



Enseñar la explotación de la tierra,
no la del hombre

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DIVISIÓN DE CIENCIAS FORESTALES

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CIENCIAS FORESTALES

**CARACTERIZACIÓN DE LA CALIDAD DE RAÍZ E INCIDENCIA DE
PATÓGENOS EN PLANTACIONES FORESTALES COMERCIALES DE
Eucalyptus globulus Y *E. nitens* EN MICHOACÁN**

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIAS
FORESTALES**

PRESENTA:

JESÚS GERMÁN DE LA MORA CASTAÑEDA



DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OPTIMA DE EXAMENES PROFESIONALES

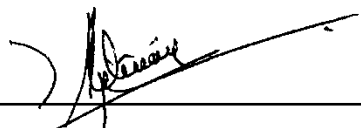
Texcoco, Estado de México, Febrero de 2013



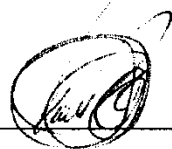
La presente tesis, titulada: **“Caracterización de la calidad de raíz e incidencia de patógenos en plantaciones forestales comerciales de *Eucalyptus globulus* y *E. nitens* en Michoacán”**, realizada por el alumno **Jesús Germán De la mora Castañeda**, bajo la dirección del comité asesor indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

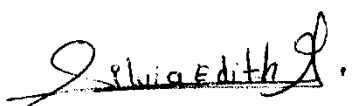
Maestro en Ciencias en Ciencias Forestales

Comité asesor

Director: 
Dr. David Cibrián Tovar

Co-director: 
Dr. Antonio Villanueva Morales

Asesor: 
Dr. Omar A. Pérez Vera

Asesor: 
M. C. Silvia Edith García Díaz

Chapingo, Texcoco, Estado de México, Febrero 2013

DEDICATORIA

A mis padres Teresa y Jesús...

A mis hermanas Leticia y Victoria...

A mis hijos Jesús y Leonel...

A mis abuelos Domingo, Mercedes, Marcos y Esperanza[†]...

Con amor y agradecimiento por su apoyo incondicional

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el financiamiento de mis estudios de posgrado.

Al Dr. David Cibrián Tovar, con respeto y admiración por su amistad, por el financiamiento y disponibilidad de recursos, la planeación y dirección de este trabajo de investigación.

Al Dr. Omar Alejandro Pérez Vera, con respeto y admiración por su amistad, por sus aportaciones, sugerencias y correcciones en este trabajo.

Al Dr. Villanueva y M.C. Silvia E. García Díaz con respeto y admiración por su disponibilidad y apoyo.

Al Ing. Silvestre de la empresa Forestaciones Operativas de México S.A. de C.V (REXCEL) por su disponibilidad y apoyo logístico en las verificaciones de campo.

A Hugo Ontiveros Palma por su amistad, amabilidad, disponibilidad y apoyo en las visitas a campo.

DATOS BIOGRÁFICOS

El autor de la presente tesis nació el 25 de Marzo de 1983 en el Estado de Colima. Realizó sus estudios de educación básica en el Estado de Colima. En 1998 ingresa al Centro de Bachillerato Tecnológico Agropecuario 148 para cursar sus estudios de bachillerato. En el año 2001 ingresa a la Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Colima, de donde egresa en el año 2006, con el título de Ingeniero Agrónomo.

A la par con sus estudios de Bachillerato laboro en el Vivero Silvícola de la Universidad de Colima, ya en la licenciatura, en 2004 realizo movilidad académica internacional a Costa Rica por un semestre, posteriormente continuo con el Servicio Social Interno y Servicio Social Constitucional en el vivero forestal y las Practicas Profesionales en la Secretaria de Desarrollo Rural del Estado de Colima al 2005.

Ya egresado laboro en la Comisión Nacional Forestal de 2007 a 2010, año y medio en la Oficinas estatales del Colima, un año en Oficinas Centrales en Zapopan Jalisco y seis meses en la Oficinas estatales de Querétaro.

En agosto del 2010 ingresa a la División de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma Chapingo para iniciar estudios de Maestría en Ciencias en Ciencias Forestales.

**CARACTERIZACIÓN DE LA CALIDAD DE RAÍZ E INCIDENCIA DE PATÓGENOS EN
PLANTACIONES FORESTALES COMERCIALES DE *Eucalyptus globulus* Y *E. nitens* EN
MICHOCÁN**

**QUALITY CHARACTERIZATION ON ROOT AND IMPACT OF PATHOGENS IN
COMMERCIAL FOREST PLANTATIONS OF *Eucalyptus globulus* AND *E. nitens* FROM
MICHOCÁN**

Jesús Germán De la Mora Castañeda¹ y David Cibrián Tovar²

RESUMEN

La calidad de la planta producida en vivero se refleja en su comportamiento en la plantación, un elemento importante es el sistema radicular, la malformación de este limita la absorción de nutrientes y agua, ocasionando la muerte en años posteriores. En plantaciones comerciales de Eucalipto en Michoacán, México, se observó muerte regresiva y canchales en el fuste de *Eucalyptus globulus* y *E. nitens* de tres a siete años de edad. De este modo los objetivos planteados fueron evaluar daños y características del sistema radicular de dichas especies e identificar el organismo causante de la enfermedad y probar su patogenicidad en varetas y campo. Se extrajeron raíces de ambas especies, determinando las deformaciones en la raíz primaria, secundaria y parte interna, de este modo se elaboró una escala que va de 0 a 3 de acuerdo al porcentaje de enredamiento. Del total de raíces el 55.5% se asignaron al grupo 3 y el 77.7% muestran daños internos por el estrangulamiento. Por otro lado de tallos colectados, se aisló a *Botryosphaeria eucalyptorum* y a *Neofusicoccum eucalyptorum* de *E. nitens* y a *N. parvum* de ambas especies, se identificaron morfológicamente y molecularmente amplificando la región intergénica (ITS) de los genes ribosomales rADN mediante la técnica de amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Las pruebas de patogenicidad en varetas y campo mostraron que *N. eucalyptorum* y *N. parvum* causan lesiones necróticas. Este es el primer reporte de estas dos especies de hongos en México causando esta enfermedad en plantaciones de eucalipto.

Palabras clave: *E. globulus*, *E. nitens*, *Botryosphaeria*, *Neofusicoccum*, enredamiento radicular, muerte regresiva.

ABSTRACT

The quality of the plant produced in the nursery is reflected in its behavior in the plantation, an important element is the root system, malformation of this limits the absorption of nutrients and water, causing death in Years later. In commercial plantations of Eucalyptus in Michoacán, Mexico, was observed dieback and stem cankers of Eucalyptus globulus and E. nitens three to seven years old. Thus the objectives were to assess damage and root system characteristics of these species and identify the organism causing the disease and test their pathogenicity in stakes and field. It was extracted roots of both species, determining the root deformations in primary, secondary and inside thus it was drawn up a scale of 0-3 according to the percentage of entanglement. Of the total, 55.5% roots were assigned, to group 3 and 77.7% showed internal damage by strangulation. On the other hand and according to collected stems Botryosphaeria eucalyptorum and Neofusicoccum eucalyptorum de E. nitens and N. parvum were isolated and identified of both species morphologically and molecularly amplifying the intergenic region (ITS) of the ribosomal genes by rDNA technique amplification chain reaction (PCR). Pathogenicity tests in stakes and field showed that N. eucalyptorum and N. parvum cause necrotic lesions. This is the first report of these two species of fungus causing this disease in Mexico eucalyptus

Key words: *E. globulus*, *E. nitens*, *Botryosphaeria*, *Neofusicoccum*, entanglement root, dieback.

1 Tesista

2 Director

CONTENIDO

	Página
Dedicatoria.....	iii
Agradecimientos.....	iv
Datos biográficos.....	v
Resumen y Abstract.....	vi
Contenido.....	vii
Índice de cuadros.....	ix
Índice de figuras.....	x
Introducción.....	1
Objetivos.....	6
Revisión de literatura.....	7
Conclusiones.....	21
Literatura citada.....	23
Capítulo I. <i>Botryosphaeria eucalyptorum</i> (<i>Neofusicoccum eucalyptorum</i>) y <i>N. parvum</i> patógenos en plantaciones de eucalipto en México.....	27
Resumen y Abstract.....	28
Introducción.....	29
Materiales y Métodos.....	31

Resultados y discusión.....	35
Conclusiones.....	42
Literatura citada.....	43
Capítulo II. Caracterización del grado de enredamiento del sistema radicular de <i>Eucalyptus</i> en plantaciones del estado de Michoacán.....	47
Resumen y Abstract.....	48
Introducción.....	49
Materiales y Métodos.....	52
Resultados y discusión.....	53
Conclusiones.....	58
Literatura citada.....	59

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Capítulo I.	
	42
Cuadro 1. Medias de la longitud de la lesión ocasionada por la inoculación en varetas a los 48 ddi de las dos especies de <i>Eucalyptus</i> y en campo a los 10 ddi de <i>E. nitens</i>	
Capítulo II.	
	55
Cuadro1. Número de raíces por grupo y daño	
Cuadro 2. Características de las raíces muestreadas y condición de raíz	56

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Capítulo I.	
Figura 1. Figura 1. Síntomas y signos de <i>Botryosphaeria eucalyptorum</i> (<i>Neofusicoccum eucalyptorum</i>) y <i>N. parvum</i> . A) Grupo de árboles muertos con fuste necrosado y follaje seco. B) Muerte de puntas y pérdida de follaje. C) Cepa gris oscuro creciendo en PDA a los 10 días. D) Corte longitudinal de ascostroma. E) Pseudotecio café oscuro con las ascas. F) Asca con ocho ascosporas. G) Picnidios maduros con cirrus. H) Conidios hialinos. I) crecimiento de la lesión de forma longitudinal y hacia el floema J) Lesión en forma de huso en árboles de <i>E. nitens</i> . K) Vareta de <i>E. globulus</i> con abundante micelio y picnidios. L) Vareta de <i>E. globulus</i> con de picnidios negros inmaduros.	41
Capítulo II.	
Figura 1. Escala visual para determinar el grado de enredamiento de las raíces de <i>E. globulus</i> y <i>E. nitens</i> .	57

INTRODUCCIÓN

La actividad forestal en México ha cambiado en los últimos años, entre otras cosas por el mayor énfasis hacia la restauración de ecosistemas forestales. Las plantaciones forestales progresivamente cobran más importancia, pues sustituyen o complementan bienes y servicios que las cada vez más reducidas masas forestales otorgan, cabe resaltar que a nivel mundial la finalidad y propiedad de las plantaciones forestales comerciales varían notablemente entre regiones, se estima que en el mundo existen cerca de 100 millones de hectáreas de plantaciones forestales comerciales. La mitad son de crecimiento medio y lento y la otra de crecimiento medio y rápido. Alrededor de 65% de ellas son de coníferas y 35% de latifoliadas (Muñoz, *et al.*, 2009).

En México se iniciaron las plantaciones forestales comerciales en la década de 1950, cuando se plantaron alrededor de 6,400 ha de eucaliptos con la finalidad de contar con materia prima para fabricar tableros de fibra en el estado de San Luís Potosí, actualmente existen aproximadamente 22 millones de hectáreas aptas para desarrollar plantaciones forestales comerciales, de las cuales se han definido 13.9 millones de hectáreas como prioritarias con calidad de suelos y climas favorables para obtener un crecimiento rápido, mano de obra disponible y un mercado interno que demanda más materias primas forestales cada día (CONAFOR, 2012). El género *Eucalyptus* es uno de los mayormente utilizados para dichos fines, es originario de Australia y pertenece a la familia de las Mirtáceas, que comprenden una enorme diversidad biológica, con más de

700 especies distribuidas en regiones, esencialmente de climas mediterráneos, tropicales y subtropicales. Se estima que fue en el siglo XVIII cuando se inició la propagación de eucaliptos en diferentes latitudes del mundo, llegando a distribuirse con éxito en varios países de Europa, Asia, África, América y en algunas islas del pacifico. En la actualidad, es cultivado a nivel mundial como una fuente de fibra para producir pulpa de celulosa (Bernal, *et al.*, 2009).

