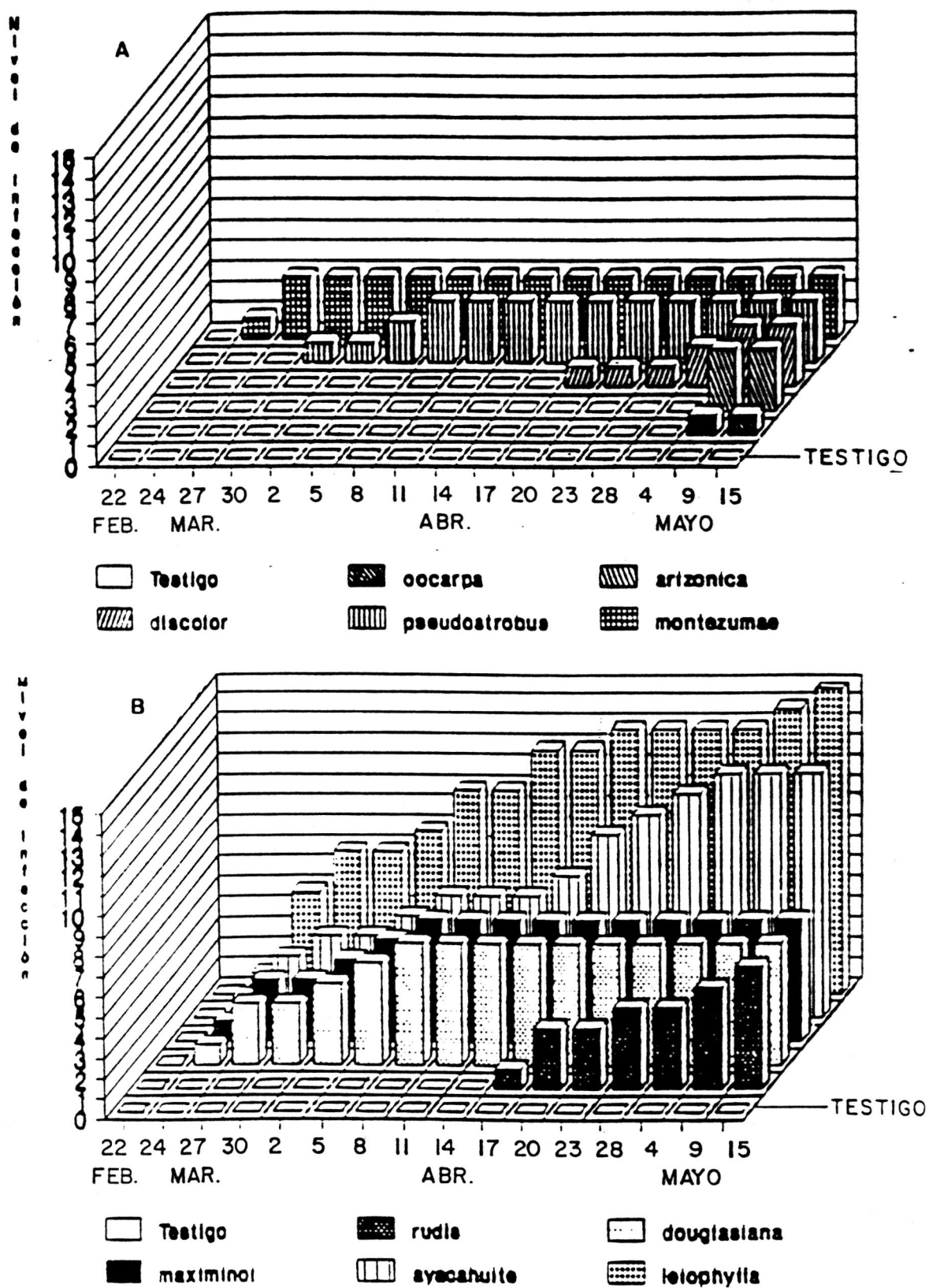


Figura 17. Valores acumulados de tres niveles de intensidad de infección, de 10 cepas de *Fusarium subglutinans* inoculadas en plántulas de *Pinus leiophylla*. Chapingo, México, 22 de Febrero de 1992.

5.4.4.2. Infección en 5 especies inoculas con 8 o menos cepas.

En este apartado se presenta el avance de la infección en 5 especies de pinos. El tratamiento dado a éstas es distinto a las 7 descritas previamente ya que se inocularon un menor número de plántulas.

Pinus rudis se inoculó un total de 8 cepas, las cuales todas tuvieron la capacidad de producir infección, las cepas MAXIMINOI, PSEUDOSTROBUS, RUDIS, LEIOPHYLLA, HARTWEGII y CEMBROIDES provocaron infección en las 5 plántulas inoculadas y las cepas MONTEZUMAE y DOUGLASIANA provocaron infección en 4 plántulas; ésto da un total de 38 plántulas con infección, del total de 40 inoculadas, que representa el 95% de infección, siendo la segunda especie con el mayor nivel de infección de todas las que fueron sometidas a la prueba de inoculación. (Figura 18). Por los resultados obtenidos se considera a esta especie como altamente susceptible a la infección por el hongo del cancro resinoso, para diferentes cepas aisladas.

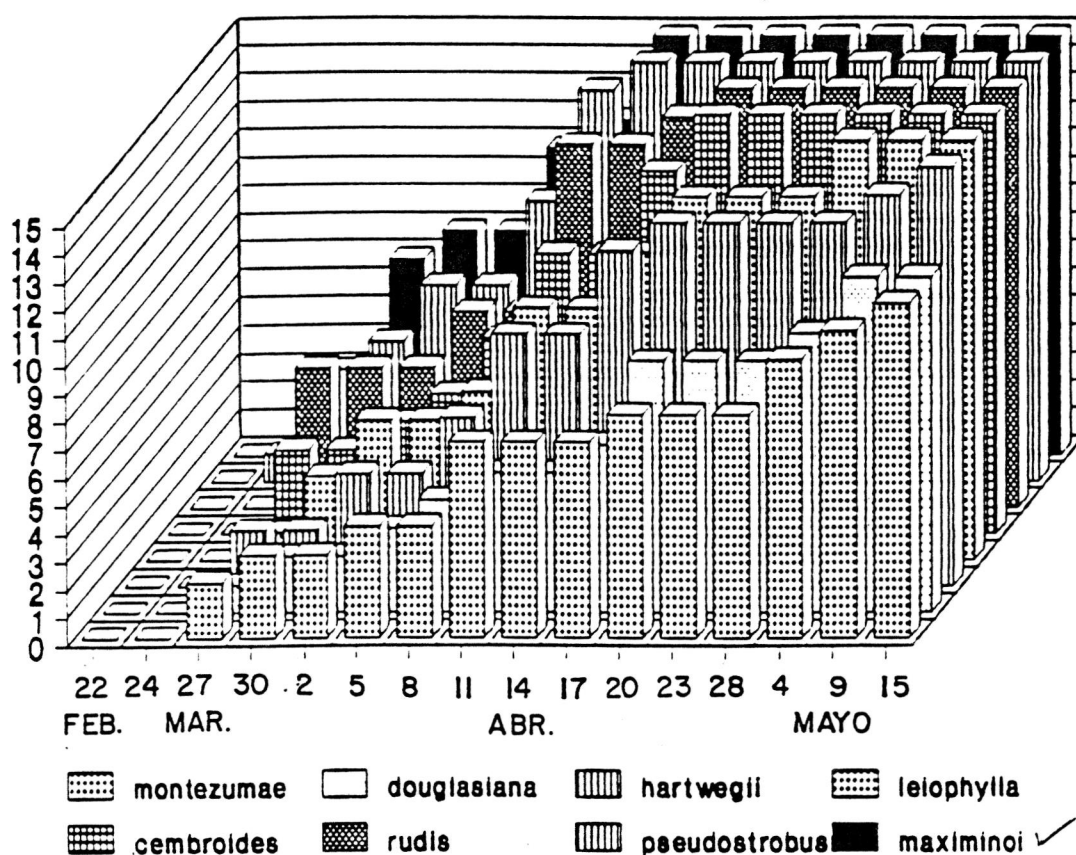


Figura 18. Valores acumulados de tres niveles de intensidad de infección, de 8 cepas de *Fusarium subglutinans* inoculadas en plántulas de *Pinus rudis*. Chapingo, México, 22 de Febrero de 1992.

La especie *Pinus halepensis*, es otro pino en el que se presentó una baja incidencia en el desarrollo de la infección, y al igual que en *P. leiophylla*, se presentaron 2 cepas que no tuvieron efecto en la inoculación, la AYACAHUITE y CEMBROIDES; además de que ninguna cepa tuvo la capacidad de producir la infección en las 5 plántulas inoculadas; la cepa MICHOACANA fue la más patogénica con 4 plántulas infectadas; la siguieron las cepas PSEUDOSTROBUS y MONTEZUMAE con 2 plántulas con infección; las cepas OOCARPA, DOUGLASIANA y LEIOPHYLLA sólo pudieron infectar una plántula. Se considera que el desarrollo de la infección es muy lento, a pesar de lo observado sería muy aventurado decir que es una especie resistente ya que en las inmediaciones del Campus Chapingo, existe una alta incidencia de la enfermedad. Casi la totalidad de los individuos de esta especie presentandose la sintomatología de la enfermedad, llegando incluso a matar a algunos árboles. Es importante resaltar que la mortalidad presente es de lento desarrollo llegando a pasar varios años para que los árboles enfermos mueran, por lo que la manifestación de la infección en las plántulas inoculadas puede considerarse bajo la misma situación en cuanto al desarrollo de la enfermedad y es factible que las plántulas inoculadas, puedan en determinado momento desarrollar la infección. (Fig. 19). Desafortunadamente la cepa HALEPENSIS no pudo ser inoculada, ya que los crecimientos que se obtuvieron en el laboratorio fueron muy escasos.

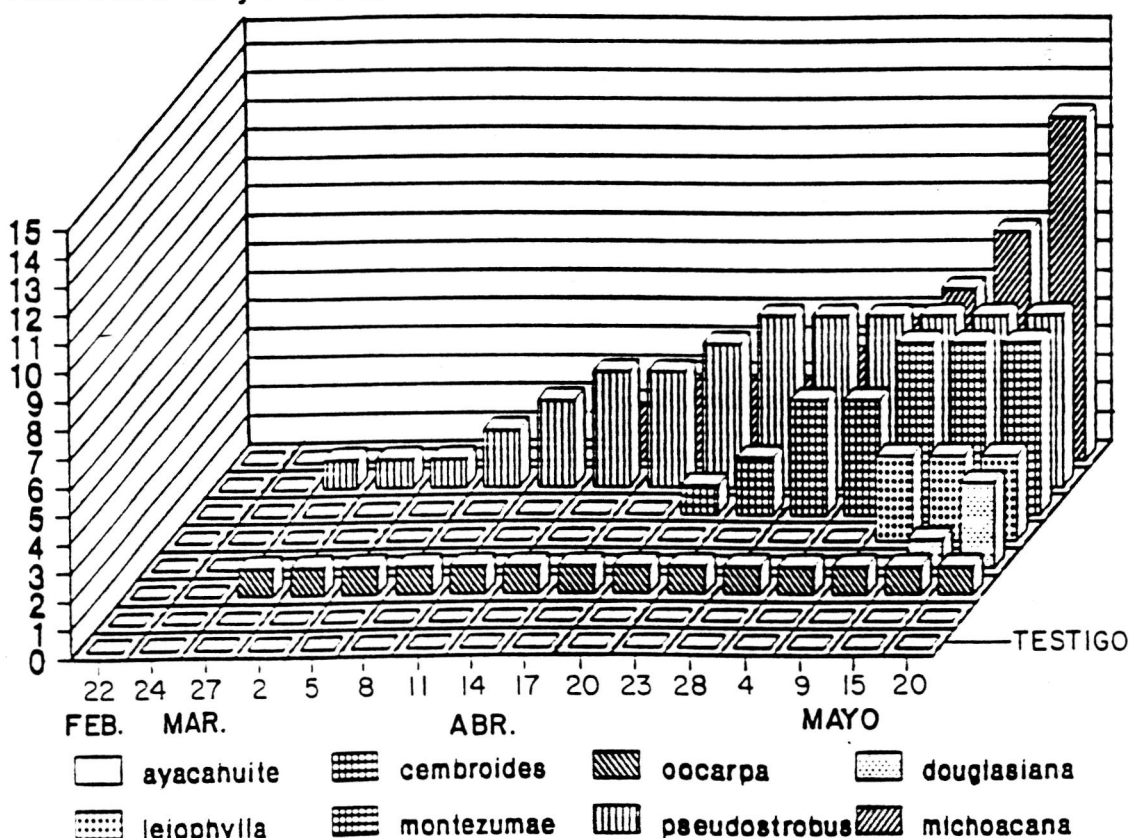


Figura 19. Valores acumulados de tres niveles de intensidad de infección, de 8 cepas de *Fusarium subglutinans* inoculadas en Plántulas de *Pinus halepensis*, Chapingo, México. 22 de Febrero de 1992.

En *Pinus cembroides*, se inocularon 8 cepas, esta especie mostró una susceptibilidad muy alta, ya que todas las cepas inoculadas fueron capaces de producir infecciones en las 5 plántulas, teniéndose un 100% de infección, las 40 plántulas inoculadas murieron (Figura 20). A pesar del tamaño de plántulas inoculadas, que se pensó que eran muy pequeñas, el desarrollo de la infección se presentó de la misma manera que en otras plántulas de mayor tamaño y como en todas las especies, los testigos no presentaron ningún tipo de síntoma.

