

T 3098


UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA
FACULTAD DE AGRONOMIA

EVALUACIÓN DE DIFERENTES SUSTRATOS COLONIZADOS CON
EL ANTAGONISTA (*Trichoderma harzianum* Fr.) SOBRE LA CALIDAD
DE PLANTINES DE *Eucalyptus grandis* w. Hill ex Maiden., *Eucalyptus*
globulus spp. *globulus* Labill. y *Pinus taeda* L.

por

Diego CARDENAS BONSIGNORE

TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo.
(Orientación Forestal)

FACULTAD DE AGRONOMIA



MONTEVIDEO
URUGUAY
2003

Tesis aprobada por:

Director: ING. AGR. GRACIELA ROMERO
Nombre completo y firma

Nombre completo y firma

Nombre completo y firma

Nombre completo y firma

Fecha: _____

Autor: _____
Nombre completo y firma

AGRADECIMIENTOS

Danila Balbi (Departamento Forestal de Facultad de Agronomía)

Ing. Agr. Alejandro Mendez

Ing. Agr. Alicia Crosara

Ing. Agr. Amalia Baraibar

Ing. Agr. Claudine Folch

Ing. Agr. Graciela Romero

Ing. Agr. Juan Pedro Posse

Ing. Agr. Wilfredo Ibáñez

Ing. Agr. Yamile Tejera

Laboratorio Lage y Cia S.A.

Natalia Gatti

Vivero "La Buena Unión" (Colonvade S.A.)

TABLA DE CONTENIDO

TABLA DE CONTENIDO.....	1
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	6
1. INTRODUCCION.....	13
2. OBJETIVOS.....	15
2.1 OBJETIVO GENERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	15
3 REVISION BIBLIOGRAFICA.....	16
3.1 Calidad de plantín forestal: requerimientos y parámetros de evaluación.....	16
3.1.1 Introducción	16
3.1.2 Factores que afectan el desarrollo de los plantines.....	16
3.1.2.1 Factor genético.....	16
3.1.2.2 Factores ambientales.....	16
3.1.3 Métodos y Técnicas de Producción.....	17
3.1.3.1 Producción de plantines de especies forestales.....	17
3.1.3.2 Envases.....	17
3.1.3.3 Sustrato.....	17
3.1.3.4 Esterilidad.....	18
3.1.3.5 Riego.....	18
3.1.3.6 Fertilización.....	18
3.1.4 Parámetros de calidad forestal.....	19
3.1.4.1 Parámetros morfológicos.....	20
3.1.4.2 Parámetros fisiológicos.....	21
3.2 Problemas sanitarios en plantines forestales.....	22
3.2.1 Introducción.....	22

3.2.2	Muerte de plántulas por complejo damping-off	22
3.2.3	Patógenos foliares	24
3.2.3.1	Botrytis cinerea	24
3.2.3.2	Sintomatología	25
3.2.3.3	Ciclo biológico	25
3.2.3.4	Ecología	26
3.2.3.4.1	Fuente de inóculo	26
3.2.3.4.2	Sobrevivencia	27
3.2.3.4.3	Efectos de las condiciones ambientales	27
3.2.3.4.3.1	Humedad	27
3.2.3.4.3.2	Requerimientos térmicos	28
3.2.3.4.3.3	Aireación	28
3.2.3.4.3.4	Disponibilidad de nutrientes	29
3.2.3.5	Daños	29
3.2.3.6	Control	30

3.3 Requerimientos nutricionales de plantines forestales 32

3.3.1	Sustratos	32
3.3.1.1	Propiedades de los medios de cultivo	32
3.3.1.1.1	Propiedades físicas	32
3.3.1.1.1.1	Distribución del tamaño de partícula	33
3.3.1.1.1.2	Densidad real	33
3.3.1.1.1.3	Densidad aparente	34
3.3.1.1.1.4	Porosidad total	34
3.3.1.1.1.5	Capacidad de retención de agua	34
3.3.1.1.1.6	Capacidad de aireación	34
3.3.1.1.1.7	Permeabilidad	35
3.3.1.1.2	Propiedades químicas	35
3.3.1.1.2.1	Capacidad de intercambio catiónico	35
3.3.1.1.2.2	pH	36
3.3.1.1.2.3	Capacidad buffer	36
3.3.1.1.2.4	Contenido de sales	37
3.3.1.1.2.5	Disponibilidad de nutrientes	37
3.3.1.1.2.6	Relación C/N	38
3.3.1.1.3	Propiedades biológicas	39
3.3.1.2	Materiales que se utilizan como sustratos	39
3.3.2	Fertilización de plantines	40
3.3.2.1	Fertilizantes utilizados	41

3.4 Inclusión de agentes microbianos en el sistema Sustrato-plantín en viveros forestales..... 45

3.4.1	Introducción	45
3.4.2	Trichoderma sp.	45
3.4.2.1	Introducción	45
3.4.2.2	Biología	45
3.4.2.2.1	Biosistemática o Clasificación taxonómica	45
3.4.2.2.2	Descripción	46

3.4.2.3	Requerimientos Nutricionales.....	46
3.4.2.4	Influencia de factores extrínsecos sobre el crecimiento.....	46
3.4.2.4.1	Humedad.....	46
3.4.2.4.2	pH.....	47
3.4.2.4.3	Temperatura.....	47
3.4.2.5	Ecología.....	47
3.4.2.5.1	Ocurrencia y distribución.....	47
3.4.2.5.2	Sobrevivencia y Fungistasis en el suelo.....	48
3.4.2.5.3	Agregado de Trichoderma al suelo o sustrato.....	48
3.4.2.5.4	Establecimiento en la rizosfera.....	49
3.4.2.5.5	Aplicación aérea.....	50
3.4.2.5.6	Potencial para biocontrol.....	51
3.4.2.6	Mecanismos que hacen a Trichoderma harzianum un agente de biocontrol.....	51
3.4.2.6.1	Micoparasitismo.....	52
3.4.2.6.2	Antibiosis.....	52
3.4.2.6.3	Competencia.....	53
3.4.2.6.4	Efecto promotor del crecimiento (PGPR).....	54
3.4.2.6.4.1	Tolerancia a situaciones de estrés por favorecer el desarrollo radicular y aéreo de la planta.....	54
3.4.2.6.4.2	Solubilización y secuestro de nutrientes inorgánicos.....	55
3.4.2.6.5	Inducción de resistencia.....	56
3.4.2.6.6	Inactivación de enzimas del patógeno.....	56

4 MATERIALES Y METODOS.....58

4.1 Lugar y época del ensayo..... 58

4.2 Especies forestales..... 58

4.3 Sustratos empleados..... 58

4.4 Trichoderma..... 60

4.5 Tratamientos..... 60

4.6 Diseño experimental..... 60

4.7 Instalación del ensayo..... 62

4.7.1	Acondicionamiento del Trichoderma en los sustratos.....	62
4.7.2	Siembra del experimento.....	62
4.7.3	Fertilizaciones.....	62
4.7.4	Irrigación.....	63
4.7.5	Tratamientos sanitarios.....	64

4.7.6	Muestreos	64
4.7.7	Cosecha	64
4.7.8	Evaluación	65
4.7.8.1	Colonización y sobrevivencia de <i>Trichoderma</i> en los dos sustratos ..	65
4.7.8.2	Mediciones de calidad de plantín	66
4.7.8.3	Sanidad de plantines	66
4.7.8.4	Aspectos nutricionales	67
5	RESULTADOS.....	68
5.1	Colonización y sobrevivencia de <i>Trichoderma harzianum</i> inoculado en dos sustratos utilizados en viveros forestales	68
5.2	Evolución de los parámetros morfológicos (altura y diámetro) de plantines de <i>Pinus taeda</i>, <i>Eucalyptus globulus</i> y <i>E. grandis</i> creciendo en dos sustratos comerciales	71
5.2.1	Altura de parte aérea de plantines forestales.....	71
5.2.2	Diámetro de plantines forestales.....	74
5.3	Evolución de los parámetros fisiológicos (Peso de la materia fresca y Peso de la materia seca) de plantines de <i>Pinus taeda</i>, <i>Eucalyptus globulus</i> y <i>E. grandis</i> creciendo en dos sustratos comerciales	77
5.3.1	Peso de la materia fresca	77
5.3.2	Peso de la materia seca	79
5.4	Sanidad de plantines	81
5.5	Nutrición de plantines forestales creciendo en diferentes sustratos en presencia de <i>Trichoderma harzianum</i>.....	85
6	DISCUSION.....	107
6.1	Colonización y sobrevivencia de <i>Trichoderma</i> en los dos sustratos.....	107
6.2	<i>Pinus taeda</i>	111
6.3	<i>Eucalyptus globulus</i>	116

6.3.1	Sanidad de plantines	122
6.3.2	Nutrición de plantines	125
6.4	Eucalyptus grandis	125
6.4.1	Sanidad de plantines	131
6.4.2	Nutrición de plantines	135
7	CONCLUSIONES.....	136
8	RESUMEN.....	138
9	SUMMARY.....	140
10	BIBLIOGRAFIA.....	142
ANEXO I	148
ANEXO II	150
ANEXO III	166
ANEXO IV	169

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro N°

1. Concentraciones foliares de nutrientes en plántines de *Eucalyptus grandis*, creciendo bajo invernáculo43
2. Requerimientos de nutrientes para plántines de *Eucalyptus sp.*44
3. Concentraciones foliares de nutrientes en plántines de *Pinus taeda* y *P. elliottii* 44
4. Colonización y sobrevivencia de *Trichoderma harzianum* en dos sustratos comerciales para cultivo de especies forestales en vivero... 69
5. Evolución de la altura de plántines forestales de *Pinus taeda* que crecen en dos sustratos colonizados o no con *Trichoderma harzianum*..... 71
6. Evolución de la altura de plántines forestales de *Eucalyptus globulus* que crecen en dos sustratos colonizados o no con *Trichoderma harzianum*..... 72
7. Evolución de la altura de plántines forestales de *E. grandis* que crecen en dos sustratos colonizados o no con *Trichoderma harzianum*.....73
8. Evolución del diámetro de plántines forestales de *Pinus taeda* que crecen en dos sustratos colonizados o no con *Trichoderma harzianum*.....74
9. Evolución del diámetro de plántines forestales de *Eucalyptus globulus* que crecen en dos sustratos colonizados o no con *Trichoderma harzianum* 75
10. Evolución del diámetro de plántines forestales de *E. grandis* que crecen en dos sustratos colonizados o no con *Trichoderma harzianum*..... 76
11. Evolución del peso de la materia fresca de plántines de *Pinus taeda*, *Eucalyptus globulus* y *E. grandis*, creciendo en los dos sustratos en estudio, inoculados o no con *Trichoderma harzianum*..... 77
12. Evolución del peso de la materia seca de plántines forestales creciendo en dos sustratos colonizados o no con *Trichoderma harzianum*..... 79
13. Emergencia de plántines (1 mes) de *Pinus taeda*, *Eucalyptus globulus* y *E. grandis* sembrados en dos sustratos inoculados con *Trichoderma harzianum*.....81
14. % de plantas con síntomas de moho gris (*Botrytis cinerea*) en plántines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos y en presencia de *Trichoderma harzianum*, a las 18 y 23 semanas de edad..... 82

15. % de plantas con síntomas de moho gris (<i>Botrytis cinerea</i>) en plantines de <i>Eucalyptus grandis</i> creciendo en dos sustratos y en presencia de <i>Trichoderma harzianum</i> , a las 18 y 23 semanas de edad.....	83
16. % de plantas con síntomas de moho gris (<i>Botrytis cinerea</i>) en plantines de <i>Eucalyptus globulus</i> creciendo en dos sustratos y en presencia de <i>Trichoderma harzianum</i> , comparando las dos fechas de muestreo (18 y 23 semanas de edad).....	84
17. % de plantas con síntomas de moho gris (<i>Botrytis cinerea</i>) en plantines de <i>Eucalyptus grandis</i> creciendo en dos sustratos y en presencia de <i>Trichoderma harzianum</i> , comparando las dos fechas de muestreo (18 y 23 semanas de edad).....	84
18. Concentraciones foliares de macronutrientes en <i>Pinus taeda</i> creciendo en dos sustratos colonizados con <i>Trichoderma harzianum</i>	86
19. Concentraciones foliares de macronutrientes en <i>Pinus taeda</i> creciendo en dos sustratos colonizados con <i>Trichoderma harzianum</i>	90
20. Concentraciones foliares de micronutrientes en plantines de <i>Pinus taeda</i> creciendo en dos sustratos colonizados con <i>Trichoderma harzianum</i>	91
21. Concentraciones foliares de macronutrientes en <i>Eucalyptus globulus</i> creciendo en dos sustratos colonizados con <i>Trichoderma harzianum</i>	93
22. Concentraciones foliares de macronutrientes en <i>Eucalyptus globulus</i> creciendo en dos sustratos colonizados con <i>Trichoderma harzianum</i>	97
23. Concentraciones foliares de micronutrientes en plantines de <i>Eucalyptus globulus</i> creciendo en dos sustratos colonizados con <i>Trichoderma harzianum</i>	98
24. Concentraciones foliares de macronutrientes en <i>Eucalyptus grandis</i> creciendo en dos sustratos colonizados con <i>Trichoderma harzianum</i>	100
25. Concentraciones foliares de macronutrientes en <i>Eucalyptus grandis</i> creciendo en dos sustratos colonizados con <i>Trichoderma harzianum</i>	104
26. Concentraciones foliares de micronutrientes en plantines de <i>Eucalyptus grandis</i> creciendo en dos sustratos colonizados con <i>Trichoderma harzianum</i>	105
27. Comparación de las respuestas de los sustratos evaluados para la producción de plantines de <i>P. taeda</i> en cada uno de los parámetros analizados.....	111

28. Evaluación del comportamiento de cada sustrato con la incorporación del fertilizante a las 16 semanas, a través de los parámetros analizados para la producción de plantines de *P. taeda*..... 113
29. Evaluación comparativa de la respuesta de cada sustrato a la inoculación con *Trichoderma*, a través de los parámetros analizados para la producción de plantines de *P. taeda*..... 114
30. Comparación de las respuestas de los sustratos evaluados para la producción de plantines de *E. globulus* en cada uno de los parámetros analizados..... 116
31. Evaluación del comportamiento de cada sustrato con la incorporación del fertilizante a las 16 semanas, a través de los parámetros analizados para la producción de plantines de *E. globulus*..... 118
32. Evaluación comparativa de la respuesta de cada sustrato a la inoculación con *Trichoderma*, a través de los parámetros analizados para la producción de plantines de *E. globulus*. 120
33. Comparación de las respuestas de los sustratos evaluados para la producción de plantines de *E. grandis* en cada uno de los parámetros analizados..... 125
34. Evaluación del comportamiento de cada sustrato con la incorporación del fertilizante a las 16 semanas, a través de los parámetros analizados para la producción de plantines de *E. grandis*..... 127
35. Evaluación comparativa de la respuesta de cada sustrato a la inoculación con *Trichoderma*, a través de los parámetros analizados para la producción de plantines de *E. grandis* 129
36. Registros de Humedad Relativa y Temperatura tomados por la Estación Meteorológica del Vivero desde el 14/5/01 al 24/7/01.....Anexo I

Gráfica N°

1. Concentraciones foliares de Nitrógeno en plantines de *Pinus taeda* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*... 87
2. Concentraciones foliares de Fósforo en plantines de *Pinus taeda* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*... 88
3. Concentraciones foliares de Potasio en plantines de *Pinus taeda* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*... 89
4. Concentraciones foliares de Nitrógeno en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*..... 94

5. Concentraciones foliares de Fósforo en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*... 95
6. Concentraciones foliares de Potasio en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*... 96
7. Concentraciones foliares de Nitrógeno en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*..... 101
8. Concentraciones foliares de Fósforo en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum* 102
9. Concentraciones foliares de Potasio en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*..... 103
10. Colonización y sobrevivencia de *Trichoderma harzianum* en dos sustratos comerciales para cultivo de especies forestales en vivero... 107
11. Evolución del contenido de N (g de N/Tratamiento) y del % de plantas con síntomas de moho gris (*Botrytis cinerea*) en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos y en presencia de *Trichoderma harzianum*, a lo largo de todo el ciclo..... 124
12. % de plantas con síntomas de moho gris (*Botrytis cinerea*) en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos y en presencia de *Trichoderma harzianum*, comparando las dos fechas de muestreo (18 y 23 semanas de edad)..... 132
13. % de plantas con síntomas de moho gris (*Botrytis cinerea*) en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos y en presencia de *Trichoderma harzianum*, comparando las dos fechas de muestreo (18 y 23 semanas de edad)..... 133
14. % de plantas con síntomas de moho gris (*Botrytis cinerea*) en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos y en presencia de *Trichoderma harzianum*, comparando las dos fechas de muestreo (18 y 23 semanas de edad) 134
15. Concentraciones foliares de Calcio en plantines de *Pinus taeda* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*Anexo II
16. Concentraciones foliares de Magnesio en plantines de *Pinus taeda* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.....Anexo II

17. Concentraciones foliares de Hierro en plantines de *Pinus taeda* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*..... Anexo II
18. Concentraciones foliares de Manganeso en plantines de *Pinus taeda* creciendo en el sustrato (S₁) colonizado con *Trichoderma harzianum*.....Anexo II
19. Concentraciones foliares de Manganeso en plantines de *Pinus taeda* creciendo en el sustrato (S₂) colonizado con *Trichoderma harzianum*.....Anexo II
20. Concentraciones foliares de Cobre en plantines de *Pinus taeda* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.....Anexo II
21. Concentraciones foliares de Zinc en plantines de *Pinus taeda* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.....Anexo II
22. Concentraciones foliares de Boro en plantines de *Pinus taeda* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.....Anexo II
23. Concentraciones foliares de Calcio en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.....Anexo II
24. Concentraciones foliares de Magnesio en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*..... Anexo II
25. Concentraciones foliares de Hierro en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.....Anexo II
26. Concentraciones foliares de Manganeso en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en el sustrato (S₁) colonizado con *Trichoderma harzianum*.....Anexo II
27. Concentraciones foliares de Manganeso en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en el sustrato (S₂) colonizado con *Trichoderma harzianum*.....Anexo II
28. Concentraciones foliares de Cobre en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.....Anexo II
29. Concentraciones foliares de Zinc en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.....Anexo II

30. Concentraciones foliares de Boro en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.....Anexo II
31. Concentraciones foliares de Calcio en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.....Anexo II
32. Concentraciones foliares de Magnesio en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.....Anexo II
33. Concentraciones foliares de Hierro en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.....Anexo II
34. Concentraciones foliares de Manganeso en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en el sustrato (S₁) colonizado con *Trichoderma harzianum*.....Anexo II
35. Concentraciones foliares de Manganeso en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en el sustrato (S₂) colonizado con *Trichoderma harzianum*.....Anexo II
36. Concentraciones foliares de Cobre en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.....Anexo II
37. Concentraciones foliares de Zinc en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.....Anexo II
38. Concentraciones foliares de Boro en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.....Anexo II
39. % de plantas con síntomas de moho gris (*Botrytis cinerea*) en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos y en presencia de *Trichoderma harzianum*, comparando las dos fechas de muestreo (18 y 23 semanas de edad).....Anexo II
40. Evolución de la altura de plantines forestales de *E. globulus* creciendo en los dos sustratos (S₁ y S₂) colonizados o no con *Trichoderma harzianum* junto con altura de calidad.....Anexo II
41. Evolución del diámetro de plantines forestales de *E. globulus* creciendo en los dos sustratos (S₁ y S₂) colonizados o no con *Trichoderma harzianum* junto al diámetro mínimo de calidad.....Anexo II

42. Valores de HR promedio (%) recopiladas por la estación meteorológica del vivero, en el periodo comprendido entre el 14/5/01 y el 23/7/01, mostrando los momentos de evaluación de plantas atacadas (18/6 y 24/7). Anexo II
43. Valores de T promedio (%) recopiladas por la estación meteorológica del vivero, en el periodo comprendido entre el 14/5/01 y el 23/7/01, mostrando los momentos de evaluación de plantas atacadas (18/6 y 24/7). Anexo II
44. Evolución de la altura de plantines forestales de *E. grandis* creciendo en los dos sustratos (S₁ y S₂) colonizados o no con *Trichoderma harzianum* junto con altura de calidad. Anexo II
45. Evolución del diámetro de plantines forestales de *E. grandis* creciendo en los dos sustratos (S₁ y S₂) colonizados o no con *Trichoderma harzianum* junto al diámetro mínimo de calidad Anexo II

Fotografía N°

1. Vista general del ensayo al mes y medio de la siembra..... Anexo III
2. Plantines de *E. grandis*, extraídos para la evaluación del peso fresco y peso seco, y para análisis foliar. Anexo III
3. Colonias de *Trichoderma* creciendo en medio de cultivo, provenientes del "sustrato 1 con *Trichoderma*". Anexo III
4. Sintomatología de ataque de *Botrytis* en plantines de *E. globulus* Anexo III
5. Sintomatología de ataque de *Botrytis* en plantines de *E. grandis* Anexo III

1. INTRODUCCION

Según datos del XI censo de viveros forestales (2001), al igual que en el año 2000, se registró una menor producción de plantines, luego del pico del año 1998. Manteniendo la misma tendencia histórica desde 1991, en el 2001 se observa una clara predominancia del genero *Eucalyptus* frente al genero *Pinus*. Dentro del genero *Eucalyptus*, el *E. globulus* fue el más producido, siguiéndole con menos de la mitad de plantas el *E. grandis*. Mientras que dentro del genero *Pinus*, el *P. taeda* fue el más producido con una producción un poco superior al *E. grandis*. Con respecto al año anterior se observó una disminución del 15% aproximadamente del área potencialmente forestable (51).

El departamento de Rivera, con 9 viveros forestales, es el que presenta mayor número y concentra aproximadamente el 14% de la producción nacional de plantines forestales (51).

En los últimos años, ha habido una variación en el tipo de viveros, registrándose una disminución del número de los mismos y concentrándose la producción en menos viveros, de mayor nivel tecnológico.

En la producción de plantines forestales se emplean diferentes métodos de producción que implican técnicas diferenciales en cuanto al sistema de riego, de la fertilización, manejo del ambiente, manejo sanitario, etc. que difieren grandemente entre una empresa y otra y que son parte de la reserva de información de las mismas. Uno de los temas que ha cambiado el esquema de producción en los últimos años ha sido la sustitución de las mezclas con tierra por sustratos de diverso tipo a base de restos compostados de origen variado o componentes inorgánicos. Este cambio tecnológico respondió fundamentalmente al aumento de demanda de abastecimiento de plantines de calidad, a la necesidad de obtener plantas homogéneas, mínimas pérdidas, y al manejo sanitario principalmente referido al control de patógenos de suelo que provocan el denominado "damping-off".

La gran demanda de abastecimiento de plantines a lo largo del año, también se vio acompañado del incremento significativo del empleo de agroquímicos porque las condiciones ambientales que se dan dentro del invernáculo tienden a favorecer la aparición de patógenos foliares y las estrategias de fertilización incrementan la susceptibilidad del cultivo al ataque de los mismos. El ejemplo más evidente ha sido la incidencia y severidad de *Botrytis cinerea* causante del moho gris de los *Eucalyptus*. Los ataques más

severos se registran en los últimos días del ciclo productivo y están asociados a los canteros con elevada densidad de plantas. Las lesiones ocurren en tejidos jóvenes, afectando sobre todo al tercio apical de las plántulas, siendo las heridas abióticas una de las principales vías por donde inicia el ataque.

Las estrategias empleadas para el control de *Botrytis* u otros patógenos, se basan en el uso de fungicidas sistémicos y de contacto, que en forma casi continua y mezclando diferentes principios activos, los viveristas emplean para cubrir los posibles escapes cuando las condiciones ambientales son favorables. También se emplean medidas de manejo con el objetivo de bajar la carga dentro del invernáculo y del vivero. Sin embargo, actualmente, no existe un producto que sea totalmente efectivo para el caso concreto de *Botrytis*, ni tampoco mezclas de productos, y se ha constatado la aparición de razas resistentes. Esto agrava la situación y lleva a la implementación de medidas complementarias y a la búsqueda de nuevas herramientas. Una de ellas es el control biológico mediante el empleo de antagonistas como lo es *Trichoderma*.

El control biológico se concibe dentro de un plan de Manejo Integrado agregado a un conjunto de medidas que tienen en cuenta el seguimiento de las poblaciones de los patógenos a través de monitoreos. Existen cepas de *Trichoderma* aisladas de suelos de Uruguay que han demostrado efectivo control de patógenos del suelo y *Botrytis*, y que a la vez son compatibles con los fungicidas empleados en los viveros forestales, lo que permitiría la complementación de éstas dos medidas y la posible reducción del nivel de agroquímicos. No se descartaría además un posible efecto promotor de crecimiento.