A nivel nacional en las plantaciones forestales de *Eucalyptus* podemos encontrar a *E. grandis* y *E. urophylla* en los estados de Oaxaca, Sinaloa, Tabasco y Veracruz; *E. camaldunensis* en Chihuahua, Nayarit y Jalisco; *E. globulus* y *E. nitens* en Michoacán (Martínez, *et al.*, 2006).

La empresa REXCEL tiene plantadas alrededor de 3500 ha de Eucaliptos, la mayoría de estas se encuentran en el sureste del país. En la actualidad en el Estado de México y Michoacán se tienen establecidas 1,400 ha, de las cuales 1,200 ha se encuentran en los Municipios de Maravatio, Ciudad de Hidalgo, Tuxpan, Zitácuaro e Irimbo, siendo Maravatio en donde se tiene la mayor superficie plantada. Las especies de *Eucalyptus nitens* y *E. globulus* son las más utilizadas en esta zona.

Recientemente se ha detectado la mortalidad de árboles de eucalipto en las plantaciones, inicialmente en forma aislada y posteriormente en grupos, esto genera pérdidas tanto económicas como de materia prima para la empresa.

En las plantaciones del Estado de Nayarit reportan a *Botryosphaeria rhodina* Berk. & M.A. Curtis y su anamorfo *Lasiodiplodia theobromae* Griffon & Maubl. y a *B. dothidea* y su anamorfo *Fusicoccum* causando canchros en *E.*

camaldulensis en arboles jóvenes y adultos jóvenes que están bajo una condición de estrés (Cruz, *et al.*, 2001 y Cibrián, *et al.*, 2007). En el oriente de Michoacán, en plantaciones de *E. globulus* y *E. nitens* después de heladas atípicas y sequías prolongadas se registró una declinación severa en árboles de tres a siete años de edad, los árboles afectados inicialmente tuvieron muerte de puntas y ramas, con necrosis de 10 a 100 cm de longitud, los árboles más afectados murieron y sobre su corteza se observaron picnidios subcorticales de color negro oscuros.

Por otro lado es importante resaltar que el éxito de una plantación forestal depende entre otros factores de la calidad de las plantas producidas en vivero, la que está definida por su comportamiento final en el terreno. Este último está regulado por los atributos morfológicos y fisiológicos de las plantas y por su interacción con el ambiente en el sitio de plantación. Por esta razón caracterizar el efecto que poseen las labores culturales en vivero, el comportamiento de las plantas producidas y la posterior retroalimentación que debe generarse respecto al desempeño que los cultivos manifiestan en el terreno, son elementos claves en una plantación con fines comerciales (Monsalve *et al.*, 2009). La fase de vivero resulta esencial por ser el punto de partida, además de ser el único momento en el que es posible realizar un control sobre algunas variables del proceso que afectan a la producción de planta. Por este motivo, la calidad puede ser “moldeada” en este modo de cultivo en vivero, siendo la fertilización, el contenedor, el sustrato, y su manejo los elementos de cultivo que más la condicionan. El mantenimiento prolongado

de las plántulas en contenedores de volumen reducido puede causar malformación de la raíz (Arrieta, 2010).

Uno de los caracteres morfológicos de gran importancia es el sistema radicular, el cual deberá presentar raíces suficientes para establecer rápidamente un equilibrio con la parte aérea, es decir debe estar ramificado equilibradamente, con numerosas raicillas laterales y abundantes terminaciones meristemáticas. Esta característica es esencial para el correcto desempeño de las plántulas después de la siembra en condiciones adversas (Freitas *et al.*, 2005). La malformación del sistema radicular es común en el sector forestal, ocurre en la mayoría de las especies y clones de eucaliptos. (Alfenas *et al.*, 2004). La malformación del sistema radicular impide la absorción de agua y nutrientes en cantidades suficientes a las requeridas por la planta, resultando una sintomatología típica de deficiencia hídrica y nutricional y en consecuencia un desequilibrio de la parte aérea y radicular.

En campo las plantas afectadas tienen menor crecimiento y generalmente en época de estiaje mueren a consecuencia del enrollamiento y estrangulamiento de las raíces. Las plantas con el sistema radicular poco profundo se tornan más vulnerables a la competencia con malezas, cambios de temperatura, disponibilidad de agua, características físicas del suelo y deficiencias nutricionales en los meses subsecuentes a la plantación. En general estos efectos se agravan en el segundo o tercer año de la plantación, en consecuencia se acentúa un desequilibrio de la parte aérea y radicular

cuando la planta demanda mayor cantidad de agua y nutrientes para su desarrollo. (Alfenas *et al.*, 2004).

Es importante reconocer la susceptibilidad incrementada que tienen las raíces estranguladas con patógenos oportunistas, los cuales son capaces de contribuir en el daño e incluso causar la muerte de la planta. (Cibrián *et al.*, 2007).

OBJETIVOS

Objetivo general

- Determinar las deformaciones morfológicas que se producen en la arquitectura de los sistemas radiculares de *Eucalyptus* en la plantación.
- Evaluar los efectos de estas deformaciones en los resultados de las plantaciones, a nivel de su situación fitosanitaria.

Objetivos particulares

- Caracterizar el grado de enredamiento de las raíces de árboles de *E. globulus* y *E. nitens*.
- Conocer los patógenos relacionados con la mortalidad de árboles de *E. globulus* y *E. nitens* en las plantaciones forestales.

REVISIÓN DE LITERATURA

Genero *Eucalyptus*

La palabra “*Eucalyptus*” proviene del griego: *eu* que significa bien, y *Kalyptos*, que significa cubierto, refiriéndose a la cobertura de los botones florales por una pestaña u “operculum”. La clasificación divide el género *Eucalyptus* de L'Héritier en siete subgéneros. Los tipos de bosques de los cuales forma parte el género *Eucalyptus*, están en estrecha conexión con las isohietas que caracterizan el clima del continente australiano, del cual es nativo. Los eucaliptos son arboles austro-malayos, con una distribución natural en las latitudes 7° N a 43° 39' S. (Martínez-Ruiz *et al.*, 2006).

***Eucalyptus globulus* Labill.**

Conocido en inglés como “bluegum *eucalyptus*” o eucalipto goma azul y eucalipto común en español, y también como “Tasmanian bluegum”, es una de las especies de eucalipto mejor conocidas a nivel mundial. (Skolmen *et al.*, 1990). Su descripción se debe a J. S. Labillardiere a partir de un espécimen recolectado en el sudeste de Tasmania en 1792. Aparece de forma natural en el sur de Australia (Victoria), Tasmania y las islas del estrecho de Bass. Se extiende entre las latitudes 38° 26' a 43° 30' Sur. Crece en gran variedad de substratos si bien es muy común en zonas graníticas y arenosas. En general no se presenta en suelos calcáreos o fuertemente alcalinos ni en zonas mal drenadas. Es una especie muy sensible a la competencia de otras plantas,

tanto por los nutrientes como por la luz. Como carácter diferencial es la única especie de eucalipto que presenta flores y frutos aislados. No obstante, en ocasiones se encuentran especímenes con dos o tres frutos. Su corteza es muy variable pudiendo ser desde plateado a pardo anaranjado. Cuando es adulto la corteza se desprende en tiras (<http://www.agrobyte.com/publicaciones/eucalipto/indice.html>).

***Eucalyptus nitens* Deane y Maiden**

"Nitens" es una palabra latina para "brillar" o "brillante", y se refiere a las hojas, brotes, frutos y cortezas. Los frutos, en particular, tienen un distintivo, aspecto brillante, barnizado. Es un árbol de tronco alto, normalmente 40 a 70 m de altura y en ocasiones hasta 90 m, con un diámetro a la altura del pecho de 1.2 metros o más, por lo general tiene una buena forma y un fuste recto, que puede ser 1/2 o 2/3 de la altura del árbol, corteza lisa, de color grisáceo, se descortezan en tiras largas, a veces con una media basal relativamente delgadas de corteza rugosa de unos pocos metros, plántulas y árboles jóvenes característico verde ladró. Las hojas de las plántulas y los árboles jóvenes son opuestas, sésiles, ovales, glauco, azul; plántulas 10.4 x 4.2 cm, los menores 8,5-17 x 4,5-8 cm; adulto hojas alternas, pecioladas, lanceoladas a estrecha lanceoladas, de 13-24 x 1,5-2,5 cm, verde, con coloras. Su inflorescencia es simple, axilar, 7 flores, pedúnculos angular de algo aplanada; pedículos generalmente ausente, a veces muy corto; brotes cilíndrica u ovoide, con frecuencia angular o con nervaduras, 6.7 x 3 mm; opérculos cónicos. Frutos

sésiles, ovoides, a menudo bastante crucería, 7.4 x 6.4 mm, con una superficie brillante, disco estrecho, descendiendo, las válvulas de 3 o 4, sobre el nivel de borde. Es uno de los más tolerantes a heladas de las especies de eucalipto de rápido crecimiento comercial y es moderadamente resistente a la sequía, además es de rápido crecimiento, adaptabilidad a distintos sitios, excelente respuesta al manejo y aptitud de su madera para diversos usos y aplicaciones. Su distribución natural es en el Sudeste de Australia específicamente en regiones montañosas de Victoria Central y al este de Nueva Gales del Sur. (30° a 38° Latitud sur). En altitudes desde 600 hasta los 1600 m snm, con temperaturas medias anuales de 2.21 a 26 grados Celsius, con precipitación media anual de 750-1750 mm. (Orwa *et al.*, 2009).

Importancia de la calidad de planta

El éxito de una plantación forestal depende de entre otros factores, de la calidad de las plantas, la que está definida por su comportamiento final en terreno. Este último está regulado por los atributos morfológicos y fisiológicos de las plantas y por su interacción con el ambiente en el sitio de plantación (Monsalve *et al.*, 2009).

Actualmente la producción en contenedores de planta de eucalipto es el método más utilizado en viveros con fines de plantaciones comerciales, ya que el manejo de las plantas, tanto en el vivero y en el proceso de transferencia al campo es más fácil y permite la producción de plántulas en un espacio más pequeño. Sin embargo, las pequeñas dimensiones de los contenedores pueden

causar problemas en la formación de las plántulas, especialmente en el sistema radicular mediante la deformación de las raíces, si estas plantas permanecen más tiempo de lo necesario en el vivero. Esta deformación del sistema radicular impide el desarrollo de la planta en campo (Freitas *et al.*, 2009). Contenedores cuyas paredes no tienen perforaciones pueden formar plántulas con deformaciones radiculares que se mantienen aun después de la fase de vivero, este problema se ha presentado en plantaciones con especies de *Pinus* y *Eucalyptus* sp. En los últimos años investigadores han realizado pruebas de viabilidad técnica de producción de plántulas en el sistema Finlandés de contenedores tipo copperblock donde se obtuvieron mayores valores en los indicadores de calidad en la fase de vivero como en campo. También permite el libre crecimiento de las raíces sin que se produzca la deformación y, además de esta ventaja sobre los recipientes rígidos es que además permite la mecanización del proceso, maximizando la producción. (Freitas *et al.*, 2005).