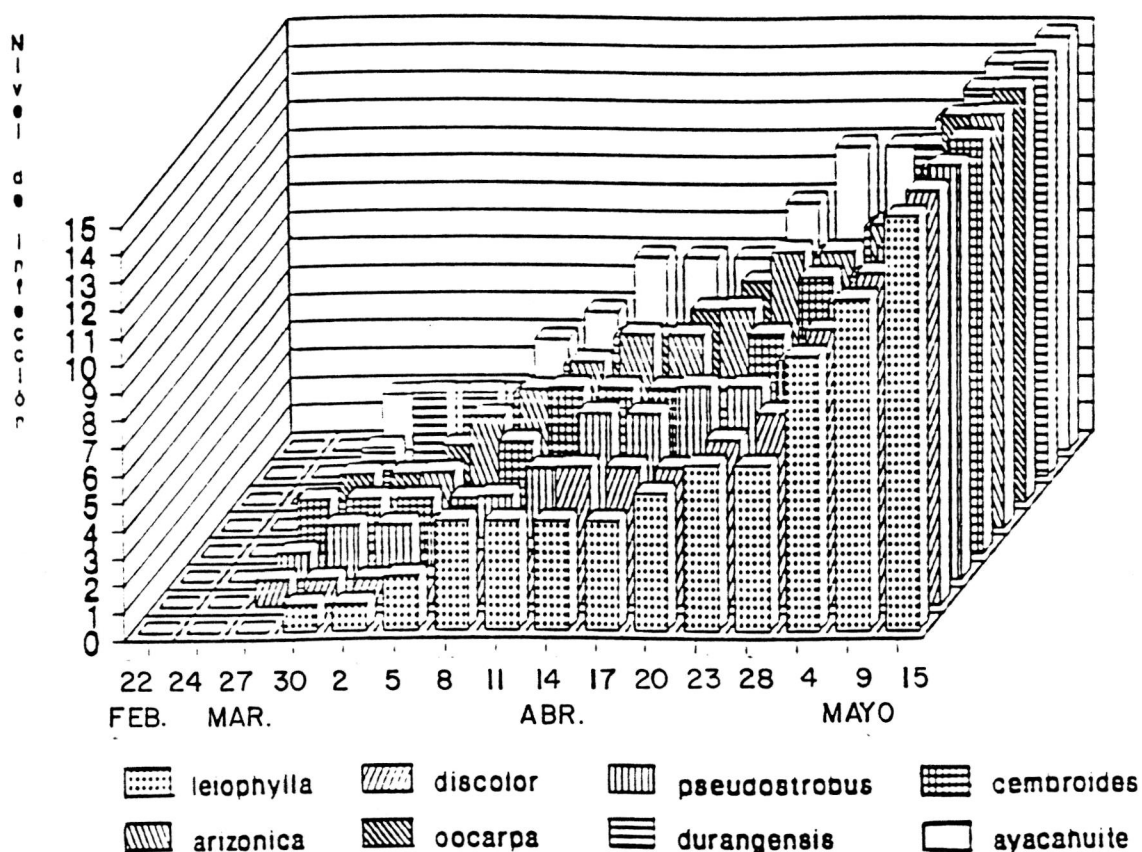


Figura 20. Valores acumulados de tres niveles de intensidad de infección, de 8 cepas de *Fusarium subglutinans* inoculadas en plántulas de *Pinus cembroides*. Chapingo, México, 22 de Febrero de 1992.

En *Pinus greggii* se inoculó un total de 6 cepas y solamente las cepas ARIZONICA y MONTEZUMAE tuvieron la capacidad de producir infección en 5 plántulas inoculadas; las cepas MAXIMINOI y OOCARPA lo hicieron en 4 plántulas; la cepa PSEUDOSTROBUS en 3 plántulas; y la DISCOLOR únicamente en 2 plántulas. El total de plantas con infección fue de 23 del total de 30 inoculadas, esto representa el 76.6% de infección (Figura 21). Esta es otra especie en la cual no se encontraron daños por el cancro resinoso en el campo, pero el porcentaje de infección que presentó, da un indicio de susceptibilidad, por lo que también se deben de tener precauciones para que no se presente la enfermedad, sobretudo en plantaciones.

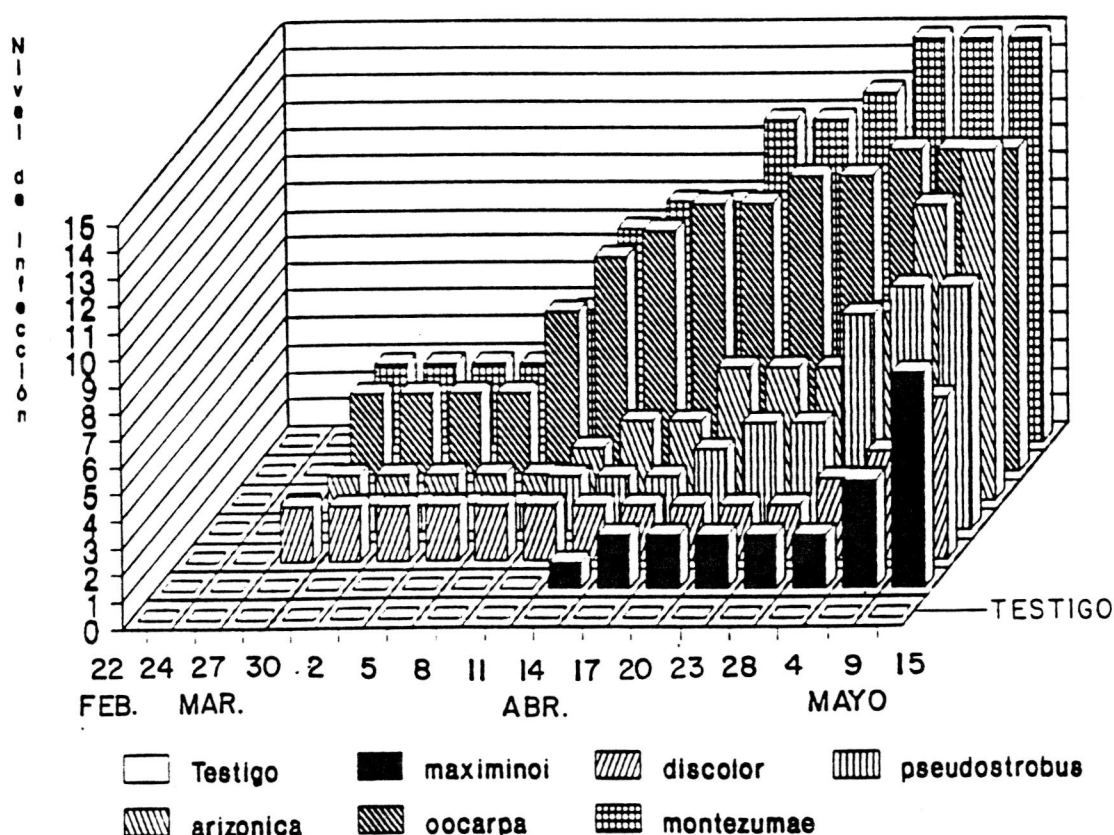


Figura 21. Valores acumulados de tres niveles de intensidad de infección, de 6 cepas de *Fusarium subglutinans* inoculadas en plántulas de *Pinus greggii*. Chapingo, México, 22 de Febrero de 1992.

En *Pinus pringlei* se inoculó solamente la cepa PSEUDOSTROBUS, en donde se presentó un fenómeno interesante, ya que en la primeras lecturas después de la inoculación, se observó lo que aparentemente era el inicio de la infección, pero al paso del tiempo las plántulas tendieron a no mostrar la sintomatología de la enfermedad y al final de las observaciones sólo una plántula desarrolló la infección. En esta especie se realizó la inoculación de una cepa diferente, la cual se denominó A6 aislada de *P. pringlei*, la cual produjo la infección en 3 de las 5 plántulas inoculadas, lo que da un total de 40% de infección del total de 10 plántulas inoculadas; se considera necesario realizar mayor investigación con esta especie, para ser mas contundente en los resultados de la prueba de inoculación, ya que los daños observados en el campo para esta especie son muy severos y la prueba de inoculación no proporciona resultados contundentes (Figura 22).

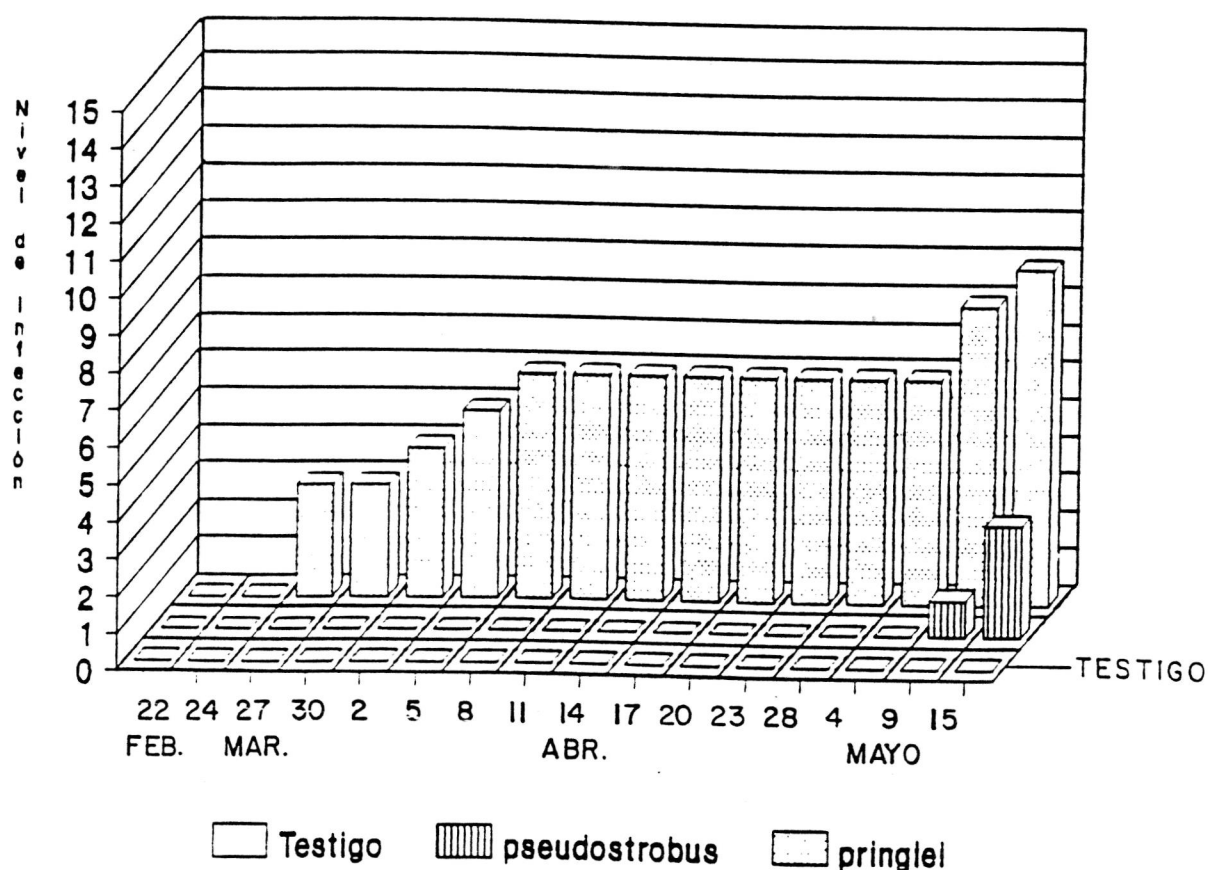


Figura 22. Valores acumulados de tres niveles de intensidad de infección, de 2 cepas de *Fusarium subglutinans* inoculadas en Plántulas de *Pinus pringlei*. Chapingo, México, 22 de Febrero de 1992.

Es importante resaltar que en ninguna de las plántulas utilizadas como testigo se presentó cambio debido a la presencia de posible enfermedad, como cambios en el crecimiento, cambio de coloración del follaje o cambio en el vigor, es decir, no se presentó la infección. Cabe destacar que muchas plantas testigo presentaron reacción a la herida provocada, pero se mantuvieron siempre sanas (Figura 7).

5.4.4. Prueba de Cochran.

De las especies a las que se realizó el análisis, se construyeron bloques con la respuesta de las 14 cepas, para cada una de las celdas de estos bloques se eligió en forma aleatoria una cepa y se obtuvo el resultado de las 5 plántulas inoculadas en ella.

La tabla quedo constituida de la siguiente manera:

ESPECIE	CEPAS														Rj	Rj (c-Rj)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
<i>P. ayacahuite</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	3	33
<i>P. pseudostrobus</i>	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	13	13
<i>P. montezumae</i>	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	12	24
<i>P. douglasiana</i>	1	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	9	45
<i>P. patula</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	12	24
Cj	4	5	3	3	4	4	3	2	4	5	3	4	3	2		N = 49

$$E R_j (c - R_j) = 139$$

$$T (13 \text{ alfa } 0.05) = 24.74$$

$$(13 \text{ alfa } 0.01) = 27.64$$

$$Q = 15.05$$

Debido a que el valor del estadístico calculado **Q** es menor que el valor de T tabulada a dos niveles de significancia, **NO** se rechaza la H_0 , y esto indica que estadísticamente todas las cepas inoculadas tienen el mismo efecto de patogenicidad en las plántulas inoculadas.