El desarrollo de la tecnología de uso de sustratos ofrece una vía práctica de introducir *Trichoderma* en el sistema de producción de plantines de especies forestales. Para que esta medida sea exitosa es necesario que el agente microbiano exprese su actividad de promoción de crecimiento y/o de antagonismo frente a patógenos, colonizando el sustrato y sobreviviendo durante el ciclo de producción.

Por lo tanto es necesario conocer la dinámica del agente biológico en el sistema sustrato-planta donde se lo incorpora y en caso de ser necesario, efectuar los ajustes correspondientes para que se exprese todo el potencial de productividad.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la incorporación de *Trichoderma harzianum* en diferentes sustratos, sobre la calidad de plantines de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus globulus* spp. *globulus* y *Pinus taeda* creciendo en condiciones de vivero comercial.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Determinar la colonización y sobrevivencia de *Trichoderma harzianum* en diferentes sustratos, durante el ciclo de producción de plantines de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus globulus* spp. *globulus* y *Pinus taeda*.
2. Evaluar parámetros morfológicos y fisiológicos de plantines de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus globulus* spp. *globulus* y *Pinus taeda* creciendo en diferentes sustratos inoculados con *Trichoderma harzianum*.
3. Evaluar la incidencia y severidad de *Botrytis cinerea* en plantines de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus globulus* spp. *globulus* y *Pinus taeda* en sustratos con *Trichoderma harzianum*.
4. Evaluar aspectos nutricionales de plantines de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus globulus* spp. *globulus* y *Pinus taeda* creciendo en diferentes sustratos inoculados.

3 REVISION BIBLIOGRAFICA

3.1 Calidad de plantín forestal: requerimientos y parámetros de evaluación

3.1.1 Introducción

En la producción de plantines se debería de buscar un equilibrio entre las condiciones bajo las cuales la especie tiene un crecimiento óptimo y aquellas bajo las cuales tendrá que crecer cuando sea llevado a campo. Para ello se deben producir plantas sanas, resistentes y uniformes, a su vez que posean gran equilibrio entre la parte aérea y el sistema radical (com. pers. Ing. Agr. Fernando Irisity).

3.1.2 Factores que afectan el desarrollo de los plantines

3.1.2.1 Factor genético

El factor más importante es el origen de la semilla, ya que ésta va a influir tanto en el comportamiento en el vivero como en el producto final a cosechar. Si se parte de una semilla de mala calidad (16) es inútil manejar el resto de los factores para obtener un plantin de buenas características.

3.1.2.2 Factores ambientales

El desarrollo de los plantines es influenciado, no solo por el genético, sino también por las condiciones ambientales del sitio. Entre estas, se deben considerar: temperatura, humedad relativa, duración del período vegetativo, intensidad de irradiación, fotoperíodo, etc. (com. pers. Ing. Agr. Fernando Irisity).

3.1.3 Métodos y Técnicas de Producción

3.1.3.1 Producción de plantines de especies forestales

De acuerdo a la especie a producir y a la técnica de producción a utilizar, se tienen diferentes posibilidades de circulación de plantas dentro del vivero. Una misma especie puede ser producida con diferentes técnicas, siempre y cuando no existan restricciones fisiológicas. Por ejemplo, los eucaliptos pueden sembrarse en almácigo y pasarse a envase, o sembrarse directamente en el envase con que serán conducidos al sitio de plantación. Por otro lado los pinos pueden sembrarse en almácigo y trasladarse a raíz desnuda a plantación o sembrarse directamente en envase y trasladarse con cepellón al sitio de plantación.

Los métodos de producción ejercen marcada influencia en el desarrollo de los plantines. En conformidad con las técnicas utilizadas, puede ser estimulado el sistema radicular y/o la parte aérea, pudiendo de ésta forma alterar la tendencia de crecimiento de los parámetros indicadores de la calidad de los plantines durante su período de producción.

3.1.3.2 Envases

El tipo y las dimensiones de los recipientes influyen en el desarrollo de los plantines. El volumen del recipiente debería tener en cuenta la especie y las características ecológicas del lugar donde se instale la plantación (Anales del Simposio de Vicosá, 1983) (16). En la selección del envase se tendría que tener en cuenta: tamaño (volumen, altura, diámetro y forma), espaciamiento de los envases (distancia entre celdas), diseño antiespiralizante (envases con bordes verticales en el interior), orificios de drenaje (permite lixiviación del agua y los fertilizantes, además de la poda radicular), color y propiedades aislantes (para evitar calentamiento excesivo) (16).

3.1.3.3 Sustrato

En un principio los sustratos utilizados en el cultivo de plantas en macetas y contenedor se basaban en suelo mineral. Durante estos últimos años se ha verificado una evolución, hasta las actuales mezclas, con predominancia de componentes orgánicos tipo turba, corteza de pino y similares. Estos nuevos sustratos proporcionan resultados superiores a los basados en tierra, siempre

que se conozcan y comprendan sus características y necesidades (5). La calidad del sustrato debe permitir que las raíces respiren y encuentren el agua y los nutrientes que necesitan, resultando un buen desarrollo y conformación radicular. El sustrato debe formar un "terron" consistente con las raíces, sin adherirse a las paredes del envase, a su vez debe constituir un ambiente favorable para el desarrollo de los microorganismos rizosféricos (com. pers. Ing. Agr. Fernando Irisity). Debido a la tendencia a disminuir el tamaño del envase para disminuir costos, se hace más importante definir la calidad del sustrato. Este tema se tratara más en profundidad en el capítulo 3.

3.1.3.4 Esterilidad

Es importante utilizar un sustrato libre de hongos fitopatógenos y semillas de malezas, procurándose con esta medida reducir la ocurrencia de enfermedades y la competencia con malezas, de modo de aumentar la sobrevivencia y el desarrollo de los plantines. La desinfección de sustratos se efectúa principalmente por métodos físicos como el vapor y químicos como el bromuro de metilo u otros. No obstante el empleo de componentes estables como fuente de carbono como la turba, fibras, etc., garantizan que no ocurra colonización por parte de patógenos.

3.1.3.5 Riego

El régimen hídrico más favorable es aquel en que el agua se encuentra disponible a baja tensión, entre el punto de marchitez y la capacidad de campo. Es necesaria la fluctuación del régimen entre estos dos puntos, para favorecer el intercambio de gases (16).

Manteniendo el contenido de agua constante a capacidad de campo, el crecimiento y la ramificación del sistema radicular es mínimo. Por el contrario, no recibiendo el suelo la necesaria humedad (a no ser cerca del punto de marchitez), el desarrollo radicular es máximo (ASSOCIACAO, 1975) (16).

3.1.3.6 Fertilización

En este tipo de cultivo, el manejo de la fertilización en cada etapa del ciclo productivo es una de las variables utilizados para controlar el desarrollo adecuado de los parámetros fisiológicos y morfológicos de los plantines (16).

Para que el fertilizante favorezca el buen desarrollo de la planta debe de tenerse en cuenta los requerimientos de la misma en cada etapa. Por esta razón, es muy importante identificar los efectos de los distintos nutrientes en cada etapa del ciclo productivo, con el fin de establecer momentos y dosis óptimas de fertilizante que contribuyan a un adecuado desarrollo radicular y aéreo. De esta forma, partiendo de las exigencias de macronutrientes en cada etapa de desarrollo, se crea el plan de fertilización. Con todo, por encima de los límites de la necesidad se ve resentida la calidad morfo-fisiológica de las plantas.

Las dosis y las fuentes a utilizar, a nivel nacional, son particulares para cada vivero, ya que las investigaciones científicas nacionales son muy escasas y por esta razón, éstas han sido obtenidas a partir de ensayo de pruebas y error en cada vivero (con. pers. Ing. Agr. (MSc) Alicia Crosara). Pero generalmente, se realizan aplicaciones modificando la dosis de N: P: K según la etapa de desarrollo en que se encuentren los plantines.

Por lo tanto, si bien se considera mínimo y poco importante el aporte de nutrientes por parte del sustrato, es fundamental tenerlo en cuenta para la determinación de las dosis de nutrientes dadas en la etapa de arranque (com. pers. Ing. Agr. (MSc) Amalia Baraibar).

En el vivero, donde se realizó el ensayo, dicho plan se fracciona en tres etapas, las cuales son denominadas: etapa de "arranque", "cria" y "terminación". En el capítulo 3 se desarrollaran estas etapas utilizadas por el vivero.

3.1.4 Parámetros de calidad forestal

Los parámetros que definen la calidad pueden separarse en dos ordenes: los de orden externo o morfológicos y los de orden interno denominados fisiológicos (Wakeley, 1954). Según encuestas realizadas por Coppola, et al., 2000 (16); los de orden externo son los indicadores de calidad más utilizados al momento de seleccionar los plantines para llevar a plantación, entre estos se encuentran: longitud de la parte aérea, diámetro del cuello, arquitectura de la parte aérea, arquitectura de la raíz, etc.

3.1.4.1 Parámetros morfológicos

Según (12), para la evaluación de los siguientes parámetros y la clasificación de plantines es necesario atribuir valores mensurables que correspondan a un aceptable índice de sobrevivencia.

- Longitud de parte aérea

Por mucho tiempo, fue el único criterio utilizado para la clasificación. Las fertilizaciones con exceso de Nitrógeno buscando mayor crecimiento en altura, resultan en un debilitamiento del estado fisiológico, disminuyendo la sobrevivencia en plantación.

- Diámetro del cuello

Investigaciones realizadas por Stoeckler y Slabaugh (1965), Schubert y Adams (1971), han demostrado fuerte correlación entre el diámetro del cuello y la sobrevivencia de los plantines, después de la plantación. Carneiro (1976) informó una buena correlación de éste parámetro en la sobrevivencia de plantines de *Pinus taeda*, mientras que en la altura no hubo correlación.

- Relación altura/diámetro de cuello

Expresa el equilibrio del desarrollo de la parte aérea de los plantines.

- Relación parte aérea /raíz

El periodo de adaptación de los plantines luego de la plantación es variable y depende de la formación del sistema radicular. En plantas de similar largo de parte aérea, se recuperan más rápido las que presentan sistemas radiculares más fuertes.

- Peso de los plantines

Los factores que influyen en el desarrollo del plantin actúan también sobre su peso. Se deberían considerar los pesos de la parte aérea, radicular, total y por porcentaje de raíces (peso raíces/peso total). Un mayor peso de la parte aérea, con el correspondiente peso radicular, puede significar una mayor sobrevivencia.

- Otros parámetros morfológicos son:

Arquitectura de la parte aérea y de la raíz (16), formación de la corteza, rigidez del tallo, largo de acículas, coloración y estado fitosanitario.

3.1.4.2 Parámetros fisiológicos

Según (16), dichos parámetros se verán reflejados en el futuro comportamiento de la planta cuando sea llevada a campo. A continuación se presentan algunos criterios de evaluación:

- Relación agua-planta

El agua es un factor importante que afecta la fisiología de las plantas. El régimen de riego influye en la germinación, tamaño de la planta, y relación parte aérea/raíz durante su cultivo. Se puede medir el contenido relativo del agua y el potencial total de ésta por medio del psicrómetro o bomba de presión (16). Del potencial hídrico del xilema dependen algunas relaciones fisiológicas de las plantas como ser el movimiento de las células de los estomas, la fotosíntesis, la resistencia a la difusión en las hojas, entre otras. Este potencial fue correlacionado al estrés ocasionado por la plantación (12). Varios investigadores encontraron correlación entre bajos valores de éste potencial (buen régimen hídrico) con parámetro morfológicos como el diámetro del cuello, altura aérea y relación altura/diámetro del cuello (Anales del Simposio de Vinosa, 1983) (16).

- Estado nutricional

Un buen estado nutricional aumenta la probabilidad de sobrevivencia de la planta en el campo. Para esto sería importante realizar chequeos, como análisis foliares y de sustrato, y más aún al observar la presencia en el follaje de coloraciones anormales. De esta manera al detectar alguna carencia o desbalance nutricional, se deben hacer las correcciones necesarias a través de la fertilización, utilizando el o los elementos nutritivos, en dosis apropiadas para solucionar el problema. Una inadecuada fertilización aplicada fuera de época puede ocasionar estrés nutricional, reducir el crecimiento y si es prolongada puede afectar la morfología de la planta (I.N.I.F.A.P., Mexico, 1995)

(16). La calidad del agua y el tipo de sustrato son factores a considerar en el momento de observar el estado de las plantas. Este tema será desarrollado mas en profundidad en el capítulo 3.

- Estado sanitario

El estado sanitario es uno de los parámetros a tener en cuenta en el momento de evaluar un plantin, para ser llevado al campo. Este concepto involucra una serie de factores como ser: coloraciones anormales debidas a una falta o un desbalance nutricional, presencia de sintomatología de alguna enfermedad o daño causado por agentes bióticos o abióticos. Este tema, se desarrollara en el próximo capítulo.

3.2 Problemas sanitarios en plantines forestales

3.2.1 Introducción

El cultivo en invernáculo, bajo condiciones de alta temperatura y humedad, riego tecnificado y uso de altas dosis de productos químicos; han favorecido la proliferación de enfermedades. Dentro de los problemas sanitarios, se mencionaran los principales agentes causales de perdidas de plantines de eucaliptos y pinos en prácticamente todos los viveros del país. Entre los microorganismos que atacan a los plantines en la etapa de vivero, los hongos son el problema más grave. Dentro de los hongos de suelo, el más conocido es el complejo damping-off que actúa en ambos géneros muy rápidamente y causa mucho daño en pocos días. Por otro lado, *Botrytis cinerea* es la principal causa de perdidas dentro de los patógenos foliares.

3.2.2 Muerte de plántulas por complejo damping-off

Esta enfermedad causa daños en especies hortícolas, forestales, frutícolas, etc. Este complejo es producido por un grupo de hongos de más de 30 especies, pero en el caso de Uruguay predominan los géneros *Pythium sp.*, *Fusarium sp.*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium sp.*, *Phytopftora sp.*, etc. Debido a que el ataque se manifiesta de improviso, con un corto período de incubación (24 a 48 horas), el daño alcanza niveles altos, muy rápidamente. La enfermedad puede manifestarse en 5 momentos en el desarrollo de los plantines, con diferente sintomatología (47):

- Fallas de germinación

En este tipo de ataque, el patógeno puede ubicarse dentro de la semilla y/o en el suelo o sustrato. En este último caso, el patógeno penetra en el momento de la imbibición de la semilla. Esto trae como consecuencia la no emergencia de las plántulas.

- Ataque de pre-emergencia

El daño se produce cuando la plántula se abre paso a través del suelo contactando con micelios o esporas de alguno de los patógenos.

- Ataque de post-emergencia

Se manifiesta por un estrangulamiento a nivel del cuello de la plántula, que luego se marchita y se vuelca. Esta sintomatología es la más típica, ocurriendo antes de la cutinización, es decir antes de las 3 o 4 semanas de la emergencia.

- Ataque de copas

Esto ocurre principalmente cuando se salpican las copas con el agua de riego, con el cual, a su vez, se pueden estar aportando esporas de patógenos que con humedad suficiente comienzan a provocar la aparición de micelios que recubren y apelmazan las copas.

- Podredumbre de raíz

Ocurre en plantas grandes de más de 15 cm de altura, comenzando como una deficiencia de agua que provoca un marchitamiento, tomando luego colores amarronados. La diferencia con el daño de post-emergencia, se da al tratar de arrancar la planta que sale con la raíz entera, no quedando en el suelo.

La mayoría de los hongos pertenecientes a este complejo poseen estadios cuyas estructuras como clamidiosporas, esclerocios o micelios se mantienen en dormancia en el suelo o en sustratos no desinfectados hasta que encontrando condiciones adecuadas, o puestos en contacto con exudados radiculares, se activan. En ese momento penetran la epidermis del hipocotile o la parte superior de la raíz (47).

En cuanto al control químico se pueden realizar aplicaciones con productos modificadores del ambiente, como el ácido sulfúrico, o los productos de nombre comercial Basamid (Dazomet), Vapam (metilditiocarbamato de sodio), Bromuro de metilo, etc. (46).

Hace algunos años, se viene investigando antagonistas de los patógenos del complejo damping-off (2, 8, 21, 27, 41, 42, 47). Actualmente hay productos biológicos eficaces, que se usan como tratamiento preventivo en mezclas con el sustrato o realizando un tratamiento a la semilla. Entre los cuales se pueden citar: Bio-Fungus ®, Binab T ®, RootShield ®, T-22G ®, T-22 Planter Box ®, Trichopel ®, Trichoderma 2000 ® (25).

Este problema, ocasionado por los hongos del complejo damping-off se ha visto disminuido por el pasaje de mezclas con suelo al uso de mezclas de sustratos, lo cual puede explicarse por un mayor conocimiento de sus componentes y propiedades al momento de ajustar las técnicas productivas a las características del medio de cultivo. Esto lleva a un manejo más adecuado, de acuerdo a las exigencias de la o las especies vegetales a producir.

Pero en la práctica a nivel nacional, el problema aún persiste debido a la ausencia de métodos oficiales de análisis y de una legislación que evite los posibles fraudes. No existe un adecuado control de calidad de los sustratos, normalmente no se analizan y en ocasiones, debido a la variedad de métodos de análisis, los resultados no se saben interpretar correctamente. Ante la falta de métodos normalizados de análisis, es necesario que éstos se encuentren debidamente calibrados, a través de los correspondientes ensayos de campo, que correlacionen los resultados de laboratorio con los observados en el cultivo.

3.2.3 Patógenos foliares

3.2.3.1 Botrytis cinerea

Botrytis cinerea Pers ex Fr. es el causante de la enfermedad, "moho gris de los Eucalyptus" (34), su forma imperfecta pertenece a la subdivisión *Deuteromycotina*, clase *Hyphomycetes*, orden *Hyphales* (Moniliales) (1). Mientras que la forma perfecta del mismo, es *Botryotinia fuckeliana* perteneciente a la clase *Ascomycetes*, orden *Hymenoscypales*, familia *Sclerotiniaceae* (34).

Este patógeno crece bien en PDA, entre 20-30 °C sus colonias producen micelios aéreos de coloración cenicienta. Pasada la semana de germinados, se forman esclerocios negros en la superficie del medio de cultivo, generalmente solitarios, con un tamaño que va de unos pocos milímetros hasta más de 1 cm. Produce conidioforos septados, de hasta más de 2 mm, con los dos tercios basales de color marrón claro a marrón oscuro y el tercio apical claro o hialino, donde aparecen ramificaciones dicotómicas portando a los conidios. Los conidios son unicelulares, de ovoides a elipsoidales o esféricos de 6-18 x 4-11 um (4).

3.2.3.2 Sintomatología

La sintomatología más común en plantines de eucaliptos, es el marchitamiento de los brotes seguido de su muerte, los cuales se recubren con un micelio de color ceniciento (46), si la infección afecto el tallo, se puede producir un quiebre a esa altura quedando el brote caído. Este micelio también se puede observar en hojas muertas, caídas sobre el sustrato o en hojas basales en senescencia que aún permanecen adheridas al tallo.

3.2.3.3 Ciclo biológico

La germinación de los conidios de *B. cinerea* dependen de las condiciones microambientales del filoplano, particularmente la disponibilidad de agua y nutrientes. Una cutícula intacta previene la difusión de la solución celular, limitando la disponibilidad de éstos sobre la superficie foliar (22).

Luego que se dan las condiciones favorables para la germinación y previo a la penetración del tejido vegetal, los conidios desarrollan un tubo germinativo que en su extremo llevan una estructura llamada apresorio, lo que le permite adherirse a la superficie del hospedero.

La penetración de la cutícula y epidermis es un proceso mecánico y enzimático (Mc Eden, 1973) (45). Una vez que, la cutícula ha sido sobrepasada, el hongo secreta enzimas que degradan las paredes celulares del hospedero. La susceptibilidad de la pared celular a las hidrolasas secretadas por *B. cinerea*, es probablemente la determinante principal de la severidad (Basham y Bateman, 1975; Stephens y Wood, 1975) (22); (Alderman et al, 1985; Salinas et al, 1989) (49).

La esporulación, es decir la aparición de micelio sobre hojas muertas o senescentes que aún están unidas a la planta, o caídas en el suelo se ve favorecida por altas humedades relativas, y temperaturas relativamente bajas a moderadas (O'Neill, Shtinberg y Elad, 1997) (45), mientras que los conidios secos son liberados cuando desciende la humedad relativa (Epton y Richmond, 1980) (49). Estos conidios, a su vez, pueden ser fácilmente diseminados por el viento y por el agua de riego, ya sea por venir con la misma o ser salpicados al caer las gotas de agua sobre una superficie contaminada.

Los patógenos necrotróficos como *Botrytis sp.* generalmente se caracterizan por producir epidemias policíclicas que involucran ciclos de infección y esporulación. Por lo que, una reducción de la esporulación puede provocar un retardo de la misma. Si bien, la infección se puede dar en tejidos de plantas sanas, el crecimiento y la producción de conidios se da en tejidos necrosados luego que se haya inducido la necrosis, ya sea por el mismo patógeno o por otro factor (32).

3.2.3.4 Ecología

3.2.3.4.1 Fuente de inóculo

B. cinerea es un patógeno ubicuo, no presentando hospederos específicos. Las principales fuentes de conidios son las plantas o cultivos enfermos, la vegetación natural, los restos secos y los esclerocios. A su vez, estará siempre presente en el ambiente un cierto nivel de inóculo potencial, aún cuando la enfermedad no este presente en el cultivo (32).

Varios autores han considerado a éste moho, como el más difícil de controlar (Gregory y Hirst, 1957) (32); (Ferreira, 1989; Souza, 1991) (52).

En frutilla y frambuesa, ha sido demostrado que los tejidos vegetales necrosados dentro del cultivo son la principal fuente de inóculo durante una epidemia de *B. cinerea* (Braun y Sutton, 1987, 1988; Jarvis, 1962a, 1962b, 1962c; Jordan y Pappas, 1977; Miller y Waggoner, 1957) (32).

3.2.3.4.2 Sobrevivencia.

Una vez que ha sido introducido en los viveros, *B. cinerea* puede sobrevivir saprofitamente en sustrato orgánico, en hojas muertas caídas en la superficie de los recipientes, y también, en los tejidos de los plantines de eucaliptos, como parte de la microflora del filopiano (Souza y Ferreira, 1990; Souza, 1991) (52). En ésta última condición, y cuando las condiciones ambientales y del hospedero sean favorables, puede pasar a la condición de patógeno (Souza, 1991) (52). De lo contrario, si las condiciones ambientales son desfavorables para el normal desarrollo, este puede producir estructuras de resistencia llamadas esclerocios, que le permitirá sobrepasar las condiciones adversas.

3.2.3.4.3 Efectos de las condiciones ambientales

3.2.3.4.3.1 Humedad

Para la germinación de los conidios, la producción del tubo germinativo y la infección del huésped se requiere una elevada humedad relativa o la formación de agua libre sobre la superficie foliar (Alderman, Lacy y Everts, 1985; Blakeman, 1980; Carre y Coyier, 1984; Elad, 1989; Jarvis, 1980; Marois, Redmond y MacDonald, 1988; Salinas, Glandorf, Picavet y Verhoeff, 1989; Yunis, Shtienberg, Elad y Mahrer, 1994) (49); (Baker, 1946; Thomas, Marois y English, 1988) (50).

Al igual que Harrison (1980) y Ferreira (1989) (50), se observó que *B. cinerea* era muy dependiente de la elevada humedad relativa por un periodo prolongado, debido a que luego de retirar los plantines de la cámara húmeda, y colocarlos a cielo abierto o en un lugar sombreado y aireado se detenía el desarrollo de las lesiones, que en la mayoría de las veces se secaban en menos de 24 horas.

Jarvis (1977) y Kamoen (1984) (22) han sugerido que las condiciones muy húmedas favorecen la expansión de lesiones por facilitar la difusión de toxinas o enzimas dentro del tejido del hospedero. A su vez, favorecen la reactivación de infecciones latentes, a pesar que posiblemente dentro de los tejidos, en todo momento el microambiente este muy húmedo.

3.2.3.4.3.2 Requerimientos térmicos

Las temperaturas óptimas para la germinación y la posterior infección están entre 9 y 21°C, pero aun pueden ocurrir a 2°C y a más de 25°C (Elad, 1989; Jarvis, 1980; Marois, Redmond y MacDonald, 1988; y Salinas, Glandorf, Picavet, y Verhoeff, 1989) (49). A su vez, la esporulación sobre tejidos infectados se da dentro de un amplio rango, incluyendo las que ocurren dentro de las cámaras de frío (49).

Morgan en 1984 (18) sugirió que la incidencia de *Botrytis* puede ser reducida por altas temperaturas nocturnas, 16°C vs. 13°C. Por lo cual en climas fríos o cuando los cultivos estén creciendo en el invierno, será necesario el uso de calefacción.