Los primeros conceptos de calidad de planta donde ya se utilizaron claramente criterios de diámetro al cuello y altura de la plántula fueron en los años de 1930 a 1940 en publicaciones de manuales (Sánchez *et al.*, 2004). La calidad de la planta producida en vivero es uno de los componentes más importantes de los que depende el éxito de un proyecto de restauración forestal, de reforestación o el establecimiento de una plantación comercial. Este factor está determinado por las características morfológicas, fisiológicas, genéticas y sanitarias de la planta; las cuales suelen estar determinadas por el ambiente y la tecnología del vivero donde fue producida. Pero a la vez, también es muy

importante tener en cuenta que la calidad no es un concepto absoluto, y que factores como la especie arbórea y el lugar de plantación modulan fuertemente este concepto (Rodríguez, 2008). Por estos motivos, es complejo establecer métodos sencillos para determinar la calidad de la planta forestal, ya que, en general, no son decisivos por sí mismos y además, los diversos parámetros o índices de calidad descritos para algunas especies presentan diversos grados de exigencia en función de las condiciones de la plantación. Las características de la planta a utilizar, según las especies, vendrán determinadas por los valores mínimos exigibles de los siguientes parámetros (Rodríguez, 2008):

- a) Altura: se define por la longitud desde el extremo de la yema terminal hasta el cuello de la raíz.
- b) Robustez: se mide por el diámetro del cuello de la raíz, expresado en mm. Se comprobará su desarrollo correspondiente a las alturas o diámetros normales requeridos para cada especie.
- c) Forma del sistema radical: debe estar ramificado equilibradamente, con numerosas raicillas laterales y abundantes terminaciones meristemáticas, y no haberse perdido en proporción apreciable durante el arranque.
- d) Hojas y ramificaciones: las plantas perennes deberán tener el tipo de follaje que corresponde a su edad en vivero, debiendo tener buenas ramificaciones. La planta de tallo espigado y sin ramificar deberá ser rechazada, pues no dará en el cuello de la raíz los diámetros mínimos exigibles.

e) Estado: no debe mostrar signos de enfermedad, ni presentar coloraciones que puedan atribuirse a deficiencias nutritivas. No debe confundirse la coloración de deficiencias con el cambio de coloración que experimentan algunas especies debido a las heladas, que en nada merma la calidad de la planta.

f) Esbeltez: proporción entre la altura y el diámetro del cuello de la raíz.

g) PA/PR: proporción entre la masa de la parte aérea y la parte radical.

Por ello, es difícil establecer métodos sencillos para determinar la calidad de la planta forestal, ya que, en general, no son decisivos por sí mismos y además, los diversos parámetros o índices de calidad descritos para algunas especies presentan diversos grados de exigencia en función de las condiciones de la plantación. El contenedor a utilizar, el tipo de sustrato, la fertilización, la micorrización controlada, el manejo del agua y de la luz o el pre acondicionamiento al estrés hídrico son, entre otras, herramientas que bien utilizadas pueden proporcionar la calidad deseada. El manejo de estas variables condiciona la calidad morfológica, fisiológica y sanitaria (Ortega *et al.*, 2006).

Importancia de la calidad de raíz

Uno de los caracteres morfológicos de gran importancia como se ha mencionado antes, es el sistema radicular, el cual deberá presentar raíces suficientes para establecer rápidamente un equilibrio con la parte aérea, es decir debe estar ramificado equilibradamente, con numerosas raicillas laterales y abundantes terminaciones meristemáticas. Esta característica es esencial

para el correcto desempeño de las plántulas después de la siembra en condiciones adversas (Freitas et al., 2005). La planta que presente alguna de las siguientes características, no podrá ser seleccionada como planta de calidad: sistema radicular deformado, desequilibrio entre la parte aérea y radicular, raíces principales intensamente enrolladas o torcidas, raíces secundarias ausentes o seriamente amputadas, la raíz principal enrollada o gravemente retorcida.

Con el avance de las técnicas, aparecen desde los años 90 métodos de clasificación y control de plántulas que incluyen la calidad del sistema radicular. En estos sistemas se revisa la simetría de la masa radical, el volumen de raíces y la presencia de al menos una raíz pivotante. (Sánchez et al., 2004).

Las plantas más robustas y con un porcentaje alto de emisión de raíces son más resistentes a las condiciones de estrés ambiental y por consecuencia garantizan mayor sobrevivencia en campo. (Freitas et al., 2005). Por ejemplo trabajos realizados en Colombia con *Sterculia apetala* demostraron que plántulas con diámetros al cuello de la raíz entre 1.0 y 1.5 cm de diámetro presentaron mayor desarrollo y sobrevivencia en campo (Sánchez et al., 2004).

Malformación de la raíz

La deformación de la raíz se debe principalmente a impedimento mecánico, debido a que durante su desarrollo la raíz encuentra una barrera y gira en busca de menor resistencia mecánica. El impedimento puede ser causado por factores como: porosidad, densidad, contenido de

humedad, textura, tamaño de agregados, macroestructura y ausencia de bioporos continuos en el suelo. De esta forma la deformación también puede ser causada por el tamaño del contenedor (Arrieta, 2010).

La malformación del sistema radicular impide la absorción de agua y nutrientes en cantidades suficientes a las requeridas por la planta, resultando una sintomatología típica de deficiencia hídrica y nutricional y en consecuencia un desequilibrio de la parte aérea y radicular. Una de las causas más comunes en la malformación de las plántulas en vivero es el uso de recipientes inadecuados que promueven la distribución anormal de las raíces. En campo las plantas afectadas tienen menor crecimiento y generalmente en época de estiaje mueren a consecuencia del enrollamiento y estrangulamiento de las raíces. Los daños varían según la especie, el genotipo, la edad de la planta y la disponibilidad de agua y nutrientes en el suelo. Los problemas de plántulas de mala calidad dan como resultado una plantación no uniforme. (Alfenas *et al.*, 2004; Mafia *et al.*, 2005).

Las plantas con el sistema radicular poco profundo se tornan más vulnerables a la competencia con malezas, cambios de temperatura, disponibilidad de agua, características físicas del suelo y deficiencias nutricionales en los meses subsecuentes a la plantación. En general estos efectos se agravan en el segundo o tercer año de la plantación, en consecuencia se acentúa un desequilibrio de la parte aérea y radicular cuando la planta demanda mayor cantidad de agua y nutrientes para su desarrollo.

Además las plantas con sistema radicular superficial son más propensas a ser derribadas por el viento. (Alfenas *et al.*, 2004).

La malformación de la raíz esta generalmente asociada a la deformación del sistema radicular en plántulas en la fase de vivero o al momento de la plantación, a la inadaptación de la especie a la región de la plantación, a los suelos compactados o propensos a inundaciones. El establecimiento de plántulas “pasadas” con malformación y enrollamiento de la raíz, son uno de los mayores problemas en las plantación y desarrollo inicial de la planta en campo. El tipo de contenedor, el número de ranuras y la edad de la planta afectan la arquitectura del sistema radicular y en consecuencia el éxito de la plantación. La malformación del sistema radicular es común en el sector forestal, ocurre en la mayoría de las especies y clones de eucaliptos. (Alfenas *et al.*, 2004).

Se debe evitar la malformación del sistema radicular en plántulas en vivero y a la hora de plantarlas en campo. Los tubetes en forma de pirámide truncada invertida de cuatro estrías o cónicos con seis estrías son los más adecuados para un mejor direccionamiento del sistema radicular. Además las plántulas no deben permanecer mucho tiempo en los contenedores antes de ser plantadas en campo, en general se tienen plántulas bien formadas a los 70-90 días de edad y estas son menos propensas a malformaciones de la raíz. Por otra parte, se debe utilizar un sustrato con características de buen drenaje, granulometría adecuada, evitando mezclas que contengan gránulos gruesos que induzcan a la torcedura o bifurcación de las raíces. (Alfenas *et al.*, 2004).

Tiempo de mantenimiento en vivero

Para el caso de *Eucalyptus* spp., las practicas utilizadas comúnmente en vivero incluyen, entre otras, manejo radical (poda de raíces), manejo de tallo (poda de ramas laterales y apical), manejo del riego y fertilización, que en conjunto influyen en la lignificación de la planta, el potencial de crecimiento radical y su incremento en la resistencia a las heladas (Monsalve *et al.*, 2009).

La fase de vivero resulta esencial por ser el punto de partida, además de ser el único momento en el que es posible realizar un control sobre algunas variables del proceso que afectan a la producción de planta. Por este motivo, la calidad puede ser “moldeada” en este modo de cultivo en vivero, siendo la fertilización, el contenedor, el sustrato, y su manejo los elementos de cultivo que más la condicionan.

El mantenimiento prolongado de las plántulas en contenedores de volumen reducido puede causar malformación de la raíz (Arrieta, 2010).

Importancia del trasplante a campo

El principio fundamental en el que se basan los parámetros de calidad hasta hoy desarrollados, es el de la posibilidad de predicción de la sobrevivencia de la planta en campo y su potencial para desarrollarse rápidamente durante los primeros meses o años de crecimiento en la plantación (Sánchez *et al.*, 2004).

Las prácticas de vivero ayudan a mejorar el desempeño de las plantas en terreno (Monsalve *et al.*, 2009). Asimismo, el control de la calidad de planta no debe finalizar cuando ésta sale del vivero, ya que, la prevención de la desecación de las plantas durante su transporte y la técnica de plantación utilizada son otros factores que determinan la calidad funcional de la planta y que pueden destruir la calidad obtenida en el vivero y afectar negativamente al desarrollo de la planta en campo. Dada la estrecha relación que existe entre la calidad de la planta y la forma en que ésta es cultivada, el control de la calidad de la planta se podría lograr de manera adecuada si se ajustan las condiciones de cultivo en vivero y se relacionan con los atributos y procesos funcionales que determinan el establecimiento de las plantas en el campo (Ortega *et al.*, 2006).

Incidencia de patógenos

Las enfermedades son causadas tanto por agentes bióticos como abióticos y ocasionan cambios fisiológicos o morfológicos dentro de la planta, afectando tanto la cantidad como la calidad de la producción.

El efecto del enrollamiento del sistema radicular es devastador para la planta, se presenta un lento crecimiento, generalmente no hay muerte inmediata, la planta sufre las consecuencias en la plantación y es cuando se presentan síntomas como reducción de crecimiento en altura, diámetro, tamaño de hojas, muerte descendente y pobre estructura de raíz. Es importante reconocer la susceptibilidad incrementada que tienen las raíces estranguladas con patógenos oportunistas, los cuales son capaces de contribuir en el daño e

incluso causar la muerte de la planta. El hongo *Botryosphaeria* puede atacar con éxito en este tipo de plantas (Cibrián *et al.*, 2007). Por ejemplo, raíces enrolladas o deformes de plántulas de pinos cultivadas en contenedores tienen mayor tasa de mortalidad, susceptibilidad a la sequía después del trasplante, así como mayor predisposición a enfermedades debido al estrés ocasionado por la deformación de la raíz (Arrieta, 2010).

Las principales enfermedades que se presentan en las plantaciones forestales comerciales son las de follaje, canchros, pudriciones de raíz y las royas (Cibrián *et al.*, 2007). En muchos viveros forestales se ha reportado la presencia de *Botrytis cinerea* y *Cylindrocladium spp.* como principales patógenos que ocasionan pudrición de raíces en plantas de eucaliptos. Los daños causados por estos patógenos depende de la intensidad del ataque, que se asocia con las condiciones ambientales y de estrés de la planta (Fortes *et al.*; 2007).

La familia Botryosphaeriaceae

La familia Botryosphaeriaceae, única en el orden Botryosphaeriales, clase Dothideomycetes, incluye más de 1500 taxones, considerando teleomorfos y anamorfos. Los miembros de esta familia (Botryosphaeriales, Ascomycetes), fueron descritos por primera vez en la década de 1820, con especies tales como *Sphaeria* (Fries) (Sandoval, 2012). El género *Botryosphaeria* se estableció hasta 1863, estudios posteriores se han centrado en este género y sus anamorfos como patógenos, sobre todo en agricultura,

viveros y plantaciones forestales. En la actualidad, más de 2000 nombres están vinculados a esta familia, incluyendo teleomorfos como *Botryosphaeria* y anamorfos como, *Fusicoccum*, *Dothiorella*, *Lasiodiplodia*, *Sphaeropsis*, entre otros (Schoch *et al.*, 2006, Slippers & Wingfield., 2007).

Es una familia amplia en especies con una distribución cosmopolita, encontrándose en un amplio rango de monocotiledóneas, dicotiledonéas y gimnospermas, específicamente sobre ramas leñosas, hojas herbáceas, tallos de gramíneas, yemas y en los talos de líquenes, comportándose como saprófitos, parásitos y endofíticos, además de que pueden causar enfermedades como pudrición del pedúnculo de frutos, tizón, canchros, gomosis y muerte regresiva o descendente (Smith *et al.* 1996, Mohali *et al.*, 2005).