Con los mismos datos de la tabla anterior pero incluyendo un tratamiento más que corresponde al testigo, se realiza el cálculo con la tabla de datos siguiente:

PRUEBA DE COCHRAN INCLUYENDO LOS TESTIGOS

ESPECIE	C E P A S															T	Rj Ri (c-Rj)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
<i>P. ayacahuite</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	3	33
<i>P. pseudostrobus</i>	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	13	13
<i>P. montezumae</i>	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	12	24
<i>P. douglasiana</i>	1	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	9	45
<i>P. patula</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	12	24
Cj	4	5	3	3	4	4	3	2	4	5	3	4	3	2	0	49	N = 188

$$T \text{ (14 alfa 0.05)} = 23.05$$

$$(14 \text{ alfa } 0.01) = 29.14$$

$$Q = 25.5$$

El valor del estadístico **Q** es mayor que el valor de **T** tabulada, por lo que **Se Rechaza la Ho.** y se concluye que estadísticamente, existe por lo menos una cepa de todas las que fueron inoculadas que se comporta de manera diferente a las demás, es decir, no es patógena. (probablemente se trate del testigo).

En la prueba que se muestra a continuación se incluyeron todas los datos de las respuestas de la inoculación, realizadas en cinco especies y con la inoculación de cinco plántulas por cada una de las cepas estudiadas, entonces tenemos lo siguiente:

CEPAS	LECTURAS												ESTADÍSTICOS			
-------	----------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------------	--	--	--

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Rj	Rj (c-Rj)
<i>P. ayacahuite</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	24
<i>P. ayacahuite</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	24
<i>P. ayacahuite</i>	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	3	33
<i>P. ayacahuite</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	24
<i>P. ayacahuite</i>	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	24
<i>P. pseudostrobus</i>	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	11	33
<i>P. pseudostrobus</i>	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	8	48
<i>P. pseudostrobus</i>	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	11	33
<i>P. pseudostrobus</i>	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0	10	40
<i>P. pseudostrobus</i>	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	12	24
<i>P. montezumae</i>	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	12	24
<i>P. montezumae</i>	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	13	13
<i>P. montezumae</i>	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1	11	33
<i>P. montezumae</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	11	33
<i>P. montezumae</i>	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	10	40
<i>P. douglasiana</i>	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	11	33
<i>P. douglasiana</i>	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	8	48
<i>P. douglasiana</i>	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	1	9	45
<i>P. douglasiana</i>	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	11	33
<i>P. douglasiana</i>	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	11	33
<i>P. patula</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	12	24
<i>P. patula</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	12	24
<i>P. patula</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	12	24
<i>P. patula</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	12	24
<i>P. patula</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	12	24
Cj	18	21	22	9	17	18	13	13	18	20	16	14	10	11	230	762

Cj 18 21 22 9 17 18 13 13 18 20 16 14 10 11 230 762

Con los datos anteriores, tenemos el cálculo del estadístico T, con la fórmula planteada, quedando lo siguiente:

$$T(13 \text{ alfa } 0.05) = 24.74$$

$$(13 \text{ alfa } 0.01) = 27.64$$

El valor para el estadístico es:

$$Q = 45.27$$

Al realizar el cálculo de Q notamos que el valor es mucho más grande que el valor de T tabulada, por lo que **Se Rechaza la Ho.**, y se concluye que las cepas inoculadas,

considerando a 5 plántulas tratadas por cada una de las cepas probadas, no tienen el mismo efecto en las especies de pino que recibieron el inóculo.

5.4.5. Prueba de rangos de Friedman y comparaciones múltiples.

Los datos de los resultados son tabulados, de manera que la tabla de datos está constituida por los valores que pueden obtenerse para las respuestas de 5 plántulas a la inoculación de las diferentes cepas, por lo que los valores de esta tabla pueden ser desde 0 cuando ninguna de las plántulas inoculadas presentó infección, hasta 5 cuando todas las plántulas inoculadas presentaron la infección, de manera que tenemos:

CEPAS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<i>P. ayacahuite</i>	0	1	3	1	0	0	1	0	0	3	0	1	0	0	0
<i>P. pseudostrobus</i>	5	5	5	5	4	5	0	2	4	3	3	4	4	3	0
<i>P. montezumae</i>	5	5	5	5	3	5	3	3	5	5	3	2	3	5	0
<i>P. douglasiana</i>	3	5	3	3	5	3	4	3	4	4	5	2	3	2	0
<i>P. patula</i>	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	1	0	0

Con base en los datos de la tabla anterior se realizó la asignación de rangos, considerando:

Los rangos son asignados a los bloques de acuerdo al tamaño de la muestra de cada bloque, por lo que para nuestra tabla tenemos, que los rangos van desde 1 al menor valor dentro del bloque, hasta 14 para el máximo valor de los bloques. Debido a que en nuestra tabla encontramos varios empates, la asignación de rangos se hace como en el ejemplo que se muestra a continuación. En este ejemplo se usaron los valores obtenidos en *P. ayacahuite*.

Los valores que en esta especie se obtuvieron son:

9 celdas con valor igual a cero

4 celdas con valor igual a uno

3 celdas con valor igual a dos.

Acomodando los valores, tenemos:

0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	3	3
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Asignando su rango si no fueran los mismos valores, se tiene

RANGOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
VALOR	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	3	3

Por lo anterior, se requiere sacar los rangos para los valores que presentan empates. El rango de cada valor de cero es la suma de los rangos de esos valores, esto es, $1+2+3+4+5+6+7+8+9$ igual a 45, dividido por el número de veces que se repite el valor (9) el rango para cada celda que tenga cero será 5. Así el rango para las celdas con valor de uno es de 11.5 y para las celdas cuyo valor es 3 su rango es 14.5. Y así para todas las especies.

Entonces la tabla de rangos queda de la siguiente manera: designada por la notación, para los valores calculados con la fórmula $[R(X_{ij})]^2$

ESPECIE	R A N G O S														
<i>P. ayacahuite</i>	5.0	11.5	14.5	11.5	5.0	5.0	11.5	5.0	5.0	14.5	5.0	11.5	5.0	5.0	5.0
<i>P. pseudostrobus</i>	13.0	13.0	13.0	13.0	8.5	13.0	1.5	3.0	8.5	5.0	5.0	8.5	8.5	5.0	1.5
<i>P. montezumae</i>	11.5	11.5	11.5	11.5	5.0	11.5	5.0	5.0	11.5	11.5	5.0	2.0	5.0	11.5	1.0
<i>P. douglasiana</i>	6.5	14.0	6.5	6.5	14.0	6.5	11.0	6.5	11.0	11.0	14.0	2.5	6.5	2.5	1.0
<i>P. patula</i>	9.5	9.5	9.5	9.5	9.5	9.5	9.5	9.5	9.5	9.5	9.5	9.5	3.0	1.5	1.0

Ya con esta tabla se procede al cálculo de A2 y tenemos que

$$A2 = 5899.5$$

$$\sum R_j^2 = 26392$$

Y el cálculo de B2

$$B2 = 5278.4$$

Utilizando la fórmula de T2 obtenemos su valor

$$T2 = 3.08 \quad T_{\alpha 0.05} = 1.92$$

El valor de T calculado es mayor que el de T tabulada a nivel de significancia de 0.05. por lo tanto se Rechaza la H_0 , que nos indica que por lo menos una de las cepas inoculadas, actúa de manera diferente en la respuesta de la infección de las plántulas.

Por lo que se procede a la prueba de comparaciones múltiples de rangos, considerando la siguiente relación:

$$/R_j - R_i / \text{mayor } T_{1-\alpha/2} \left[\frac{2b(A2 - B2)}{(b-1)(k-1)} \right]^{1/2}$$

Para la diferencia absoluta de cada rango menos otro rango diferente del primero, el cálculo se realiza con la siguiente fórmula:

$$T_{1-\alpha/2} = 2.01 [110.91]^{1/2}$$

es igual a 21.16

Las R_j son diferentes si $|R_j - R_i|$ es mayor a 21.16

Dentro de los diferentes rangos el cálculo de T para la prueba de comparaciones indica que las R_j son diferentes de acuerdo con la siguiente tabla:

CEPA		R_j						
PSEUDOSTROBUS	2	59.9	A					
ARIZONICA	3	55	A	B				
DISCOLOR	4	52	A	B	C			
LEIOPHYLLA	10	51.5	A	B	C			
MAXIMINOI	1	45.5	A	B	C	D	E	
RUDIS	6	45.5	A	B	C	D	E	
DURANGENSIS	9	45.5	A	B	C	D	E	
MONTEZUMAE	5	42	A	B	C	D	E	
OOCARPA	7	38.5	A	B	C	D	E	
MICHOACANA	11	38.5	A	B	C	D	E	
AYACAHUITE	12	34			C	D	E	
DOUGLASIANA	8	29				D	E	
HARTWEGII	13	28				D	E	
CEMBROIDES	14	25.5					E	
TESTIGO	T	10					E	

Las cepas unidas con la misma letra no tienen diferencia significativa al 0.05.

De manera que según los cálculos realizados, las cepas DOUGLASIANA, HARTWEGII, CEMBROIDES y AYACAHUITE, presentan evidencias de que son diferentes en su comportamiento al ser menos patógenas que el resto de las cepas inoculadas a las plántulas, ya que originaron menor agresividad en el desarrollo de la infección. El resto de las cepas aparentemente tienen un comportamiento similar en la capacidad de producir infección, que en términos generales es alta. Por lo anterior, es factible concluir que las cepas PSEUDOSTROBUS, ARIZONICA, DISCOLOR y LEIOPHYLLA son más agresivas que el resto de las cepas; por otra parte las cepas MAXIMINOI, RUDIS, DURANGENSIS, MONTEZUMAE, OOCARPA y MICHOACANA, es posible que tengan una agresividad moderada, cuando estuvieron en contacto con otras plantas hospedantes.

En cuanto a la forma de inoculación, la manera desarrollada no se había hecho anteriormente en otros estudios, algunos autores describieron una forma de inoculación en la que se menciona cierta mortalidad de las plántulas testigo y el desarrollo de la sintomatología de la enfermedad, en el presente estudio, ninguna de las plántulas inoculadas que se usaron como testigo, manifestó secamiento, mortandad o desarrollo de la sintomatología, no obstante considerar en un principio que la herida practicada para la inoculación fue severa y este simple hecho podría provocar la muerte de la plántula lo cual no sucedió, concluyendo que la forma de inoculación es efectiva. (Figura 7, respuesta de la planta a la infección)

5.5. Reaislamiento de las cepas inoculadas.

Este proceso se realizó a partir de la prueba preliminar de inoculación, citada en el apartado 4.12. Se colectaron muestras de todas las plántulas inoculadas, realizando el proceso de aislamiento y purificación. Se obtuvieron pedazos de material vegetal a 3 cm de distancia, tanto para arriba, como para abajo del punto de inoculación; teniéndose el cuidado de que presentaran, tejido sano y tejido enfermo. Los pedazos se sembraron en medio de cultivo PCNB-agar, el día 18 de diciembre de 1991; colocando 7 trozos de material en cada caja y teniendo un total de 3 cajas con medio de cultivo, por cada una de las especies a sembrar; las cajas sembradas se dejaron bajo condiciones normales de laboratorio.

El inicio del crecimiento micelial se inició a los 7 días de haber realizado la siembra; de los 175 pedazos sembrados, se presentó crecimiento en 157, con colonias típicas de ***F. subglutinans***, y tan sólo en 16 pedazos no se obtuvo crecimiento; esto representa un 90.7% de eficiencia en el aislamiento.

En las figuras 23 y 24, se observan los crecimientos de las colonias del hongo en el proceso de reaislamiento, se observa la velocidad de crecimiento y las características de la coloración tanto del micelio del hongo como del medio de cultivo, en la Figura 24B se nota la eficacia en el crecimiento del hongo en los pedazos sembrados de material vegetal enfermo, realizados en esta parte del trabajo.

Para el día 3 de enero de 1992, se hizo la transferencia a medio de cultivo PSA; en este medio se hicieron dos lecturas para conocer la velocidad de crecimiento de las colonias sembradas, en el Cuadro 14, se presentan los crecimientos en diámetro a los 5 días de siembra de las colonias de ***Fusarium subglutinans***.