En un trabajo (50), donde se probó la efectividad de *B. cinerea* en infectar plantines de *Eucalyptus* a tres diferentes temperaturas y tiempos de agua libre, se observó que a 20 y 24° C se promovían mayores niveles de infección proporcionalmente con el aumento del periodo de agua libre. Mientras que a 30° C no ocurrieron lesiones en cualquier periodo de agua libre testeado. Estos resultados concuerdan parcialmente con otros realizados por (Hyre, 1972; Shoemaker y Loorbeer, 1977; Tanner y Sutton, 1981; Peterson, Sutherland y Tuller, 1988; Thomas, Marois y English, 1988) (50) en los cuales se obtuvo mejor desarrollo de las lesiones y mayor esporulación entre 10 y 25° C, y en condiciones de saturación.

La combinación de temperaturas favorecen la germinación de los conidios y la elevada humedad relativa favorece la infección del hospedero por *B. cinerea* (Wilson, 1937; Baker, 1946; Snow, 1949; Nelson, 1951; Harrison, 1980; Ferreira, 1989; Hammer y Marois, 1989) (50).

3.2.3.4.3.3 Aireación

La falta de aireación entre los plantines es un factor que afecta indirectamente la susceptibilidad de los mismos frente al patógeno, debido a la incidencia que tiene sobre la humedad relativa en la filosfera. Una alta densidad de plantas y/o poca ventilación del invernáculo llevan a una aireación deficiente.

3.2.3.4.3.4 Disponibilidad de nutrientes

Si bien, los conidios de *Botrytis sp.* tienen reservas endógenas que le permiten germinar en superficies pobres en nutrientes (28); pero para que ocurra el posterior desarrollo del tubo germinativo y la formación del apresorio para la penetración de los tejidos, se requieren de nutrientes exógenos sobre la superficie del hospedero (45). De lo contrario si hubiera poca disponibilidad de nutrientes se reflejaría en una menor tasa de infección (O'Neill, Shtinberg y Elad, 1997) (45).

De los nutrientes aplicados, el Nitrógeno agregado en exceso, provoca un crecimiento foliar succulento con cutículas más delgadas y paredes poco lignificadas (4), lo que trae una mayor susceptibilidad de las paredes frente a la penetración del patógeno.

3.2.3.5 Daños

El hongo *B. cinerea* es un patógeno muy polífago, que ataca tallos, hojas, flores y frutos de varias especies de importancia comercial a nivel mundial (17, 18, 20, 23, 28, 31). Manifestándose también en la producción de plantines de *Eucalyptus* bajo condiciones de invernáculo, debido a que las condiciones ambientales y la susceptibilidad del cultivo tienden a favorecer su desarrollo (22).

El daño principal, es la muerte del ápice o de la planta entera, lo cual ocurre principalmente en la etapa de "cerrado de cantero", siendo inclusive, el que prevalece en los últimos 50 a 60 días de producción (52).

Los ataques más severos están asociados a los canteros con elevada densidad de plantas y afectan, sobre todo, a las porciones más jóvenes de las plántulas. La mayor parte de las lesiones ocurrieron en el tercio apical de los plantines, pocas plantas presentaron lesiones en la porción basal por encima de la sección con corteza madura, mientras que ninguna infección se registró en ésta porción (50).

Las heridas abióticas presentes en los tejidos, es uno de los sitios principales por donde inicia el ataque a los órganos de plantas vivas (Heuvel, 1981), inclusive en plantines de eucalipto (Souza, 1991) (52).

En Uruguay prácticamente todos los viveros de *Eucalyptus* sufren ataques de este fitopatógeno, llegando a provocar pérdidas del orden del 40 al 60% de la producción (com. pers. Ing. Agr. Graciela Romero).

En los viveros del sur de Brasil, en los meses más fríos, se registraron pérdidas del 8 al 17% de la producción (com. pers. Francisco Alves Ferreira) (52).

3.2.3.6 Control

El control de este fitopatógeno se hace difícil debido a la susceptibilidad del plantín en cualquier etapa de su desarrollo y a la posibilidad de atacar cualquier órgano aéreo del mismo bajo las condiciones ambientales que se dan dentro del invernáculo. Además, su patogenicidad se ve incrementada por tener la capacidad de formar esclerotos que le permiten sobrevivir bajo condiciones adversas en el suelo o en restos muertos, y a su vez por poseer un amplio rango de huéspedes (1).

Muchas de las estrategias empleadas en el control, se basan en el uso de fungicidas que matan o inhiben su crecimiento.

- Control químico

El control químico empleado contra éste fitopatógeno ha sido poco consistente (Glover, Sutherland, Leadem y Shrimpton, 1987; Sutherland, Shrimpton y Sturrock, 1989; Souza, 1991; Elad, Gullino, Shtienberg y Aloi, 1995) (52), además de poder inducir la aparición de cepas resistentes a los fungicidas empleados (Ghini y Krugner, 1987; Mittal, Singh y Wang, 1987; Locke y Fletcher, 1988; Sutherland, Shrimpton y Sturrock, 1989; Russell, 1995) (52).

Manejo ambiental

Por otro lado, el controlar las condiciones ambientales dentro del invernáculo es una de las formas más importantes para reducir las pérdidas por *B. cinerea*. Al igual que otros hongos patógenos, su crecimiento es enlentecido por bajas temperaturas y humedades. Durante la producción bajo invernáculo, para mantener la productividad deben mantenerse altas temperaturas diurnas, pero deben manejarse las temperaturas nocturnas para poder reducir las infecciones (Yunis, Shtienberg, Elad y Mahrer, 1994) (22).

En el invernáculo, la humedad puede ser controlada manejando el espaciamiento de las plantas, la calefacción, la ventilación, o el riego. Es importante evitar los periodos de agua libre sobre la superficie foliar, de lo contrario se permitiría germinar a las esporas (Elad, 1989; Yunis, Shtienberg, Elad y Mahrer, 1994) (22).

Dentro de las prácticas recomendadas que favorecen la prevención y el control algunas podrían ser: evitar el exceso de sombra y humedad; retirar y quemar las plantas atacadas, para evitar los contagios (por contacto), etc.

Control biológico

El control biológico involucra el uso de microorganismos benéficos, tales como hongos y bacterias especializadas, para atacar y controlar los patógenos de plantas y las enfermedades que causan (39).

Dicho control representa una alternativa natural, ofreciendo un manejo de enfermedades más amigable con el medio ambiente, el cual puede ser incorporado dentro de controles culturales y físicos, limitando el uso de químicos dentro de un sistema efectivo de manejo integrado. A su vez, se puede complementar con el control químico para mejorar su eficiencia. En un trabajo nacional (45) se observó una mayor eficiencia en el control de éste fitopatógeno usando *T. harzianum* con media dosis del fungicida que con la dosis entera del mismo.

En un estudio realizado (9), se afirma que los patógenos foliares no son fáciles de controlar usando antagonistas, debido a las dificultades en garantizar la sobrevivencia de los últimos.

Hay varios microorganismos que ejercen biocontrol sobre *Botrytis cinerea*, ya sea hongos como el caso *Candida oleophila* (30), *Cladosporium cladosporioides* (18) *Gliocladium roseum* (52, 56), *Trichoderma harzianum* (17, 7, 18, 20, 30, 31, 52, 57), *T. viride* (52), etc. y también bacterias como por ejemplo *Bacillus subtilis* (45), *Pseudomonas syringae* (30), *Streptomyces griseoviridis* (30), etc.

Hay una variedad de mecanismos por los cuales *Trichoderma* ejerce biocontrol. Así, no es sorprendente que distintas cepas tengan capacidades muy diversas de biocontrol; aún los mutantes de una misma cepa original pueden tener diferentes mecanismos de biocontrol. Con esta variedad de armas biológicas, este hongo debería tener una alta versatilidad y muy poca especificidad con los patógenos que controla (27). Este tema será tratado más en profundidad en el capítulo 4.

3.3 Requerimientos nutricionales de plantines forestales

3.3.1 Sustratos

El sustrato, además de servir de soporte o anclaje a la planta, tiene que suministrar a las raíces cantidades equilibradas de aire, agua y nutrientes minerales. Si las proporciones de estos componentes no son adecuadas, el crecimiento de la planta podrá verse afectado. Las proporciones de la fase sólida, líquida y gaseosa varían con la naturaleza del medio y con las condiciones exteriores, como ser drenaje, temperatura, humedad, etc.

3.3.1.1 Propiedades de los medios de cultivo

3.3.1.1.1 Propiedades físicas

Las propiedades físicas son las más importantes desde el punto de vista de un material para su empleo como medio de cultivo. Esto es así, ya que una vez seleccionado el mismo, apenas podría ser modificada su estructura física a diferencia de su composición química, que puede ser alterada mediante el riego y la fertilización.

Para cumplir correctamente sus funciones de regulación de suministro de agua y aire, los sustratos deben poseer una elevada porosidad y capacidad de retención de agua, unidas a un drenaje rápido y una buena aireación (40).

Las características físicas vienen determinadas por el tipo de partícula que forman el material, la distribución granulométrica y el tipo de empaquetamiento. Entre las más importantes se encuentran:

- Distribución del tamaño de partícula
- Densidad real
- Densidad aparente
- Porosidad total:
 - Capacidad de retención de agua
 - Capacidad de aireación.
- Permeabilidad

3.3.1.1.1 Distribución del tamaño de partícula

El tamaño de las partículas afecta el crecimiento de las plantas a través del tamaño de los poros. La distribución del tamaño de las partículas y de los poros determina el balance entre el contenido en agua y en aire del sustrato, a cualquier nivel de humedad (Abad, 1995) (40).

Un sustrato que tenga una elevada porosidad tendrá las ventajas potenciales de una buena aireación y retención de agua. Sin embargo, el que estas condiciones se den en la práctica dependerá, además, de la distribución del tamaño de poros. Si estos son muy grandes, la porosidad estará ocupada por aire. Por el contrario si los poros son excesivamente pequeños, se retendrá mucha agua. Es necesario que la distribución del tamaño de poros sea la adecuada para que el sustrato retenga las cantidades convenientes de agua y aire (Ansorena, 1994) (26).

Un sustrato con una distribución amplia de tamaños, las partículas pequeñas se alojan en los huecos entre las partículas grandes, reduciendo su tamaño y, por lo tanto la porosidad total y la ocupada por el aire. Al mismo tiempo, aumentará la cantidad de agua retenida, al ser mayor el número de microporos. En consecuencia, las propiedades físicas de los sustratos dependen en gran medida de la distribución de tamaños de partícula (Ansorena, 1994) (26).

Ansorena, 1994 (40) señala que la granulometría de los materiales empleados como sustratos suele ser muy variable, dependiendo de múltiples factores: origen y naturaleza, sistema de recolección, condiciones de trituración y tamizado, etc. En la práctica, la porosidad aumenta a medida que lo hace el tamaño medio de partícula (Abad, 1995) (26).

3.3.1.1.2 Densidad real

Se define como el cociente entre la masa de las partículas del medio de cultivo y el volumen que ocupan, sin considerar los poros y huecos (Ansorena, 1994).

La densidad real puede considerar o no, los poros internos de las partículas según el método que se utiliza para su determinación, dando valores muy distintos (40).

3.3.1.1.3 Densidad aparente

A diferencia de la densidad real, la densidad aparente depende del grado de compactación y del tamaño de partícula. Se define como la masa seca del material sólido por unidad de volumen aparente del medio húmedo, e decir, incluyendo el espacio poroso entre las partículas (Abad, 1995) (26).

3.3.1.1.4 Porosidad total

Es el volumen total del medio de cultivo no ocupado por partículas orgánicas o minerales. Su nivel óptimo se sitúa por encima del 85% del volumen del sustrato; una alta porosidad total no indica por si misma una buena estructura del sustrato, sino que es necesario conocer la relación entre la fracción de la porosidad que proporciona el agua y aquella que proporciona la aireación (Abad, 1995) (26).

3.3.1.1.5 Capacidad de retención de agua

La capacidad de agua disponible de un sustrato, se define como la cantidad de agua retenida por el sustrato entre su capacidad de contenedor y el punto de marchitez permanente en que la planta es incapaz de extraer más agua del medio. La capacidad de contenedor se refiere a la cantidad de agua retenida por un sustrato alojado en un contenedor, una vez que ha sido saturado con agua y dejado drenar libremente (40). A su vez, esta capacidad depende de las características del sustrato y de la altura del contenedor (Miles et al., 1989) (40).

3.3.1.1.6 Capacidad de aireación

Se define como la proporción de volumen del medio de cultivo que contiene aire después de que dicho medio ha sido saturado con agua y dejado drenar. El nivel óptimo de la capacidad de aireación oscila entre el 20 y el 30% en volumen (Abad et al., 1993) (26).

Si un sustrato tiene valor bajo de porosidad de aire, deberá limitarse el riego, sobre todo en invierno, en que las pérdidas de agua por evapotranspiración son bajas, para no saturar con agua los macroporos ocupados por aire. La porosidad de aire puede modificarse a través de la adición de diferentes materiales como: arena, corteza, perlita, etc. (5).

3.3.1.1.1.7 Permeabilidad

Además de conocer el volumen de agua disponible de un sustrato, es importante saber la capacidad del mismo para transmitir el agua, es decir su conductividad hidráulica. Esta última, disminuye a medida que se deseca el cultivo, por lo tanto, es fundamental que el flujo de agua hacia las raíces sea elevado, con el fin de reponer el agua perdida por transpiración (Marfá, 1994) (40).

3.3.1.1.2 Propiedades químicas

Junto a las propiedades físicas adecuadas, que aseguren el anclaje de la planta y el suministro de aire y agua, el sustrato debe proporcionar los nutrientes minerales.

Los materiales orgánicos son los materiales que contribuyen en mayor grado a la química de los sustratos, debido principalmente a la formación y presencia de las sustancias húmicas, el producto final más importante de la descomposición de la materia orgánica.

La caracterización química de los sustratos ha de tenerse en cuenta cuando se establece un programa de fertilización, puesto que su fertilidad y el manejo del fertilizante dependen de su reactividad química que hace también que el material no sea estable en el tiempo (40).

Dentro de las propiedades químicas, las más importantes son las siguientes:

- Capacidad de intercambio catiónico (CIC)
- pH
- Capacidad buffer
- Contenido de sales
- Disponibilidad de nutrientes
- Relación C/N

3.3.1.1.2.1 Capacidad de intercambio catiónico

Se define como la suma de los cationes cambiabiles que pueden ser absorbidos por unidad de peso (o de volumen) del sustrato. Dichos cationes

quedan así retenidos frente al efecto lixiviante del agua y están usualmente disponibles para la planta. Por lo tanto una CIC elevada representa un depósito de reserva para los nutrientes (Abad, 1995) (26). Por otro lado, los materiales con baja CIC, como la mayoría de los materiales minerales, retienen cantidades reducidas de nutrientes y requieren una aplicación frecuente de fertilizante (Abad, 1995) (26).

El valor óptimo para la CIC de los sustratos depende estrechamente de la frecuencia de fertirrigación. Si la fertirrigación se aplica permanentemente, la capacidad de adsorción de cationes no representa ninguna ventaja, siendo recomendable en este caso la utilización de materiales inertes, con muy baja o nula CIC. Si, por el contrario, la fertirrigación se aplica de modo intermitente, será interesante la utilización de sustrato con moderada o elevada CIC, en todo caso superior a 20 meq/100 gr (Abad, 1995) (40).

3.3.1.1.2.2 pH

La acidez del medio de cultivo se expresa por su pH, del que depende en gran medida el valor de CIC. Pero, además la gran importancia del pH radica en que regula la solubilidad y, por lo tanto, la disponibilidad de los nutrientes minerales (Ansorena, 1994) (40).

Las plantas pueden crecer sin restricciones en un amplio rango de pH (4 a 8), siempre que las concentraciones de nutrientes disponibles se mantengan en niveles suficientes. En sustratos orgánicos, el rango óptimo de pH para el crecimiento de las plantas es el comprendido entre 5.0 y 5.5. Este rango óptimo es donde se observa una mayor solubilidad de todos los minerales encontrándose más disponibles para ser asimilados, esto no excluye que puedan crecer satisfactoriamente fuera de ese intervalo (Ansorena; 1994) (26).

3.3.1.1.2.3 Capacidad buffer

La capacidad buffer de un sustrato mide el poder amortiguador del mismo frente a cambios rápidos de pH provocados por la adición de fertilizantes de carácter ácido o básico. Se estima mediante las curvas de valoración del sustrato frente a los ácidos y las bases. La capacidad buffer aumenta con la CIC. El poder buffer de los sustratos orgánicos es en general superior al de los inorgánicos puesto que las sustancias húmicas proporcionan capacidad buffer frente a un amplio rango de PH (Burés, 1999a) (40).

3.3.1.1.2.4 Contenido de sales

A consecuencia del reducido volumen del medio de cultivo de que disponen las raíces de las plantas cultivadas en contenedor, la concentración de nutrientes en la solución acuosa suele ser elevada, muy superior a lo habitual en cultivos de campo en suelos minerales. Con ello, aumenta el riesgo de acumulación de niveles excesivos de sales disueltas, conocido como salinidad.

La salinidad de una solución acuosa se mide por su contenido en sales disueltas (mg/l o ppm) o más comúnmente, por su capacidad para conducir la corriente eléctrica o conductividad (ms/cm o $\mu\text{s/cm}$). Cuanto más elevada sea la concentración de sales disueltas, mayor será la conductividad de la solución (Ansorena, 1994) (40).

Abad et al. (1997) (39), mencionaron como rango satisfactorio de salinidad para la mayoría de las plantas, valores entre 2-3,5 $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$, mientras que el nivel óptimo de salinidad para la germinación de semillas y crecimiento de plantines, se ubicó en el rango de valores de 0,78 / 1,99 $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$.

3.3.1.1.2.5 Disponibilidad de nutrientes

Los sustratos orgánicos difieren marcadamente entre sí en el contenido de nutrientes asimilables. Así, algunos sustratos tales como turba rubia, mantillo de bosque, etc., poseen un nivel reducido de nutrientes asimilables, mientras que otros como el compost presentan niveles elevados, dependiendo dicho nivel del origen del compost y del proceso de compostaje. En cualquier caso, y para un crecimiento óptimo de las plantas, deberían añadirse siempre nutrientes adicionales como fertilizantes de base y / o fertilizantes durante el ciclo del cultivo (Ansorena, 1994) (40).

La magnitud y la frecuencia de la fertilización dependen de la CIC del sustrato y del régimen de riego. Las condiciones particulares del cultivo en contenedor hacen que se produzca una renovación frecuente del potencial nutritivo, por lo que el arte de la fertilización consistirá en dar con la cantidad y el tipo de abono, que permitan mantener el sistema radicular en una solución nutritiva de concentración equilibrada. Para lograrlo habrá que conocer:

- las propiedades fisico-química del sustrato, y especialmente la CIC del mismo
- las necesidades específicas en elementos minerales de la especie cultivada, a lo largo de las diferentes etapas de su ciclo vegetativo.
- las características de las diferentes formas de abono disponibles y su comportamiento en las condiciones particulares de empleo (Abad, 1995) (40).

A continuación se presentan los niveles óptimos de nutrientes que debería tener un sustrato, según Warnke, 1995. A su vez, se encontraron otras referencias que difieren apreciablemente en los niveles óptimos (Abad y Col, 1992 (5)):

Nutrientes asimilables (extracto de saturación)	Nivel óptimo* (ppm)
N-NO ₃	100-199 [†]
N-NH ₄	0-20 [†]
P	11-18
K	250-349
Ca	>200
Mg	>70
Fe	5-40
Mn	5-30
Mo	0.01-0.1 [†]
Zn	5-30
Cu	0.001-0.5
B	0.005-0.5

(*) Warnke, 1995; † Abad y Col, 1992 (5).

3.3.1.1.2.6 Relación C/N

La relación C/N se usa tradicionalmente como un índice del origen de la materia orgánica, de su madurez y de su estabilidad (Abad, 1995) (40).

Algunos materiales como la corteza de pinos y la mayoría de sus productos y residuos orgánicos, han de sufrir la descomposición microbiana antes de su empleo como sustratos, según el proceso que se conoce como compostaje. Si éste no es adecuado, se producirán fenómenos fitotóxicos y de inmovilización del nitrógeno. La fitotoxicidad es debida a la presencia de sustancias que son tóxicas para las plantas, algunas de las cuales son originarias del material (resinas y taninos) y otras se producen en el compostaje. Entre las más importantes, cabe destacar la toxicidad debida al

manganeso y compuestos fenólicos en cortezas de pino. (Ansorena, 1994) (40).

3.3.1.1.3 Propiedades biológicas

La materia orgánica fresca es susceptible de descomposición dando como productos finales elementos minerales y ácidos húmicos y fúlvicos. Por ello es importante conocer el contenido en materia orgánica y su estado de descomposición. (Burés, 1999a) (40)

La presencia de materia orgánica en un sustrato actúa como un reservorio dosificador de nutrientes, no sólo en cuanto a su capacidad de intercambio catiónico elevada, sino también por la capacidad de transformar cationes metálicos en complejos metálicos solubles disponibles para las plantas y actuar como sumidero de metales pesados, reduciendo los riesgos de fitotoxicidad causada por los mismos. (Burés, 1999a) (40).

3.3.1.2 Materiales que se utilizan como sustratos

El número de materiales que pueden ser utilizados como sustratos es muy amplio. La mayor parte de los materiales procedentes de residuos requieren un proceso de adecuación que permita obtener características estables (Burés, 1999b) (40).

Una de las clasificaciones tradicionales de los sustratos utilizada se divide en orgánico e inorgánicos:

- **Materiales orgánicos:** existen los materiales orgánicos de origen natural y los de síntesis. Los materiales orgánicos de origen natural están sujetos a descomposición biológica y en general, pueden ser utilizados como sustratos después de sufrir una serie de procesos biológicos de transformación artificial, por ejemplo, mediante el compostaje, o bien natural, como el caso de las turbas. Los materiales orgánicos de síntesis son polímeros no biodegradables que suelen obtenerse mediante procesos químicos como el poliestireno o las espumas de poliuretano, que por sus características muchas veces se clasifican erróneamente como inorgánicos.

Ejemplos de materiales orgánicos: cáscara de arroz carbonizada, turba, compost.

- **Materiales inorgánicos:** son los materiales no orgánicos no sujetos a descomposición biológica. Se obtienen a partir de rocas o minerales de distintos orígenes (ígneo, metamórfico o sedimentario) e incluyen a los suelos naturales. Estos materiales pueden modificarse ligeramente, sin alterar la estructura interna del material, mediante tamizado o fragmentación o bien pueden transformarse mediante procesos físicos (generalmente térmicos) o químicos que transforman las propiedades intrínsecas del material original. (Burés, 1999b) (51).

Ejemplos de materiales inorgánicos: arena, vermiculita, perlita

Los sustratos orgánicos proveen escasamente los nutrientes requeridos por los plantines a lo largo de su ciclo de crecimiento en el "recipiente" en el vivero. Mientras que los sustratos inorgánicos actúan exclusivamente como soporte.

A continuación se presenta el aporte nutricional de algunos sustratos orgánicos:

Sustrato	PH	Cond. µS/cm	Na mg/l	K mg/l	Ca mg/l	Mg mg/l	N-NH ₃ mg/l(N)	N-NO ₃ mg/l(N)	PO ₄ mg/l(P)	Cl mg/l	SO ₄ mg/l (SO ₃)
Corteza de pino	4,8	106 (0)	28	53 (2)	52	11 (2)	<5 (0)	15 (0)	13 (3)	49	72
Fibra de coco	5,6	222 (1)	126	230 (4)	28	6(1)	<5 (0)	14 (0)	14 (3)	206	51

() Indices de nutrientes según ADAS (Servicio de Asesoramiento y Desarrollo Agrícola del Reino Unido).

Fuente: Ansorena y Gojenola (1994).

3.3.2 Fertilización de plantines

La fertirrigación es una técnica por medio de la cual se puede mejorar el rendimiento y la calidad de la producción a diferencia de la fertilización tradicional, en la cual uno o pocos agregados de fertilizante implicaban una gran variación en el tiempo de la disponibilidad de nutrientes para las plantas. La incorporación del fertilizante conjuntamente con el agua de riego, vía aspersión foliar, es una alternativa para realizar un manejo y un ajuste más afinado de la nutrición mineral (55).

Una de las ventajas del sistema es poder responder rápidamente y con eficiencia ante deficiencias o excesos de nutrientes. En cualquier programa de fertirriego, debe considerarse una evaluación permanente del cultivo para ajustar la fertilización a la sintomatología o eventualmente a datos de análisis de suelo, de la solución del mismo o de las plantas. El sistema permite fácilmente cambiar las relaciones de nutrientes durante el ciclo, de manera de ajustarse a las necesidades del cultivo en distintas etapas fisiológicas. Además, es especialmente apropiado para una aplicación uniforme de dosis pequeñas como puede ser el caso de micronutrientes.

Las principales consideraciones respecto a los tipos de fertilizantes a emplear tienen que ver con la solubilidad, las impurezas y las reacciones indeseables que pueden ocurrir entre los compuestos químicos de los diferentes fertilizantes y con las sales que puede contener el agua.