Algunos miembros de Botryosphaeriaceae, se encuentran entre los patógenos más agresivos en los conjuntos de hongos endófitos comunes. En algunos casos el hongo puede mantenerse latente en el hospedante, sin embargo cuando este último entra en un estado de estrés, la capacidad de infección del hongo se desata, haciendo a estos hongos una amenaza significativa para las plantaciones agrícolas, forestales e incluso y los ecosistemas de bosques nativos. Por ello es de relevante importancia maximizar la comprensión de la ecología y de la patología de la familia Botryosphaeriaceae, especialmente en lo que respecta a su naturaleza endofítica, riqueza de especies, y la interacción huésped-hongo-medio ambiente (Slippers & Wingfield, 2007).

CONCLUSIONES

Es de vital importancia los cuidados y tratamientos de la planta en vivero ya que su sobrevivencia y desarrollo dependerán en gran medida de estos, otro factor a tener en cuenta son las labores culturales en campo, el tratamiento previo al suelo y al momento del establecimiento. Tener en cuenta las condiciones topográficas y climáticas de la zona para elegir la especie que mejor se adapte puede ser también un factor determinante ya que en conjunto con los otros factores pueden ocasionar condiciones de estrés a la planta que se refleja en la susceptibilidad a plagas y enfermedades. El éxito de una plantación dependerá en gran parte de las condicionantes antes mencionadas.

Capítulo I

Los hongos causantes de la muerte regresiva en ramas y tallos de *Eucalyptus globulus* y *E. nitens* fueron identificados como *Botryosphaeria eucalyptorum* y *N. parvum*, lo cual se confirmó por análisis molecular. Siendo este el primer reporte de estas dos especies de hongos en México causando esta enfermedad. Además se confirma la habilidad de estos patógenos para la infección de especies de eucalipto. Solo se encontró en *E. nitens* a *B. eucalyptorum* teleomorfo de *N. eucalyptorum*.

Capítulo II

Con base en los resultados se concluye que uno de los principales problemas que se presenta en las plantaciones *Eucalyptus globulus* y *E. nitens* en el Estado de Michoacán, es el de calidad de raíz ya que de las 90 observadas se tiene que el 77.7% de estas presentan daño interno debido a la malformación y estrangulamiento del sistema radicular. La calidad de raíz puede influir en la condición de salud del árbol ya que una raíz enredada limita la absorción de agua y nutrientes creando un estado de estrés y por consecuencia facilita la incidencia de patógenos. Será importante realizar un análisis de la calidad de planta producida, su tiempo de permanencia en vivero, tipo de contenedor y labores culturales, para evaluar el sistema radicular al momento de su trasplante a campo.

LITERATURA CITADA

- Alfenas, A.C., Zauza, E.A.V., Máfia, R.G. & Assis, T.F. 2004. Clonagem E Doenças Do Eucalipto. Viçosa: Editora UFV. 442p.
- Arrieta, R.B.G. 2010. Malformación de raíz en vivero de portainjertos de cítricos tolerantes a VTC. aspectos anatómicos y fisiológicos. Tesis Doctoral. Colegio de Postgraduados. Edo de México. 117 p.
- Bernal, L. I., Juárez, P. J., Santos G. C., Vázquez, S. R., Zavaleta M. L., Azpiroz R. H., Parraguirre, L. C. & Garza, L. 2009. Identificación del agente patógeno del cancro del eucalipto en plantaciones del Sureste de México. *Ciencia forestal en México*, 34(105), 17-35.
- Cibrián, T.D., Alvarado, D.R. & García D.S.E (Eds.). 2007. Enfermedades forestales en México/Forest Diseases in México. Universidad Autónoma Chapingo; CONAFOR-SEMARNAT, México; Forest Service USDA, EUA, NRCAN Forest Service, Canadá y Comisión Forestal de América del Norte, COFAN, FAO. Chapingo, México. 587 p.
- Cruz, A. J., Cibrián T. D., Ramírez M. H., & García D. S. E. (2001). Etiología y síndrome de los canchros *Cryphonectria*, *Lasiodiplodia* y *Fusicoccum* en Eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh). *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 7 (1): 27-37.

Comisión nacional Forestal. 2012. Plantaciones Forestales Comerciales.

Disponibile en: <http://www.conafor.gob.mx/portal/index.php/temas-forestales/plantaciones>. Consultado el 25 de enero de 2013.

Fortes, F.O., Silva, .A.C.F., Almanca, M.A.K. & Tedesco, S.B. 2007. Promoção de enraizamento de microestacas de um clone de *Eucalyptus* sp. por *Trichoderma* spp. *Revista Árvore*, Viçosa-MG, 31(2):221-228.

Freitas, T.A.S., Barroso, D.G., Mendça, A.V.R., Carneiro, J.G.A. & Penchel, R.M. 2009. Manejo de miniestacas de eucalipto no setor de enraizamento para a produção em sistema de blocos. *Sci. For., Piracicabadez* 37(8):483-490.

Freitas, T.A.S., Barroso, D.G., Carneiro, J.G.A., Penchel, R.M., Lamônica, K.R. & Ferreira, D.A. 2005. Desempenho radicular de mudas de eucalipto produzidas em diferentes recipientes e substratos. *Revista Árvore*, Viçosa, 29(6): 853–861.

Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática: X Censo de Población y Vivienda 1980 (Cartografía Geoestadística del Estado de Michoacán), Vol. I Tomo 16, México, 1983, 171 págs.

Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática: Síntesis Geográfica del Estado de Michoacán, Iztacalco, México, D.F., 1985, 315 págs.

Mafia, R.G., Alfenas, A.C., Siqueira, L., Ferreira, E.M., Leite, H.G. & Cavallazzi, J.R.P. 2005. Critério técnico para determinação da idade ótima de mudas de eucalipto para plantio. *Revista Árvore, Viçosa-MG*, 29(6): 947-953.

Manual de selvicultura. Disponible en: <http://www.agrobyte.com/publicaciones/eucalipto/indice.html>. Consultado el 10 de enero de 2013.

Martínez, R. R., Azpíroz, R. H., Rodríguez, J., Cetina, A. M. & Gutiérrez, E. M. 2006. Importancia de las plantaciones forestales de *Eucalyptus*. *Revista de Sociedad Cultura y Desarrollo Sustentable*. 2 (3): 825-846.

Mohali, S., Burgess, T. I., Wingfield, M.J. 2005. Diversity and host association of the tropical tree endophyte *Lasiodiplodia theobromae* revealed using simple sequence repeat markers. *Forest Pathology* 35: 385-396.

Monsalve, J., Escobar, R., Acevedo, M., Sánchez, M. & Coopman, R. 2009. Efecto de la concentración de nitrógeno sobre atributos morfológicos, potencial de crecimiento radical y estatus nutricional en plantas de potencial de crecimiento radical y estatus nutricional en plantas de *Eucalyptus globulus* producidas a raíz cubierta. *BOSQUE* 30(2): 88-94.

Muñoz, F. J., Coria, A. V., García, S.J. & Balam, C. M. 2009. Evaluación de una plantación de tres especies tropicales de rápido crecimiento en Nuevo Urecho, Michoacán. *Ciencia Forestal en México*. 34 (106) 61-87.

- Ortega, L. U., Kindelman, D. de O. A., Hevia, C. A., Álvarez, R. E. & Majada, G. J. 2006. Control de calidad de planta forestal. Revista Tecnología agroalimentaria. 2º época. Número 3. Boletín informativo del SERIDA.
- Orwa C, Mutua A, Kindt R, Jamnadass R, Simons A. 2009. Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0 (<http://www.worldagroforestry.org/af/treedb/>)
- Sandoval, S. M. 2012. Asociación de la muerte descendente de mango (*Mangifera indica* L.) con la apudrición del pedúnculo en la costa Pacífico de México. Tesis de Maestría. Colegio de posgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México.
- Schoch, C. L., Shoemaker, R. A., Seifert, K. A., Hambleton, S., Spatafora, J. W. & Crous, P. W. 2006. A multigene phylogeny of Dothideomycetes using four nuclear loci. *Mycologia* 98(6): 1041-1052.
- Slippers, B. & Wingfield, M. J. 2007. Botryosphaeriaceae as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact. *Fungal Biology Reviews*, 2(1): 90-106.
- Smith, H., Wingfield, P. W. & Coutinho, T. A. 1996. *Sphaeropsis sapinea* and *Botryosphaeria dothidea* endophytic in *Pinus* spp. And *Eucalyptus* spp. In South Africa. *South Africa Journal Botany* 62: 86-88.

CAPÍTULO I

***Botryosphaeria eucalyptorum* (*Neofusicoccum eucalyptorum*) y *N. parvum* PATOGENOS EN PLANTACIONES DE EUCALIPTO EN MÉXICO**

Jesús G. **De la Mora-Castañeda**, Omar A. **Pérez-Vera**¹, David **Cibrián-Tovar**¹,
Silvia E. **García-Díaz**¹, Antonio **Villanueva-Morales**

¹División de Ciencias Forestales (Departamento de Ecología y Silvicultura),
Universidad Autónoma Chapingo. Km 38.5 Carretera México-Texcoco,
Chapingo, Estado de México. C.P. 56230.

Jesús G. De la Mora-Castañeda, Omar A. Pérez-Vera, David Cibrián-Tovar, Silvia E. García-Díaz, Antonio Villanueva-Morales *Botryosphaeria eucalyptorum* (*Neofusicoccum eucalyptorum*) y *N. parvum*
PATÓGENOS EN PLANTACIONES DE EUCALIPTO EN MÉXICO. Sometido a la Revista de Ciencias Forestales y del Ambiente, 25 de enero del 2013

***Botryosphaeria eucalyptorum* (*Neofusicoccum eucalyptorum*) y *N. parvum*
PATÓGENOS EN PLANTACIONES DE EUCALIPTO EN MÉXICO**

***Botryosphaeria eucalyptorum* (*Neofusicoccum eucalyptorum*) and *N. parvum*
PATHOGENS IN EUCALYPTUS PLANTATIONS FROM MEXICO**

Jesús Germán De la Mora Castañeda¹ y David Cibrián Tovar²

RESUMEN

En plantaciones comerciales de Eucalipto en el Estado de Michoacán, México, se observó muerte regresiva y canchros en el fuste de *Eucalyptus globulus* y *E. nitens* de tres a siete años de edad. Se colectaron tallos, se aisló a *Botryosphaeria eucalyptorum* y su anamorfó *Neofusicoccum eucalyptorum* de *E. nitens* y a *N. parvum* de ambas especies, se identificaron morfológicamente y molecularmente amplificando la región intergenética (ITS) de los genes ribosomales rADN mediante la técnica de amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Las pruebas de patogenicidad en varetas mostraron que *N. eucalyptorum* y *N. parvum* llegan a causar lesiones necróticas. Sin embargo, las varetas de *E. globulus* presentaron el mayor tamaño de lesión a los 10 días con *N. parvum* de Francisco Maldonado. En campo, *N. eucalyptorum* de Agustina Correa fue el más patógeno a los 48 días. Este es el primer reporte de estas dos especies de hongos en México causando esta enfermedad en plantaciones de eucalipto.

Palabras clave:

Botryosphaeriaceae, canchros, hongos, ITS-rADN.

ABSTRACT

In commercial plantations of Eucalyptus in the State of Michoacán, Mexico, was observed dieback and stem cankers of *Eucalyptus globulus* and *E. nitens* three to seven years old. Stems were collected, was isolated *Botryosphaeria eucalyptorum* and its anamorph *Neofusicoccum eucalyptorum* of *E. nitens* and *N. parvum* of both species were identified morphologically and molecularly amplifying the intergenic region (ITS) of the ribosomal genes by rDNA technique amplification chain reaction (PCR). Pathogenicity tests showed that in vitro *N. eucalyptorum* and *N. parvum* come to cause necrotic lesions. However, the stems of *E. globulus* had the highest lesion size at 10 days with *N. parvum* of Francisco Maldonado. In field, *N. eucalyptorum* Agustina Correa was the most pathogenic at 48 days. This is the first report of these two species of fungus causing this disease in Mexico eucalyptus plantations.

Keywords: Botryosphaeriaceae, cankers, fungi, ITS-rDNA.