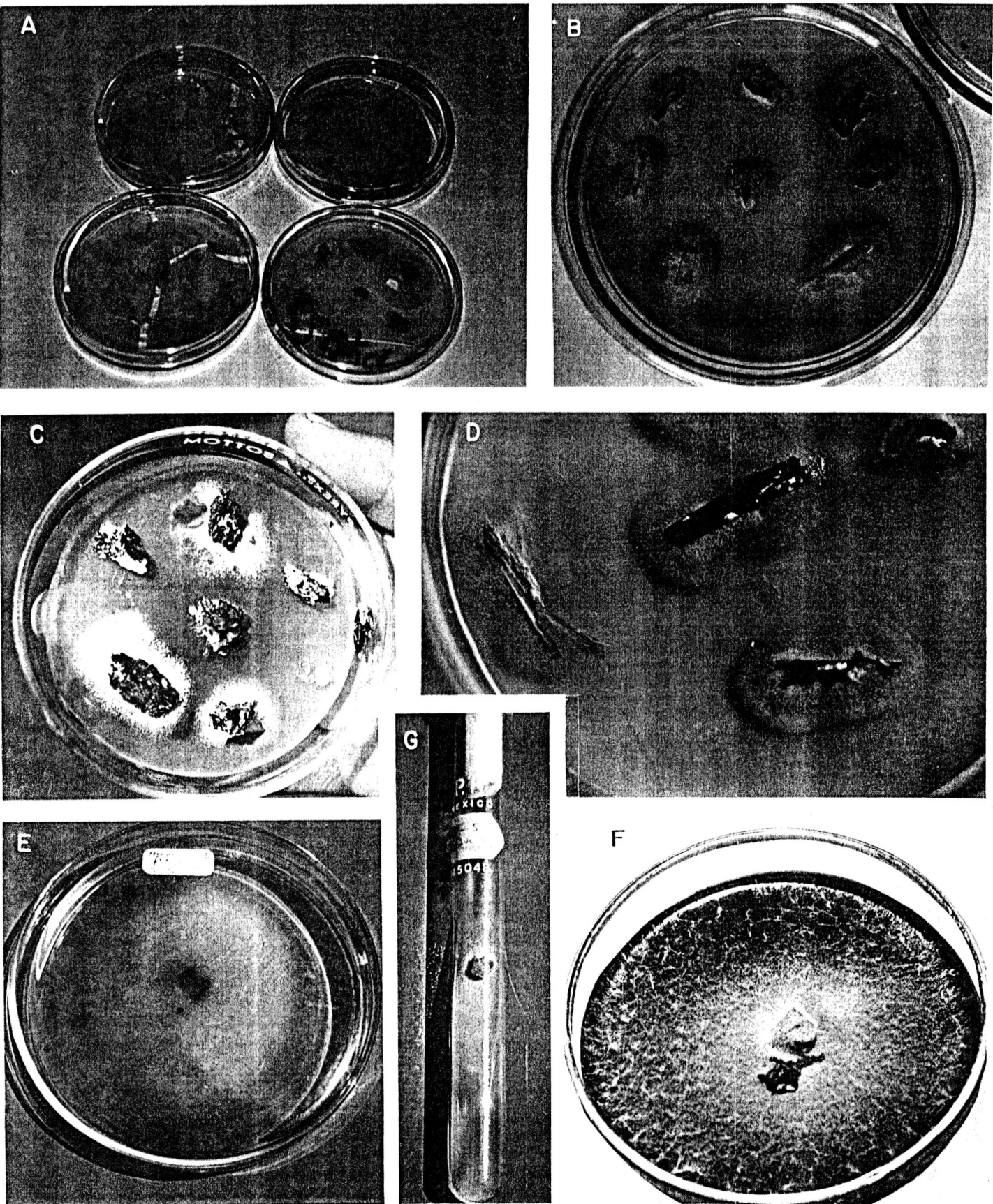


Figura 23. Aspectos del desarrollo de colonias de *Fusarium subglutinans* en el proceso de aislamiento y purificación: A-D. Diferentes aspectos de las colonias del aislamiento; E y H. Crecimiento de colonias purificadas mostrando la coloración típica; I. Cepa del hongo en cultivo puro para su preservación.

CUADRO 14. Crecimiento en diámetro (cm) de las colonias sembradas de los reaislamientos a los 5 días de la siembra.

Procedencia del aislamiento 1	COLONIAS		
	2	3	
<i>P. maximinoi</i>	4.7	4.6	5.2
<i>P. pseudostrobus</i>	5.0	5.0	4.8
<i>P. arizonica</i>	4.2	5.0	5.2
<i>P. discolor</i>	4.5	4.4	5.4
<i>P. montezumae</i>	3.3	4.0	4.1
<i>P. rudis</i>	4.0	3.8	4.3
<i>P. oocarpa</i>	4.7	4.7	6.0
<i>P. douglasiana</i>	4.8	5.0	4.7
<i>P. durangensis</i>	4.5	4.0	4.3
Testigo	2.3	2.3	2.3

Al observar estos datos, notamos que, hay una gran homogeneidad en el crecimiento de las colonias. Al cuarto día de la siembra, se observó, en casi todas las colonias una coloración blanca y de apariencia algodonosa; en algunas de ellas se notó un color violeta tenue de manera muy evidente, para el quinto día el cambio de coloración fue más marcado, destacando la cepa de *P. pseudostrobus*, que tendió a ser más roja y la cepa de *P. discolor* a más violeta intenso; las demás colonias permanecieron con una coloración violeta tenue. Las colonias usadas como testigo, es decir, sin incubación, presentaron un crecimiento de 2.3 cm de diámetro de la colonia.

En el Cuadro 15, se observan los crecimientos de las colonias, a los 10 días de la siembra, la lectura se hizo hasta este tiempo, porque fue cuando algunas colonias cubrieron toda la superficie del medio de cultivo, aunque algunas aún no lo habían hecho, si permitieron que se hiciera una comparación de la velocidad de crecimiento.

CUADRO 15. Crecimiento en diámetro (cm) de las colonias sembradas de los reaislamientos, a los 10 días de la siembra.

Procedencia del aislamiento 1	COLONIAS		
	2	3	
<i>P. maximinoi</i>	9	9	9
<i>P. pseudostrobus</i>	8.2	7.5	9
<i>P. arizonica</i>	9	9	9
<i>P. discolor</i>	7.5	9	9
<i>P. montezumae</i>	9	9	9
<i>P. rudis</i>	9	9	8.5
<i>P. oocarpa</i>	9	9	9
<i>P. douglasiana</i>	9	9	9
<i>P. durangensis</i>	9	9	9

Con los datos obtenidos en los Cuadros 14 y 15, se realizaron comparaciones del crecimiento de las colonias, utilizando un análisis de varianza de modelo lineal (GLM) del Sistema de Análisis Estadístico (SAS), para saber cuáles son las características de crecimiento de las colonias, obteniéndose los siguientes resultados: A los cinco días mostró diferencias en cuanto al crecimiento, teniendo que la cepa aislada de *P. oocarpa*, presentó mayor crecimiento que el resto del grupo. Aunque la cepa aislada de *P. montezumae* no fue estadísticamente igual a las demás, sino que presentó diferencias, ya que el crecimiento fue escaso pero sí fue estadísticamente igual a las demás cepas, excepto la cepa de *P. oocarpa*.

El análisis de varianza muestra que por lo menos una cepa tuvo crecimiento diferente y a realizar la prueba de Tukey se puede determinar que hay una cepa diferente en relación al resto de las cepas tanto para crecimiento escaso como para crecimiento abundante. En la lectura de crecimiento a los 10 días no se observa diferencia significativa entre las diferentes cepas, el Análisis de Varianza así nos lo hace notar y en la prueba de Tukey no hubo diferencias significativas, por lo que se dice que el crecimiento de las cepas es estadísticamente igual para todas, sólo que en algunas obtuvieron el crecimiento en menor tiempo. Se considera que la lectura tomada a los 5 días da muestras más evidentes del crecimiento de las colonias que la lectura realizada a los 10 días, para determinar la diferencia en los crecimientos de las diferentes cepas.

5.6. Identificación del agente causal de la enfermedad.

Los cuerpos de reproducción asexual del hongo (esporodoquios), sólo fueron encontrados en dos especies de pino, *P. radiata* en Estado de México y *P. douglasiana* en el Estado de Jalisco. Las estructuras típicas del cuerpo de reproducción se pueden observar en la Figura 4D. No obstante lo citado por Blakeslee *et al.* (1978a) Blakeslee *et al.* (1980) Dwinell *et al.* (1985), no se tuvo la suerte de observar en otras especies de pino la presencia de estas estructuras a pesar de que siempre se tuvo cuidado de localizarlas en las ramas que fueron colectadas y que se encontraron infectadas por el hongo. Para el caso de *P. radiata*, este diagnóstico realizado (la observación de los esporodoquios), fué suficiente para asociar al cancro resinoso, no realizándose más pruebas con esta especie.

La coloración de las diferentes colonias obtenidas cada vez que se practicó ya sea el proceso de aislamiento o reaislamiento, siempre fue blanquecina al inicio de su desarrollo, cambiando de tonalidad a medida que iban madurando, presentándose coloraciones rosa, rosa intenso, violeta, hasta morado intenso. Al igual que el micelio algodónoso del hongo el medio de cultivo cambió su coloración, en ocasiones solo se notó un cambio leve a rojo tenue (Figura 23C), aunque también se tornó morado intenso (Figura 23F), esta característica de la coloración del micelio concuerda con lo citado por Kuhlman *et al.* (1978) y Barrows-Broadbent (1987).

En el caso del desarrollo de la colonia, como se pudo observar en el apartado anterior, el promedio de crecimiento en diámetro de las colonias fue de 9 cm en 14 días, en este período para el caso de algunas colonias y después de realizar las preparaciones, se observó la formación de estructuras microscópicas típicas del hongo, similares a las reportadas por Nelson, Toussoun y Marasas (1983). Las estructuras fueron más fáciles de identificar cuando tenían 21 días de crecimiento (Figuras 24E y 24F). El mejor desarrollo de las colonias de los hongos, se obtuvo a temperatura de incubación de 24 a 32° C (Figura 24D).

Todas las estructuras típicas del hongo fueron observadas en las preparaciones microscópicas hechas para tal fin. Los conidióforos simples y ramificados (fiálides y polifiálides), estos últimos representativos de la especie de hongo estudiada, al igual que lo citado por Kulhman *et al.* (1978), fue posible reconocerlos (Figura 24G).