Las fuentes a utilizar deben ser solubles en agua y mantener su solubilidad en contacto con los otros fertilizantes de la mezcla y con el agua de riego. A su vez, no deben contener como impurezas sustancias insolubles o que precipiten por reacciones posteriores, ya que pueden llegar a obstruir los goteros (48).

3.3.2.1 Fertilizantes utilizados

Según un informe realizado en la zona Centro-Norte de país (24), se presentan a continuación algunos de los fertilizantes utilizados por viveros forestales de esta zona:

- Nitrato de amonio
- Nitrato de potasio
- Triple 18
- Fertilizante de liberación lenta (9:9:6)

En la fase de terminación, previo a la plantación:

- Monofosfato de amonio
- Magnum (18:44:0)

A continuación se describirán las relaciones de macronutrientes utilizadas en el ensayo en cada una de las fases productivas mencionadas en el capítulo anterior.

Antes de comenzar el ciclo productivo se realiza una fertilización, en la cual se mezcla superfosfato de calcio a razón de 6 kg/m^3 de sustrato. Debido a que la mayor parte del fósforo se absorbe durante los primeros estadios, luego de la siembra, en la fase denominada "de arranque" se realizan aplicaciones foliares en una relación 2:3:2 (NPK) durante 3 semanas aproximadamente (com. pers. Ing. Agr. Juan P. Posse). Con esta relación se favorece el desarrollo radicular.

La siguiente fase, denominada "fase de cría", abarca aproximadamente 6 semanas. Se trata de incorporar una mayor cantidad de nitrógeno para favorecer el desarrollo aéreo de los plantines. El Nitrógeno se incorpora bajo dos formas, en la primera parte se agrega como amonio (NH_4^+) y luego en forma de nitrato (NO_3^-). La relación que se trata se mantener es 3:2:2 (NPK) (com. pers. Ing. Agr. Juan P. Posse).

Por último, en la etapa denominada "de terminación" se maneja una relación 2:3:5 (NPK) (com. pers. Ing. Agr. Juan P. Posse). Esta relación le suministra al plantín una adecuada cantidad de potasio, la cual acorta el periodo de endurecimiento de la planta, disminuyendo su susceptibilidad al estrés ocasionado por el transplante.

Según Dalla-Tea y Marcó (6), el nitrógeno generalmente se incorpora como urea o como sulfato de amonio, aproximadamente $0,02 \text{ gr/planta}$. En un experimento realizado por Picchi y Kindgard, 1991 (6) con plantines de *E. grandis*, en el cual se compararon diferentes fertilizantes a las 3 semanas de la germinación, la relación (18:46:0) presentó la mejor respuesta en crecimiento en altura. A su vez, se observó que la máxima respuesta, se producía con aplicaciones de $0,03 \text{ gr. de nitrógeno}$ y $0,03 \text{ gr. de fósforo/planta}$.

En un ensayo realizado en Brasil, donde se mantuvieron plantines de *E. grandis* durante 90 días en soluciones nutritivas con diferentes relaciones de $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$, la respuesta en crecimiento fue mayor cuando ambas fuentes de nitrógeno fueron suplementadas en concentraciones iguales; sin embargo, la absorción de amonio fue mayor que la de nitrato (Locatelli, 1984) (6).

Con respecto a la experiencia de Chile en la producción de plantines de Eucalyptus, el sustrato más usado es corteza de *Pinus radiata*, la cual algunas veces es mezclada con humus en una relación 1:1. La corteza usualmente es tratada con hidróxido de amonio ($3\text{-}4 \text{ litros/m}^3$) o urea ($2\text{-}3 \text{ Kg/m}^3$) para acelerar el proceso de "mulching". Antes de utilizar el medio de cultivo, es esterilizado químicamente utilizando comúnmente bromuro de metilo (Prado y Toro, (s.f.)) (6). El uso de corteza de pino como medio de

cultivo, aporta pocos nutrientes, requiriendo frecuentes aplicaciones de fertilizantes durante la etapa de vivero. Las cantidades de nutrientes aplicadas durante un periodo de 6-8 meses es aproximadamente 0,065 g de N/planta, 0,100 g de P/planta, y 0,065 g de K/planta. Estas cantidades son divididas en diez aplicaciones durante todo el ciclo, comenzando 2 semanas luego de la emergencia (Prado y Toro, (s.f.)) (6).

En Portugal, la relación NPK (5:8:10) es usada para promover el crecimiento radicular y la relación NPK (12:4:6) para promover el crecimiento aéreo, ambos son aplicados con el agua de riego en 3 o 4 aplicaciones de 0,4 ml/planta (Pereira, Tomé, Madeira, Oliveira, Tomé y Almeida, (s.f.)) (6).

A continuación, en los cuadros N° 1, 2 y 3 se presentan una serie de valores nutricionales estándares para las 3 especie estudiadas:

Cuadro N° 1: Concentraciones foliares de nutrientes en plantines de *Eucalyptus grandis*, creciendo bajo invernáculo.

Nutriente	Rango típico *
N (%)	1,25-5,30
P (%)	0,075-0,275
K (%)	0,75-1,75
Ca (%)	0,55-0,95
Mg (%)	0,25-0,40
Fe (ppm)	150-190
Mn (ppm)	80-120
S (ppm)	2400-2900
Cu (ppm)	12-16
Zn (ppm)	25-32
B (ppm)	55-239

* Judd, Attiwill and Adams, 1996 (6)

Cuadro N° 2: Requerimientos de nutrientes para plantines de *Eucalyptus sp.*

Nutrientes	Tenor bajo *	Tenor medio *	Tenor alto *
N %	< 1.00	1.00-1.30	1.40-1.60
P %	< 0.07	0.07-0.09	0.10-0.12
K %	< 0.60	0.06-0.90	1.00-1.20
Ca %	< 0.40	0.40-0.70	0.80-1.20
Mg (ppm)	< 0.20	0.20-0.39	0.40-0.50
Cu (ppm)	< 4	4-7	8-10
Fe (ppm)	< 100	100-149	150-200
Mn (ppm)	< 50	50-99	100-600
Zn (ppm)	< 20	20-39	40-60

* ABC da análise de solos e folhas. A. Malavolta Editora Agronômica CERES Ltda. Sao Paulo, SP1992 (10).

Cuadro N° 3: Concentraciones foliares de nutrientes en plantines de *Pinus taeda* y *P. elliottii*.

Nutriente	Rango típico	Valor crítico *
N (%)	0,8 - 1,2	
P (%)	0,085-0,09	
K (%)	0,25-0,30	< 0,4
Ca (%)	0,08 - 0,12	< 0,05
Mg (%)	0,04 - 0,06	< 0,08
Fe (ppm)	15-35	
Mn (ppm)	8-12	
Cu (ppm)	2-3	
Zn (ppm)	10 - 20	< 10
B (ppm)	4-8	

* Rangos óptimos aproximados para concentraciones foliares en *P. elliottii* (44)
 † Valores críticos para *P. taeda*, Reissmann, C.B., (1981) (48).

3.4 Inclusión de agentes microbianos en el sistema Sustrato-plantín en viveros forestales

3.4.1 Introducción

El sustrato es la vía más económica para incorporar un microorganismo al sistema suelo-planta. Hay muy poca información a nivel comercial de los beneficios que acarrea al sistema, la inclusión de agentes biológicos promotores del crecimiento vegetal, lo que en la literatura se cita como PGPR (plant growth promoting organism). Dos mecanismos serían los que explican la naturaleza de la respuesta de mayor crecimiento que promueven algunos miembros de la microflora del suelo. Varios trabajos citan a *Trichoderma* como un agente microbiano promotor del crecimiento en algunas especies, principalmente en floricultura por mecanismos que no están bien definidos aún.

3.4.2 Trichoderma sp.

3.4.2.1 Introducción

El género *Trichoderma* es cosmopolita en los suelos y sobre materia vegetal y leñosa en descomposición. Las especies del género son frecuentemente componentes dominantes de la microflora del suelo en un amplio rango de hábitats. Esto puede ser atribuido a las diversas capacidades metabólicas de las especies de *Trichoderma* y a su agresiva competitividad (33); (Samuels, 1996) (39).

3.4.2.2 Biología

3.4.2.2.1 Biosistemática o Clasificación taxonómica

La taxonomía tradicional fue basada en diferencias morfológicas, primariamente las del aparato de esporulación asexual, por ejemplo caracteres como: tasa de crecimiento en medio de cultivo; forma de los conidios y su disposición en el conidioforo; superficie de los conidios; patrón de ramificación y agregación de los conidioforos; consistencia y dimensiones

de las ramificaciones; pigmentación de los conidios; olor aromático; características de las clamidiosporas (33); (39).

3.4.2.2 Descripción

La especie *Trichoderma harzianum* presenta las siguientes características: sus colonias crecen rápidamente (mayoría de las cepas 7-9 cm); la conidiación es predominantemente efusiva, de apariencia granular o polvorienta debido a su gran densidad; se torna rápidamente del amarillo-verdoso al verde oscuro, produciendo ramilletes o pústulas bordeados por micelio blanco, estéril; revertiendo la coloración a amarillo opaco o beige (33).

3.4.2.3 Requerimientos Nutricionales

Estos microorganismos son aeróbios obligados, a pesar que han obtenido cepas de hábitat con muy baja concentración de oxígeno. Al ser hongos saprofitos del suelo, *Trichoderma sp.* usa un amplio rango de compuestos como fuentes únicas de carbono y nitrógeno.

El resto de los elementos puede ser movilizado de fuentes inorgánicas, para la mayoría de cepas salvajes de *Trichoderma* no hay requerimientos por factores de crecimiento complejos ni por vitaminas (33).

Otros estudios, demostraron que varias sales, como las de magnesio (Shukla y Mishra, 1970) (42); cloruro de sodio (Gindrat, 1977) (42); iones metálicos tales como el hierro (Hubbard, Harman y Hadar, 1983) (42); el calcio (Krystofova, Varecka y Betina, 1996) (33) influenciaban en el crecimiento y en la esporulación.

3.4.2.4 Influencia de factores extrínsecos sobre el crecimiento

3.4.2.4.1 Humedad

A pesar de que las condiciones exactas de Humedad en el microambiente de la superficie vegetal son difíciles de estimar a partir de la HR (Burrage, 1971; Elad y Junis, 1993), las interrupciones en la Humedad superficial o cambios de tan solo 5% en la HR han mostrado afectar significativamente la capacidad de biocontrol de las cepas de *Trichoderma* (Kohl, Plas, Molhoek y Fokkema, 1993; y Hannusch y Boland, 1996) (28).

Por ejemplo, las bajas HR afectan negativamente la germinación y el desarrollo del antagonista (Jarvis, 1989; Elad y Kirshner, 1993) (28). Mientras que una disminución en la actividad hídrica promueve la esporulación de *T. harzianum* (Harman, Jin, Stasz, Peruzzotti, Leopold y Taylor, 1991; Jin, Taylor y Harman, 1996) (33); (Danielson y Davey, 1973a; Davet, 1979b y 1981) (42).

3.4.2.4.2 pH

Hay pocos estudios detallados del efecto del pH sobre el crecimiento del hongo en sus medios naturales, pero usualmente el crecimiento óptimo está dentro del rango 4 a 6,5, y solamente pocas especies toleran un pH menor a 3 (33). La respuesta de los conidios a los nutrientes es también afectada por el pH, siendo mayor la germinación bajo condiciones ácidas que condiciones neutras (Danielson y Davey, 1973d) (42); mientras que la formación de los conidios no parece estar influenciada por cambios del pH entre 2,2 y 7,6 (Lejeune, Nielsen y Baron, 1995) (33).

3.4.2.4.3 Temperatura

La influencia de la temperatura sobre el crecimiento parece ser un fenómeno adaptativo, como las especies originarias de climas cálidos tienen temperaturas óptimas mayores (Danielson y Davey, 1973b) (33). A su vez, otros autores revelaron que cada especie tiene temperaturas óptimas de crecimiento (Danielson y Davey, 1973; y Domsch, Gams y Anderson, 1980) (28); (Danielson y Davey, 1974b; Jackson et al., 1991; Tronsmo y Dennis, 1978; Whipps y Magan, 1987) (33); (53).

Recientemente, en un trabajo realizado en el 2000 (28) se llevaron a cabo ensayos en invernáculo, en los cuales se ha demostrado que a temperaturas promedio de 12°C (6°C-18°C), las formulaciones de conidios de varias cepas de *Trichoderma* requieren hasta 96 horas para germinar, mientras que los conidios de *B. cinerea* necesitan apenas 11 horas, en las mismas condiciones. A su vez, en estas mismas condiciones de temperatura fue también retrasada la extensión del micelio.

3.4.2.5 Ecología

3.4.2.5.1 Ocurrencia y distribución

El género *Trichoderma* está ampliamente distribuido por todo el mundo (Domsch, Gams y Anderson, 1980) (42), ocurren en casi todos los suelos y otros hábitats naturales, especialmente en aquellos conteniendo o

consistiendo de materia orgánica. *Trichoderma* parece ser un colonizador, así lo indican sus frecuentes aislaciones desde materia orgánica descompuesta (Danielson y Davey, 1973a) (42). También es encontrado sobre las superficies radiculares de varias plantas (Parkinson, Taylor y Pearson, 1963) (42); sobre corteza en vía de descomposición, especialmente cuando esta dañada por otros hongos (Danielson y Davey, 1973a) (42); y sobre esclerocios u otros propagulos de otros hongos (Davet, 1979a; Wells, Bell y Jaworski, 1972) (42).

3.4.2.5.2 Sobrevivencia y Fungistasis en el suelo

Un aspecto importante de la esporulación, es la habilidad de *Trichoderma* para producir clamidosporas. Estas son estructuras que permiten sobrevivir y persistir de un año al otro a hongos que habitan el suelo. Son producidas asexualmente, de paredes gruesas, surgen de la modificación de segmentos de hifas, y usualmente tienen la capacidad de resistir las condiciones adversas (Caldwell, 1958; Griffiths, 1974; Lewis y Papavizas, 1983) (35); (Lewis y Papavizas, 1984a) (42).

3.4.2.5.3 Agregado de *Trichoderma* al suelo o sustrato

Poco se sabe acerca de los conidios de *Trichoderma* agregados al suelo o a cualquier otro sustrato.

En un estudio realizado por Davet, (1979b) (42), los conidios agregados al suelo disminuyen inicialmente, para estabilizarse por 2 años en alrededor del 10% de lo agregado originalmente. Más adelante, Papavizas, (1981) y Papavizas, Lewis y Abd-El Moity, (1982) (42) han demostrado que algunos de los conidios de *T. harzianum* agregados al suelo sin enmiendas aportadoras de nutrientes sobrevivían entre 110 y 130 días, dependiendo de la cepa usada. Observando que la mayoría de los conidios probablemente fueron lisados sin haber germinado por primera vez, o germinaron en respuesta a algunos nutrientes liberados por la materia orgánica pero se lisaron posteriormente en ausencia de una base nutricional adecuada, suficiente como para sostener el crecimiento posterior y la esporulación.

Lockwood, (1977) y Papavizas y Lumsden, (1980) (42) reportaron que inicialmente, puede ser agregado al suelo fuentes de energía y otros materiales orgánicos, para reducir o anular completamente la fungistasis. El enriquecimiento con una base nutricional simultáneamente con una anulación temporaria, no importando cuan temporaria pueda ser, permitiría germinar a las esporas y teóricamente los hongos proliferarían en el suelo.

En otro estudio, en 1984 (36), se mostró que *Trichoderma* y otros hongos potenciales de biocontrol proliferan abundantemente en varios suelos naturales cuando se agregan como micelio joven en íntimo contacto con una base nutricional (conidios en salvado de trigo estéril, humedecido e incubado de 1 a 3 días antes de agregarlo al suelo). Observándose que la edad del inóculo fue crítica para lograr una máxima proliferación en el suelo. También se mostró que los conidios no proliferaron al agregarlos sin salvado, con salvado pero sin preparación, o con salvado en una preparación madura.

Según Lewis y Papavizas, (1983) (36) las preparaciones maduras, de entre 15 y 40 días de edad contienen conidios y clamidiosporas con pocas hifas viables. A su vez en otro trabajo realizado en 1994 (29), donde se utilizó una mezcla estéril de salvado de trigo y turba (1:1, v/v), inoculada con micelios de la cepa T-203 de *T. harzianum* y posteriormente se incubó en una cámara de crecimiento durante 14 días a 30°C; igualmente se obtuvieron incrementos significativos en el crecimiento de los cultivos.

Otra forma de estimular el aumento de la población es incorporar *Trichoderma* al suelo, en pellets de alginato conteniendo suelo seco o biomasa húmeda fermentada preparada con *Trichoderma* completamente establecido en una base nutricional (salvado) (Lewis y Papavizas, 1984b) (42).

Según Bruehl, (1975) (42), si las hifas jóvenes cuando están en activa colonización del sustrato producen metabolitos tóxicos, éstas podrían ser capaces de establecerse correctamente. Lockwood, (1977) (42) reportó que la insensibilidad a la fungistasis podría ser la única habilidad de las hifas jóvenes de *Trichoderma* pero no de los conidios, de proliferar en un sustrato colonizado o en pellets de alginato.

3.4.2.5.4 Establecimiento en la rizosfera

Una de las características más importantes necesarias para la aceptación y la efectividad de los agentes de biocontrol es su habilidad para sobrevivir en ambientes extraños a los de su origen, y colonizar satisfactoriamente el sistema radicular durante el periodo de tiempo que se requiera protección contra los patógenos (41).

En un principio Taylor y Parkinson, (1961) (15), han mostrado que la expansión del hongo a lo largo de la raíz es generalmente insignificante

mientras que, la colonización de la superficie radicular ocurre principalmente a través del suelo adyacente a la misma.

Más adelante Papavizas en 1981 (42), observo que al agregar los conidios de *Trichoderma* antes de la siembra, al suelo pero no a la semilla, las poblaciones de la rizosfera nunca superaban a las del suelo no rizosferico, indicando un efecto no rizosferico. Muy pocas o ninguna colonia fue recuperada del suelo rizosferico de raíces removidas a 10 cm de las semillas tratadas. Pero se recuperaron un gran número de colonias de los cotiledones enraizados y de las cubiertas seminales. Otros investigadores (W-L Chao, G. E. Harman, E. B. Nelson, datos no publicados) (42) también observaron la falta de establecimiento o movimiento del *Trichoderma* en la rizosfera de las plantas.

3.4.2.5.5 Aplicación aérea

La manera comúnmente empleada de controlar biológicamente un patógeno en la filosfera es a través de la introducción del antagonista en la hoja (9).

Las condiciones hostiles que se dan en las partes aéreas no son favorables para el desarrollo de los microorganismos introducidos, tales como los antagonistas. A menudo en condiciones templadas se dan periodos intermitentes los cuales permiten crecer al antagonista, pero se hace muy difícil ambientarlos y permitir que sobrevivan y se multipliquen. En muchos casos los organismos introducidos mueren rápidamente y no se mantienen en número suficiente para ser efectivos (11).

Si se comparan los requerimientos de *B. cinerea* y *T. harzianum* T39 se sugiere que éste último sería más efectivo cuando las condiciones fueran subóptimas para el desarrollo de *Botrytis*. Cuando las condiciones son altamente conductivas para el patógeno, se espera que la eficacia de *Trichoderma* sea baja (49).

A su vez, otros ensayos con este mismo antagonista (56), se llevaron a cabo en plantines de *Picea mariana* obteniendo supresión de *B. cinerea*. En este mismo trabajo se sugiere que *G. roseum* penetra las acículas verdes tratadas de estos plantines (Zhang, 1994, datos no publicados) y frecuentemente esporula sobre las mismas cuando se tornan marrones.

3.4.2.5.6 Potencial para biocontrol

En el suelo, el pH y la concentración de nitrato están dentro de los factores abióticos que afectan la habilidad de *Trichoderma* como agente de biocontrol para suprimir la enfermedad (Papavizas, 1985; Harman y Taylor, 1988; y Duffy, Ownley y Weller, 1997) (28).

Se ha demostrado que las condiciones subóptimas de temperatura y disponibilidad de nutrientes exógenos y endógenos afectaran negativamente la germinación de los conidios de *Trichoderma*, un prerrequisito para el efectivo control biológico (28).

3.4.2.6 Mecanismos que hacen a *Trichoderma harzianum* un agente de biocontrol

Se ha demostrado que *Trichoderma sp.* posee varios mecanismos a través de los cuales ataca a otros hongos y favorece el crecimiento vegetal; a su vez estos procesos involucran cientos de diferentes genes y sus productos (39).

En un trabajo realizado recientemente (27), han sido sugeridos varios mecanismos como responsables de la función de *Trichoderma harzianum* como agente de biocontrol:

Micoparasitismo

Antibiosis

Competencia por nutrientes y espacio

Efecto promotor del crecimiento (PGPR):

Tolerancia a situaciones de estrés por favorecer el desarrollo radicular y aéreo de la planta.

Solubilización y secuestro de nutrientes inorgánicos

Inducción de resistencia

Inactivación de enzimas del patógeno.

Estos mecanismos tienen que ver con actividades antagónicas de *Trichoderma* hacia el patógeno y también con actividades de promoción de desarrollo radicular, aumento en los niveles nutricionales, actividades enzimáticas, etc.

3.4.2.6.1 Micoparasitismo

El micoparasitismo ha sido considerado un importante mecanismo de acción de *Trichoderma sp.* y consiste en la utilización del patógeno como alimento por su antagonista. Puede ser definido como una simbiosis antagónica entre organismos (43). La quitinasa y B-1,3-glucanasa son las enzimas claves en la lisis de la pared celular de los hongos (Mitchel y Alexander, 1963; Chet y Henis, 1969; y Henis y Chet, 1975) (21).

En un trabajo realizado con patógenos de suelo (21) se sugiere que el principal mecanismo involucrado en el antagonismo de *T. harzianum* y los hongos patogénicos sería la liberación de enzimas líticas. Wainwright en 1993 y más adelante Chet, Benhamou y Haran en 1998 (28) reportaron que las hifas de *Trichoderma* extendiéndose sobre una superficie pobre en nutrientes pueden secretar enzimas degradadoras de pared celular y usar el micelio del competidor como fuente de nutrientes.

A su vez, la muerte de la hifa del hongo objetivo a corta distancia de la hifa del *Trichoderma*, también puede ser considerada similar al micoparasitismo (Lifshhitz, Windham y Baker, 1986; y Lo, Nelson, Hayes y Harman, 1998) (27).

Últimamente, Lorito en 1998 (39) sugirió al micoparasitismo como el principal mecanismo antagonista que le permite a *Trichoderma* sobrevivir y colonizar el ambiente competitivo de la rizosfera, filosfera y espermosfera.

Varios investigadores (57), también han sugerido micoparasitismo contra *B. cinerea* (Tronsmo y Raa, 1977; Belanger, Dufour, Caron y Benhamou, 1995) y actividad antifúngica por enzimas quitinolíticas de *T. harzianum* (Lorito, Harman, Hayers, Broadway, Tronsmo, Woo y Di Pietro, 1993).

3.4.2.6.2 Antibiosis

En 1995 Bélanger, et al. (7) propusieron los eventos cronológicos asociados con la degradación de *B. cinerea* por una cepa de *T. harzianum*. El primer cambio ultraestructural fue observado a las 12 h antes del contacto entre organismos, y estaba caracterizado por invaginaciones puntuales del plasmalema de *Botrytis*. Estas reacciones fueron seguidas por una retracción gradual del plasmalema, la desorganización del citoplasma, la pérdida de turgencia y la muerte celular dentro de las 48 h de contacto entre las hifas. La primera evidencia de penetración de *B. cinerea* por *T. harzianum* fue registrada 72 h luego del contacto, ésta penetración fue aparentemente mediada por presión mecánica y/o digestión de la pared localizada en los

puntos de entrada, no habiendo evidencia clara de degradación quitinolítica de la pared celular de *Botrytis*. Sin embargo, luego de los 10 días hubo una clara indicación de degradación de quitina. Con estos resultados los autores sugieren que en esta cepa de *T. harzianum* la antibiosis es el mecanismo que actúa primero y el más importante, dejando la célula muerta, para luego seguir con la degradación celular por medio de las enzimas quitinolíticas. La antibiosis puede tener más importancia en el biocontrol que la producción de enzimas quitinolíticas.

En 1998, Sivasithamparam y Ghisalberti (27) listaron 43 sustancias producidas por *Trichoderma sp.* que tienen actividad antibiótica (no están incluidas las enzimas).

En un estudio realizado en 1999 (43), se demostró que varias especies de *Trichoderma* entre las cuales se encontraba *T. harzianum*, excretaban un compuesto con propiedades antibióticas, el 6-pentyl-alfa-pyrone (6PAP), el cual ya había sido citado por (Claydon, Allan, Hanson y Avent, 1987). A su vez mostraron que el 6PAP es capaz de inhibir la germinación de los conidios de *B. cinerea* y que las cepas de *Trichoderma* altamente productoras de este compuesto, reducían el crecimiento micelial del patógeno, *in vitro*. Este mismo efecto fue anteriormente demostrado por Cluter, Hill, Ward, Rohita y Stewart (1996) (43).