1 Tesista

2 Director

INTRODUCCIÓN

Las especies de Botryosphaeriaceae (Botryosphaerales, Ascomycetes) tienen una amplia distribución en el mundo, afectan un amplio rango de plantas dicotiledóneas, monocotiledóneas y gimnospermas. (Smith, Crous, Wingfield, Coutinho, & Wingfield B., 2001; Pérez, Wingfield, Slippers, Altier, & Blanchette, 2009, 2010; Mohali, Slippers, & Wingfield, 2006). El género *Botryosphaeria* infecta diferentes partes de su hospedante como el tallo, ramas, hojas y frutos (Mohali et al. 2006). Este grupo de hongos son patógenos endófitos, oportunistas, que inducen canchros en tallo y ramas, muerte regresiva, pudrición de frutos, pudrición del cuello, Damping-off en plántulas y gomosis (Mohali et al. 2006; Slippers & Wingfield, 2007). Para el género *Botryosphaeria* se identifican más de 20 anamorfos, los más comunes son *Botryodiplodia* Sacc., *Diplodia* Fr., *Dothiorella* Sacc., *Fusicoccum* Corda, *Lasiodiplodia* Ellis & Everh, *Macrophoma* (Sacc.) Berl. & Vog. y *Sphaeropsis* Sacc., estos anamorfos tienen características morfológicas más específicas y por ello se utilizan para una identificación taxonómica de las especies ya que su teleomorfo es raro en la naturaleza y sus anamorfos son comunes (Slippers & Wingfield, 2007), dichos anamorfos son fáciles de cultivar en medios axénicos y en partes de la planta hospedante (Mohali et al. 2006). Recientemente, los datos moleculares, en particular secuencias de ADN en combinación con características morfológicas, se usan para la identificación taxonómica de las especies de Botryosphaeriaceae (Slippers & Wingfield, 2007). Slippers et al. (2004) y Rodas,

Slippers, Gryzenhout y Wingfield (2009) mencionan que para especies de *Eucalyptus* se reporta a *Botryosphaeria dothidea* Moug.: Fr., *Neofusicoccum eucalyptorum* Crous, H. Smith et M. J. Wingf., *N. australe* Slippers, Crous, & M.J. Wingf., *N. parvum* Pennycook & Samuels y *N. eucalypticola* Slippers Crous & M.J. Wingf. causando canchros y muerte regresiva. En México existen alrededor de 25,000 ha de plantaciones comerciales de eucaliptos de rápido crecimiento (Pérez-Vera, Yáñez-Morales, Alvarado-Rosales, Cibrián-Tovar & García-Díaz, 2005) establecidas en Chihuahua, Estado de México, Guerrero, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, Tabasco, Tamaulipas y Veracruz con *E. camaldulensis* Dehnh., *E. globulus* Labill., *E. grandis* W. Hill, *E. nitens* Deane & Maiden, *E. pellita* F. Muell., y *E. urophylla* S.T. Blakede, de este conjunto de especies, destaca *E. urophylla* para el trópico húmedo, *E. nitens* y *E. globulus* para ambientes de mayor altitud y con tendencia a heladas (Comisión Nacional Forestal [CONAFOR], 2011); de igual manera, los estados de Veracruz y Tabasco son los que tienen mayor superficie plantada (Pérez-Vera et al. 2005). La producción de eucalipto se destina como chip para material combustible, madera para papel, chip para aglomerado, postería y madera aserrada para tarima y para muebles (Martínez-Ruiz, Azpíroz-Rivero, Rodríguez-De la O, Cetina-Alcalá & Gutiérrez-Espinoza, 2006). En las plantaciones del Estado de Nayarit, Cruz, Cibrián, Ramírez y García (2001) y Cibrián, Rosales y García, (2007) reportan a *Botryosphaeria rhodina* Berk. & M.A. Curtis y su anamorfo *Lasiodiplodia theobromae* Griffon & Maubl. y a *B. dothidea* y su anamorfo *Fusicoccum* causando canchros en *E. camaldulensis* en arboles jóvenes y adultos jóvenes que están bajo una condición de estrés. En el oriente de

Michoacán, en plantaciones de *E. globulus* y *E. nitens* después de heladas atípicas y sequías prolongadas se registró una declinación severa en árboles de tres a siete años de edad, los árboles afectados inicialmente tuvieron muerte de puntas y ramas, con necrosis de 10 a 100 cm de longitud, los árboles más afectados murieron y sobre su corteza se observaron picnidios subcorticales de color negro oscuros. Con los antecedentes de daños previos se planteó como objetivo principal de este estudio el identificar el organismo causante de la enfermedad y probar la patogenicidad en *Eucalyptus globulus* y *E. nitens* en varetas y en campo con *E. nitens*.

MATERIALES Y METODOS

Muestreo en campo

Se muestrearon parcelas con dos especies de *Eucalyptus* sp., con edad de tres a siete años de edad de la empresa Forestaciones Operativas de México S.A. de C.V (REXCEL) ubicada en el estado de Michoacán. Las parcelas muestreadas fueron Maravatio (MA), Agustina Correa (AC), Agustina Correa 1 (AC1) y Mireya Tinoco (MT) establecidas con *E. nitens*; y con la especie *E. globulus* las parcelas Francisco Maldonado (FM) y Raúl Armas (RA). Se seleccionaron un total de 30 árboles que presentaban canchros en el fuste y muerte regresiva de puntas y ramas. En las primeras cuatro parcelas fueron 20 árboles muestreados y 10 árboles en las dos parcelas restantes. De cada árbol se tomó una sección de 30 cm de longitud. El material colectado fue etiquetado,

puesto en bolsas de polipapel y almacenado en una hielera para su traslado al laboratorio de Parasitología Forestal de la División de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma Chapingo para su análisis.

Aislamiento e identificación del hongo

De las muestras recolectadas de cada árbol se seleccionaron 15 segmentos de seis mm², para un total de 450 submuestras; cada una se desinfectó con hipoclorito de sodio comercial al 3% durante tres minutos, posteriormente se lavó por tres minutos con agua destilada estéril tres veces y se secó con papel estéril. Se sembraron tres cajas de Petri con papa-dextrosa-agar (PDA al 2%, Bioxon) con cinco segmentos de tejido de las submuestras para un total de 90 cajas de Petri. Las cajas se incubaron a una temperatura de 25 ± 2 °C en luz natural de laboratorio durante cinco días, se cuantificaron y agruparon con base en el tipo de crecimiento, color de la colonia y presencia o ausencia de estructuras reproductivas. Del total de los aislamientos se seleccionaron seis (Maravatio, Agustina Correa, Agustina correa1, Mireya Tinoco, Francisco Maldonado y Raúl Armas) para ser purificados en PDA (2%). Estos aislamientos se conservaron en tubos inclinados de PDA (2%) y cubiertos con aceite mineral. Para la identificación por morfología se realizaron observaciones en un microscopio compuesto con preparaciones permanentes en glicerol al 50% acidificado con HCl de las estructuras reproductivas presentes de cada uno de los aislamientos en tejido vegetal. La identificación a nivel de género se realizó siguiendo las claves de Barnett y Hunter (1998) y Sivanesan (1984) y para especie, la de Smith et al. (2001).

Extracción del ADN, amplificación y secuenciación

Para confirmar la identificación morfológica de los aislamientos (MA, AC1, MT, FM y RA) se extrajo el ADN (ácido desoxirribonucleico) de cultivos de punta de hifa en PDA con el protocolo de Dneasy® plant mini kit (Qiagen). Las regiones internas ITS1 e ITS2 entre los genes ribosomales (rARN) localizadas entre la subunidad pequeña 18S rRNA, 5.8S y la subunidad larga 28S, con los iniciadores universales ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') e ITS5 (5'-GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G-3') (White, Bruns, Lee, & Taylor, 1990) por la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). El producto de PCR fue purificado usando el Kit Wizard SV (Promega, USA) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los productos de PCR fueron enviados a secuenciar en ambas direcciones en Macrogen (Corea). Las secuencias se compararon con las reportadas en la base de datos del banco de genes del NCBI (National Center for Biotechnology Information) (www.ncbi.nlm.nih.gov) por medio del programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>).

Pruebas de patogenicidad en campo

En la parcela Ma. del Carmen Alcantar de la empresa REXCEL establecida con *Eucalyptus nitens* de tres años de edad con una altura promedio de seis m y diámetros de nueve cm se probó la patogenicidad de los seis aislamientos bajo un diseño experimental de bloques al azar con cinco repeticiones por aislamiento y un testigo para un total de 35 árboles inoculados. La zona de inoculación se ubicó a una altura de 180 cm de la base del tallo,

una superficie de 10 cm de longitud se desinfectó con alcohol al 70% y se lavó con agua destilada estéril, posteriormente se hizo una herida de ocho mm de diámetro con la ayuda de un sacabocados levantando la corteza y se introdujo un disco con crecimiento del hongo de 12 días. En los árboles testigo se colocaron discos de PDA sin el hongo. La zona inoculada se cubrió con algodón, gasas húmedas estériles y se sellaron con Parafilm. A los 48 días después de la inoculación (ddi) se evaluó la longitud de la lesión. Los datos fueron sujetos a un análisis de varianza (Anova) y obtención de medias por diferencia mínima significativa (LSD), con el programa SAS v8.1. Para completar los postulados de Koch, se seleccionaron aislamientos de cada tratamiento completamente al azar para realizar el reaislamiento en PDA y se incubaron a una temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ en luz natural de laboratorio durante 12 días.

Pruebas de patogenicidad en varetas

Se inocularon los seis aislamientos en varetas de *Eucalyptus nitens* procedentes del estado de Michoacán y en varetas de *E. globulus* del Molino de las Flores, Texcoco (Edo. de México) en un diseño experimental completamente al azar con 10 repeticiones por aislamiento y un testigo para un total de 70 varetas para ambas especies de eucalipto. Previo a la desinfección, los extremos de las varetas de 22 cm de longitud fueron selladas con parafina para disminuir la desecación. Las varetas se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 5% durante cinco min y lavados tres veces por tres minutos con agua destilada estéril y secados con papel estéril. La inoculación se ubicó en la parte

media de la vareta con un sacabocado de seis mm de diámetro se levantó la corteza y se introdujo un disco del hongo. En las varetas testigo se colocaron discos de PDA sin el hongo. La zona inoculada se cubrió con algodón, gasas húmedas estériles y se sellaron con papel aluminio estéril y mantuvieron en bandejas multiusos de 18 Litros (60 x 40 x 20 cm). A los 10 días se evaluó el largo de las lesiones por tratamiento. Los datos fueron sujetos a una análisis de varianza (Anova) y obtención de medias por diferencia mínima significativa (LSD), con el programa SAS v8.1. Para completar los postulados de Koch, se realizó el mismo procedimiento que en las pruebas de patogenicidad en campo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Signos y síntomas

En árboles de *Eucalyptus globulus* y *E. nitens* se observaron canchros en el fuste y muerte regresiva de puntas y ramas (Figura 1 A y B). Estos síntomas se presentaron de manera aislada o en manchones para ambas especies de eucaliptos atacadas por *Neofusicoccum eucalyptorum* y *N. parvum*. En la corteza hubo canchros de color negro, fusiforme, de tamaño variable y hundido. En la parte interna se observó necrosis de color café claro a oscuro que alcanzó al xilema causando la muerte del árbol. En la superficie del cancro se observaron estromas de color negro creciendo de manera agregada. En el fuste estos canchros causan hinchamientos, algunas veces flujo de resina de color rojo y la aparición de brotes epícorricos. En la muerte regresiva hay necrosis de

puntas, ramas, muerte de hojas y reducción de la copa de los árboles. Estos síntomas son similares a los reportados por Iturrity, Slippers, Mesanza y Wingfield (2011) para *Neofusicoccum parvum* en *E. globulus*. Del mismo modo Gezahgne, Roux, Slippers y Wingfield (2004) mencionan que en Etiopia describen los mismos síntomas causados por *Botryosphaeria* sp en *E. globulus*, *E. saligna* SM., *E. grandis* y *E. citriodora* (Hook.) K.D.Hill & L.A.S.John. En México estos mismos síntomas se reportan para *N. parvum* en mango (Sandoval, 2012) y aguacate causando canchros y muerte regresiva en ramas (Molina-Gayosso, Silva-Rojas, García-Morales & Avila-Quezada, 2012).