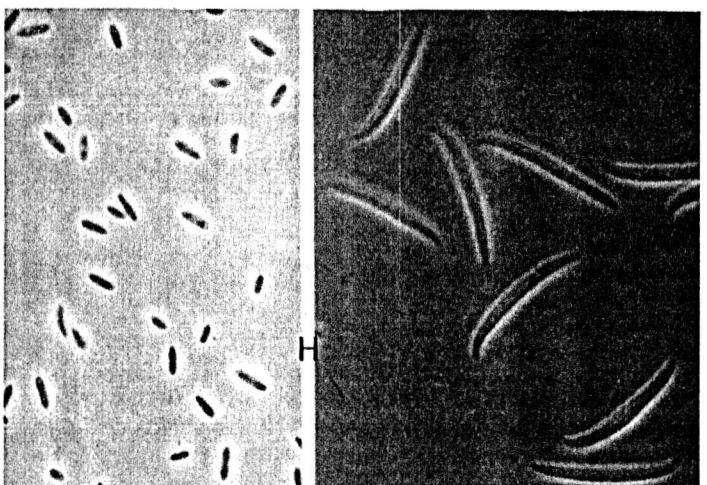
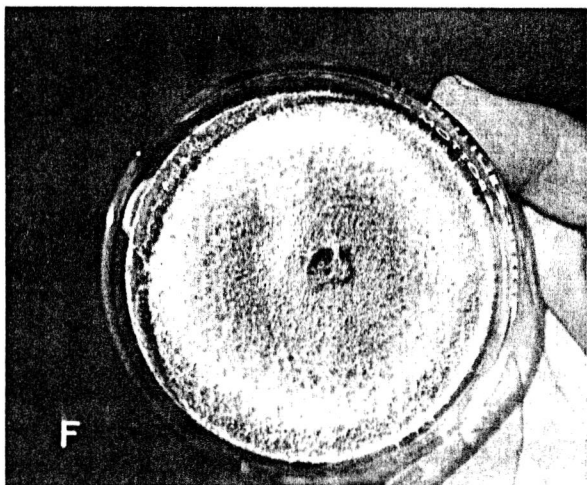
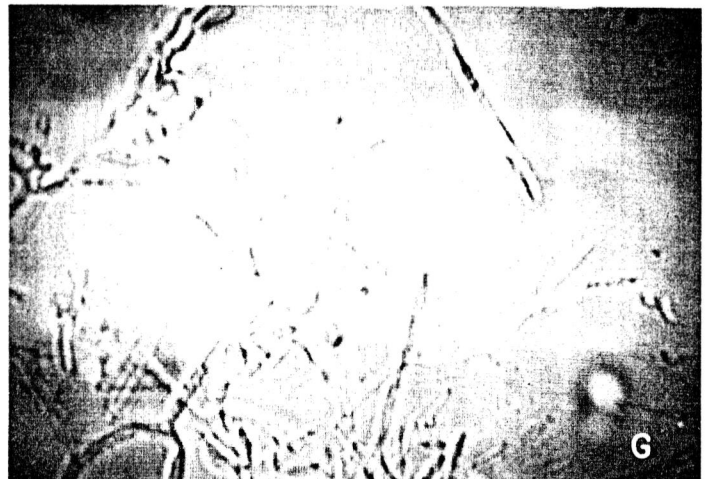
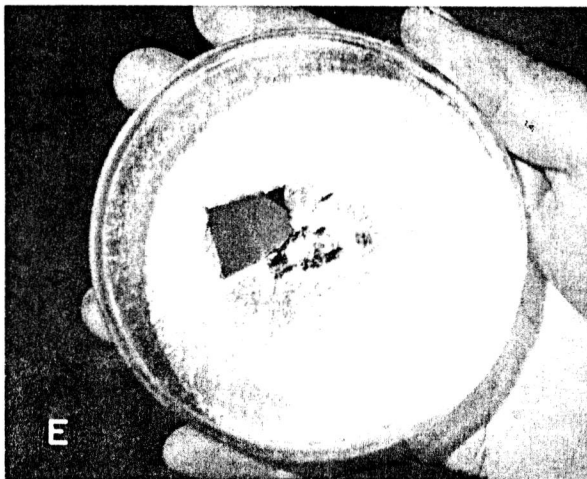
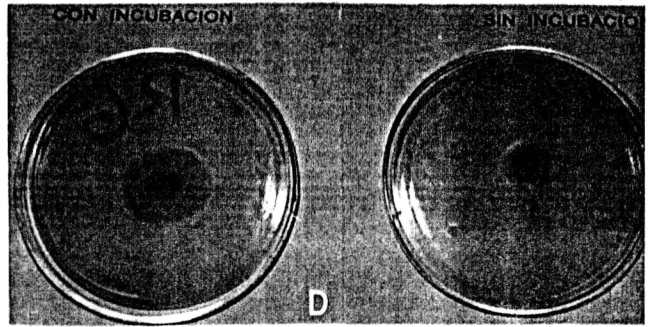
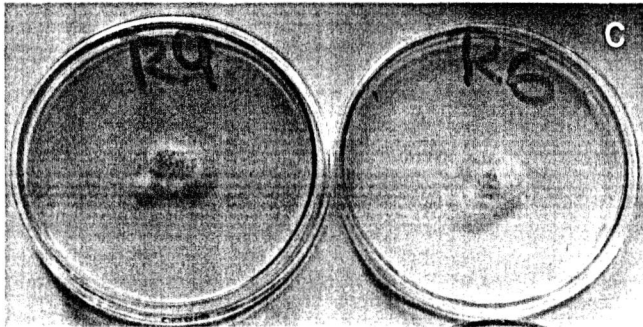
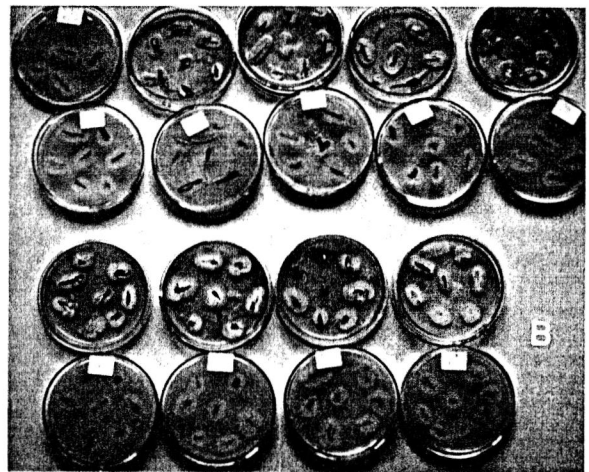
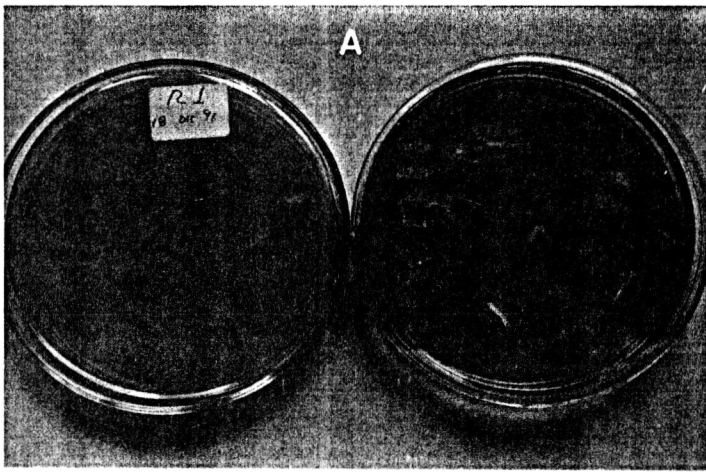
El tipo de esporas observadas es similar al de los reportes hechos por Kulhman *et al.* (1978), Blakeslee *et al.* (1978a) y BarrowsBroaddus (1987); para corroborar esto, se midieron un total de 50 microconidios y 50 macroconidios. Se observaron los microconidios típicos de forma oval a subclavados, el tamaño promedio en la medición fue de 10 X 2.8 μ (Figura 24H); los macroconidios alargadas y curvas con la forma típica de canoa (forma de hoz) midieron en promedio 40 μ de largo por 3.8 μ de ancho y fueron observadas en todas las colonias de hongos aislados (Figura 24I), lo que concuerda con lo citado por los anteriores autores.

Respecto a lo mencionado anteriormente, dejo de tener dudas, cuando en 1991, se contó con la visita al Laboratorio de Patología Forestal de la DiCiFo UACH, de especialistas de la enfermedad del Servicio Forestal de Estados Unidos, ya que al ser observadas colonias aisladas y preparaciones realizadas por el autor fueron identificadas como *Fusarium subglutinans* (com. pers. T. Miller, 1991).

Además de lo anterior, los cultivos obtenidos en el proceso de reaislamiento, fueron idénticos a los aislados originalmente de los diferentes hospedantes, lo cual concuerda con los resultados obtenidos por Barnard y Blakeslee (1980). Estas características pueden observarse comparativamente en las Figuras 23 y 24.

Esto es una clara muestra de que las pruebas realizadas, corroboran que el agente aislado de diferentes especies de pino, es el que provoca la enfermedad del cancro resinoso, es decir, que *Fusarium subglutinans* es el agente causal de la enfermedad.

Figura 24. Aspectos del desarrollo de colonias de *Fusarium subglutinans* en el proceso de reaislamiento. **A.** Reaislamiento de la cepa inoculada en *P. maximinoi*. **B.** Colonias de las 9 especies usadas en las pruebas de reaislamiento. **C.** Colonias del hongo asiladas de *P. durangensis* y *P. rudis*. **D.** Comparación de una colonia de *P. rudis* con y sin incubación. **E** y **F.** Colonias puras cuando cubrieron completamente la caja con medio de cultivo. **G.** Polifilides de *Fusarium subglutinans*. **H.** Microconidios y macroconidios.



6

14

6. CONCLUSIONES

1. El cancro resinoso tiene una amplia distribución en México y un rango de hospedantes también muy amplio, encontrándose presente a nivel de campo en 19 especies distribuidas en 13 diferentes entidades federativas; aparentemente no se encuentra presente en Oaxaca y Chiapas.
2. La enfermedad se presenta tanto en árboles jóvenes como en árboles maduros.
3. La sintomatología puede ser observada en diferentes partes del árbol y varía de acuerdo a la especie hospedante con la que se encuentra asociada.
4. La sintomatología se caracterizó por presentar uno o más de los siguientes síntomas: marchitamiento de ramas y hojas, cambios de coloración en el follaje, muerte descendente de los árboles, flujo de resina en ramas y fustes, presencia de canchales en ramas y fustes, y doblamiento de brotes en ramas terminales.
5. Con base en la sintomatología observada a nivel de campo, las pruebas realizadas en el laboratorio e invernadero, así como las observaciones microscópicas del hongo asociado a la enfermedad, conducen la identificación del agente causal del cancro resinoso de los pinos como *Fusarium subglutinans*. La identificación fue corroborada por especialistas de la enfermedad del Servicio Forestal de los Estados Unidos.
6. La patogenicidad de *Fusarium subglutinans* fue demostrada por la inoculación de 14 cepas procedentes del mismo número de hospedantes, en 12 especies, en todas se desarrolló la infección. El agente aislado de los diferentes hospedantes fue recuperado mediante reaislamientos que se hicieron después de las pruebas de inoculación, de plántulas que presentaron la sintomatología de la enfermedad.
7. La patogenicidad también se demostró en *Pinus greggii* y *P. patula*, especies en las que no se reportó la presencia de la enfermedad a nivel de campo.
8. Existen evidencias, al menos por los resultados de este estudio, que se presentaron diferencias en cuanto a la susceptibilidad de las plántulas que fueron inoculadas con el hongo, ya que en una especie se observó un daño del 100%, mientras que en otra fue tan sólo del 13%.
9. En las pruebas de patogenicidad realizadas, ninguna de las plántulas utilizadas como testigo, manifestó la sintomatología de la enfermedad.
10. Los aislamientos realizados en el presente trabajo, sugieren que el hongo aislado e identificado, es una raza fisiológica que se presenta únicamente en *Pinus spp.*

7. SUGERENCIAS.

Corroborar las pruebas de patogenicidad utilizando plántulas provenientes de los lugares donde se realicen las colectas de material enfermo.

Realizar otro tipo de recorridos por zonas donde no se ha reportado la enfermedad o bien en aquellos lugares donde aparentemente la enfermedad no esta presente.

Realizar un mayor número de pruebas de inoculación con *Fusarium subglutinans*, aislado de otros hospedantes, ya sean otras coníferas o latifoliadas e inocularlo a plántulas de pino, para comprobar que efectivamente el hongo estudiado es una raza específica para *Pinus spp.*

Para el tratamiento de la enfermedad se sugiere utilizar alguna(s) de las siguientes prácticas:

En el caso de que sea factible realizar podas, podar las puntas de ramas infectadas o ramas completas, después de cada corte desinfectar las herramientas con alcohol al 70%.

En lugares donde se realicen podas, no podar árboles aparentemente enfermos durante los períodos lluviosos o de viento.

En el manejo forestal, considerar la corta de árboles con canchros en los troncos.

No mover madera que presente canchros o cambios de coloración de la madera, ni mucho menos que tengan resina embebida afuera del rodal aparentemente infectado.

No replantar en rodales que se consideran infectados ninguna especie de pino al menos que se realicen actividades preventivas para el tratamiento de la enfermedad.

Realizar pruebas de control químico para probar la eficacia en México de productos como Tiabendazole y Benlate, los cuales son efectivos para el control de la enfermedad en otros países.

8. BIBLIOGRAFIA.

1. ARVANITIS, L.G., J.F. GOODBEE JR. e I. PORTA. 1984. Pitch canker impact in volume: A case study in slash pine plantations. Southern Journal of Applied Forestry. 8 (1): 43-47.
2. BARNARD, E.L. Y G.M. BLAKESLEE. 1980. Pitch canker of slash pine seedlings: A new disease in forest tree nurseries. Plant Disease 64: 695-696.
3. BARNARD, E.L. Y G.M. BLAKESLEE. 1987. Pitch canker of southern pines. Plant Pathology Circular No. 302. 4 p.
4. BARROWS-BROADDUS, J. 1987. Pitch canker. In : Cone and seed diseases of North American conifers. Ed. J.r. Sutherland, T. Miller y R. Salinas Quinard. COFAN-FAO. Publ N° 1. Victoria, British Columbia, Canada. pp. 42-49.
5. BARROWS-BROADDUS, J. 1990. Colonization of cones and seed of loblolly pine following inoculation with *Fusarium subglutinans*. Plant Disease 74 (12): 1002-1005.
6. BARROWS-BROADDUS, J. y L.D. DWINELL. 1983. Histopathology of *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* in four species of southern pines. Phytopathology 73:882-889.
7. BARROWS-BROADDUS, J., y L.D. DWINELL. 1985. Branch dieback and cone and seed infection caused by *Fusarium moniliforme* var *subglutinans* in a loblolly pine seed orchard in South Carolina. Phytopathology 75: 1104-1108.
8. BARROWS-BROADDUS, J., y L.D. DWINELL. y T.J. KERR. 1985. Evaluation *Arthrobacter sp.* for biological control of the pitch canker fungus (*Fusarium moniliforme* var *subglutinans*) on slash pine. Canadian Journal of Microbiology. 31 (10): 888-892.
9. BARROWS-BROADDUS, J., S.D. TEESLINK y T.J. KERR. 1983. Characterization of *Arthrobacter* strains isolated from the pine environment that inhibit *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*, the causal agent of pine pitch canker. Can J. Microbiol. 29:1382-1389.
10. BLAKESLEE, G.M. 1981. Major diseases affecting slash pine. In. The managed slash pine ecosystem. Ed. E.L. STONE, Proceedings of a symposium held at the University of Florida. Gainesville Florida. U.S.A.
11. BLAKESLEE, G. M. y D. L. ROCKWOOD. 1978. Variation in resistance of slash pine to pitch canker caused by *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*. (Abstr.) Phytopathol. News 12:207.