3.4.2.6.3 Competencia

Se puede definir competencia como el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento, siempre y cuando la utilización del mismo por uno de los organismos reduzca la cantidad disponible para los demás. Un factor esencial para que exista competencia es que haya "escasez" de un elemento, si hay exceso no hay competencia (37).

Según Brodie y Blakeman, (1975) y Dubos y Bulit, (1981) (57); Dubos, Jailloux y Bulit, (1982) (19); Chet, (1987) (27); Shimshoni, Elad, Cohen y Chet, (1988) (19), la competencia por espacio y nutrientes es el mecanismo sugerido por el cual *Trichoderma sp.* ejerce biocontrol sobre *B. cinerea*, debido a que este requiere nutrientes exógenos para la germinación y la elongación del tubo germinativo durante un periodo de varias horas sobre la filósfera, antes de penetrar en el hospedero.

Recientemente, en un estudio realizado por Elad, David, Levi, Kapat, Kirshner, Guvrin y Levine, 1999) (27), sobre el biocontrol de *B. cinerea* por *T.*

harzianum T39, se evidencio que, al aplicar conidios de T39 a las hojas, la germinación de los conidios del patógeno era enlentecida.

Sin embargo, en muchos casos, este mecanismo se supuso que ocurrió porque no pudo ser descubierta alguna evidencia de micoparasitismo o antibiosis. La competencia muy probablemente sea un mecanismo importante de biocontrol, pero es extremadamente difícil de probar (27).

3.4.2.6.4 Efecto promotor del crecimiento (PGPR)

3.4.2.6.4.1 Tolerancia a situaciones de estrés por favorecer el desarrollo radicular y aéreo de la planta

Este posible mecanismo recientemente ha ido ganando credibilidad. La tolerancia a la sequía y el aumento en la utilización del N son ejemplos de este mecanismo. El mayor desarrollo radicular también estaría induciendo en forma indirecta una mayor tolerancia a las plagas y enfermedades (27).

En un trabajo realizado por Chang, Chang, Baker, Kleifeld y Chet, (1986) (14) no se observó incremento en el peso seco de todas las especies vegetales tratadas con *T. harzianum*. Sin embargo, en otro trabajo (Baker, Elad y Chet, 1984) (14) usando las mismas especies vegetales se reportaron incrementos mayores al 200% en el peso seco, lo cual sugiere que en la respuesta interactúan varios factores desconocidos.

Otros investigadores (Baker, 1989; Chang et al, 1986; Kleifeld y Chet, 1992; Paulitz, Windham y Baker, 1986) (29); (54), también reportaron que la aplicación de *Trichoderma* a suelos libre de patógenos incrementaba el crecimiento de varias especies de plantas, incluyendo poroto (*Phaseolus vulgaris* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.), pimienta (*Capsicum annum* L.), "periwinkle" (*Vinca minor*), y petunia (*Petunia híbrida*).

Por otro lado, Mónaco, (1990) (38) realizó un ensayo, en el cual se usaron semillas de tomate y de acelga "peleteadas" con una suspensión de 10^8 conidios/ml de *T. harzianum* y se sembraron en tierra tinalizada, del cual se concluyo que el incremento en el tamaño de las plantas tratadas con el agente, comparado con el testigo, se debía a algún factor promotor del crecimiento, lo cual coincide con lo sugerido por Paulitz, Windham y Baker, (1985) (38).

Para explicar este fenómeno se han sugerido varios posibles mecanismos: control de patógenos menores, producción de hormonas vegetales, producción de vitaminas, conversión de materiales no utilizables a formas utilizables por la planta, e incremento en la absorción y translocación de minerales (Baker, 1989; Kleifeld y Chet, 1992) (29); (54).

En este mismo trabajo (29), no se reportaron diferencias significativas en las concentraciones foliares y radiculares de N, P y K, entre el testigo y los plantines tratados con *Trichoderma* (ambos recibieron el mismo fertilizante y la misma dosis). Por lo tanto parece ser que el incremento del crecimiento de las plantas tratadas bajo condiciones comerciales no era debido a un aumento en la absorción mineral.

Por otro lado, (Kleifeld y Chet, datos no publicados) (29) bajo condiciones controladas y sin la adición de fertilizantes, habían detectado un incremento significativo en las concentraciones foliares y radiculares de P y K de los plantines tratados con *Trichoderma*.

Generalmente, las densidades poblacionales de *T. harzianum* inductoras de respuesta exceden las 10^5 UFC/g de sustrato (14).

3.4.2.6.4.2 Solubilización y secuestro de nutrientes inorgánicos

En el suelo, los macro y micronutrientes sufren transiciones complejas desde formas solubles a insolubles que afectan fuertemente su disponibilidad y absorción radicular. Estas transiciones son fuertemente influenciadas por el pH del suelo y los microorganismos (3).

En un trabajo realizado en 1994 (29) reportaron que Kleifeld y Chet, (datos no publicados), bajo condiciones controladas y sin la adición de fertilizantes, había sido detectado un incremento significativo de los contenidos foliares y radiculares de P y K en plantas de tomate tratadas con *Trichoderma*.

En 1999 ya era sabido que la quelatación y/o la actividad redox intervenían en el biocontrol de los patógenos y quizás formara parte del componente múltiple de acción ejercido por *T. harzianum* T22 bajo una variedad de condiciones ambientales (3).

Los ensayos in vitro realizados en este estudio (3) indican que T22 tiene la habilidad de solubilizar muchos nutrientes vegetales desde su fase sólida, como por ejemplo fosfato de roca, MnO_2 , Fe_2O_3 , y Zn metal.

Graham y Webb en 1991 y Altomare, et al. en 1999 citan al Mn como un microelemento requerido para diversas funciones fisiológicas de las plantas teniendo el rol principal en el desarrollo de la resistencia a enfermedades radiculares y foliares causadas por hongos.

Algunos antagonistas que colonizan las raíces limitan la disponibilidad de Fe liberando el Fe^{3+} como moléculas quelatadas llamadas sideroforos, los cuales no están disponibles para los patógenos, por lo cual su actividad es reducida (Baker, Elad y Sneh, 1986). Mientras las raíces pueden tomar directamente el hierro quelatado o luego de la reducción del Fe^{3+} , vía reductasa (Welch, Norvell, Schaefer, Shaff y Kochian, 1993) (3).

Aún no ha sido demostrado un rol directo para la habilidad de *Trichoderma* de solubilizar y quelatar nutrientes, pero está disponible evidencia de esa habilidad para solubilizar hierro y dejarlo disponible para las plantas (27).

3.4.2.6.5 Inducción de resistencia

Algunas cepas de *Trichoderma* son potentes inductoras de respuestas como el SIR (sistema de resistencia inducida) (27).

La resistencia inducida fue citada por Elad, Kohl y Fokkema, 1994 (57) como un mecanismo de control empleado por la cepa T39 de *T. harzianum* contra *B. cinerea*.

3.4.2.6.6 Inactivación de enzimas del patógeno

En un trabajo realizado en 1996 (57), se observó que la presencia de T39 sobre hojas de poroto, retrasó la producción de algunas isoenzimas PG del patógeno y también redujo sus actividades. Los autores sugirieron que el efecto sobre la severidad de la enfermedad es una combinación de dos fenómenos: el primero es un efecto directo de T39, reduciendo la intensidad de la actividad de las enzimas pectolíticas. Por lo tanto los oligogalacturonicos (trozos de pared celular) de mayor tamaño podrían acumularse activando los mecanismos de defensa de la planta (efecto indirecto), enlenteciendo el desarrollo de la enfermedad.

Más adelante, en 1998, se observó que para que se desarrolle el proceso de infección es imprescindible que *B. cinerea* sintetice enzimas hidrolíticas (pectolíticas, cutinolíticas y celulolíticas) durante la primera etapa de interacción con el hospedero (Elad y Evensen, 1995; y Elad, 1997) (31). En este trabajo, en presencia de cepas de *T. harzianum*, se limitó la severidad de la enfermedad y fue asociada al retraso de la germinación y la inhibición de la elongación del tubo germinativo. A su vez se encontró una correlación entre la capacidad inhibitoria de las enzimas y la supresión de la enfermedad, esto apoya la hipótesis que sugiere a la inhibición de la patogenicidad de las enzimas del patógeno como un mecanismo de biocontrol.

4 MATERIALES Y METODOS

4.1 Lugar y época del ensayo

El ensayo fue llevado a cabo durante los meses de Febrero a Julio del año 2001 en el vivero forestal "La Buena Unión" de la empresa Colonvade S.A. El mismo se ubica en el Km 456 de la Ruta Nacional N° 5 en el Departamento de Rivera. El vivero cuenta con una producción anual de 7,5 millones de plantines. El invernáculo donde se realizó el ensayo, tiene una superficie de aproximadamente 1000 m²; los caminos internos son de hormigón y las bandejas están sobre una estructura de madera, elevada aproximadamente un metro del nivel del suelo.

4.2 Especies forestales

Las especies utilizadas fueron, *Eucalyptus globulus* spp. *globulus* Labill., cuyas semillas eran de procedencia chilena usadas por un vivero del departamento de Montevideo; *Eucalyptus grandis* w. Hill ex Maiden. y *Pinus taeda* L. Las semillas de estas ultimas son de origen Sudafricano, y son las usadas por Colonvade S.A.

4.3 Sustratos empleados

Se utilizaron dos sustratos, el sustrato N° 1 (S₁) correspondiente al usado por Colonvade, el mismo cuenta con 25% de aserrín Voulminot y 75% de corteza de pino compostada importada de Argentina, al cual, previamente se le aplicó bromuro de metilo y el sustrato N° 2 (S₂) de nombre comercial Agroplus, producido por la empresa Lage & Cía. S.A. que no recibió tratamiento de esterilización con bromuro de metilo. A continuación se presentan los análisis químicos de cada uno.

Análisis químico del sustrato 1: Realizado por la Ing. Agr. Alicia Crosara
Año 2001.

Conductividad eléctrica (mS/cm): 0,11
PH: 4,3

Sustrato	C (%)	N (%)	C/N	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	P (%)	Fe (ppm)	Mn (ppm)	Cu (ppm)	Zn (ppm)	B (ppm)
1	25	0,70	36	0,045	0,19	0,03	0,05	5581	285	13	11	33

Análisis químico del sustrato 2: Realizado por la Catedra de Horticultura de la Facultad de Agronomía de Montevideo. Año 2001.

Conductividad eléctrica (mS/cm): 1,85.....Aceptable (Warnke, 1995)
PH: 5,6.....Ligeramente alto (Warnke, 1995)
N-NO₃: 59,5 (mg/l).....Bajo (Warnke, 1995)

C/N	M.O(%)	C(%)	N(%)	Mg/litro							
				P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu
32	23	14	0,42	295.8	322	137	55	19	0,1	3,8	0,16
Optimo (*)				11-18	250-349	>200	> 70	5-40	5-30	5-30	

(*): Warnke, 1995

CIC (meq/100 grs): 16,2 (necesidad de fertirrigación permanente)
CIC (meq/100 grs): 1,99

Balance de nutrientes del Sustrato 2:

	Sales totales (mg/l)	N-NO ₃	K (%)	Ca (%)	Mg (%)
Sustrato 2	1300	8.3	24,7	10,5	4.2
Optimo (*)	1400-2450	8-10	11-13	14-16	4-6

(*): Warnke, 1995

Análisis físico del sustrato 2:

Sustrato	D.Ap. (gr/cm ³)	P. total (%)	Macroporosidad (%)	Microporosidad (%)	Agua disponible (%)
Sustrato	0,12	51,15	7,09	44	15,3
Optimo (*)	< 0,4	> 85	10-30	-----	24-40

(*) Abad et al. (1992), citado por Ansorena Miner (1994)

4.4 Trichoderma

Se utilizó el agente microbiano biocontrol *Trichoderma harzianum* cepa L1 aislada por Lage y Cia. S.A. en el Departamento de Canelones a partir de un escleroto de *Sclerotium rolfsii* en un cultivo de ajo. La composición del producto usado para este ensayo cuyo nombre comercial es Trichosoil®, es la siguiente: 58,8% de *T. harzianum* y 41,2% de inerte; mínimo 5×10^8 UFC/g de producto.

4.5 Tratamientos

Se llevaron a cabo un total de 12 tratamientos con 6 repeticiones cada uno. Se hicieron 4 tratamientos con Pinos, usando las variables sustrato y Trichosoil y 4 tratamientos con cada especie de *Eucalyptus* con las variables sustrato y Trichosoil.

Tratamiento 1	<i>P. taeda</i>	Sustrato 1 sin Trichosoil
Tratamiento 2	<i>P. taeda</i>	Sustrato 1 con Trichosoil
Tratamiento 3	<i>P. taeda</i>	Sustrato 2 sin Trichosoil
Tratamiento 4	<i>P. taeda</i>	Sustrato 2 con Trichosoil
Tratamiento 1	<i>E. globulus</i>	Sustrato 1 sin Trichosoil
Tratamiento 2	<i>E. globulus</i>	Sustrato 1 con Trichosoil
Tratamiento 3	<i>E. globulus</i>	Sustrato 2 sin Trichosoil
Tratamiento 4	<i>E. globulus</i>	Sustrato 2 con Trichosoil
Tratamiento 1	<i>E. grandis</i>	Sustrato 1 sin Trichosoil
Tratamiento 2	<i>E. grandis</i>	Sustrato 1 con Trichosoil
Tratamiento 3	<i>E. grandis</i>	Sustrato 2 sin Trichosoil
Tratamiento 4	<i>E. grandis</i>	Sustrato 2 con Trichosoil

4.6 Diseño experimental

Se trata de un diseño de parcelas al azar. Cada parcela corresponde a una bandeja. Las bandejas utilizadas tenían las siguientes características: 72 celdas de 93 cc cada una, hechas de PVC y sistema antiespiralizante. El análisis estadístico se realizó a través del programa SAS.

Análisis estadístico

Para las variables % de emergencia, altura, diámetro, % de plantas con síntomas de ataque de *Botrytis* y UFC/g de sustrato se realizó Análisis de varianza con sustrato y Trichosoil y la interacción entre ambas como fuentes de variación, y cuando éstas fueron significativas se realizaron pruebas de comparación de medias mediante el Test de DMS.

Las variables altura y diámetro se analizaron en tres fechas, el % de plantas con síntomas de ataque de *Botrytis* se analizó en dos fechas, todas de forma independiente, mientras que la emergencia se analizó en una sola ocasión.

Los datos de cada fecha de las variables altura, diámetro y % de plantas con síntomas de ataque de *Botrytis*, al igual que el % de emergencia se compararon empleando un análisis de varianza, cuyo modelo y forma se presenta a continuación.

Modelo y forma del ANAVA realizado con los datos de crecimiento.

$$\text{Modelo: } Y = \mu + S_i + T_j + (ST)_{ij} + e_{ij}$$

Donde:

μ = Media de la población

S = efecto del sustrato i.ésimo

T = efecto del Trichosoil t.ésimo

s = cantidad de sustratos (2)

t = cantidad de Trichosoil (2)

r = cantidad de repetición por tratamiento (6)

Fuente de Variación	Grados de libertad	Cuadrados Medios	F
Sustrato	s-1 (1)	CMS	CMS/ CME
Trichosoil	t-1 (1)	CMT	CMT/ CME
Sustrato x Trichosoil	(s-1) (t-1) (1)	CM SxT	CM SxT/ CME
error	GL tot – resto (20)	CM E	
Total	str-1 (23)		

4.7 Instalación del ensayo

4.7.1 Acondicionamiento del *Trichoderma* en los sustratos

Previo a la instalación del ensayo y aproximadamente unos 10 días antes de la siembra se incorporo a los sustratos el agente microbiano, a razón de 3 Kg/m³ de sustrato, se mezcló bien el producto Trichosoil en cada sustrato y se dejó incubando a temperatura ambiente para promover la colonización. La dosis de *Trichoderma* indicada (3 Kg/m³) representa una población esperada de conidios o propagulos equivalente a $1,5 \times 10^6$ UFC/celda o por planta. Luego se llenaron las bandejas con los dos sustratos inoculados con *Trichoderma* y los testigos respectivos sin inocular.

4.7.2 Siembra del experimento

La siembra se realizó el día 5/Febrero/01 (Ver Anexo III, Fotografía N° 1). Se llevó a cabo manualmente colocando dos semillas por celda para asegurar la mayor cantidad de celdas llenas posibles. Inmediatamente después de la siembra se le aplico un riego a todas las bandejas, para asegurar que la semilla tuviera humedad para la germinación. Aproximadamente al mes se hizo una evaluación de la emergencia. Para ello se realizó un conteo del número de plantas, teniendo en cuenta el número de semillas por celda.

4.7.3 Fertilizaciones

Se empleó una dosis de fertilizante al comienzo "efecto starter" (6 Kg de superfosfato/m³ de sustrato). Aproximadamente a las 16 semanas de la emergencia se aplicó la 1^{era} dosis del programa de fertilización formulado por el Ing. Agr. Juan Pedro Posse, encargado de dicha institución.

Fertilizantes y dosis aplicados (a partir del 23/5/01).

- Inicial (siembra)
0,758 g de Superfosfato de calcio/planta (6 Kg de fertilizante/m³)
- Semana 16 – 17 (del 23/5/01 al 08/06/01)

0,01824 g de Fosfato de amonio (MAGNUM)/planta

- Semana 19 (del 13/06/01 al 22/06/01)
0,02098 g de T18/planta
- Semana 21 (15/07/01)
0,00679 g de Fosfato de potasio/planta

El retraso programado del inicio de la nutrición fue previsto, debido a que el objetivo era evaluar los dos sustratos en el sistema sustrato - planta por lo tanto no se siguió el esquema de fertilización usado en la rutina del vivero en la producción comercial de plantines. Esta era una vía de obtener información sobre los diferentes sustratos. A continuación se presenta un cuadro comparativo de los programas de fertilización utilizados en la rutina del vivero y en el ensayo.

Vivero			Ensayo		
Semanas *	Fertilizante	(g/planta)	Semanas	Fertilizante	(g/planta)
0		0,758	0		0,758
7-9	18-44-0 ²	0,010			
	13-0-46 ³	0,006			
10-13	18-18-18 ⁴	0,03			
	34-0-0 ⁵	0,008			
14-15	18-18-18	0,03	16-17	18-44-0	0,01824
	13-0-46	0,007	19-19,5	18-18-18	0,02098
	15,5-0-0+Ca ⁶	0,007			
16-18	11-9-35	0,028			
	0-52-34 ⁷	0,018			
			23	0-52-34	0,00679
		Total = 0,902			Total = 0,80401

* Semanas a partir de la siembra; ¹ Superfosfato de calcio; ² Fosfato de amonio (Magnum);
³ Nitrato de potasio; ⁴ Triple 18; ⁵ Nitrato de amonio; ⁶ Nitrato de calcio; ⁷ (Ferticare).
 Fosfato de potasio.

4.7.4 Irrigación

Se utilizaron las instalaciones de riego disponibles, manteniendo las mismas condiciones de frecuencia y cantidad que para el resto de las plantas del vivero.

4.7.5 Tratamientos sanitarios

No se empleó ningún tipo de fungicida en todo el periodo del ensayo.

4.7.6 Muestreos

Durante el ciclo del cultivo y al final en la cosecha se efectuaron muestreos y mediciones.

Muestreos de sustratos:

Se extrajeron muestras para evaluar la colonización y sobrevivencia de *Trichoderma* en los dos sustratos. Se extrajeron las muestras de 3 celdas vacías (sin plantas) de cada repetición y de cada tratamiento, juntándolas en una muestra única. Las muestras de sustrato se colocaron en bolsas de nylon, y se mantuvieron en conservadora y luego en heladera, hasta su procesamiento. Los muestreos se realizaron en el momento de la siembra 01/02/01, a las 9 (10/04/01), 18 (18/06/01) y 23 semanas (24/07/01).

Muestreos de plantines:

Para la evaluación de los parámetros fisiológicos (peso fresco y peso seco de plantines) se extrajeron al azar, 5 plantines de cada repetición y se agruparon en una muestra única, obteniéndose un total de 30 plantines por tratamiento. Se acondicionaron en bolsas de nylon dejando la parte aérea hacia afuera de la misma, de ésta manera no se permitió el contacto de las hojas con el sustrato (Ver Anexo III, Fotografía N° 2). Luego se colocaron en una conservadora, hasta el día siguiente que fueron analizadas. Los muestreos para la evaluación se realizaron a las 13 (14/05/01), 18 (18/06/01) y 23 semanas (24/07/01).

4.7.7 Cosecha

Se cosechó el día 14/05/01, 18/06/01 y 24/07/01 procediendo a la selección al azar de plantas enteras para las evaluaciones correspondientes de peso fresco y peso seco, y análisis de macro y micronutrientes.

4.7.8 Evaluación

4.7.8.1 Colonización y sobrevivencia de Trichoderma en los dos sustratos

Este análisis se realizó en el laboratorio de la empresa Lage & Cía. Luego de tener estas muestras se las mezcló bien, se extrajeron 10 g de sustrato y se realizaron 3 diluciones para obtener una solución que se sembró en un medio de cultivo, cuyas características se muestran a continuación:

Extracto de levadura	0,75 g/l
Azúcar	10g/l
Cloruro de Sodio	0,1g/l
Sulfato de Magnesio	0,2g/l
Fosfato dipotásico (al 5%)	1g/l
Sulfato de Estreptomina	50 mg
Rojo Congo	10c
Agar	10g
PH (entre 5,0 y 5,5)	5,32

Se realizaron 3 repeticiones de cada sustrato. Las placas se hicieron 2 días antes de sembrar el inóculo, conteniendo 13 ml de medio cada placa. Luego de sembrar el inóculo las placas tapadas y envueltas en nylon se colocaron en estufa a 27 °C por un periodo de 4 a 6 días aproximadamente, de tal manera que las UFC se hicieran visibles pero no dejando que estas se superpusieran en su crecimiento (Ver Anexo III, Fotografía N° 3).

Las placas fueron sembradas con 0,5 ml de las diluciones 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} y para el conteo final se considera el doble de la lectura multiplicado por la dilución que le corresponde. Los datos se expresan en UFC (unidades formadoras de colonias) por gramo de sustrato.

4.7.8.2 Mediciones de calidad de plantín

Parámetros morfológicos.

Los parámetros morfológicos evaluados fueron la altura de la parte aérea y el diámetro del cuello, para esto se escogieron plantines al azar en la primera medición, y en las sucesivas se midieron los mismos plantines. La altura se midió con una regla milimetrada y el diámetro con un calibre. El total de plantines medidos fue de 24 por tratamiento (es decir 4 plantines por repetición por 6 repeticiones).

Parámetros fisiológicos.

Los parámetros fisiológicos medidos fueron el peso fresco y el peso seco, ésta actividad se realizó en el laboratorio del Departamento Forestal de la Facultad. Para evaluar el peso fresco se saco cuidadosamente el terrón de sustrato, para romper lo menos posible el sistema radicular. Para esto se uso agua destilada. Luego se dejo escurrir el agua y se pesaron los 30 plantines en una balanza de precisión.

Para la medición del peso seco, se siguió el método sugerido por INIA para peso seco de muestras en microondas (13). Para ello se colocaron los plantines en bolsas de papel dentro del mismo junto con un vaso de bohemia con agua hasta la cuarta parte (para evitar que se incinere la muestra). Se tomó la precaución de cambiar el agua o dejarla enfriar cuando comenzaba a hervir para evitar que se salpicara la muestra. En un principio se la dejaba aproximadamente por 7 u 8 minutos y se le registraba el peso, a medida que se iba secando se disminuía el tiempo de secado. El procedimiento finalizaba cuando se registraban dos pesadas iguales.

4.7.8.3 Sanidad de plantines.

Respecto a este parámetro, al mes de la siembra (6/03/01) se evaluó la emergencia de los plantines, mediante el conteo de los mismos. Más adelante, se tuvo en cuenta la incidencia y severidad de *Botrytis*, la cual se determinó mediante el conteo de individuos que presentaban sintomatología de ataque del patógeno (Ver Anexo III, Fotografías N° 4 y 5). Se sacaron muestras de las partes afectadas (hojas y tallos) y se evaluaron en laboratorio. Los momentos de conteo de plantas afectadas (y extracción de las mismas del ensayo) se realizaron a las 18 (18/06/01) y 23 semanas

(24/07/01) ya que anteriormente no se evidenciaron ataques de este patógeno.

4.7.8.4 Aspectos nutricionales.

Luego de tener los plantines secos se realizó el análisis foliar por parte de la Ing. Agr. Alicia Crosara. El mismo fue realizado a la muestra única de 30 plantines por tratamiento, en el cual se evaluaron las concentraciones de N, P, K, Ca, Mg y micronutrientes. Cabe aclarar que en la 3ª evaluación (24/7/01) solo se realizaron los análisis de N, P y K.