Aislamiento e identificación del hongo

En total fueron seis hongos de la familia botryosphaeriaceae aislados en las dos especies de eucalipto. En plantaciones de *Eucalyptus nitens* de los predios Maravatio (MA), Agustina correa (AC) y Mireya Tinoco (MT) se aisló a *Botryosphaeria eucalyptorum* Crous, H. Smith & M.J. Wingf. y en la parcela Agustina Correa 1 (AC1) a *N. parvum*. El segundo hongo, se encontró en las parcelas de Francisco Maldonado (FM) y Raúl Armas (RA) establecidas con *E. globulus*. En la parcela Agustina Correa sobre la corteza de árboles de *E. nitens* hubo presencia de pseudotecios de *B. eucalyptorum*, en parcelas Agustina Correa 1, Francisco Maldonado y Raúl Armas se observaron picnidios de *N. parvum*.

El crecimiento de *Botryosphaeria eucalyptorum* (*N. eucalyptorum*) en medio PDA fue radial y creció ocho centímetros de diámetro a los 10 días. La colonia presentó un color blanco de aspecto algodonoso a los cuatro días y se

tornó gris oscura a negra a los 10 días con abundante micelio aéreo. Al reverso de la caja de Petrí la coloración fue negra. En algunos aislamientos, a los 15 días, hubo formación de picnidios inmaduros agrupados de color negro (Figura 1 C) El ascostroma de color negro de 312.15 μm inmerso en el tejido del hospedante (Figura 1 D). Pseudotecios de color café oscuro a negro de 380 a 440 μm de diámetro (Figura 1 E). Ascas clavadas, bitunicadas de (70)40 X 15(-21) μm con ocho ascosporas (Figura 1 F) e intercaladas con parafisos filiformes. Ascosporas no septadas, hialinas con apariencia granular, de forma ovoide a claviforme con el ápice obtuso o ligeramente redondeado de (20-)23 - 26(-28) X (7-)8-9(-11) μm . Estas características morfológicas concuerdan a lo reportado por Smith et al. (2001) con *Botryosphaeria eucalyptorum*.

En medio PDA creció *Neofusicoccum parvum* la cepa es de color blanco a los cuatro días, se torna blanco grisáceo a los seis u ocho días y completamente negra a los 10 días, con abundante micelio aéreo. En la superficie del medio de cultivo se observa la presencia de picnidios negros globulares de color negro oscuro, cubierto de micelio de color gris a los 14 días, sin la formación de conidias. Slippers y Wingfield (2007) mencionan que para inducir la formación de conidios en picnidios se debe cultivar el hongo en el medio de agar-agua (AA) o extracto-malta-agar (EMA), suplementado con acículas de pino o pequeños trozos de tejido del hospedante e incubar a 25 °C. El desarrollo en medio de cultivo PDA es similar a *N. eucalyptorum* bajo las mismas condiciones de laboratorio. Además, se observaron picnidios solitarios o agrupados en estromas de color negro de *N. parvum* creciendo en ramas y

tallos de *Eucalyptus nitens* y *E. globulus* de 299 μm (Figura 1 G). Los conidios son hialinos, fusiformes y aseptados de 18.9 (-23) X 4 (-4.9) μm (Figura 1 H) similar a lo reportado por Iturriza et al. (2011), aunque Sandoval (2012) menciona que los conidios pueden ser de color café y biseptados de 14.7-25.5 (19) x 4.5-7 (5.2) μm .

En campo estas dos especies de hongos muestran los mismos síntomas y signos causando canchros y muerte regresiva expresando la enfermedad en condiciones de estrés ocasionada por las heladas y sequías prolongadas en la zona. En medio de cultivo se observó similitud en su desarrollo con una coloración blanca que posteriormente se torna negra en algunas cepas hubo presencia de picnidios.

Extracción del ADN, amplificación y secuenciación

El análisis molecular confirmó la identificación morfológica de *Neofusicoccum eucalyptorum* (*Botryosphaeria eucalyptorum*) y *N. parvum* como causantes de la muerte regresiva en las dos especies de eucalipto. Las secuencias genéticas con número de acceso del NCBI (KC479184 y KC4799188) de *N. eucalyptorum* y *N. parvum* (KC479185, KC479186 y KC479187) mostraron un 100% de similaridad con las reportadas para estas especies de hongos en el GenBank.

Pruebas de Patogenicidad en campo

Los aislamientos inoculados en *Eucalyptus nitens* causaron un cancro de forma fusiforme, de color café oscuro y de apariencia hundida con un rango de

13 a 21 cm a los 48 ddi (Figura 1 I). El aislamiento *Neofusicoccum eucalyptorum* de Agustina Correa produjo la mayor lesión (Figura 1 J) y el de *N. parvum* de Raúl Armas la menor de acuerdo al promedio de largo de la lesión. El análisis estadístico mostró que los aislamientos Maravatio, Mireya Tinoco de *N. eucalyptorum* y Francisco Maldonado, Agustina Correa 1 de *N. parvum* no presentan diferencia significativa entre ellos ($P < .0001$). Sin embargo se demostró que todos los aislamientos tienen capacidad patogénica (Cuadro 1)

Smith et al. (2001), realizaron inoculaciones en una plantación de *E. grandis*, con aislamientos de *Botryosphaeria eucalyptorum* ocasionando lesiones de forma longitudinal al tallo, del mismo modo como ha sucedido en las inoculaciones realizadas en esta investigación. Por otro lado es importante resaltar la similitud del comportamiento de la patogenicidad tanto en campo como en varetas bajo condiciones de laboratorio, siendo consistentes los resultados de inoculación (cuadros 1) estos resultados son similares a los publicados por Gezahgne et al. (2004) donde se inocularon árboles de *E. grandis* con aislamientos de *Botryosphaeria*, en campo y en invernadero, mostrándose una similitud en el patrón de la patogenicidad en ambos ensayos. Algunos autores mencionan que los daños causados por las especies tales como *B. eucalyptorum* y *N. parvum*, pueden estar altamente relacionados con las condiciones medioambientales bajo las cuales se establezca la plantación (Schoeneweiss 1981, Pusey 1989).

Pruebas de patogenicidad en varetas de *E. globulus* y *E. nitens*

Los resultados mostraron que todos los aislamientos utilizados son patogénicos y ocasionaron lesiones en las varetas de *E. nitens* y *E. globulus* (Figura 1 K), sin embargo estadísticamente hay diferencia significativa entre varetas, con media de 11.95 y 17.30 indicando que en las varetas de *E. globulus* se ocasionaron las lesiones más largas. Entre aislamientos el de Francisco Maldonado de *N. parvum* inoculado en *E. globulus* estadísticamente tiene diferencia significativa al resto (Cuadro 1). Hubo presencia de picnidios inmaduros en la corteza de las varetas de manera agregada y solitaria (Figura 1 L). Mamodise (2008), reportó los daños ocasionados en *E. grandis* inoculado en vivero con aislamientos de *Neofusicoccum parvum*, provocando lesiones en el tallo causantes de cancro y muerte descendente, otras investigaciones demuestran que las inoculaciones con *N. parvum* causan lesiones que van desde los 24.9 mm hasta los 91.8 mm de longitud después de seis semanas de la inoculación, no habiendo diferencias significativas entre los tratamientos que mencionan, excepto en el control que no causo daño alguno (Gezahgne et al. 2004), en esta investigación se observó que las lesiones muestran medias más cortas ya que las mediciones se realizaron a los 10 días de la inoculación y además se trata de especies de eucalipto distintas. Por otro lado *N. eucalyptorum* ha sido utilizado para inoculaciones en *E. grandis* bajo condiciones de invernadero, resultando también en daños por cancro a los tallos de las plantas (Pérez et al. 2009).

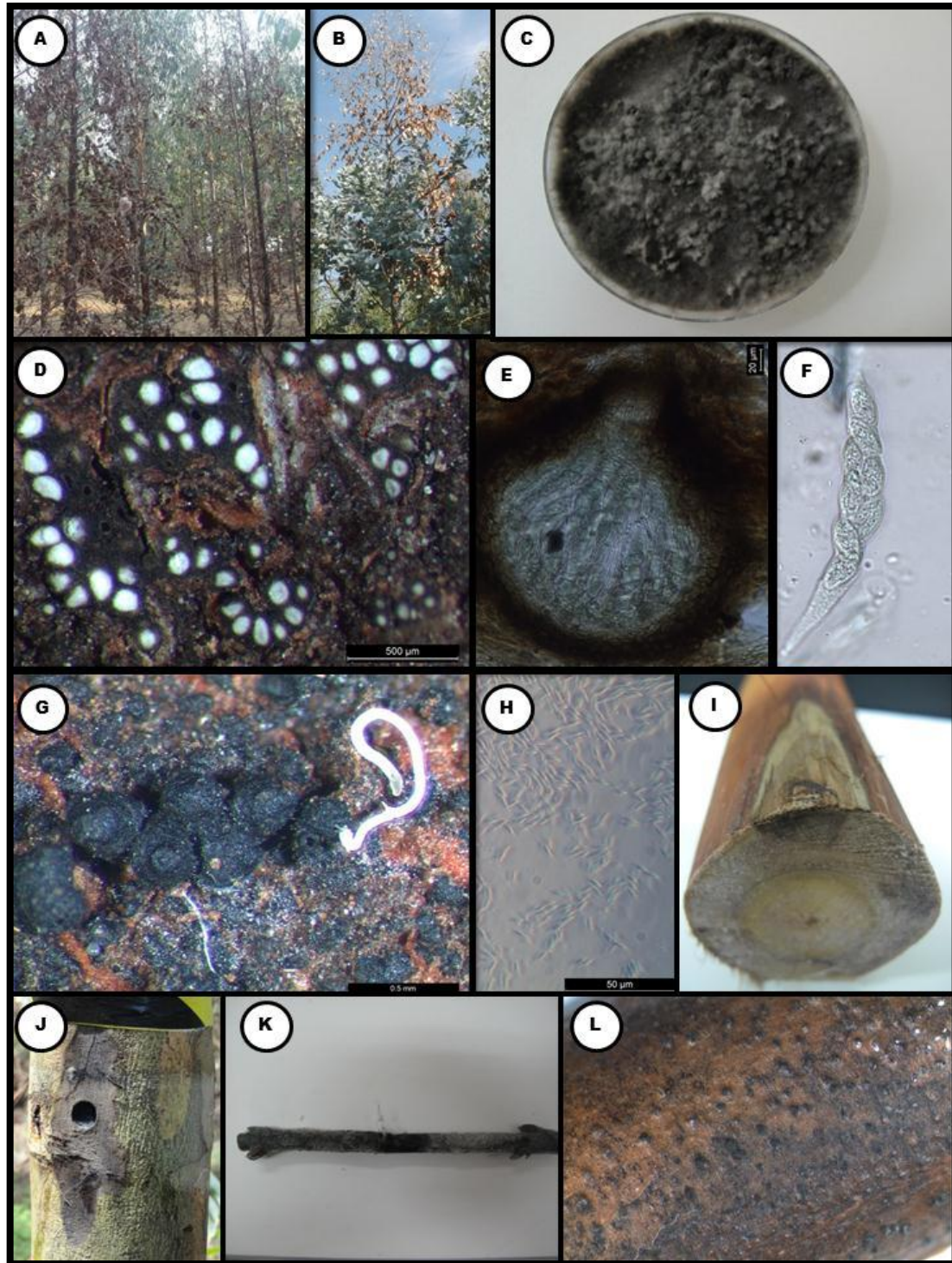


Figura 1. Síntomas y signos de *Botryosphaeria eucalyptorum* (*Neofusicoccum eucalyptorum*) y *N. parvum*. **A)** Grupo de árboles muertos con fuste necrosado y follaje seco. **B)** Muerte de puntas y pérdida de follaje. **C)** Cepa gris oscuro creciendo en PDA a los 10 días. **D)** Corte longitudinal de ascostroma. **E)** Pseudotecio café oscuro con las ascas. **F)** Asca con ocho ascosporas. **G)** Picnidios maduros con cirrus. **H)** Conidios hialinos. **I)** crecimiento de la lesión de forma longitudinal y hacia el floema **J)** Lesión en forma de huso en árboles de *E. nitens*. **K)** Vareta de *E. globulus* con abundante micelio y picnidios. **L)** Vareta de *E. globulus* con de picnidios negros inmaduros.