12. BLAKESLEE, G.M., L.D. DWINELL. y R.L. ANDERSON. 1980. Pitch canker of southern pines, Identification and management considerations. USDA Forest Service. Micellaneus publication U.S.A. 15 p.
13. BLAKESLEE, G.M., S.H. KRATKA, R.A. SCHMIDT Y C. S. MOSES. 1978a. Sporodochia of the pitch canker fungus (*Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*) as found in diseased slash pines in Florida. Plant Dis. Rep. 62:656-657.
14. BLAKESLEE, G.M., T. MILLER Y E.L. BARNARD. 1981 Pitch canker in forest tree nurseries. U.S. Dept Agric. Forest Service. Boletin SA-FB/P 22 1 p.
15. BLAKESLEE, G. M. y S. W. OAK. 1979. Significant mortality associated with pitch canker infection of slash pine in Florida. Plant Dis. Rep. 63:1023-1025.
16. BLAKESLEE, G. M., S. W. OAK, W. GREGORY. y C. S. MOSES. 1978b. Natural association of *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* with *Pissodes nemorensis* (Abstr.) Phytopathol. News 2:208.
17. BLAKESLEE, G. M., R. D. DORSET y S. W. OAK. 1988. Inoculum dispersal of the pine pitch canker fungus, *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*. Phytopathology Abstracts.
18. BOOTH, C. 1977. *Fusarium*, Laboratory guide to the identification of the major species. Common Mycol Inst, Kew Surrey England. 58 p.
19. BRAMLETT, D.L., E.W. BELCHER, G.L. DeBARR, G.D. HERTEL, R.P. KARRFALT, C.W. LANTZ, T. MILLER, K.D. WARE y H.O. YATES. 1977. Cone analysis of southern pines. U.S. For. Serv. Southeast For. Exp. Sta. & Southeast. Area State Private For. Gen. Tech. Rep. SE-13.
20. BRUCK, R.I. 1983. Effects of thiabendazole on pitch canker of loblolly pine.(Abstr.) Phytopahology 73:834.
21. CIBRIAN-TOVAR D. Y J. VILLA-CASTILLO. 1988. Memoria del plan de manejo de Atenquique, Jalisco. Inédito.
22. CONOVER, W.J. 1980. Practical nonparametric statistics. Ed. John Wiley & Sons New York, U.S.A. 493 p.
23. CORRELL, J.C., T.R. GORDON, A.H. McCAIN, J.W. FOX, C.S. KOEHLER, D.L. WOOD y M.E. SCHULTZ. 1991. Pitch canker disease in California: pathogenicity, distribution, and canker development on monterey pine (*Pinus radiata*). Plant Disease 75(7): 676-682.

24. DADWAI, V.S., JAMALUDDIN Y K.K. SONI. 1986. Uptake translocation and persistence of benlate and bavistin in *Pinus caribaea* seedlings. Indian Journal of Forestry. 9 (2): 123-125.
25. DAMICONE, J.P., D.R. COOLEY y W.J. MANNING. 1981. Benomyl acetone eradicates *Fusarium moniliforme* and *F. oxysporum* from *Asparagus* seed. Plant Disease 65 (11): 892-893.
26. DWINELL, L. D. 1978. Susceptibility of southern pines to infection by *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*. Plant. Dis. Rep. 62:108-111.
27. DWINELL, L. D. y J. BARROWS-BROADDUS. 1981. Pitch canker in seed orchards. Pages 234-240 in: Proc. South. Tree Improv. Conf. 16th. Athens Georgia U.S.A.
28. DWINELL, L. D. y J. BARROWS-BROADDUS. 1983. Pine wilt and pitch canker to Virginia pine in seed orchards. in: Proc. South. Tree Improv. Conf. 17th. 55-62 pp
29. DWINELL, L.D., J.B. BARROWS-BROADDUS y E.G. KUHLMAN. 1985. Pitch canker: a disease complex of southern pines. Plant Dis. 69:270-276.
30. DWINELL, L. D. y W.R. PHELPS. 1977. Pitch canker of slash pine in Florida. Florida. J. For. 75:488-489.
31. DWINELL, L. D., P.L. RYAN y E.G. KUHLMAN. 1977. Pitch canker of loblolly pine in seed orchards. In: Proc. South For. Tree Improv. Conf. 14th. Athens Georgia U.S.A. 130-137 pp.
32. FISHER, R.F., W.S. GARBERTT y E.M. UNDERHILL. 1981. Effects of fertilization on healthy and pitch canker-infected pines. Southern Journal of Applied Forestry. 5 (2) 77-79.
33. FOX, J.W., D.L. WOOD y C.S. KOEHLER. 1990. Distribution and abundance of engraver beetles (Scolytidae:Ips species) on monterey pines infested with pitch canker. Canadian Entomologist. Volume 122:1157-1166.
34. FOX, J.W., D.L. WOOD, C.S. KOEHLER y S.T. O'KEEFE. 1991. Engraver beetles (Scolytidae:Ips species) as vectors of the pitch canker fungus *Fusarium subglutinans*. Canadian Entomologist. Volume 123:1355-1367.
35. FRAEDRICH, B. R. y W. WITCHER. 1982. Influence of fertilization on pitch canker development of three southern pine species. Plant Dis. 66:938-940.

36. FRENCH, D. W. 1978. Forest and shade tree pathology. U. of Minnesota. Minn, USA. 271 p.
37. FUNK, A. 1981. Parasitic microfungi of western trees. Canadian Forestry Service. Victoria B. C. Canada. 190 p.
38. GUTIERREZ RODRIGUEZ, R. 1991. El cancro resinoso de *Pinus douglasina* Mtz. Distribución, incidencia, síntomas e identificación. Tesis Ing. Agr. Esp Parasitología Agrícola. UACH. Chapingo, México.
39. HEPTING, G. H. y E.R. ROTH. 1946. Pitch canker, a new disease of southern pines. J. For. 44:742-744.
40. HEPTING, G. H. 1977. Diseases of forest and shade trees of the United States. USDA Forest Service. Agriculture Handbook N° 386. 658 p.
41. HOMECHIN, M., M.A. PIZZINATO y J.O. MENTEN. 1986. Health of seeds of *Pinus elliottii* var *elliottii* and *Pinus taeda* and pathogenicity of *Fusarium oxysporum* on *Pinus elliottii* var *elliottii* seedlings, Summa Phytopathologica. 12 (1/2) 102-112.
42. HUANG, J.W. y E.G. KUHLMAN. 1990. Fungi associated with "Damping off" of slash pine seedlings in Georgia. Plant Disease 74 (1) 27-30.
43. KHALISY, M.H., A.M. TARABEIH y M.M. YOUNIS. 1981. Damping off of *Pinus brutia* in nursery stock of Northern Iraq and its chemical control. Mesopotamia Journal of Agriculture 16 (2):81-100.
44. KUHLMAN, E. G. 1982. Varieties of *Gibberella* with anamorphs in *Fusarium* section Liseola. Mycologia 74:759-768.
45. KUHLMAN, E.G. 1987. Effects of inoculation treatment with *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* on dieback of loblolly and slash pine seedlings. Plant Disease 71 (2) 161-162.
46. KUHLMAN, E. G. y S. CADE. 1985. Pitch canker disease of loblolly and ponds pines in North Carolina plantations. Plant Disease 69 (2): 175-176.
47. KUHLMAN, E. G., S.D. DIANIS, y T.K. SMITH. 1982. Epidemiology of pitch canker disease in a loblolly pine seed orchard. Phytopathology 72:1212-1216.
48. KUHLMAN, E. G., L.D. DWINELL, P.E. NELSON, y C. BOOTH. 1978. Characterization of the *Fusarium* causing pitch canker of southern pines. Mycologia 70:1131-1143.

49. KRAUS, S. H. y W. WITCHER. 1977. Survey of pine pitch canker in South Carolina. *Plant Dis. Rep.* 61 (11): 976-978.
50. KUKHARSKAYA, L.K. 1990. Obtaining gibberillins from scots pine sawdust. *Nauchnye Doklady Vysshei Shkoly. Biologicheskie Nauki* (Nº 4): 96-99.
51. Mc CAIN, A.H., J.C. CORREL y T.R. GORDON. 1989. Pitch canker wounds desings. *Journal of Arboriculture* 15 (10): 241-242.
52. Mc CAIN, A.H., C.S. KOEHLER y S.A. TJOSVOLD. 1987. Pitch canker threatens California pines. *California Arboriculture*. 41 (11-12): 22-23.
53. MILLER, T. 1984. Diseases of female strobili in southern pine seed orchards. In. *Proceedings of the Cone And Seed Insects Working Party Conference. Working Party S2.07.01.* (Edited by Yates H.O. III) Southeastern Forest Experiment Station. Ashville, N.C. U.S.A. 76 p.
54. MILLER, T. y L.D. BRAMLETT. 1979. Damage to reproductive structures of slash pine by two seed-borne pathogens: *Diplodia gossypina* and *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*. in: *Proc. Symp. Flowering Seed Dev. Trees. U.S. Dep. Agric. South For. Exp. Sta.* p 347-355
55. MURAMOTO, M. y L.D. DWINELL. 1990. Pitch canker of *Pinus luchuensis* in Japan. *Plan Disease*. 74 (7) 530-532
56. NASH, S.M. y W.C. SNYDER. 1962. Quantitative estimations by plate counts of propagules of the bean root *Fusarium* in field soils. *Phytopathology* 52:567-572.
57. NELSON, P. E., T.A. TOUSSON y W.F.O. MARASAS. 1983. *Fusarium* Species: An Illustrated Manual for Identification. Pennsylvania State University Press. 193 p.
58. OAK, S.W., J.P. McCLURE, y GLOVER. 1982. Areas affected and losses caused by pitch canker disease, 1980. U.S. Dep. Agric. For. Serv. State Priv. For. Pest Manage. Rep. 82-1-38. 27 pp.
59. ROCKWOOD. D.L., G.M. BLAKESLEE, G.A. LOWERTS, E.M. UNDERHILL, y S.W. OAK. 1988. Genetic strategies for reducing pitch canker incidence in slash pine. *Southern Journal of Applied Forestry*. 12 (1):28-32.
60. RUNION, G.B. y R.I. BRUCK. 1988a. Effects of thiabendazole-DMSO treatement of longleaf pine seed contaminated with *Fusarium subglutinans* on germination on seedlings survival. *Plant Disease* 72 (10): 872-874.

61. RUNION, G.B. y R.I. BRUCK. 1988b. The effects of thiabendazole on *Fusarium subglutinans* the causal agent of pitch canker of loblolly pine. Plant Disease. 72:297-300.
62. SCHMIDT, R.A. Y E.M. UNDERHILL. 1974. Incidence and impact of pitch canker in slash pine plantations in Florida. Plant Dis. Rep. 58:451-454.
63. SNYDER, W.C. Y H.N. HANSEN. 1940. The species concept in *Fusarium*. Amer. J. Bot 27:64-67.
64. SNYDER, W.C., E.R. TOOLE, y G.H. HEPTING. 1949. Fusaria associated with mimosa wilt, sumac wilt, and pine pitch mimosa wilt, and pine pitch canker of southern pines. J. Agric. Res. 78:365-382.
65. SOEL, Z. y R.I. BRUCK. 1989. Effect of nitrogen fertilization and growth suppression of pitch canker development on loblolly pine seedlings. Journal of Phytopathology. 125 (4) 327-335.
66. STORER, A.J. y P.L. DALLARA. 1992. Pitch canker disease in California. California. Dept of Forest and Fire Protection. Tree notes. N° 15. 1 p.
67. ULLOA M. y R.T. HANLIN. 1970. Atlas de micología básica. Ed Concepto. México. 158 p.
68. USDA. Forest Service. 1976. Pitch canker of pines. A threat to southern pines?. Forest Service, Southern area, State and private forestry. , Resource Protection N° 4, USA. Tríptico.
69. VALLURI, J.V. y E.J. SOLTES. 1988. Callose formation during wound-inoculation reaction of *Pinus elliottii* to *Fusarium subglutinans*. Phytochemistry. 29 (1) 71-72.
70. VAZQUEZ-COLLAZO, I. Y R. SANCHEZ-RAMIREZ. 1982. Observaciones preliminares y control químico de la resinosidad en *Pinus spp*. Rev. Ciencia Forestal 38:3-20. INIF SARH. México.
71. WILKINSON, R.C., E.M. UNDERHILL, J.R. MCGRAW, W.L. PRITCHETT, y R.A. SCHMIDT. 1977. Pitch canker incidence and fertilizer-insecticide treatment. Inst. Food Agric. Sci. Univ. Fla. Prog. Rep. 77-1.4 pp.

Anexo 1. Hospedantes, sintomatología y distribución por entidad federativa del cancro resinoso en México.

Coahuila.

***Pinus rudis* y *P. hartwegii*.**

En un recorrido realizado por la serranía llamada de la Siberia en el ejido San Antonio de las Alazanas, el autor no se observó daños asociados al cancro resinoso, sin embargo Flores Flores (1991), describe la siguiente sintomatología. "En esta sierra se han notado algunos daños en los árboles, éstos se han visto como flujo de resina muy abundante desde la punta hasta aproximadamente mitad del fuste, como consecuencia del daño hay muerte descendente de las ramas. Los árboles afectados están aislados y son de diámetros grandes (mayores de 40 cm). Estos árboles tuvieron ataques de descortezadores y de plantas parásitas, también estuvieron afectados por incendios y por rayos; el bosque de este sitio sufre de sobreexplotación de madera.

Distrito Federal.

***Pinus pseudostrobus*.**

Estas muestras se colectaron a una altitud aproximada de 2700 m, en el trayecto de la carretera México Cuernavaca, en los límites con el Estado de Morelos. Se observó un cambio de coloración en ramas terminales con las hojas café rojizas en buena cantidad y caídas en forma de bandera en todo el árbol, se presentaron varios canchros de tamaño variable de hasta 10 cm de largo; algunos a todo al rededor de la rama cubiertos por poca cantidad de resina. Al retirar la resina del cancro se notó inmediatamente el cambio de coloración en la madera y en forma muy característica la resina embebida,

Durango.