5 RESULTADOS

Se presentan a continuación los resultados de análisis y mediciones que permitieron comparar el comportamiento de dos sustratos de diferente origen y composición, utilizado para el cultivo de especies forestales (*Pinus taeda*, *Eucalyptus globulus* y *E. grandis*) en vivero comercial. Se incluyó en el estudio, la inoculación de los sustratos con el agente microbiano *Trichoderma harzianum* con la finalidad de evaluar su comportamiento (colonización y sobrevivencia) en cada sustrato y su contribución a la mayor calidad de plantín.

Los resultados obtenidos se agrupan en 4 categorías que son:

- a) la evaluación de la colonización y sobrevivencia de *Trichoderma* en los dos sustratos.
- b) mediciones de calidad de plantines de *Pinus taeda*, *Eucalyptus globulus* y *E. grandis* a través de la evolución de los parámetros morfológicos (altura y diámetro) y fisiológicos (peso de la materia fresca y de la materia seca de plantines)
- c) evaluación de aspectos sanitarios de los plantines creciendo en los dos sustratos, midiendo la incidencia de patógenos pertenecientes al complejo damping-off y de *Botrytis cinerea*.
- d) estimación del nivel nutricional de los plantines creciendo en cada sustrato, a través de la concentración de macro y micronutrientes.

5.1 Colonización y sobrevivencia de *Trichoderma harzianum* inoculado en dos sustratos utilizados en viveros forestales

El Cuadro N° 4 presenta los resultados expresados en unidades formadoras de colonias por gramo de sustrato (UFC/g) en los cuatro momentos de muestreo. Como los sustratos se mantuvieron incubando en ausencia de la planta, la información refiere exclusivamente a la dinámica del antagonista en cada sustrato sin considerar las interacciones rizosféricas y de intercambios que ocurren cuando la planta es parte del sistema.

Cuadro N° 4: Colonización y sobrevivencia de *Trichoderma harzianum* en dos sustratos comerciales para cultivo de especies forestales en vivero.

Tratamientos	<i>Trichoderma</i> (UFC/g de sustrato)				
	Tiempo (semanas)				
	0	1,3 *	9	18	23
Sustrato 1 (S ₁)	nsd	nsd	5,83 x 10 ⁻² b	1,07 x 10 ⁻⁵ ab	2,67 x 10 ⁻⁵ a
S ₁ +T. harzianum	5,6 x 10 ⁻⁵	1 x 10 ⁻⁶ a	3,07 x 10 ⁻⁵ a	2,43 x 10 ⁻⁵ a	3,3 x 10 ⁻⁵ a
Sustrato 2 (S ₂)	nsd	nsd	nsd	1,5 x 10 ⁻³ b	2,3 x 10 ⁻³ b
S ₂ +T. harzianum	4,5 x 10 ⁻⁵	4,5 x 10 ⁻⁵ b**	1,6 x 10 ⁻² b	3,13 x 10 ⁻⁴ b	3,43 x 10 ⁻² b
	F: sd	F: sd	F: sd	F: 0,82	F: 0,09
	DMS: 0,0	DMS: 0,0	DMS: 0,0	DMS: 1,57 x 10 ⁻⁵	DMS: 1,32 x 10 ⁻⁵

nsd: no se detectaron colonias de *Trichoderma* en la menor dilución empleada para el recuento.

* siembra del ensayo

** placa con bacterias que hizo dificultoso el recuento.

A partir de la 16ª semana se comenzó con el plan de fertilización via riego.

Letras distintas indican diferencias significativas (p <= 0,1).

Se observaron diferencias significativas entre tratamientos y para cada fecha de muestreo. El valor señalado al 0 (cero) tiempo es aquel calculado a partir de la inoculación de *Trichoderma* en cada sustrato a una dosis equivalente a 3 Kg/m³. El producto a base de *Trichoderma* tenía una concentración de propágulos y conidios equivalente a 7,5 x 10⁷ UFC/g (com. pers. Ing. Agr. Claudine Folch). Para el caso del S₂, Agroplus® en que la relación peso/volumen es de 1/2, 1 m³ pesa 500 Kg por lo que cada celda contenía aproximadamente 2,1 x 10⁷ UFC, disponibles para cada plantín y contiene 46,5 g del sustrato S₂ (com. pers. Ing. Agr. (MSc) Amalia Baraibar). Efectuando los cálculos de la concentración de *Trichoderma*/g de sustrato dentro de cada celda daría 4,5 x 10⁵ UFC/g. Para el caso de S₁, la relación peso/volumen es de 0,4, por lo que 1 m³ pesa 400 Kg. Por lo tanto, cada celda contiene 37 g del sustrato S₁ y la misma concentración aproximada de UFC, esto da una cantidad de 5,6 x 10⁵ UFC/g de S₁.

A los 10 días se efectuó un primer recuento de viables que permitió observar que los tratamientos sin inoculación no presentaban poblaciones de *Trichoderma* detectables en las condiciones en que se hizo la medición. El S₁ + *T. harzianum* arrojó un recuento de 1×10^6 UFC/g y para el caso de Agroplus® no fue posible una lectura correcta debido a la alta carga de contaminantes tipo bacterias que interfirieron con el recuento. A partir de este momento se incluyó más antibiótico en los medios de cultivo de las placas de Petri. Es importante recordar que S₁ fue esterilizado con Bromuro de metilo y S₂ no.

A las 9 semanas de la siembra se obtuvo una nueva serie de datos. El S₂ difiere significativamente del S₁ en cuanto a la capacidad de colonización de *Trichoderma*. S₁ tiene $3,07 \times 10^5$ UFC/g en tanto que S₂ tiene $1,6 \times 10^4$ UFC/g. No se detectó *Trichoderma* en los análisis de S₂. Contrariamente, se evidenció un alto recuento de *Trichoderma* en S₁, del orden de $5,83 \times 10^4$ UFC/g que no difiere significativamente de S₁ + *T. harzianum*. Observando la morfología, coloración y aspecto general de las colonias, se encontró que prácticamente el 100% de la misma pertenecían a otra especie o raza de *Trichoderma*, diferente de L1, probablemente nativa de algún componente del S₁ y sobreviviente del tratamiento con Bromuro de metilo. Los niveles alcanzados a las 9 semanas permiten suponer que la procedencia de este aislamiento es el sustrato mismo y no por contaminación de fuentes externas como agua u otros.

En el recuento de las 18 semanas, se emparejan los niveles de *Trichoderma* en el sustrato 1 (S₁ y S₁ + *T. harzianum*), haciendo la salvedad que si bien los recuentos son parejos, cualitativamente las cepas no son las mismas. Con respecto a S₂, también a partir de las 18 semanas se detectó la presencia de *Trichoderma* en el tratamiento sin inocular pero las características de las colonias responden a L1. Los componentes del S₂ son materiales estabilizados, de alta relación C/N, que no contienen *Trichoderma* nativo. S₂ + *T. harzianum* tiene una concentración 20 veces mayor a S₂.

A las 23 semanas se mantienen a grandes rasgos las diferencias notadas en el recuento anterior. S₁ con niveles de 10^5 UFC/g en ambos tratamientos, S₂ 10^3 UFC/g y S₂ + *T. harzianum* 10^4 UFC/g.

5.2 Evolución de los parámetros morfológicos (altura y diámetro) de plantines de *Pinus taeda*, *Eucalyptus globulus* y *E. grandis* creciendo en dos sustratos comerciales

Los plantines creciendo en los sustratos en estudio no recibieron aporte nutricional vía fertirriego hasta la 16ª semana, momento a partir del cual se incorporaron al plan de fertilizaciones aplicado en el vivero.

5.2.1 Altura de parte aérea de plantines forestales.

Los Cuadros N° 5, 6 y 7 presentan la información comparativa de altura de plantines de *Pinus taeda*, *Eucalyptus globulus* y *E. grandis* respectivamente, creciendo en los dos sustratos en estudio, inoculados o no con *Trichoderma harzianum* cepa L1.

Cuadro N° 5: Evolución de la altura de plantines forestales de *Pinus taeda* que crecen en dos sustratos colonizados o no con *Trichoderma harzianum*.

Tratamiento	Altura de plantín (cm)		
	Tiempo (semanas)		
	13	18	23
Sustrato 1 (S ₁)	9,65 a	12,17 a	13,53 a
S ₁ + <i>T. harzianum</i>	7,78 b	9,68 b	11,33 b
Sustrato 2 (S ₂)	8,52 b	10,20 b	11,00 b
S ₂ + <i>T. harzianum</i>	8,43 b	9,82 b	10,58 b
	F: 4,86	F: 11,93	F: 6,3
	DMS: 0,987	DMS: 0,742	DMS: 0,866

*A partir de la 16ª semana se comenzó con el plan de fertilización vía riego
Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.1$)

Los datos presentados en la columna de las 13 semanas cuando aún los plantines no habían sido fertilizados, es una medida de la capacidad del sustrato y del efecto del agregado de *Trichoderma*, de promover el desarrollo de lo mismos. S₁ difiere significativamente de los otros 3 tratamientos y en particular del S₂, al cual supera en 13%. Esta diferencia se mantiene en el mismo sentido en las siguientes mediciones, a las 18 y las 23 semanas del ciclo, superando S₁ a S₂ en un 19% y 23% respectivamente. Con

fertirrigación, los plantines de *P. taeda* crecieron 26% de 13 para 18 semanas y 11% de 18 para 23 semanas con S₁ y 20% y 8% respectivamente con S₂.

La incorporación de *Trichoderma* tuvo efecto negativo para el S₁, siendo que la reducción en altura significó 19% a las 13 semanas, 20% a la 18 y 16% a las 23 semanas respectivamente. Para S₂, esto no fue tan evidente, por lo que el agregado de *Trichoderma* no tuvo significancia en ningún sentido.

Cuadro N° 6: Evolución de la altura de plantines forestales de *Eucalyptus globulus* que crecen en dos sustratos colonizados o no con *Trichoderma harzianum*.

Tratamiento	Altura de plantin (cm)		
	Tiempo (semanas)		
	13	18	23
Sustrato 1 (S ₁)	18,63 a	22,70 ab	25,35 c
S ₁ + T. harzianum	15,92 ab	21,23 b	25,62 bc
Sustrato 2 (S ₂)	14,95 b	23,33 ab	29,86 ab
S ₂ + T. harzianum	16,18 ab	25,35 a	31,45 a
	F: 2,78	F: 2,29	F: 0,13
	DMS: 2,888	DMS: 2,806	DMS: 4,503

* A partir de la 16ª semana se comenzó con el plan de fertilización vía riego.
Letras distintas indican diferencias significativas (p ≤ 0.1)

Al igual que para *P. taeda*, los datos de las 13 semanas son indicadores del potencial de cada sustrato en ausencia de fertilización y del efecto del agregado de *Trichoderma* en la promoción de la altura de los plantines de *E. globulus*.

S₁ es significativamente superior a S₂ en cuanto a la capacidad de promover la altura del plantin. La altura de plantines creciendo en S₁ fue 25% mayor que en S₂ a las 13 semanas. Esta diferencia se equipara luego de la fertirrigación, a las 18 semanas y hacia las 23 semanas, la altura de plantin con S₂ es 18%, significativamente superior a S₁.

A partir de la fertirrigación los plantines con S₁ crecieron 22% a las 18 semanas y 12% a las 23 semanas. Con S₂ fue 56% y 28% respectivamente.

La incorporación de L1 promovió respuestas diferentes en ambos sustratos. A las 13 semanas, L1 en S₁ redujo un 15% la altura de los plantines respecto a S₁, en tanto que en S₂ aumentó la altura en 8%, con efecto promotor. A las 18 semanas, en el sustrato 1 se reduce la diferencia entre tratamientos, mientras que en el sustrato 2 la misma se mantiene. A las 23 semanas, se igualan las alturas en S₁, pero L1 en el sustrato S₂, tiene 5% más de altura de plantín que S₂.

Cuadro N° 7: Evolución de la altura de plantines forestales de *E. grandis* que crecen en dos sustratos colonizados o no con *Trichoderma harzianum*.

Tratamiento	Altura de plantin (cm)		
	Tiempo (semanas)		
	13	18	23
Sustrato 1 (S ₁)	25,58 a	30,83 a	33,88 a
S ₁ + T. harzianum	22,25 b	27,38 b	30,98 ab
Sustrato 2 (S ₂)	11,38 c	22,08 c	27,02 bc
S ₂ + T. harzianum	11,55 c	21,22 c	26,52 c
	F: 2,52	F: 1,19	F: 0,47
	DMS: 2,653	DMS: 2,892	DMS: 4,269

* A partir de la 16ª semana se comenzó con el plan de fertilización vía riego. Letras distintas indican diferencias significativas (p <= 0.1)

Los datos que se presentan a las 13 semanas, antes de la fertilización demuestran que existen diferencias significativas en el comportamiento de los dos sustratos en cuanto a la altura de plantines de *E. grandis*. S₁ tiene 125% más altura en los plantines que S₂. Estas diferencias se mantienen a las 18 y 23 semanas siendo S₁ mejor que S₂ en 40% y 25% respectivamente.

La fertilización de los sustratos produjo un efecto muy importante principalmente en el S₂, entre 13 y 18 semanas los plantines se desarrollaron 94% para luego pasar 22% el incremento hacia las 23 semanas. Para S₁, el incremento de 13 para 18 semanas fue de 21% y de 18 para 23 semanas de 10%.

La inclusión de *Trichoderma* en el sistema sin fertilizar produjo una reducción significativa en la altura de los plantines en el sustrato S₁ del orden del 13%. Esta tendencia se mantuvo a las 18 semanas, con fertirrigación. Pero a las 23 semanas, comienzan a emparejarse los tratamientos, siendo los sustratos con *Trichoderma* de comportamiento intermedio. Mientras que el

Trichoderma, no tuvo significancia para el sustrato S₂ para esta especie forestal.

5.2.2 Diámetro de plantines forestales.

Los Cuadros N° 8, 9 y 10 presentan la información comparativa de los sustratos medida a través de la evolución del diámetro de los plantines de *Pinus taeda*, *Eucalyptus globulus* y *E. grandis*, durante un periodo de 23 semanas.

Cuadro N° 8: Evolución del diámetro de plantines forestales de *Pinus taeda* que crecen en dos sustratos colonizados o no con *Trichoderma harzianum*.

Tratamiento	Diámetro de plantín (mm)		
	Tiempo (semanas)		
	13	18	23
Sustrato 1 (S ₁)	1,88 a	2,45 a	2,62 a
S ₁ + <i>T. harzianum</i>	1,53 b	2,05 b	2,20 b
Sustrato 2 (S ₂)	1,45 b	2,03 b	2,20 b
S ₂ + <i>T. harzianum</i>	1,62 b	2,06 b	2,26 b
	F: 5,87	F: 18,31	F: 10,7
	DMS: 0,260	DMS: 0,120	DMS: 0,176

* A partir de la 16ª semana se comenzó con el plan de fertilización vía riego.
Letras distintas indican diferencias significativas (p ≤ 0.1)

Los plantines creciendo en S₁ difieren significativamente de los que crecen en S₂, a lo largo de todo el período. Sin agregado de fertilización (13 semanas) los plantines en S₁ tienen 30% más de diámetro que en S₂. Luego de la fertirrigación, las diferencias a favor de S₁ son 21% y 19% para las lecturas de las 18 y 23 semanas, siempre estadísticamente significativas.

La fertirrigación promovió el desarrollo de los plantines en diámetro en un 30% para S₁ y 40% para S₂ de 13 a 18 semanas y 7% para S₁ y 8% para S₂ de 18 a 23 semanas.

La inclusión de *Trichoderma* L1 al igual que para las mediciones de altura, tuvo efecto negativo para el S₁ a lo largo del todo el ciclo, siendo 19% a las 13, 16% a la 18 y 16% a las 23 semanas, la reducción de diámetro

observada. Para S₂ no se observó efecto significativo del agregado de *Trichoderma* en ninguna fecha de medición.

Cuadro N° 9: Evolución del diámetro de plantines forestales de *Eucalyptus globulus* que crecen en dos sustratos colonizados o no con *Trichoderma harzianum*.

Tratamiento	Diámetro de plantín (mm)		
	Tiempo (semanas)		
	13	18	23
Sustrato 1 (S ₁)	1,87 a	2,73 a	2,8 a
S ₁ + <i>T. harzianum</i>	1,40 b	2,30 b	2,58 a
Sustrato 2 (S ₂)	1,58 ab	2,35 b	2,8 a
S ₂ + <i>T. harzianum</i>	1,58 ab	2,77 a	2,9 a
	F: 2,26	F: 9,94	F: 1,55
	DMS: 0,379	DMS: 0,329	DMS: 0,311

* A partir de la 16ª semana se comenzó con el plan de fertilización vía riego.

Letras distintas indican diferencias significativas (p ≤ 0.1)

En la columna de las 13 semanas, se observa las diferencias entre sustratos en ausencia de fertilización, medidas a través del diámetro de los plantines de *E. globulus*. No se observó diferencia significativa entre S₁ y S₂ para este parámetro si bien a nivel de tendencia, S₂ es 16% inferior a S₁. Las diferencias se mantienen a las 18 semanas, siendo el diámetro de plantín 16% mayor con S₁ que con S₂. A las 23 semanas las diferencias desaparecen.

La fertilización promovió un incremento significativo de las 13 a las 18 semanas del orden de 46% para S₁ y 49% para S₂ y de 3% para S₁ y 19% para S₂, entre las 18 y 23 semanas respectivamente.

La incorporación de *Trichoderma* redujo significativamente el diámetro de plantín en 25% a las 13 semanas y 16% a las 18 semanas para el caso del S₁. Contrariamente, para el S₂ no hubo respuesta al agregado a las 13 semanas; luego fue significativamente superior S₂ + *T. harzianum* que S₂ a las 18 semanas y se mantienen sin diferencia a las 23 semanas.

Cuadro N° 10: Evolución del diámetro de plantines forestales de *E. grandis* que crecen en dos sustratos colonizados o no con *Trichoderma harzianum*.

Tratamiento	Diámetro de plantín (mm)		
	Tiempo (semanas)		
	13	18	23
Sustrato 1 (S ₁)	2,57 a	3,12 a	3,38 a
S ₁ + <i>T. harzianum</i>	2,13 a	2,87 b	2,93 b
Sustrato 2 (S ₂)	1,67 b	2,77 b	3,15 ab
S ₂ + <i>T. harzianum</i>	1,83 b	2,68 b	3,0 b
	F: 2,56	F: 0,8	F: 1,65
	DMS: 0,457	DMS: 0,227	DMS: 0,301

* A partir de la 16ª semana se comenzó con el plan de fertilización vía riego.
 Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.1$)

Para *E. grandis* y en ausencia de fertirrigación, se observan diferencias significativas entre sustratos, siendo S₁ 35% mayor a S₂ en el diámetro de plantín. Estas diferencias se mantienen en forma significativa luego de la fertirrigación a las 18 semanas (11%) y a nivel de tendencia (7%) hacia la semana 23ª.

La fertirrigación promovió el aumento de diámetro de la 13 a la 18 semana en un 21% para el S₁ y en 66% para S₂ y entre 18 y 23 semanas, 8% y 14% para S₁ y S₂ respectivamente.

La inclusión de *Trichoderma* si bien no se expresó en reducción significativa a las 13 semanas, a las 18 y 23 fue de 8% y 13% respectivamente. Para el caso de S₂, no hubo respuesta significativa al agregado de *Trichoderma* en ningún sentido en las tres mediciones.

5.3 Evolución de los parámetros fisiológicos (Peso de la materia fresca y Peso de la materia seca) de plantines de *Pinus taeda*, *Eucalyptus globulus* y *E. grandis* creciendo en dos sustratos comerciales

Los plantines creciendo en los sustratos que se comparan, no recibieron ningún tipo de fertilizante hasta la 16ª semana, momento a partir del cual se incorporan al plan de fertilizaciones aplicado en el vivero.

5.3.1 Peso de la materia fresca

El Cuadro N° 11 presenta la información de la evolución del peso fresco de las tres especies forestales estudiadas en los dos sustratos.

Cuadro N° 11: Evolución del peso de la materia fresca de plantines de *Pinus taeda*, *Eucalyptus globulus* y *E. grandis*, creciendo en los dos sustratos en estudio, inoculados o no con *Trichoderma harzianum*.

Tratamiento	Peso Materia Fresca (g)								
	<i>P. taeda</i>			<i>E. globulus</i>			<i>E. grandis</i>		
	Tiempo (semanas)								
	13	18	23	13	18	23	13	18	23
Sustrato 1 (S ₁)	34,36	52,62	49,28	44,57	60,10	58,10	62,56	61,39	93,23
S ₁ + T. harzianum	22,49	27,68	32,08	30,55	37,10	51,95	63,50	72,43	74,86
Sustrato 2 (S ₂)	21,43	26,31	28,21	25,00	41,43	65,91	22,58	47,87	56,16
S ₂ + T. harzianum	20,80	31,86	32,08	28,75	54,17	60,58	23,36	43,46	52,40

Estos valores refieren al peso de 30 plantines.

* A partir de la 16ª semana se comenzó con el plan de fertilización vía riego.

Por no contar con análisis estadísticos, las diferencias que se expresan en porcentajes no tienen valor de significancia pero pueden servir para interpretar la tendencia de los datos recogidos.

Pinus taeda

Antes de la fertilización, y en las pesadas de las 13 semanas, S_1 fue superior a S_2 en 60% en el peso fresco de los plantines. Luego en las pesadas sucesivas estas diferencias fueron disminuyendo hasta 50% a las 18 semanas y 43 % a las 23 semanas.

Entre 13 y 18 semanas, los plantines creciendo en S_1 aumentaban 53% el peso fresco y luego hubo una reducción del 6% hacia las 23 semanas. Para S_2 , el crecimiento en el valor de peso fresco no fue tan importante; de 13 a 18 semanas 23% y de 18 a 23 semanas 7%.

La inclusión de *Trichoderma* en el sustrato S_1 redujo el peso fresco de los plantines en un 35%, a las 18 semanas un 47% y a las 23 semanas un 35%, en tanto que para el sustrato S_2 a las 18 semanas y 23 semanas manifestó un incremento del 21% y 14% respectivamente del peso fresco. Ningún tratamiento superó los valores observados en el tratamiento S_1 a lo largo de todo el ciclo.

Eucalyptus globulus

Para esta especie se mantiene en términos generales lo observado para *P. taeda* (Cuadro N° 11). A las 13 semanas, los plantines creciendo en S_1 tenían 44% más de peso de la materia fresca que los que crecían en S_2 . A las 18 semanas la superioridad de S_1 fue del 31%. A las 23 semanas, se invierten las relaciones y los plantines de *E. globulus* en S_2 tienen 13% más peso fresco que los de S_1 .

La fertilización a la 16ª semana produjo un impacto significativo en el peso fresco de los plantines. El incremento fue de 35% en S_1 y de 66% en S_2 . En las pesadas de las 23 semanas, los plantines que crecían en S_1 no registraron incremento de peso, en tanto que en S_2 el incremento de peso continuó aumentando 59% respecto al muestreo anterior.

El agregado de *Trichoderma* tuvo diferentes respuestas según el sustrato. En S_1 los plantines de *E. globulus* creciendo con *Trichoderma* presentaron una disminución del 31% del peso fresco respecto S_1 sin *Trichoderma*. A las 18 semanas el efecto fue muy significativo, registrándose un descenso del 38%; se estabilizó luego a las 23 semanas, en tanto que con S_2 , *Trichoderma* se comportó con efecto promotor. A las 18 semanas, el incremento del peso fresco alcanzó 31% respecto al testigo S_2 sin *Trichoderma*. A las 23 semanas esta tendencia se invirtió y hubo un descenso del 8%.

Eucalyptus grandis

En el Cuadro N° 11 aparecen los datos de peso fresco de plantines de *E. grandis*. A las 13 semanas, las diferencias son muy significativas entre sustratos, siendo los plantines de S₁ con 178% más de peso fresco que los de S₂. Pero luego a las 18 y 23 semanas disminuyen las diferencias hasta 41% y 40% respectivamente.

Los incrementos de peso fresco con respecto a la fertilización fueron de 30% de 13 para 18 semanas y de 15% de 18 para 23 semanas en el caso de S₁ y 112% de 13 para 18 semanas, y 17% de 18 para 23 semanas para el caso de S₂.

La inclusión de *Trichoderma* no presentó diferencias a las 13 semanas en cualquiera de los dos sustratos. No fue positiva para el caso del S₁, como se ha visto anteriormente ocurriendo una reducción de 11% a las 18 y 20% a las 23 semanas. Del mismo modo en el S₂ no se observó promoción, registrándose una reducción del 9% y del 7% a las 18 y 23 semanas respectivamente. La falta de estudio estadístico impide afirmar si esta reducción es significativa o no.

5.3.2 Peso de la materia seca

Cuadro N° 12: Evolución del peso de la materia seca de plantines forestales creciendo en dos sustratos colonizados o no con *Trichoderma harzianum*.