Cuadro 1. Medias de la longitud de la lesión ocasionada por la inoculación en varetas a los 10 ddi de las dos especies de *Eucalyptus* y en campo a los 48 ddi de *E. nitens*.

Hongo	Aislamiento	Pruebas de Patogenicidad					
		Varetas				Campo	
		Clave	<i>Eucalyptus globulus</i>	Clave	<i>E. nitens</i>	Clave	<i>E. nitens</i>
<i>Neofusicoccum parvum</i>	Francisco Maldonado	FM	21.750 ^A	AC1	16.63 ^{DE}	AC	20.92 ^A
<i>N. parvum</i>	Raúl Armas	RA	21.20 ^{AB}	FM	15.77 ^{EF}	MA	18.80 ^{AB}
<i>N. eucalyptorum</i>	Mireya Tinoco	MT	20.10 ^{ABC}	AC	13.83 ^{FG}	MT	18.68 ^{AB}
<i>N. eucalyptorum</i>	Agustina Correa	AC	20.10 ^{ABC}	MT	13.80 ^{FG}	FM	16.68 ^{AB}
<i>N. parvum</i>	Agustina Correa	AC1	19.35 ^{BC}	MA	12.12 ^{GH}	AC1	13.84 ^{AB}
<i>N. eucalyptorum</i>	Maravatio	MA	18.60 ^{CD}	RA	11.50 ^H	RA	13.12 ^B
	Testigo	T	00.00 ^I	T	00.00 ^I	T	00.00 ^C

Medias con la misma letra no presentan diferencia significativa con una $p < 0.0001$

CONCLUSIONES

Los hongos causantes de la muerte regresiva en ramas y tallos de *Eucalyptus globulus* y *E. nitens* fueron identificados como *Botryosphaeria eucalyptorum* y *N. parvum*, lo cual se confirmó por análisis molecular. Siendo este el primer reporte de estas dos especies de hongos en México causando esta enfermedad. Además se confirma la habilidad de estos patógenos para la infección de especies de eucalipto. Solo se encontró en *E. nitens* a *B. eucalyptorum* teleomorfo de *N. eucalyptorum*.

LITERATURA CITADA

- Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (1998). Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 4th Ed. The American Phytopathological Society. St Paul, Minnesota, USA. 218p.
- Cibrián, T. D., Rosales, D. A., & García, D. S. E. (2007). Enfermedades forestales en México/Forest diseases in Mexico. Universidad Autónoma Chapingo; CONAFOR-SEMARNAT, México; Forest Service USDA, EUA; NRCAN Forest Service, Canadá y Comisión Forestal de América del Norte, COFAN, FAO. Chapingo, México. 587 p.
- Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). (2011). Consultado 25-10-2012 en <http://www.conafor.gob.mx/portal/index.php/temas-forestales/plantaciones>
- Cruz, A. J., Cibrián T. D., Ramírez M. H., & García D. S. E. (2001). Etiología y síndrome de los canchros *Cryphonectria*, *Lasiodiplodia* y *Fusicoccum* en Eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh). *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 7 (1): 27-37.
- Gezahgne, A., Roux, J., Slippers, B., & Wingfield M. J. (2004). Identification of the causal agent of Botryosphaeria stem canker in Ethiopian Eucalyptus plantations. *South African Journal of Botany* 2004, 70(2): 241–248.
- Iturrirxa, E., Slippers, B. N., Mesanza, & Wingfield, M. J. (2011). First report of *Neofusicoccum parvum* causing canker and die-back of Eucalyptus in Spain Australasian. *Plant Dis. Notes*, 6: 57- 59.

- Mamodise, M. H. 2008. Characterization of latent Botryosphaeriaceae on diverse *Eucalyptus* species. Tesis de Maestría. Universidad de Pretoria. Pretoria, South Africa.
- Martínez-Ruiz, R., Azpíroz-Rivero, H. S., Rodríguez- De la O, J. L., Cetina-Alcalá, V. M., Gutiérrez-Espinoza, M. A. (2006). Importancia de las plantaciones forestales comerciales de *Eucalyptus*. *Ra Ximhai* 2(3):815-846.
- Mohali, S., Slippers B. N., & Wingfield M. J. (2006). Two new *Fusicoccum* species from *Acacia* and *Eucalyptus* in Venezuela based on morphology and DNA sequence data. *Mycological Research*, 110: 405-413.
- Molina-Gayosso, E.; Silva-Rojas, H. V.; García-Morales, S.; Avila-Quezada, G. 2012. First report of black spots on avocado fruit caused by *Neofusicoccum parvum* in Mexico. *Plant Disease* 96 (2): 28.
- Pérez-Vera, O. A., Yáñez-Morales, M. J., Alvarado-Rosales, D., Cibrián-Tovar, D., & García-Díaz, S. E. (2005). Hongos asociados a eucalipto, *Eucalyptus grandis* Hill: Maid. *Agrociencia*, 39: 311-318.
- Pérez, C. A., Wingfield, M. J., Slippers, B., Altier, N. A., & Blanchette, R. A. (2009). *Neofusicoccum eucalyptorum*, a *Eucalyptus* pathogen, on native Myrtaceae in Uruguay. *Plant Pathology*, 58: 964-970.
- Pérez, C. A., Wingfield, M. J., Slippers, B., Altier, N. A., & Blanchette, R. A. (2010). Endophytic and canker-associated Botryosphaeriaceae occurring on non-native *Eucalyptus* and native Myrtaceae trees in Uruguay. *Fungal Diversity*, 41: 53-69.

- Pusey, P.L. (1989) Influence of water stress on susceptibility of nonwooded peach bark to *Botryosphaeria dothidea*. *Plant Disease* 73: 1000–1003.
- Rodas, C. A., Slippers, B., Gryzenhout, M., & Wingfield, M. J. (2009). Botryosphaeriaceae associated with *Eucalyptus* canker diseases in Colombia. *For. Path.*, 39: 110-123.
- Sandoval, S. M. (2012). *Asociación de la muerte descendente de Mango (Mangifera indica L.) con la pudrición del pedúnculo en la costa del pacífico de México*. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Texcoco, Edo de México, México.
- Schoeneweiss, D. F. (1981) The role of environmental stress in diseases of woody plants. *Plant Disease* 65: 308–314.
- Sivanesan, A. (1984). The bitunicate *Ascomycetes* and their anamorphs. J. Cramer., Vaduz. Germany, 701pp.
- Slippers, B., & Wingfield, M. J. (2007). Botryosphaeriaceae as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact. *Fungal Biology Reviews*, 21: 90-106.
- Slippers, B., Fourie, G., Crous, P. W., Coutinho, T. A., Wingfield, B. D., Carnegie, A. J., & Wingfield, M. J. (2004). Speciation and distribution of *Botryosphaeria* spp. on native and introduced *Eucalyptus* trees in Australia and South Africa. *Studies in Mycology*, 50: 343-358.
- Smith, H., Crous, P. W., Wingfield, M. J., Coutinho T. A., & Wingfield, B. D. (2001). *Botryosphaeria eucalyptorum* sp. nov., a new species in the *B. dothidea*-complex on *Eucalyptus* in South Africa. *Mycologia*, 93 (2): 277-285.

White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols: a guide to methods and applications. (Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds). *Academic Press*, New York, USA: 315–322.

CAPÍTULO II

CARACTERIZACIÓN DEL GRADO DE ENREDAMIENTO DEL SISTEMA RADICULAR DE *Eucalyptus* EN PLANTACIONES DEL ESTADO DE MICHOACÁN

Jesús G. **De la Mora-Castañeda**, David **Cibrián-Tovar**¹, Omar A. **Pérez-Vera**¹

¹División de Ciencias Forestales (Departamento de Ecología y Silvicultura),
Universidad Autónoma Chapingo. Km 38.5 Carretera México-Texcoco,
Chapingo, Estado de México. C.P. 56230.

Jesús G. De la Mora-Castañeda, David Cibrián-Tovar, Omar A. Pérez-Vera. CARACTERIZACIÓN DEL GRADO DE ENREDAMIENTO DEL SISTEMA RADICULAR DE *Eucalyptus* EN PLANTACIONES DEL ESTADO DE MICHOACÁN. Sometido a la Revista de Ciencias Forestales y del Ambiente, 25 de enero del 2013

**CARACTERIZACIÓN DEL GRADO DE ENREDAMIENTO DEL SISTEMA RADICULAR DE
Eucalyptus EN PLANTACIONES DEL ESTADO DE MICHOACÁN**

**CHARACTERIZATION OF THE DEGREE OF ENTANGLEMENT OF THE ROOT SYSTEM OF
Eucalyptus FROM MICHOACÁN STATE PLANTATIONS**

Jesús Germán **De la Mora Castañeda**¹ y David **Cibrián Tovar**²

RESUMEN

La calidad de la planta producida en vivero se refleja en la plantación, regulada por condiciones morfológicas y fisiológicas de la planta así como su interacción en el sitio de establecimiento, un elemento importante es el sistema radicular ya que es un factor determinante en el desarrollo y funcionamiento de esta en campo. La malformación de raíz limita la absorción de nutrientes y agua, pudiendo ocasionar la muerte en años posteriores ante condiciones adversas. Por esto el objetivo de este trabajo fue evaluar los daños y las características del sistema radicular de *Eucalyptus globulus* y *E. nitens*. En el mes de julio de 2011, se extrajeron 90 raíces de ambas especies, con las que se determinaron las deformaciones producidas en la arquitectura de la raíz primaria, secundaria y parte interna, así como la elaboración de una escala que va de 0 a 3 de acuerdo al porcentaje de enredamiento. Los resultados mostraron que del total de raíces el 55.5% se asignaron al grupo 3 y que el 77.7% muestran daños internos por el estrangulamiento. Por lo tanto se concluyó que el enredamiento de la raíz es uno de los principales factores que influyen en la mortalidad árboles en las plantaciones.

Palabras clave: pudrición radicular, enredamiento de raíz, *Eucalyptus nitens*, *Eucalyptus globulus*.

ABSTRACT

The quality of the produced plant nursery is reflected in their behavior in the plantation, regulated by morphological and physiological conditions of the plant and their interaction on the site establishment, an important element is the root system as it is a factor in the successful development and operation of this field. The root malformation limits the absorption of nutrients and water, causing death in later years if adverse conditions. Thus the aim of this study was to evaluate the damage and the characteristics of the root system of *Eucalyptus globulus* and *E. nitens*. In July 2011, we extracted 90 roots of both species, with which the deformations were determined by the architecture of the primary root, secondary and inside, and the development of a scale of 0-3 according to the percentage of entanglement. The results showed that the roots of the total 55.5% were assigned to group 3 and 77.7% show the internal damage by strangulation. Therefore it was concluded that the entanglement of the root is one of the main factors that influence mortality within plantation trees.

Key words: root rot, root entanglement, *Eucalyptus nitens*, *Eucalyptus globulus*.

1 Tesista

2 Director

INTRODUCCIÓN

El éxito de una plantación forestal depende entre otros factores de la calidad de las plantas producidas en vivero, la que está definida por su comportamiento final en el terreno. Este último está regulado por los atributos morfológicos y fisiológicos de las plantas y por su interacción con el ambiente en el sitio de plantación. Por esta razón caracterizar el efecto que poseen las labores culturales en vivero, el comportamiento de las plantas producidas, y la posterior retroalimentación que debe generarse respecto al desempeño que los cultivos manifiestan en el terreno, son elementos claves en una plantación con fines comerciales (Monsalve, Escobar, Acevedo, Sánchez, & Coopman, 2009). La fase de vivero resulta esencial por ser el punto de partida, además de ser el único momento en el que es posible realizar un control sobre algunas variables del proceso que afectan a la producción de planta. Por este motivo, la calidad puede ser “moldeada” en este modo de cultivo en vivero, siendo la fertilización, el contenedor, el sustrato, y su manejo los elementos de cultivo que más la condicionan. El mantenimiento prolongado de las plántulas en contenedores de volumen reducido puede causar malformación de la raíz (Arrieta, 2010).