***Pinus durangensis*.**

Los Altares. Altitud. 2430 m. Es un bosque predominante de *P. arizonica*, en las muestras que se colectaron en esta localidad, se mostraba en forma consistente el doblamiento de los brotes, como primer síntoma de la enfermedad, en ninguna otra especie se noto este tipo de síntoma. Los canchros se presentaron en las ramas y de un tamaño pequeño de 5 a 7 cm a lo largo de la rama. En los aislamientos se logro obtener a *F. subglutinans* y se utilizó para realizar las inoculaciones. Los árboles no tienen buenas características de crecimiento.

En otra localidad, localizada a 40 km. de las oficinas de la UAF Santiago Papasquiaro. Se encontraron árboles desde 1 a 2 m de altura completamente muertos con daños causados por el cancro resinoso. El síntoma predominante en los árboles es la muerte descendente de los brotes, caracterizados por la coloración café

que el hongo no tenga un buen desarrollo en el hospedante, por lo que la enfermedad no se presenta de una manera muy severa.

En otro recorrido de campo en la misma zona de muestreo, se pudo observar la muerte descendente, caracterizada por el cambio de coloración del follaje y con la presencia de canchales en las ramas, y lo mas importante es que se encontró el flujo de resina de color muy blanca a lo largo de las ramas y del fuste a manera de hilos muy delgados.

Pinus halepensis, Universidad Autónoma Chapingo.

El síntoma principal observado, es la muerte descendente de los brotes, el daño en las hojas se inicia con una clorosis y con el tiempo se tornan café rojizas y se notan muy secas, de consistencia papelosa, en los brotes se observan una gran cantidad de grumos de resina, que provienen de pequeños canchales y se siguen observando a lo largo de las ramas secundarias; en las ramas mas grandes se presentan canchales en forma de rajaduras, con una pequeña abertura, pero sin lograr desprender la corteza, en estas rajaduras la resina es de consistencia muy líquida y a lo largo de la rama se observa la resinación en forma de hilos y de manera muy abundante a todo lo largo de las ramas grandes y del tallo principal, debido al color de la corteza esto se nota muy contrastante y a que la resina es de un color muy blanco, se ha observado, algunos árboles en el campus de la Universidad que ya murieron debido a la enfermedad, tan severa se ha presentado la enfermedad que algunos árboles ya se han extraído, así mismo se han observado árboles con diferente cantidad de individuos con el 100% de ramas muertas, pero al mismo tiempo algunos árboles que no tienen daño aparente. las muestras de esta especie se colectaron de varios individuos del campus, se puede decir que son árboles de ornato.

Michoacán.

***P. oocarpa*.**

Del rancho las cañas en Michoacán, se observa la yema apical con un flujo abundante de resina y un canchale bastante prominente cubierto de resina, las yemas laterales tomaron la dominancia al morirse la yema apical, en las yemas laterales se observaron daños aparentemente causados por ***Rhyacionia***, notándose larvas en algunas yemas y en la rama principal se observan puntos de resina que aparentemente es en donde se inicia la infección. el cambio de coloración café rojizo, con cristales de resina, con una franja mas oscura en la transición sano enfermo.

En los puntos de resina se nota un cambio de coloración enseguida de la corteza, de esta parte se procedió a realizar el aislamiento de ***Fusarium***, la muestra fue sembrada el 10 de octubre de 1990

Los árboles en donde se presentó la infección tenían una altura aproximada de 8 m, los síntomas de marchitamientos fueron observados a la distancia, con las hojas caídas lateralmente se observó un manchón de unos 10 árboles con el mismo tipo de daño. las muestras se localizaron durante el trayecto Pátzcuaro Santa Clara del Cobre Ario de Rosales, se encontraron a los árboles de manera aislada, ya que en las inmediaciones se encontraban terrenos dedicados a la agricultura, la vegetación, por lo tanto no se pudo definir, las altitudes en los lugares de colecta variaron de 1900 hasta 2200 m cerca de Santa Clara.

P. maximinoi

Se observaron apenas unos puntos de resina de aparente inicio de la infección, muy poca resinación y muy pocos daños en las ramas, pero se observaron una gran cantidad de árboles con este tipo de sintomatología. La resinación es superficial pero de consistencia mas líquida y un tanto oscura, al retirar la epidermis se observó el típico cambio de coloración en la madera. En los brotes se notan aparentemente el inicio del ataque de *Eucosma*.

Pinus montezumae

Las muestras fueron colectadas en un bosque de pino muy perturbado, los árboles de una altura de unos 25 m de altura, con un diámetro de 60 cm. El único síntoma que presentaron es el flujo de resina en forma de hilos y no muy abundante, los canchros, sin embargo, muy pequeños, los de mayor tamaño de 5 cm de largo por 2 cm de ancho y la corteza quebrada de manera incipiente, los daños se presentaron en tallos y ramas grandes y no presentes en ramas pequeñas, tampoco la muerte descendente estuvo presente; al retirar la corteza se notó resina cristalina y el cambio de coloración del tejido enfermo de un rojo intenso. Se presentó en el mismo trayecto en que se colectaron las muestras de *P. maximinoi*. Que se localizaron en el trayecto Pátzcuaro Huiramangaro Pichataro Nahuatzen, el tipo de vegetación predominante es de bosque de *Pinus* y las altitudes a que se colectaron las muestras variaron de 2200, 2300, 2400 y 2500 respectivamente para las localidades citadas.

Pinus michoacana

Se presentaron canchros incipientes con poca producción de resina, no se observaron escurrimientos, se notan solamente abultamientos de resina encima de los canchros, los cuales son de tamaño pequeño y la corteza tiene pocos quebramientos, sólo están presentes en las ramas y no en el tallo, en algunos individuos se presentó la muerte descendente de ramas, pero con una baja incidencia, al retirar la corteza, el cambio de coloración en la madera es muy tenue y no se observó resina embebida. Las muestras se localizaron en el camino al Parícutín; localizado en la carretera Paracho Uruapan, adelante de Capácuaro, a pocos kilómetros de San Lorenzo, la vegetación esta constituida por *Pinus-Quercus*, los síntomas se presentaron en árboles de unos 8 m de altura, que son el resultado de una regeneración natural y a una altitud de 2200 m.

encuentra adherida en el cancro. Las localidades donde se encontró el daño causado por el hongo son: Sultepec (Por el camino de Temascaltepec), Sultepequito, Amatepec (en La Goleta) y Tlatlaya; así como en el tramo de Tejupilco a Bejucos y en la Sierra de Nanchititla, a altitudes que varían desde los 1500 m en Sultepequito, hasta los 2200 en Nanchititla. El tipo de vegetación en las zonas de colecta es típicamente de ***Pinus-Quercus***, es importante señalar que en la mayoría de estas zonas se encontraron gran cantidad de brotes de ***Dendroctonus frontalis***, pero no se encontró ninguna asociación del ataque de insectos con la presencia de la enfermedad

Pinus radiata Amecameca

Se observó en una zona muy localizada en el camino de Amecameca a Tlamacas, en una plantación con individuos de 10 m de altura aproximadamente; el síntoma principal es la muerte descendente de las ramas, en estas el flujo de resina no es nada importante, lo que destaca en esta especie es que fue una de los dos únicas especies en las que se logró observar que los ESPORODOQUIOS típicos de ***F. subglutinans*** están presentes, estos fueron identificados en el laboratorio mediante técnicas de diagnóstico microscópico y revelaron la presencia de gran cantidad de macroconidios en las estructuras, de la misma manera se realizaron aislamientos utilizando para tal fin las mismas estructuras y se confirmó mediante las características de crecimiento de la colonia la presencia del hongo, no obstante lo anterior, sólo este trabajo se hizo con esta especie, ya que las colonias aisladas para realizar las pruebas de patogenicidad, considerando como contundente la presencia de los esporodoquios como causante de la muerte descendente de los árboles. Como ya se mencionó, se trata de una plantación y en terrenos aledaños se encuentran parcelas agrícolas, cabe destacar que también se encuentra muy cerca plantaciones de árboles de Navidad de ***P. ayacahuite***, pero en estas plantaciones no se notó la presencia de la enfermedad. Los árboles de donde se tomaron las muestras se encuentran a una altitud de 2200 m.

Pinus hartwegii Tlamacas.

Los árboles observados presentaron cancros en las ramas, como único síntoma de la enfermedad, no se observó cambios de coloración en el follaje ni muerte de las ramas, los cancros son al parecer anuales y la resina los cubre por completo, incluso logra cubrir todo el rededor de las ramas de aproximadamente 2 cm de diámetro. La invasión del hongo al parecer es muy vieja ya que la resina presentó una coloración muy oscura casi negra, el desprendimiento de la corteza en las ramas es ligero así como poco cambio de coloración en la madera y no presentó resina embebida. Cuando fueron observados al inicio del reconocimiento, los síntomas al parecer no correspondían al cancro resinoso, sin embargo en las pruebas de laboratorio, se pudo constatar la presencia de ***F. subglutinans*** en todas las cajas utilizadas para los aislamientos. Al realizar el aislamiento del hongo en esta especie nos permite mayor información acerca de su distribución, ya que los árboles de donde se tomaron las muestras se encuentra a una altitud de cerca de los 2800 m, esto da la posibilidad de

Pinus ayacahuite Plantación de árboles de Navidad de Amecameca.

Se observa marchitamiento de las ramas, cambio de coloración en el follaje y se nota como la corteza está quebrada hacia afuera debido a la presencia del cancro presentando además resina en la zona que deja expuesta la corteza, las hojas de las partes terminales se ven caídas en forma de bandera y con coloración café rojiza, algunos de los canchros se ven cicatrizados. Esto probablemente se debe a que en la plantación se han realizado estrategias de control en base a aplicaciones de Benlate. (com. pers., E. A. Patiño, 1991).

Pinus pseudostrobus Valle de Bravo.

Se hizo la colecta de material de ramas que presentan una proliferación abundante de hojas en la parte terminal de las ramas, estos síntomas dan la apariencia de ser escobas de bruja. En la parte interna donde se encuentran las hojas deformadas se nota un avance muy importante de necrosamiento en la parte interna de la rama y un cambio de coloración en donde se nota el avance de tejido sano y tejido enfermo, en la parte donde termina el daño es donde se puede observar mejor esta característica. En los aislamientos que se realizaron se observó una alta incidencia de hongos pero ninguno de estos era de importancia fitopatógena y no se observó el crecimiento de ***Fusarium***. En algunas ramas se observan daños por insectos barrenadores así como en los amontonamientos de las hojas.

En ***P. montezumae*** del camino al nevado de Toluca, se observan daños similares a las aparentes escobas de bruja, encontrados en ***P. pseudostrobus***, y tampoco se encontró asociación con ***Fusarium*** en las pruebas realizadas en laboratorio.

Pinus pringlei. Esta especie muestra varios tipos de síntomas, dentro de los que destacan los siguientes. Cambios de coloración de los brotes a un color café rojizo, pero sin doblamiento, ya que permanece completamente erecto, en esta especie se observa un gran flujo de resina en los mismos brotes y las hojas pocas veces se doblan en forma de abanderamiento, ya que también permanecen erectas y la resina se encuentra en forma de grumos gruesos, adheridos a lo largo del brote, los canchros debajo de la resina son de tamaño pequeño y no llegan a tener ni 2 cm de longitud, la corteza en esta parte está abierta hacia afuera debido a la presión de la resina, sin embargo, los daños más severos, se pueden observar en las ramas grandes y tallo pequeños, donde la corteza es violentamente quebrada externamente, debido a la gran exudación de resina que el árbol produce y que fluye hacia el exterior, los canchros se vuelven perennes y son alargados, cuando el daño es muy severo los canchros se juntan unos a otros y aparentemente se forma un cancro alargado que en ocasiones midieron hasta 60 cm y el grosor de la resina en estos canchros llegó a medir 6 cm y fuera de estos la corteza completamente abierta hacia afuera y quebrada, el flujo de resina hacia abajo de los canchros no es abundante y lo más significativo es el aspecto que dan los canchros, los que incluso pueden ser observados a cierta distancia, el cambio de coloración en la madera y la resina embebida pueden notarse fácilmente de manera superficial tan solo con quitar la resina que se

se inicia aparentemente en las heridas dejadas por los verticilos de las ramas que fueron podadas en forma natural. Las muestras se tomaron de la plantación de la sección 2 de la UAF 2 de Atenquique, a una distancia de 15 km. de Cd. Guzmán en una plantación de la sección 2 de la UAF Atenquique a una altitud de 2220 m, las muestras de esporodoquios se colectaron a una altitud de 2000 m a 10 km. de la misma ciudad.

Estado de México.

***Pinus pseudostrobus* Amecameca.**

Se realizó la colecta en las zonas aledañas a la plantación de árboles de Navidad de Amecameca, las muestras se tomaron de la parte mas alta del árbol ya que se había derribado por presentar ataques de ***Dendroctonus mexicanus***, las muestras presentaban las siguientes características: Flujo de resina en el brote principal, los brotes eran de un tamaño de 25 cm aproximadamente a partir del internodo y abajo de este se presentan canchales con bastante exudado de resina y se aprecian gotas de resina hacia abajo hasta unos 30 cm, las hojas todavía no se secan y el brote aún permanece verde. Se puede notar que el daño es reciente ya que el canchale es muy pequeño, al abrirlo se nota el cambio de coloración de la parte succulenta de la rama, se observa de un color café oscuro, el cambio de coloración se nota hasta la medula de la rama que tiene un diámetro aproximado de 3 cm, se notan a lo largo de la rama unos puntos que aparentemente son heridas de la rama pero no se identifica plenamente que fue lo que las propició, algunos de estos puntos son de 5 cm de largo pero inician aparentemente como puntos aunque son muy superficiales y se distinguen por tener un color café. Algunos exudados de resina se observan en la parte terminal del brote, casi en la yema y se empiezan a observar el cambio de coloración en las hojas a café rojizo, el tejido vegetal adentro del canchale se nota muy necrosado, en la parte de las ramas se notan daños poco significativos de ***Pityophthorus***.