Tratamiento	Peso Materia Seca (g)								
	<i>P. taeda</i>			<i>E. globulus</i>			<i>E. grandis</i>		
	Tiempo (semanas)								
	13	18	23	13	18	23	13	18	23
Sustrato 1 (S ₁)	8,04	9,15	11,72	12,76	14,3	18,82	17,97	19,64	29,46
S ₁ + T. harzianum	5,05	5,09	7,66	8,39	14,17	16,19	17,78	20,26	24,38
Sustrato 2 (S ₂)	4,03	4,6	6,33	5,73	8,33	18,13	4,77	8,13	15,49
S ₂ + T. harzianum	4,09	5,46	7,43	6,59	10,00	17,08	4,91	8,52	14,15

Estos valores refieren al peso de 30 plantines.

* A partir de la 16ª semana se comenzó con el plan de fertilización vía riego.

El Cuadro N° 12 resume el comportamiento de las 3 especies en cuanto a la producción de materia seca. Los resultados fueron muy similares a los obtenidos para materia fresca.

Pinus taeda

Los plantines de S₁ fueron aproximadamente 100% más pesados que los de S₂ a lo largo de todo el ciclo. Hubo respuesta importante a la fertilización a lo largo del ciclo, siendo el incremento del 14% de 13 a 18 semanas y de 28% de 18 a 23 semanas para el S₁. Para el S₂, dichos incrementos fueron de 14% y 38% respectivamente en los dos momentos.

La presencia de *Trichoderma* no fue positiva en S₁ pues se redujeron los valores de materia seca en 37% a las 13 semanas, 44% a las 18 y 35% a las 23 semanas. En S₂, luego de la fertilización se observaron incrementos de 19% y 17% a las 18 y 23 semanas respectivamente cuando se inoculaba el sustrato con *Trichoderma*.

Eucalyptus globulus

Los plantines creciendo en S₁ a las 13 semanas tuvieron 123% más peso de la materia seca que los correspondientes al S₂. Pero en las sucesivas mediciones esta diferencia fue menor alcanzando a las 18 semanas el 42% y desapareciendo a las 23 semanas.

Luego de la fertilización a la semana 16, se produjo un incremento del 12% hasta la 18^a semana y de 32% hasta la 23^a semana en el S₁; en el S₂ los valores fueron de 45% y 118% respectivamente.

El agregado de *Trichoderma* promovió una reducción de la materia seca de los plantines creciendo en S₁, tal como fue observado para el peso de la materia fresca. Esta reducción fue de 34% aproximadamente a las 13 semanas y 14% a las 23 semanas. La incorporación de *Trichoderma* en S₂ fue positiva antes y después de la fertilización. A las 13 semanas, promovió un incremento del 15% y a las 18 semanas del 20%. A las 23 semanas se estabiliza y tiende a reducir la materia seca de los plantines.

Eucalyptus grandis

Se observaron diferencias muy importantes a favor del S₁ en el desarrollo de los plantines. Este sustrato fue 277% superior al S₂ antes de incorporar el fertilizante. Luego de las 16 semanas, la ventaja de S₁ sobre S₂ fue de 142% a las 18 semanas y de 47% a las 23 semanas.

La respuesta a la fertilización fue muy significativa en el S₂, que incrementó la materia seca de los plantines un 70% desde la 13^a a la 18^a semana y 91% desde la 18^a a la 23^a semana, en tanto que para el caso del S₁, los correspondientes incrementos fueron de 9% y 50% en los períodos indicados.

Para el caso de *E. grandis*, la incorporación de *Trichoderma* en los dos sustratos no tuvo incidencia de significancia ni antes ni después de la fertilización de la 16^a semana.

5.4 Sanidad de plantines

Se evaluó la emergencia y la sanidad de los plantines al mes de la siembra y los datos se presentan en los cuadros 13, 14, 15, 16 y 17.

Cuadro N° 13: Emergencia de plantines (1 mes) de *Pinus taeda*, *Eucalyptus globulus* y *E. grandis* sembrados en dos sustratos inoculados con *Trichoderma harzianum*.

Tratamiento	Especie forestal		
	<i>P. taeda</i>	<i>E. globulus</i>	<i>E. grandis</i>
	% de emergencia		
Sustrato 1 (S ₁)	81,27 b	84,73 a	90,73 a
S ₁ + <i>T. harzianum</i>	87,03 a	85,40 a	83,12 b
Sustrato 2 (S ₂)	82,18 b	87,73 a	88,65 ab
S ₂ + <i>T. harzianum</i>	85,07 ab	89,80 a	85,42 ab
	F: 0,71	F: 0,06	F: 0,68
	DMS: 4,161	DMS: 6,881	DMS: 6,469

*Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,1$)

Para *Pinus taeda* se observaron diferencias significativas en la emergencia de plantines en lo que refiere al agregado de *Trichoderma* en los dos sustratos. La emergencia promedio fue de 84%, siendo S₁ el de menor porcentaje de emergencia y S₁ + *Trichoderma* el de mayor porcentaje. La promoción de *Trichoderma* en la emergencia de plantines de *Pinus Taeda* fue de 7% para S₁ y de 4% para S₂. No hubo diferencias significativas entre sustratos en la emergencia.

Para *E. globulus*, el promedio de emergencia fue del 87%. No se observaron diferencias significativas entre tratamientos ni entre sustratos ni respecto al efecto del *Trichoderma*.

Para *E. grandis*, el promedio de emergencia fue del 87%, siendo el mejor tratamiento S₁, aunque sin diferencias significativas con el S₂. La inclusión de *Trichoderma* en S₁ afectó la emergencia de los plantines en un 8%, pero esto no fue observado en el S₂.

Dicha evaluación se realizó, a su vez, para investigar la presencia de patógenos del suelo o semilla. En ninguna de las especies estudiadas se detectó la presencia de los mismos. Todos los plantines estaban sanos, sin síntomas de enfermedades.

A los 4 meses aproximadamente comenzaron a observarse claros síntomas de la presencia de *Botrytis cinerea* en las especies de *Eucalyptus*: marchitamiento de los brotes, seguido de caída, micelio de típico color ceniciento en brotes y hojas basales que aún estaban adheridas al tallo.

Se efectuaron dos evaluaciones consecutivas, en la semana 18 y en la semana 23.

El Cuadro N° 14 presenta la información de la incidencia de *Botrytis* en *E. globulus*, medida como el % de plantas con síntomas.

Cuadro N° 14: % de plantas con síntomas de moho gris (*Botrytis cinerea*) en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos y en presencia de *Trichoderma harzianum*, a las 18 y 23 semanas de edad.

Tratamiento	% de plantas enfermas	
	Semana 18	Semana 23
Sustrato 1 (S ₁)	24,45 a	4,47 c
S ₁ + T. harzianum	21,61 a	7,58 bc
Sustrato 2 (S ₂)	14,38 a	24,70 a
S ₂ + T. harzianum	15,69 a	18,51 ab
	F: 0,17	F: 1,36
	DMS: 14,999	DMS: 11,779

*Letras distintas indican diferencias significativas (p ≤ 0,05)

Para *E. globulus*, a las 18 semanas no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos. La incidencia promedio de *Botrytis* fue del 19%, siendo menores, aunque no significativamente, los valores registrados en S₂.

A la semana 23, la incidencia de *Botrytis* fue significativamente superior para el S₂, el S₂ presentó 5,5 veces más plantas atacadas que el S₁ y el S₂ + *Trichoderma* 2,4 veces más que su correspondiente en S₁. En el S₂ se observó una menor incidencia a nivel de tendencia, del tratamiento con *Trichoderma* (S₂ + T).

El Cuadro N° 15 presenta la información para *E. grandis*.

Cuadro N° 15: % de plantas con síntomas de moho gris (*Botrytis cinerea*) en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos y en presencia de *Trichoderma harzianum*, a las 18 y 23 semanas de edad.

Tratamiento	% de plantas enfermas	
	Semana 18	Semana 23
Sustrato 1 (S ₁)	11,17 a	2,1 b
S ₁ + T. harzianum	8,21 a	4,46 b
Sustrato 2 (S ₂)	11,31 a	28,84 a
S ₂ + T. harzianum	6,73 a	23,45 a
	F: 0,06	F: 0,14
	DMS: 10,065	DMS: 14,888

*Letras distintas indican diferencias significativas (p ≤ 0,05)

En la primera evaluación a las 18 semanas, la incidencia promedio de *Botrytis* en el ensayo fue del 9%. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre sustratos ni debidas al agregado de *Trichoderma*. No obstante, a nivel de tendencia, la incorporación de *Trichoderma* disminuyó el % de plantas enfermas de *E. grandis* un 26% para el S₁ y un 40% para el S₂.

En la semana 23, los tratamientos con S₂ presentaron mayor % de plantas enfermas que con S₁, con significancia estadística. La incidencia de *Botrytis* en plantines creciendo en S₂ fue casi 14 veces superior a la de los que crecían en el S₁. La presencia de *Trichoderma* no fue de destacar, pero a nivel de tendencia en el S₁ éste aumentó la incidencia en un 100%, mientras que en el S₂ se dio lo contrario, observándose una disminución del 19%.

En el análisis de interacciones efectuado por el programa estadístico se encontraron para *E. globulus* diferencias significativas en la interacción sustrato x fecha lo que se observa en el Gráfico N° 39 (Ver Anexo II). Para el S₁, la fecha 1 (18 semanas) presentó mayor incidencia de *Botrytis* en tanto que para el S₂ fue la fecha 2 (23 semanas).

Cuadro N° 16: % de plantas con síntomas de moho gris (*Botrytis cinerea*) en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos y en presencia de *Trichoderma harzianum*, comparando las dos fechas de muestreo (18 y 23 semanas de edad).

En este caso solo se encontraron diferencias significativas en la interacción sustrato*fecha.

Interacción	% de plantas enfermas
S ₁ * fecha 2	6,03 b
S ₂ * fecha 1	15,04 ab
S ₂ * fecha 2	21,61 a
S ₁ * fecha 1	23,03 a
	F: 13,29
	DMS: 9,240

*Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Para el caso de *E. grandis* se encontraron diferencias significativas entre los dos sustratos (Ver Discusión, Gráfica N° 12), siendo el porcentaje de plantas enfermas significativamente superior con el S₂ respecto al S₁. También se encontraron diferencias significativas en las interacciones sustrato x fecha (Cuadro N° 17b) y sustrato x *Trichoderma* (Cuadro N° 17c) que se presentan en los gráficos N° 13 y N° 14. Para la interacción sustrato x fecha (Cuadro N° 17b), el mayor porcentaje de *Botrytis* fue encontrado en la combinación S₂ con la segunda fecha de evaluación (24,15%). Para la interacción sustrato x *Trichoderma* (Cuadro N° 17c), además del efecto significativo del sustrato (Cuadro N° 17a), la presencia de *Trichoderma* tendería a disminuir, aunque no significativamente, el porcentaje de plantas enfermas, siendo este efecto más notorio para el S₂ que tiene mayor incidencia del patógeno.

Cuadro N° 17: % de plantas con síntomas de moho gris (*Botrytis cinerea*) en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos y en presencia de *Trichoderma harzianum*, comparando las dos fechas de muestreo (18 y 23 semanas de edad).

En este caso, se encontraron diferencias significativas entre los sustratos, y en las interacciones sustrato**Trichoderma*, sustrato*fecha.

Cuadro N° 17a:

Variable	% de plantas enfermas
Sustrato 1	6,48 b
Sustrato 2	16,58 a
	F: 11,3
	DMS: 6,156

*Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Cuadro N° 17b:

Interacción	% de plantas enfermas
Sustrato * fecha	
S ₁ * fecha 2	3,28 b
S ₂ * fecha 1	9,02 b
S ₁ * fecha 1	9,69 b
S ₂ * fecha 2	24,15 a
	F: 12,8
	DMS: 8,706

*Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Cuadro 17c:

Interacción	% de plantas enfermas
Sustrato*trichoderma	
Sustrato 1 (S ₁)	6,63 bc
S ₁ + T. harzianum	6,33 c
Sustrato 2 (S ₂)	18,07 a
S ₂ + T. harzianum	15,09 ab
	F: 0,19
	DMS: 8,706

*Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

5.5 Nutrición de plantines forestales creciendo en diferentes sustratos en presencia de *Trichoderma harzianum*

Se presenta la información de los análisis de los macro y micronutrientes efectuados a los plantines de *Pinus taeda*, *Eucalyptus globulus* y *E. grandis* creciendo en los dos sustratos. Al efectuar el análisis en muestra conjunta no se pudieron analizar los datos estadísticamente, debido a la falta de variabilidad dentro de los tratamientos. Por lo tanto, se analizaron las tendencias, teniéndose en cuenta las variaciones mayores al 15%.

Los resultados de los análisis foliares son expresados como gramos de nutriente/tratamiento, los cuales se muestran en los Cuadros N° 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 y 26. Estos se determinaron multiplicando el contenido de materia seca de cada tratamiento por la concentración foliar porcentual de cada nutriente.

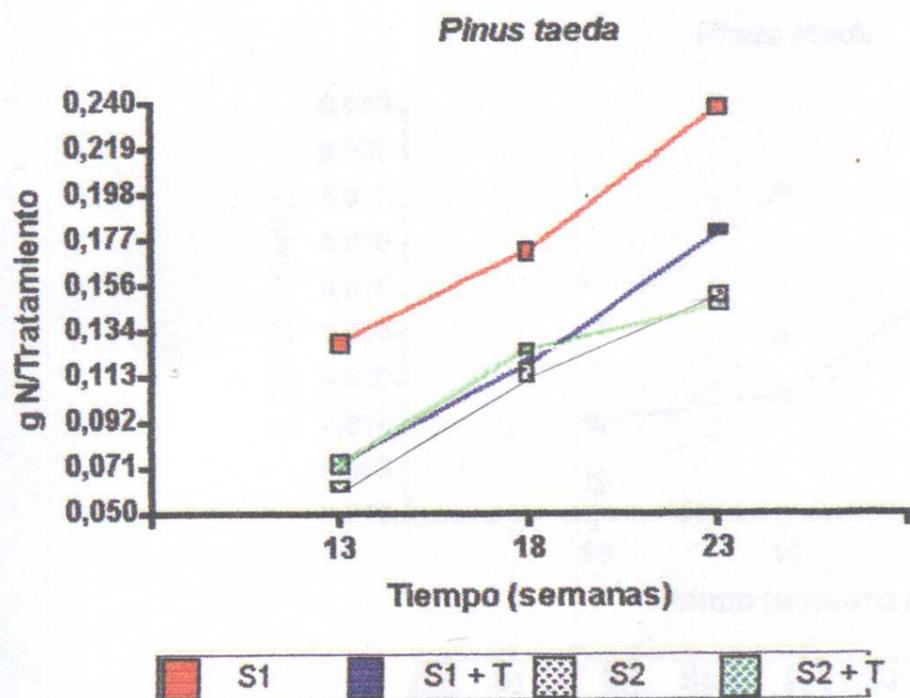
Cuadro N° 18: Concentraciones foliares de macronutrientes en *Pinus taeda* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.

Tratamiento	N (g/Tratamiento)			P (g/Tratamiento)			K (g/Tratamiento)		
	Tiempo (semanas)								
	13	18	23	13	18	23	13	18	23
Sustrato 1 (S ₁)	0,129	0,172	0,238	0,024	0,034	0,043	0,062	0,092	0,098
S ₁ + T. harzianum	0,074	0,119	0,179	0,017	0,019	0,028	0,051	0,058	0,063
Sustrato 2 (S ₂)	0,061	0,116	0,150	0,012	0,019	0,024	0,051	0,057	0,061
S ₂ + T. harzianum	0,073	0,124	0,144	0,013	0,023	0,026	0,054	0,063	0,057

Estos valores refieren a las concentraciones foliares de 30 plantines

* a las 16 semanas se comenzó con el plan de fertilización vía riego

Gráfica N° 1: Concentraciones foliares de Nitrógeno en plantines de *Pinus taeda* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.

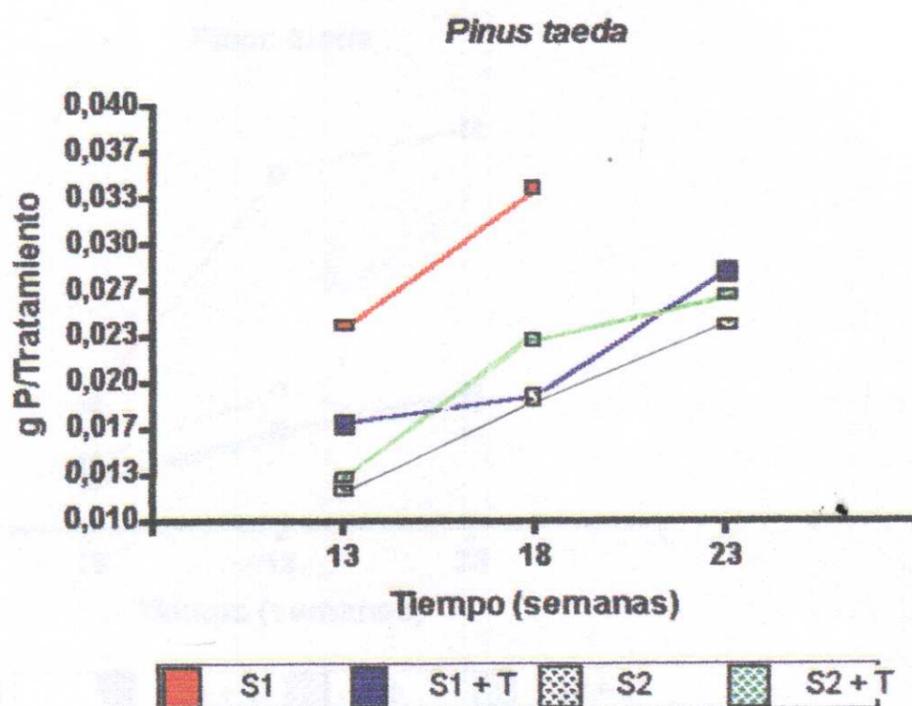


En la Gráfica N° 1 se muestra el contenido de **Nitrógeno** en plantines de *P. taeda* creciendo en S_1 , en el cual se observó un 111% más de este nutriente que en el S_2 . Esta diferencia se mantiene en el mismo sentido pero en las siguientes mediciones, a las 18 y las 23 semanas del ciclo, disminuyen a un 48% y 59% respectivamente.

Luego del agregado del fertilizante los plantines de *P. taeda* crecieron 33% de 13 para 18 semanas y 38% de 18 para 23 semanas con S_1 y 90% y 38% respectivamente con S_2 .

La incorporación de *Trichoderma* tuvo efecto negativo para el S_1 , siendo que la reducción en la cantidad del nutriente significó 43% a las 13 semanas, 31% a la 18 y 25% a las 23 semanas respectivamente. Para S_2 , resultó en un incremento a las 13 semanas del 20%, manteniéndose sin diferencias apreciables a las 18 y 23 semanas.

Gráfica N° 2: Concentraciones foliares de Fósforo en plantines de *Pinus taeda* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.

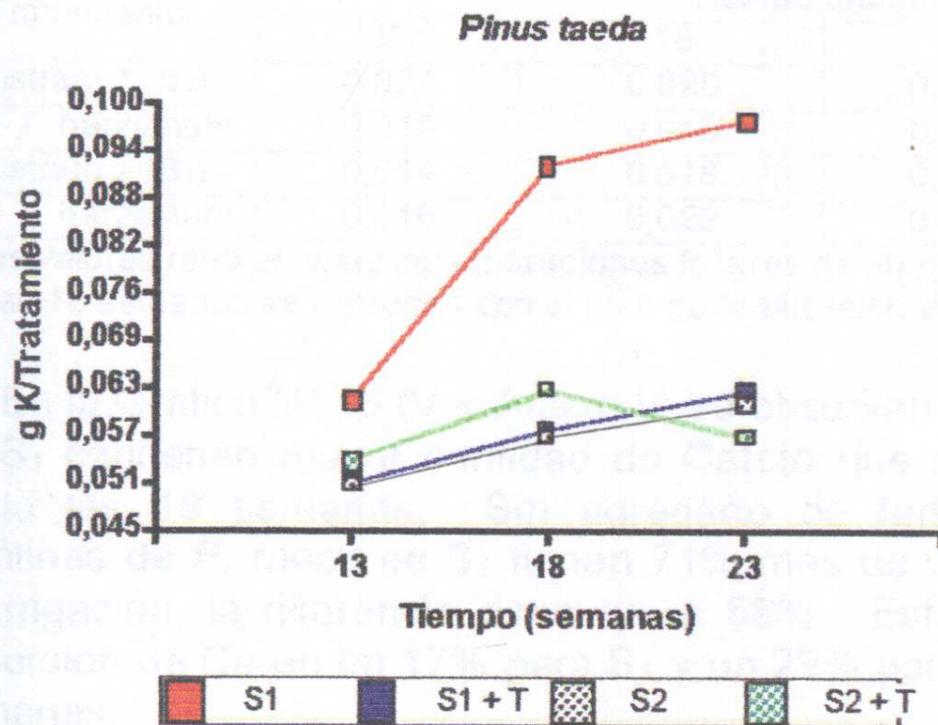


Para el caso del Fósforo, en la Gráfica N° 2 aparece la misma tendencia observada en los sustratos, S₁ es superior a S₂ en cuanto a la capacidad de suministrar mayor cantidad de nutrientes. Los plantines creciendo en S₁ tuvieron 50% más de P que los de S₂ a las 13 semanas. Esta diferencia aumenta con la fertirrigación, siendo 79% mayor la cantidad del nutriente encontrada en los plantines creciendo en S₁ respecto a S₂ a las 18 semanas y a las 23 semanas.

A partir de la fertirrigación los plantines con S₁ crecieron 42% a las 18 semanas y 27% a las 23 semanas. Con S₂ fue 58% y 26% respectivamente.

La incorporación de *Trichoderma harzianum* (cepa L1) promovió respuestas diferentes en ambos sustratos. A las 13 semanas, L1 en S₁ redujo un 29% la concentración del nutriente respecto a S₁, en tanto que en S₂ no hubo variación apreciable. A las 18 y 23 semanas, en el sustrato 1 aumenta la diferencia entre tratamientos a 44% y 35% respectivamente, mientras que en el sustrato 2 se observa un efecto promotor del 21% a las 18 semanas, desapareciendo a las 23 semanas.

Gráfica N° 3: Concentraciones foliares de Potasio en plantines de *Pinus taeda* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.



Al igual que lo observado para el N y el P, en la Gráfica N° 3 los datos que se presentan a las 13 semanas, antes de la fertilización demuestran que el S₁ aporta mayor cantidad de Potasio que el S₂ (22%). Estas diferencias aumentan a las 18 y 23 semanas suministrando S₁ un 61% más de K que S₂.

La fertilización de los sustratos no produjo un efecto muy importante en el aporte nutricional principalmente en el S₂, que no registró incrementos en todo el ciclo. Pero para el S₁, el incremento de 13 para 18 semanas fue del 48% no registrándose incremento en el periodo de 18 para 23 semanas.

La inclusión de *Trichoderma* en el sistema sin fertilizar produjo una reducción en el contenido de K del 18% en el sustrato S₁, aumentado a 37% y 36% en las siguientes mediciones. *Trichoderma*, no tuvo significancia para el sustrato S₂ a lo largo de todo el ciclo.

Cuadro N° 19: Concentraciones foliares de macronutrientes en *Pinus taeda* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.

Tratamiento	Ca (g/Tratamiento)		Mg (g/Tratamiento)	
	Tiempo (semanas)			
	13	18	13	18
Sustrato 1 (S ₁)	0,024	0,028	0,00723	0,0101
S ₁ + <i>T. harzianum</i>	0,015	0,015	0,00505	0,0051
Sustrato 2 (S ₂)	0,014	0,018	0,00523	0,0060
S ₂ + <i>T. harzianum</i>	0,016	0,022	0,00523	0,0071

Estos valores refieren a las concentraciones foliares de 30 plantines.

* a las 16 semanas se comenzó con el plan de fertilización vía riego.

En la Gráfica N° 15 (Ver Anexo II) se observan que los plantines creciendo en S₁ contienen mayor cantidad de **Calcio** que aquellos que crecen en S₂, hasta las 18 semanas. Sin agregado de fertilizante (13 semanas) los plantines de *P. taeda* en S₁ tienen 71% más de Ca que en S₂. Luego de la fertirrigación, la diferencia disminuye a 56%. Esta fertirrigación promovió la absorción de Ca en un 17% para S₁ y un 29% para S₂ en el lapso de 13 a 18 semanas.

La inclusión de *Trichoderma* tuvo efecto negativo para el S₁, siendo 38% a las 13 y 46% a las 18 semanas. Para S₂, en la 13ª semana no se observó variación en dicho contenido, pero en la 18ª semana, hubo un efecto promotor del 22%, al agregado de *Trichoderma*.