Uno de los caracteres morfológicos de gran importancia es el sistema radicular, el cual deberá presentar raíces suficientes para establecer rápidamente un equilibrio con la parte aérea, es decir debe estar ramificado equilibradamente, con numerosas raicillas laterales y abundantes terminaciones meristemáticas. Esta característica es esencial para el correcto desempeño de las plántulas

después de la siembra en condiciones adversas (Freitas et al., 2005). La malformación del sistema radicular es común en el sector forestal, ocurre en la mayoría de las especies y clones de eucaliptos. (Alfenas, Zauza, Máfia, & Assis, 2004). La deformación de la raíz se debe principalmente a impedimento mecánico, debido a que durante su desarrollo la raíz encuentra una barrera y gira en busca de menor resistencia mecánica. El impedimento puede ser causado por factores como: porosidad, densidad, contenido de humedad, textura, tamaño de agregados, macroestructura y ausencia de bioporos continuos en el suelo. De esta forma la deformación también puede ser causada por el tamaño del contenedor (Arrieta, 2010). La malformación del sistema radicular impide la absorción de agua y nutrientes en cantidades suficientes a las requeridas por la planta, resultando una sintomatología típica de deficiencia hídrica y nutricional y en consecuencia un desequilibrio de la parte aérea y radicular.

En campo las plantas afectadas tienen menor crecimiento y generalmente en época de estiaje mueren a consecuencia del enrollamiento y estrangulamiento de las raíces. Los daños varían según la especie, el genotipo, la edad de la planta y la disponibilidad de agua y nutrimentos en el suelo. (Alfenas et al., 2004; Mafía et al., 2005). Las plantas con el sistema radicular poco profundo se tornan más vulnerables a la competencia con malezas, cambios de temperatura, disponibilidad de agua, características físicas del suelo y deficiencias nutricionales en los meses subsecuentes a la plantación. En general estos efectos se agravan en el segundo o tercer año de la plantación,

en consecuencia se acentúa un desequilibrio de la parte aérea y radicular cuando la planta demanda mayor cantidad de agua y nutrientes para su desarrollo. (Alfenas et al., 2004).

El efecto del enrollamiento del sistema radicular es devastador para la planta, se presenta un lento crecimiento, generalmente no hay muerte inmediata, la planta sufre las consecuencias en la plantación y es cuando se presentan síntomas como reducción de crecimiento en altura, diámetro, tamaño de hojas, muerte descendente y pobre estructura de raíz. Es importante reconocer la susceptibilidad incrementada que tienen las raíces estranguladas con patógenos oportunistas, los cuales son capaces de contribuir en el daño e incluso causar la muerte de la planta. (Cibrián, Alvarado, & García, 2007).

Actualmente el principio fundamental en el que se basan los parámetros de calidad hasta hoy desarrollados, es el de la posibilidad de predicción de la sobrevivencia de la planta en campo y su potencial para desarrollarse rápidamente durante los primeros meses o años de crecimiento en la plantación (Sánchez, & Murillo, 2004). La determinación periódica de diferentes parámetros indicadores del estado morfológico y fisiológico de la planta en las diferentes plantaciones establecidas en zonas con condiciones edafoclimáticas diferentes, nos permitirá disponer de un banco de datos a partir del cual podremos establecer qué parámetros pueden ser indicadores de la calidad de planta (Ortega, Kindelman, Hevia, Álvarez, & Majada, 2006). En base a esto se planteó el objetivo de determinar las deformaciones morfológicas que se producen en la arquitectura de los sistemas radiculares de *Eucalyptus globulus*

y *E. nitens* en la plantación, así como caracterizar el grado de enredamiento mediante una escala, con la finalidad de contribuir en recalcar la importancia de las buenas prácticas culturales de la planta en vivero, al momento de ser trasplantadas en campo.

MATERIALES Y METODOS

La colecta de las raíces se realizó en el mes de julio de 2011, se utilizaron 59 raíces de *Eucalyptus globulus* y 31 de *E. nitens*, para dar un total de 90. Estas fueron proporcionadas por la empresa Rexcel de las plantaciones establecidas en los años 2006, 2008 y 2009 en el estado de Michoacán. Tomando en cuenta que el muestreo de las raíces es destructivo se seleccionaron los árboles muertos para su extracción mediante pico y pala a una profundidad de 40 cm por 60 cm de diámetro, tomando como eje el tallo del árbol, una vez extraídas se etiquetaron y fueron trasladadas en una camioneta a las instalaciones del invernadero del área de Parasitología Forestal de la División de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma Chapingo en donde se lavaron cuidadosamente con agua clorada al 1% para eliminar los residuos de tierra, posteriormente se separaron por grupos de acuerdo al porcentaje de enredamiento, para esto se hizo la siguiente escala: donde 0 va de 0 a 25%, “1” de 26 a 50%, “2” de 51 a 75% y finalmente “3” de 76 a 100%. También se realizó la revisión detallada de cada raíz para observar si presentaban algún signo de pudrición o de estructuras de hongos fitopatógenos tanto en las raíces

secundarias como la principal. Posteriormente se hizo un corte longitudinal con una cierra cinta para observar si presentaban pudrición o algún daño interno.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo a la escala establecida las raíces analizadas quedaron clasificadas como se muestra en el cuadro 1. Se observa que en la especie de *Eucalyptus globulus* de las 31 raíces 10 están en la escala 2 y 17 en la escala 3 mostrando que existe alto grado de enredamiento, 26 raíces presentan daño interno, observándose agrietamientos, pudrición y estrangulamiento. Para *E. nitens* de las 59 raíces 15 están en la escala 2 y 33 en la escala 3, se presenta daño interno en 44 raíces. Del total de raíces de las dos especies el 55.5% se asignaron al grupo 3 y que el 77.7% muestran daños internos por el estrangulamiento.

Cuadro 2. Se muestra que en todos los predios en los que se establecieron las plantaciones se realizó trabajos culturales al suelo y que la altura promedio de los arboles según su edad van de acuerdo a lo mínimo esperado para estas especies, mas sin embargo se observa que en los predios muestreados se presentaron heladas y sequias prolongadas, esto refuerza más la hipótesis de que el problema de enredamiento de raíz en las plantaciones viene desde vivero, ya que a todos los predios se le realizaron trabajos de preparación previa y los problemas climatológicos que se presentaron junto con la

malformación del sistema radicular crearon condiciones de estrés para que patógenos se expresaran y causaran la muerte de los árboles.

Cuadro 1. Número de raíces por grupo y daños en la raíz de *Eucalyptus globulus* y *E. nitens*.

Especie	Año	No. de raíces	Escala				Raíz		
			0	1	2	3	Primaria	Secundaria	Parte interna
<i>E. globulus</i>	2008	9	-	1	3	5	1	3	9
	2009	22	-	3	7	12	9	14	17
	Sub total:	31	-	4	10	17	10	17	26
<i>E. nitens</i>	2006	10	-	4	2	4	3	2	5
	2008	24	1	4	8	11	6	9	18
	2009	25	-	2	5	18	7	14	21
	Sub total:	59	1	10	15	33	16	25	44
Total:		90	1	14	25	50	26	42	70

Cuadro 2. Características de las raíces muestreadas y condiciones de raíz.

No. De raíces	Año	Predio	Especie	Altura promedio	Preparación del predio	Problemática	Raíz (%)	Escala
							Parte interna	2 y 3*
10	2009	1	<i>E. nitens</i>	4.45	Maquinaria agrícola	Sequia	90.0	100.0
7	2009	2	<i>E. globulus</i> y <i>E. nitens</i>	3.35	Maquinaria agrícola	Sequia	71.4	85.7
7	2009	3	<i>E. globulus</i>	6.14	Maquinaria agrícola	Sequia	71.4	100.0
11	2009	4	<i>E. globulus</i> y <i>E. nitens</i>	4.59	Maquinaria agrícola	Heladas, Sequia y Plagas	90.9	81.8
16	2008	5	<i>E. nitens</i>	6.65	Subsuelo a 80 cm	Heladas y Plagas	68.8	87.5
6	2009	6	<i>E. nitens</i>	3.58	Maquinaria agrícola	Heladas	66.7	100.0
6	2009	7	<i>E. globulus</i>	5.33	Maquinaria agrícola	Sequia	83.3	66.7
9	2008	8	<i>E. globulus</i>	5.42	Subsuelo a 80 cm	Heladas, Sequia y Plagas	100.0	88.9
8	2008	9	<i>E. nitens</i>	8.56	Maquinaria agrícola	Heladas	87.5	62.5
10	2006	10	<i>E. nitens</i>	9.26	Maquinaria agrícola	Sequía y Plagas	50.0	60.0

* Porcentaje de raíces ubicadas en la escala 2 y 3.

Escala visual para determinar el grado de enredamiento de raíces de *Eucalyptus globulus* y *E. nitens*



0: 0 a 25%



1: 26 a 50%



2: 51 a 75%



3: 76 a 100%

Figura 1. Escala visual para determinar el grado de enredamiento de raíces de *E. globulus* y *E. nitens*.

CONCLUSIONES

Con base en los resultados se concluye que uno de los principales problemas que se presenta en las plantaciones *Eucalyptus globulus* y *E. nitens* en el Estado de Michoacán, es el de calidad de raíz ya que de las 90 observadas se tiene que el 77.7% de estas presentan daño interno debido a la malformación y estrangulamiento del sistema radicular. La calidad de raíz puede influir en la condición de salud del árbol ya que una raíz enredada limita la absorción de agua y nutrientes creando un estado de estrés y por consecuencia facilita la incidencia de patógenos. Será importante realizar un análisis de la calidad de planta producida, su tiempo de permanencia en vivero, tipo de contenedor y labores culturales, para evaluar el sistema radicular al momento de su trasplante a campo.

LITERATURA CITADA

- Alfenas, A.C., Zauza, E.A.V., Máfia, R.G., & Assis, T.F. (2004). Clonagem E Doenças Do Eucalipto. *Viçosa: Editora UFV*. 442p.
- Arrieta, R.B.G. (2010). Malformación de raíz en vivero de portainjertos de cítricos tolerantes a VTC. Aspectos anatómicos y fisiológicos. Tesis Doctoral. Colegio de Postgraduados. Edo de México, México.
- Cibrián, T. D., Alvarado, R. D., & García, D. S. E. (2007). Enfermedades forestales en México/Forest diseases in Mexico. Universidad Autónoma Chapingo; CONAFOR-SEMARNAT, México; Forest Service USDA, EUA; NRCAN Forest Service, Canadá y Comisión Forestal de América del Norte, COFAN, FAO. Chapingo, México. 587 p.
- Freitas, T.A.S., Barroso, D.G., Carneiro, J.G.A., Penchel, R.M., Lamônica, K.R., & Ferreira, D.A. (2005). Desempenho radicular de mudas de eucalipto produzidas em diferentes recipientes e substratos. *Revista Árvore, Viçosa*, 29(66): 853–861.
- Máfia, R.G., Alfenas, A.C., Siqueira, L., Ferreira, E.M., Leite, H.G., & Cavallazzi, J.R.P. (2005). Critério técnico para determinação da idade ótima de mudas de eucalipto para plantio. *Revista Árvore, Viçosa-MG*, 29(6): 947-953.
- Monsalve, J., Escobar, R., Acevedo, M., Sánchez, M., & Coopman, R. (2009). Efecto de la concentración de nitrógeno sobre atributos morfológicos, potencial de crecimiento radical y estatus nutricional en plantas de potencial de crecimiento

radical y estatus nutricional en plantas de *Eucalyptus globulus* producidas a raíz cubierta. *BOSQUE* 30(2): 88-94.

Ortega, L. U., Kindelman, D. de O. A., Hevia, C. A., Álvarez, R. E., & Majada, G. J. (2006). Control de calidad de planta forestal. *Revista Tecnología Agroalimentaria*. 2º época. Número 3. *Boletín informativo del SERIDA*.

Sánchez, S., & Murillo, O. (2004). Desarrollo de un método para controlar la calidad de producción de plántulas en viveros forestales: Estudio de caso con ciprés (*Cupressus lusitánica*). *Agronomía costarricense* 28(2): 95-106.