***Pinus leiophylla* Amecameca.**

Se nota un cambio de coloración en las yemas apicales, se notan grumos de resina pero no en un canchale bien definido, al hacer los cortes se observa el tejido muy succulento y el cambio de coloración característica, la resina tiene una consistencia muy fresca y no se notan evidencia de daños por insectos. Sobre las ramas grandes se notan flujos de resina pero son muy incipientes y con ligeras depresiones aparentemente el inicio de canchales, los cambios de coloración son muy leves. En algunas ramas se notan los canchales de manera mas evidentes con flujos de resina de hasta 30 cm a lo largo de la rama. Se notan algunas pequeñas galerías de insectos pero el daño no parece ser considerable y al parecer un barrenador no llevo a establecerse en la yema. Hay algunas ramas donde se observan coloraciones bastante negras, se presentan galerías de tamaño considerable al parecer de ***Doryctria***, en esta parte los canchales son muy superficiales y no se notan los cambios de coloración.

hasta los 2750 m. fue la especie presente en la mayoría de estos bosques y no se encontró la sintomatología de la enfermedad; pero se observó la sintomatología en la región de Cd. Altamirano (com. pers. Sanidad Forestal del Estado), que geográficamente se encuentra muy cerca de la parte Sur del Estado de México, específicamente de Nanchititla, donde sí está presente la enfermedad.

Hidalgo.

Pinus rudis.

Las muestras colectadas en el Parque nacional de El Chico, mostraron únicamente pequeños canchros en las ramas laterales, no se observaron cambios de coloración en el follaje, ni marchitamientos; en la madera del interior del cancro se presentó cambio de coloración característico, esto fue lo que propició que las muestras fueran procesadas en el laboratorio, el flujo de resina es muy poco y sólo parecen como pequeñas costras. La apariencia general del arbolado es sano en relación a esta enfermedad y se considera que tiene una muy baja incidencia en esta zona, es probable que con otros recorridos por la zona se podrá conocer la magnitud y distribución de la enfermedad, por lo que se considera que no es problema en la localidad; las muestras fueron colectadas en Bosque de *Pinus* a una altitud entre los 2700 y 2800 m.

Jalisco.

P. leiophylla

Estas muestras fueron colectadas en Jalisco, de árboles de un diámetro de 70 cm, con la ayuda del hacha se tomaron muestras de canchros con dimensiones que llegaban a los 50 cm de longitud a lo largo del fuste con el ayuda del hacha se quitó parte de la corteza hasta llegar a la madera en donde se notó un cambio de coloración que fue de un rojo bastante intenso, las muestras tenían como característica la presencia de resina embebida, enseguida de la parte enferma se observaba una parte sana de la madera que fue la parte que se utilizó para realizar el aislamiento, en donde se observó el crecimiento típico de *F. subglutinans*. Las muestras se tomaron de árboles derribados por aprovechamientos, en la sierra de Tapalpa a una altitud de 2350 m.

P. douglasiana

Las muestras se obtuvieron cortando dos árboles de unos 8 m de altura con un diámetro de 15 cm, los cuales mostraron los canchros a lo largo del fuste, se observó marchitamiento en ramas de donde también se tomaron muestras que tienen la sintomatología típica de la enfermedad los cuales consistieron en marchitamientos de ramas, con pequeños flujos de resina en ellos, las hojas secas y caídas pero adheridas a la rama y con resina, en el tallo el cancro profuso con una gran cantidad de resina, en el fuste pero en regiones muy localizadas, el avance de la enfermedad

rojiza que se inicia en las puntas, la exudación de resina no se presentó de manera típica, es decir, no se observó un flujo descendente sino que parecían especies de grumos gruesos y anchos y no se confunden con el ataque de descortezadores, al quitar los grumos se observaron pequeños canchros y mas abajo de éstos se notaron los cambios de coloración de la madera, en otros árboles se observó mayor flujo de resina pero no de manera abundante.

En el Ejido San Nicolás y Bajío del Pinto. En el camino a Altares en árboles de aproximadamente 5 m de altura. se observaron lesiones ocasionadas por el cancro resinoso, estas son las típicas de la enfermedad causadas por *F. subglutinans* en esta especie, el daño más importante se presentó en ramas y en los brotes, donde el flujo de resina esta presente pero no es muy abundante, pero si bastante evidente, la resina se encuentra cubierta por una capa gruesa de polvo, probablemente debido a que están a la orilla de la carretera que es de terracería, en la parte terminal se nota la muerte de las yemas, algunas completamente secas y en los brotes se ve el flujo de resina y se puede observar el cancro bien desarrollado, la corteza de las ramas esta completamente desprendida hacia afuera, en las lesiones mas viejas, se nota el cambio de coloración en la madera de las ramas. En el paraje denominado Puente Salsipuedes, donde hubo regeneración natural, se observaron algunos brotes en forma de ganchos parecidos a los producidos por *Eucosma sonomana*; sin embargo, al realizar disecciones, no se encontró ningún tipo de barrenación ocasionada por insectos, en cambio se notó el signo de resina embebida.

Pinus discolor

Localizado a 14 km. de Tepehuanes, se observaron árboles con la sintomatología de la enfermedad desde los 2100 hasta los 2200 m de altitud, las colectas se hicieron en árboles de 2 m de altura. El bosque fue mixto, formado por *Pinus Quercus* y *Juniperus*, en terreno pedregoso. Los canchros observados son profusos, algunos con exudación de resina y muy viejos, ya que la resina presentó una coloración negra, la mayoría de los canchros se presentó en ramas de hasta 3 cm de diámetro.

P. leiophylla

En algunos árboles aislados de ésta especie en Santiago Papasquiaro se observaron flujos de resina en árboles de aproximadamente 12 m de altura, no fue posible coleccionar muestras pero las evidencias del daño en el arbolado dan como indicio de que se trata del cancro resinoso.

Guerrero.

Pinus pringlei

En este Estado se realizaron recorridos el trayecto de la carretera Ixtapán de la Sal a Taxco, Vía Grutas de Cacahuamilpa y en los alrededores de la ciudad de Taxco, en varios parajes con tipo de vegetación de *Pinus-Quercus* y con algunas otras asociaciones, las altitudes en donde se realizaron los recorridos fueron desde los 2200 m

Morelos.

Pinus pseudostrobus.

Se presentó la misma sintomatología de las muestras de esta misma especie en el Distrito Federal, ya que geográficamente se encontraron muy cercanas estos dos tipos de muestras en aproximadamente una separación de un km. sobre la autopista ya citada, pero a una altitud de 2870 m.

Pinus hartwegii.

Se presentaron ramas con marchitamientos en los brotes terminales, el follaje presentó un cambio de coloración café rojizo en varios puntos de las ramas, se observaron pequeñas costras de resina que cubrían a canchros de tamaño muy pequeño, los mas grandes de 3 cm y con pequeñas rajaduras en la corteza, al desprenderla se notaron los cambios de coloración; los árboles muestreados que presentaron la sintomatología se encuentran muy dispersos en lugares donde existió una vegetación de ***Pinus*** a una altitud de 2900 m.

Nuevo León

Pinus arizonica.

A lo lejos se notó un cambio de coloración muy importante en la parte terminal de las ramas, las hojas presentaban una coloración café rojiza y caídas en forma de bandera, al hacer una examinación exhaustiva se pudo notar resina en forma de abultamientos en ramas de 2 a 3 cm de diámetro, al retirar la resina se observaron los canchros desde 5 a 10 cm de largo y unos 3 cm de ancho y algunos se observo su avance alrededor de la rama para producir aparentemente estrangulamientos, la corteza se observó quebrada hacia afuera pero no de manera violenta, la resina pegada a la madera es muy cristalina y al retirarla se nota fácilmente el cambio de coloración y la resina embebida. La muestras fueron colectadas en el trayecto de la carretera Linares San Roberto y la desviación hacia Galeana, en árboles muy esparcidos en donde seguramente estaba constituido con vegetación de ***Pinus***, a una altitud de 1600 m.

Pinus cembroides.

Se colectaron muestras de ramas infectadas, corteza y Xilema, en esta última no se observó el cambio de coloración típico. A lo largo del fuste se observó una gran cantidad de flujo de resina, pero aparentemente no provenían de ningún canchro de manera aparente, en las ramas también se encontraron flujos de resina, pero al parecer no se presentan canchros bien desarrollados. al desprender la corteza tanto de ramas como del fuste no se notaba ningún cambio de coloración en la madera, aunque en las ramas si se notaba una coloración mas oscura en la parte interna. Debido a que en las muestra colectadas los cambios de coloración no eran evidentes, cuando se hicieron los aislamientos, se utilizó mayor cantidad de corteza como

material para siembra a diferencia de otros aislamientos donde se usó la parte mas interna de xilema. A 5 km. de Santa Clara, sobre la carretera Galeana-Dr. Arroyo, Municipio de Galeana, a una altitud de 1900 m.

Puebla

***Pinus montezumae* San Juan Tetla.**

Se notan canchros recubiertos con resina en las ramas de los árboles, al remover la corteza se nota el cambio de coloración a una profundidad considerable llegando casi a la medula de la rama que tiene un diámetro de unos 3 cm, y avanzando hacia la parte de arriba y abajo del canchro, la consistencia de la resina presente en los canchros es muy blanca y blanda, algunas de las lesiones importantes se observa en las ramas secas que han caído al suelo y en las pruebas de laboratorio se logro aislar a *F. subglutinans*, las muestras se colectaron a la entrada del Campo Experimental San Juan Tetla, a una altitud de 2500 m y en tipo de vegetación de ***Pinus***.

***Pinus oaxacana*.**

Los árboles muestreados se encuentran en sitios muy pobres, hay una gran cantidad de minas de grava en los alrededores, sin embargo, los síntomas no se aprecian a distancia, se observó de manera muy dispersa ramas con coloración café rojiza, pero sólo una o dos ramas por árbol, al colectarlos se observan costras de resina pegadas a las ramas y no se hacen abultamientos, no hay flujos de resina, al retirar, se observó un canchro en forma de ojal alargado de hasta 3 cm, al retirar la corteza y la resina se notó un cambio de coloración muy tenue pero si hay resina embebida. Las muestras fueron colectadas a unos 35 km. de Zacatepec rumbo a Perote, el tipo de vegetación es de bosque de ***Pinus***.

Tamaulipas

***Pinus estevezi*.**

Las muestras de este especie fueron colectadas en el cerro del diente, cerca de la localidad de San Carlos, las muestras presentaban un flujo de resina que fue el primer síntoma que se observó, se presentaron canchros a lo largo de las ramas con una abundante producción de resina en los mismos lugares de los canchros, la corteza de las ramas estaba quebrada hacia afuera, dejando expuesto el canchro y la madera con cambio de coloración, presentando resina embebida.

Tlaxcala.

Pinus rudis.

Los síntomas no son aparentes y no fueron observados a distancia, aún cerca de los árboles no tienen ningún síntoma aparente, en un principio se pensó que no tenían daño, en cambio los daños por la roya ***Cronartium conigenum***, fueron observados muy fácilmente, al revisar ramas que se colectaron para obtener royas, se pudieron observar grumos de resina de tamaño pequeño, que al mismo tiempo provenían de canchros sumamente pequeños, que incluso es difícil definirlos como tales, al retirar la resina, se observó el cambio de coloración en la madera y de consistencia húmeda. Los árboles fueron localizados en el trayecto de la carretera Apizaco Huamantla en la desviación hacia Terrenate, se encontraban muy dispersos y en lugares donde hay poca vegetación arbórea y con una gran cantidad de especies arbustivas, a una altitud de 2300 m, en los lugares mas altos.

Veracruz

Para ***P. pseudostrobus*** y ***P. oaxacana***, son los mismos síntomas reportados para estas especies en el Estado de Puebla.

Pinus montezumae.

Daños poco significativos, en unas cuantas ramas que presentaron cambio de coloración en el follaje, se observaron pocos canchros en la ramas y cubiertos con poca resina al quitarla se nota claramente el cambio de coloración en la madera como el síntoma de mayor importancia, no hay flujo de resina en ramas y ni en el fuste, la enfermedad tiene una muy baja incidencia y no se considera importante en esta zona estando presente en árboles aislados. El lugar de colecta es una vegetación de ***Pinus*** localizados en la colonia 20 de Noviembre en el municipio de Perote.

En otros recorridos por las faldas del cofre de Perote en plantaciones de ***Pinus patula*** no se encontró la sintomatología de la enfermedad, así como en otras tres localidades con la presencia de ***P. montezumae***, ***P. pseudostrobus***, ***P. rudis***.

La latitud a la que mas al norte se hizo colecta de muestras fue aproximadamente a los 24° 45' en la zona de Nuevo León y a los 25° 30' en el área de Tepehuanes en Durango. Hacia el sur en la región de Amatepec en La Goleta en el Estado de México a los 18° 35'.