Respecto al **Magnesio** (Gráfica N° 16, Ver Anexo II), en la columna de las 13 semanas, se observan las diferencias entre sustratos en ausencia de fertilización, medidas a través de los gramos del nutriente. A nivel de tendencia se observó diferencia entre S₁ y S₂ para este parámetro, siendo S₁ 38% mayor a S₂. Esta diferencia aumenta a 68% en la 18ª semana.

La fertilización promovió un incremento en Mg de las 13 a las 18 semanas, del orden del 40% para S₁ y 15% para S₂.

La incorporación de *Trichoderma* redujo el contenido de Mg en un 30% a las 13 semanas, aumentando esta diferencia a 50% a las 18 semanas para el caso del S₁. Contrariamente, para el S₂ no hubo respuesta al agregado a las 13 semanas; luego fue sensiblemente superior (18%) S₂ + *T. harzianum* que S₂ a las 18 semanas.

Cuadro N° 20: Concentraciones foliares de micronutrientes en plantines de *Pinus taeda* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.

Tratamiento	Fe (g/Tratamiento)		Mn (g/Tratamiento)		Cu (g/Tratamiento)		Zn (g/Tratamiento)		B (g/Tratamiento)	
	Tiempo (semanas)									
	13	18	13	18	13	18	13	18	13	18
Sustrato 1 (S ₁)	9,005	9,333	36,90	67,53	0,442	0,641	2,251	4,072	3,538	4,301
S ₁ + T. harzianum	6,590	3,741	29,164	39,17	0,278	0,356	1,717	2,138	2,424	2,621
Sustrato 2 (S ₂)	3,264	2,461	1,955	2,001	0,242	0,253	2,418	3,680	1,491	1,863
S ₂ + T. harzianum	2,781	2,976	2,168	2,539	0,245	0,273	2,045	4,013	1,513	2,266

Estos valores refieren a las concentraciones foliares de 30 plantines.

* 1×10^{-3}

* a las 16 semanas se comenzó con el plan de fertilización vía riego.

Para el caso de los micronutrientes se mantiene la tendencia observada en los macronutrientes respecto al comportamiento de los sustratos. En la Gráfica N° 17 (Ver Anexo II), se observa que el contenido de **Hierro** de los plantines creciendo en el S₁ en ausencia de fertirrigación, fue 176% más que en S₂. Luego de la fertirrigación, a las 18 semanas, esta diferencia se incrementa al 279%.

La fertirrigación disminuyó el contenido de Fe de los plantines de *P. taeda* creciendo en S₂ en un 75% en el periodo comprendido entre la semana 13 y 18. Mientras que en el S₁ no hubo variación apreciable de dicho nutriente en el mismo periodo.

La inclusión de *Trichoderma* produjo una disminución del 27% en el Fe de los plantines del S₁ en la 13ª semana, pero esta diferencia se incremento más de 9 veces (250%) a la semana 18. Para el caso de S₂, en la primera fecha de medición hubo una leve disminución en el contenido de este nutriente, revirtiéndose la situación en la segunda medición y provocando un incremento del 21% en el Fe de los plantines.

El **Manganeso**, fue el micronutriente que sufrió mayor variación entre sustratos (Gráficas N° 18 y 19, Ver Anexo II). Antes de la fertilización, y en las mediciones de las 13 semanas, S₁ fue casi 19 veces superior a S₂. Luego en la medición sucesiva (18 semanas) la concentración en los plantines del S₁ aumentó 34 veces respecto al S₂.

Entre 13 y 18 semanas, los plantines creciendo en S₁ aumentaban 83% el contenido de Mn, mientras que los del S₂, no presentaron variaciones apreciables.

La inclusión de *Trichoderma* en el sustrato S₁ redujo el Mn de los plantines en un 21% a las 13 semanas y duplicó la diferencia (42%) a las 18 semanas. En tanto que para el sustrato S₂ a las 13 semanas no hubo respuesta al *Trichoderma*, pero si la hubo a las 18 semanas provocando un incremento del 27% en la concentración de Mn.

En la Gráfica N° 20 (Ver Anexo II) se puede apreciar que ocurre algo similar con el **Cobre**, a las 13 semanas, los plantines creciendo en S₁ tenían 83% más Cu que los que crecían en S₂. A las 18 semanas la superioridad de S₁ fue del 153%.

La fertilización a la 16^a semana produjo un aumento del Cu del 45% en los plantines de S₁ y en el S₂ no se registro una variación importante.

El agregado de *Trichoderma* tuvo respuestas diferenciales según el sustrato. En S₁ a las 13 semanas los plantines de *P. taeda* creciendo con *Trichoderma* presentaron una disminución del 159% del contenido del micronutriente respecto a S₁ sin *Trichoderma*. A las 18 semanas el efecto fue mayor registrándose un descenso del 180%. En tanto que con S₂, en las dos mediciones el *Trichoderma* no causó ningún tipo de efecto en las concentraciones de Cu.

Como se puede apreciar en la Gráfica N° 21 (Ver Anexo II), el único nutriente que no presentó diferencias en los plantines de *P. taeda* creciendo en los sustratos estudiados fue el **Zinc**.

Los incrementos del contenido de Zn en los plantines con respecto a la fertilización, fueron de 81% y 52% de 13 para 18 semanas para el caso de S₁ y de S₂ respectivamente.

La inclusión de *Trichoderma* no fue positiva en el S₁ presentando diferencias a las 13 y 18 semanas disminuyendo 24% y 47% respectivamente el contenido de Zn de los plantines creciendo con *Trichoderma*. Para el caso del S₂, en la primera medición la disminución fue menor, del orden del 15% pero en la segunda medición no hubo efecto frente al agregado del antagonista.

El **Boro** presentó una tendencia similar a los demás (Gráfica N° 22, Ver Anexo II). Los plantines de S₁ tuvieron 137% y 130% más de B que los de S₂ en la 13^a y 18^a semana respectivamente.

No hubo respuesta importante a la fertilización, siendo el incremento del 22% y del 25% de 13 a 18 semanas para el S₁ y S₂ respectivamente.

La presencia de *Trichoderma* no fue positiva en S₁ pues se redujeron los valores del B en 31% a las 13 semanas y 39% a las 18 semanas. En S₂, antes de la fertilización no se observaron variaciones en el contenido, pero, como se ha visto anteriormente promovió un incremento del 22% a las 18 semanas.

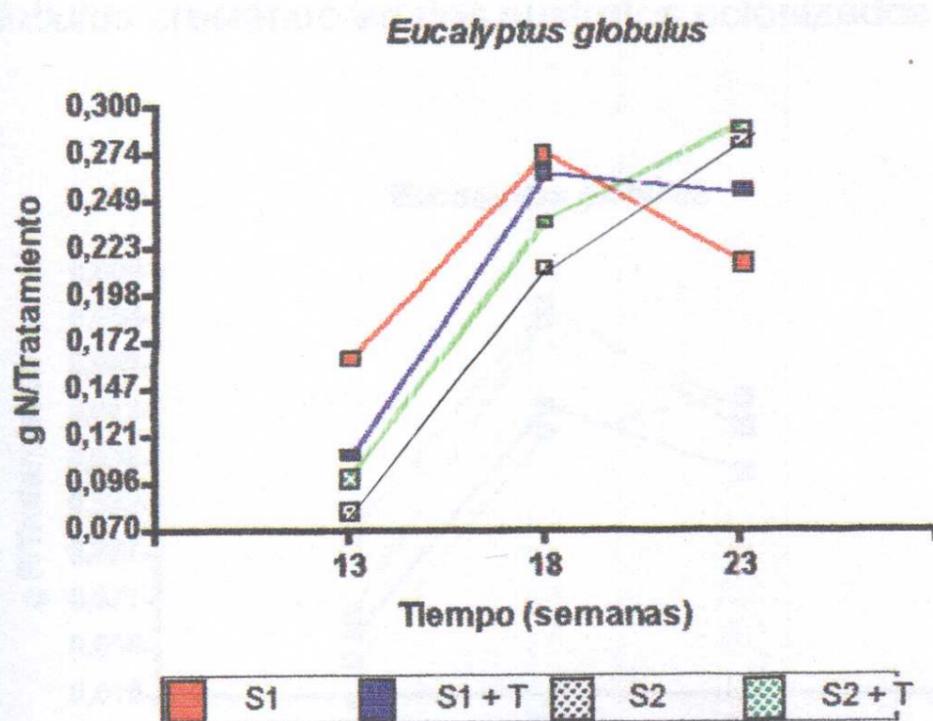
Cuadro N° 21: Concentraciones foliares de macronutrientes en *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.

Tratamiento	N (g/Tratamiento)			P (g/Tratamiento)			K (g/Tratamiento)		
	Tiempo (semanas)								
	13	18	23	13	18	23	13	18	23
Sustrato 1 (S ₁)	0,163	0,274	0,216	0,029	0,056	0,041	0,114	0,186	0,145
S ₁ + T. harzianum	0,109	0,264	0,254	0,017	0,044	0,036	0,084	0,140	0,155
Sustrato 2 (S ₂)	0,081	0,212	0,283	0,014	0,041	0,045	0,072	0,119	0,169
S ₂ + T. harzianum	0,099	0,236	0,287	0,019	0,054	0,043	0,074	0,159	0,152

Estos valores refieren a las concentraciones foliares de 30 plantines.

* a las 16 semanas se comenzó con el plan de fertilización vía riego.

Gráfica N° 4: Concentraciones foliares de Nitrógeno en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.



En los plantines de *E. globulus* se observaron tendencias similares a las ocurridas en *P. taeda*, respecto al comportamiento de los nutrientes en los sustratos evaluados.

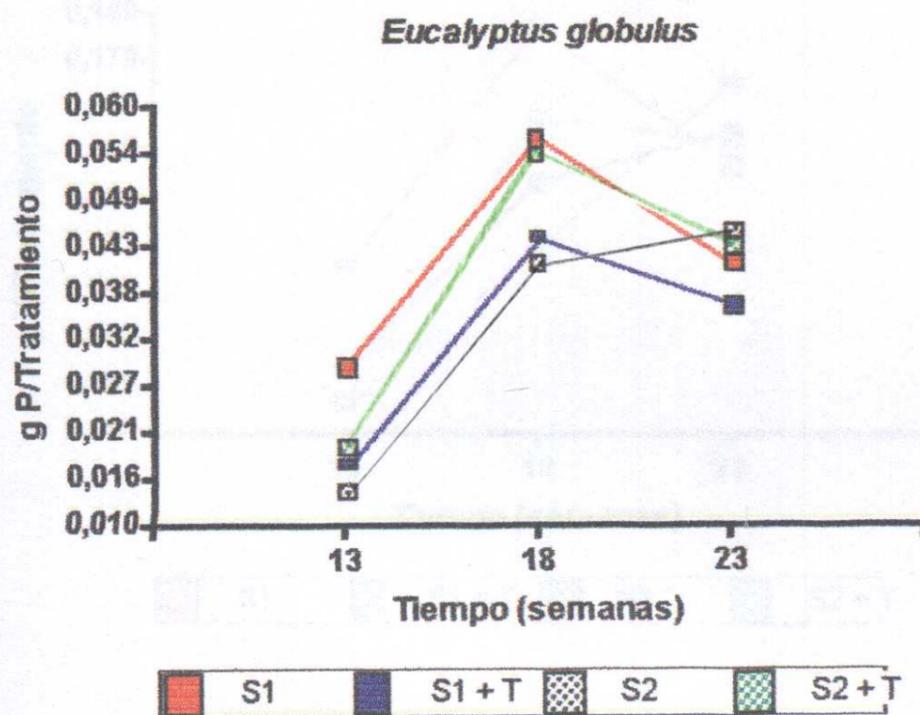
En la Gráfica N° 4, se observan a los plantines de *E. globulus* creciendo en S_1 a las 13 semanas, tuvieron 101% más de Nitrógeno que los correspondientes al S_2 . Pero en la siguiente medición esta diferencia fue menor alcanzando a las 18 semanas el 29% y revirtiéndose a las 23 semanas, siendo el contenido de N de los plantines de S_1 24% menos al encontrado en los del S_2 .

Luego del comienzo de la fertilización a la semana 16, en el S_1 se produjo un incremento del N del 68% hasta la 18ª semana, pero éste registró una disminución del 21% en la 23ª semana; en el S_2 , en el primer lapso fue superior alcanzando el 162% pero al contrario que en S_1 , en el periodo de las 18 a 23 semanas el incremento fue de 33%.

El agregado de *Trichoderma* promovió una reducción del 33% del N en los plantines creciendo en S_1 en la primera medición (13 semanas), pero con la fertilización se revierte la situación no habiendo diferencias apreciables a las

18 semanas y registrándose a las 23 semanas un efecto promotor del *Trichoderma* del 18%, en la absorción de N. La incorporación de *Trichoderma* en S₂ fue positiva antes de la fertilización aumentando un 22% el contenido de N, pero a las 18 y 23 semanas no hubo variación apreciable.

Gráfica N° 5: Concentraciones foliares de Fósforo en plántines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.



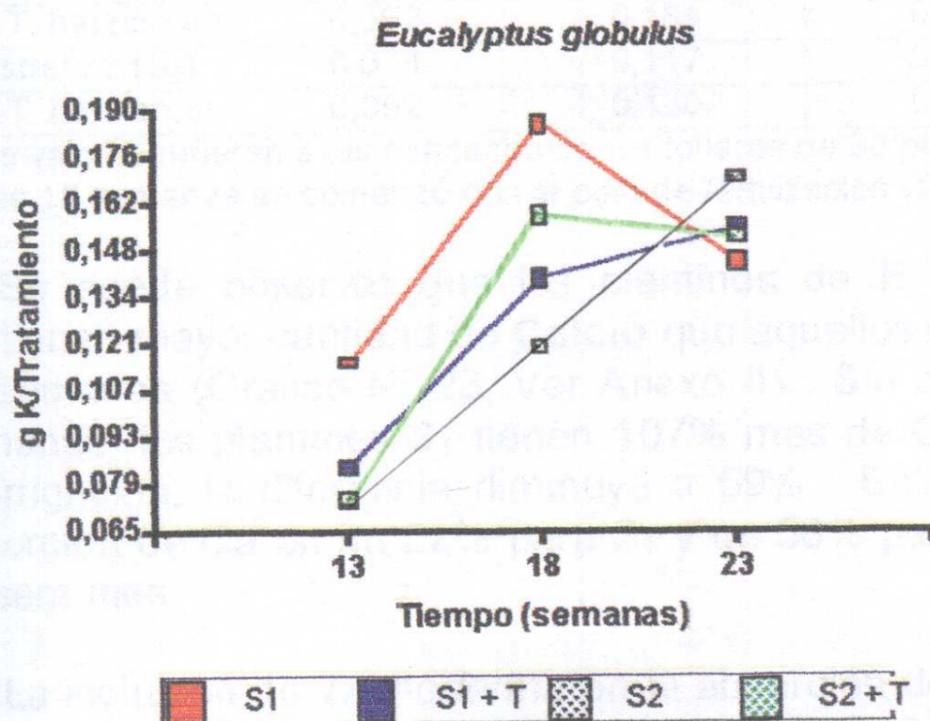
En el Fósforo (Gráfica N° 5) se observaron diferencias importantes a favor del S₁. Este sustrato fue 107% superior al S₂ antes de incorporar el fertilizante al sustrato. Luego de las 16 semanas, la ventaja de S₁ sobre S₂ fue solo del 37% a las 18 semanas y no hubo diferencias a las 23 semanas.

La respuesta a la fertilización fue muy significativa en el S₂, que incrementó el P en los plántines un 193% desde la 13^a a la 18^a semana y desde la 18^a a la 23^a semana no presentó variación, en tanto que para el caso del S₁, los correspondientes incrementos fueron de 93% y 27% en los períodos indicados.

Para el caso de *E. globulus*, la incorporación de *Trichoderma* dio respuestas diferentes en los dos sustratos. En S₁ + *Trichoderma*, el contenido de P de los plántines fue 41% menos que el encontrado en aquellos creciendo en S₁. Esta diferencia se mantuvo a la 18^a semana (32%), pero no tuvo incidencia en la última medición. En el S₂ se observó lo

contrario, el *Trichoderma* promovió un 26% y 25% la absorción de P a las 13 y 18 semanas respectivamente, desapareciendo el efecto a las 23 semanas.

Gráfica N° 6: Concentraciones foliares de Potasio en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.



Al igual que lo observado para el N y el P, los datos que se presentan a las 13 semanas, antes de la fertilización, demuestran que el S₁ aporta un 58% más de Potasio que el S₂ (Gráfica N° 6). Esta diferencia se mantiene (56%) a las 18 semanas y a las 23 semanas se revierte la situación, superando en apenas 14% el S₂ al S₁.

La fertilización de los sustratos, en el periodo de las 13 a las 18 semanas produjo un efecto similar en los dos sustratos respecto al aporte nutricional, Para el S₁, el incremento fue del 63% y para el S₂ del 65%. En el periodo de 18 a 23 semanas los plantines del S₁ registran una disminución en el contenido de K del 22% mientras que los del S₂ incrementan el mismo en 42%.

La inclusión de *Trichoderma* en el sistema sin fertilizar produjo una reducción del 26% en el sustrato S₁. Esta reducción fue del 25% en la segunda medición y desapareció en la tercera medición. Mientras que el *Trichoderma* en el S₂ no tuvo significancia en la medición de la 13^a y 23^a semana, pero a las 18 semanas fomento un aumento del 34% en la absorción del K.

Cuadro N° 22: Concentraciones foliares de macronutrientes en *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.

Tratamiento	Ca (g/Tratamiento)		Mg (g/Tratamiento)	
	Tiempo (semanas)			
	13	18	13	18
Sustrato 1 (S ₁)	0,153	0,186	0,045	0,049
S ₁ + T. harzianum	0,092	0,184	0,029	0,045
Sustrato 2 (S ₂)	0,074	0,117	0,026	0,037
S ₂ + T. harzianum	0,092	0,130	0,029	0,042

Estos valores refieren a las concentraciones foliares de 30 plantines.

* a las 16 semanas se comenzó con el plan de fertilización vía riego.

Se puede observar que los plantines de *E. globulus* creciendo en S₁ contienen mayor cantidad de **Calcio** que aquellos que crecen en S₂, hasta las 18 semanas (Gráfica N° 23, Ver Anexo II). Sin agregado de fertilizante (13 semanas) los plantines S₁ tienen 107% más de Ca que en S₂. Luego de la fertirrigación, la diferencia disminuye a 59%. Esta fertirrigación promovió la absorción de Ca en un 22% para S₁ y un 58% para S₂ en el periodo de 13 a 18 semanas.

La inclusión de *Trichoderma* en la absorción de Ca tuvo efecto negativo a las 13 semanas, para el S₁, siendo 40% menor el S₁ + *Trichoderma* pero este efecto desapareció a las 18 semanas. Para S₂, en la 13^a semana se observó un efecto promotor del *Trichoderma* del 24% en dicho contenido, desapareciendo en la 18^a semana.

Para el **Magnesio** (Gráfica N° 24, Ver Anexo II), S₁ fue 73% mayor a S₂. Esta diferencia disminuye a 32% en la 18^a semana.

La fertilización promovió un incremento de las 13 a las 18 semanas del orden del 42% para S₂, pero no se registró diferencia en el contenido de Mg de los plantines creciendo en S₁ en el mismo periodo.

La incorporación de *Trichoderma* redujo el contenido de Mg en un 36% a las 13 semanas, desapareciendo esta diferencia a las 18 semanas para el caso del S₁. Contrariamente, para el S₂ ni a las 13, ni a las 18 semanas hubo respuesta al agregado de *Trichoderma*.

Cuadro N° 23: Concentraciones foliares de micronutrientes en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.

Tratamiento	Fe (g/Tratamiento)		Mn (g/Tratamiento)		Cu (g/Tratamiento)		Zn (g/Tratamiento)		B (g/Tratamiento)	
	Tiempo (semanas)									
	13	18	13	18	13	18	13	18	13	18
Sustrato 1 (S ₁)	18,88	8,294	137,6	159,9	1,148	1,144	3,190	3,289	6,507	8,008
S ₁ + T. harzianum	14,09	7,935	92,54	141,4	0,839	0,992	2,014	2,692	4,279	7,652
Sustrato 2 (S ₂)	5,558	7,997	9,283	23,74	0,630	0,750	2,006	3,332	2,235	3,998
S ₂ + T. harzianum	9,160	9,800	12,98	25,4	0,659	0,900	2,768	4,100	2,702	4,700

Estos valores refieren a las concentraciones foliares de 30 plantines.

* 1×10^{-3}

* a las 16 semanas se comenzó con el plan de fertilización vía riego.

La Gráfica N° 25 (Ver Anexo II) muestra el contenido de **Hierro** de los plantines de *E. globulus*, el cual presenta un comportamiento bastante diferente al observado en *P. taeda*. En el S₁ en ausencia de fertirrigación el contenido del nutriente en los plantines fue casi 4 veces superior al que presentaron los del S₂. Luego de la fertirrigación, a las 18 semanas, esta diferencia desaparece.

La fertirrigación disminuyó el contenido de Fe de los plantines creciendo en S₁ en un 128%, en el periodo comprendido entre la semana 13 y 18. Mientras que en el S₂ se dio lo contrario, aumentando dicho contenido un 44% en el mismo periodo.

La inclusión de *Trichoderma* produjo una disminución del 25% en el Fe de los plantines de *E. globulus* del S₁ en la 13^a semana, pero esta diferencia desapareció a la semana 18. Para el caso de S₂ hubo un efecto promotor del *Trichoderma* del 65 y 23% en la absorción del Fe a las 13 y 18 semanas respectivamente.

El **Manganeso** en las Gráficas N° 26 y 27 (Ver Anexo II), al igual que para *P. taeda*, pero en menor proporción fue el micronutriente que sufrió mayor variación entre sustratos. Antes de la fertilización, y en las mediciones de las 13 semanas, S₁ fue casi 15 veces superior a S₂, pero en la medición sucesiva

(18 semanas) la concentración en los plantines del S₁ respecto al S₂ disminuyó a la mitad.

Entre 13 y 18 semanas, los plantines creciendo en S₁ aumentaban solo 16% el contenido de Mn, mientras que los del S₂, lo hicieron en 156%.

La inclusión de *Trichoderma* en el sustrato S₁ redujo el Mn de los plantines en un 33%, a las 13 semanas y desapareció la diferencia a las 18 semanas. En tanto que para el sustrato S₂ al igual que lo observado para otros nutrientes a las 13 semanas hubo respuesta del *Trichoderma* del orden del 40% en la absorción del nutriente pero desapareció a las 18 semanas.

Respecto al **Cobre** (Gráfica N° 28, Ver Anexo II), a las 13 semanas, los plantines de *E. globulus* creciendo en S₁ tenían 82% más Cu que los que crecían en S₂. A las 18 semanas disminuyó a 53% la superioridad de S₁.

La fertilización a la 16^a semana produjo un aumento del Cu del 19% en los plantines de S₂ y en el S₁ no se registro una variación apreciable.

El agregado de *Trichoderma* tuvo respuestas bastante similares en los sustratos. En S₁ a las 13 semanas, los plantines de *P. taeda* creciendo con *Trichoderma* presentaron una disminución del 27% del contenido del micronutriente respecto a S₁ sin *Trichoderma* y a las 18 semanas el efecto desaparece. En tanto que con S₂, en la primera medición el *Trichoderma* no causó ningún tipo de efecto pero en la segunda medición favoreció un 20% la absorción de Cu.

En la Gráfica N° 29 (Ver Anexo II) se observa que los plantines de *E. globulus* creciendo en el S₁, a las 13 semanas presentaron un 59% más de **Zinc** que los del S₂ pero a las 18 no hubo diferencia. El incremento respecto a la fertilización, del contenido de Zn en los plantines, fue de 66% para S₂, no registrando ninguna variación aquellos del S₁ en el periodo de las 13 a las 18 semanas.

La inclusión de *Trichoderma* no fue positiva en el S₁ presentando diferencias a las 13 y 18 semanas disminuyendo 37% y 18% respectivamente el contenido de Zn de los plantines creciendo con *Trichoderma*. En cambio para el caso del S₂, tuvo efecto promotor en las dos mediciones siendo de 38% y 23% en la 13^a y 18^a semana respectivamente.

El **Boro** presentó una tendencia similar a los demás nutrientes (Gráfica N° 30, Ver Anexo II). Los plantines de S₁ tuvieron 191% y 100% más del mismo que los del S₂ en la semana 13 y 18 respectivamente.

No hubo respuesta importante a la fertilización en el S₁, siendo el incremento del 23%, pero en el S₂ éste incremento fue mayor alcanzando el 79%.

La presencia de *Trichoderma* no fue positiva en S₁ pues se redujeron los valores del B en 34% a las 13 semanas, pero éste efecto desapareció en la siguiente medición. En S₂, al igual que con otros nutrientes promovió un incremento del 21% a las 13 semanas y del 18% a la 18^a semana.

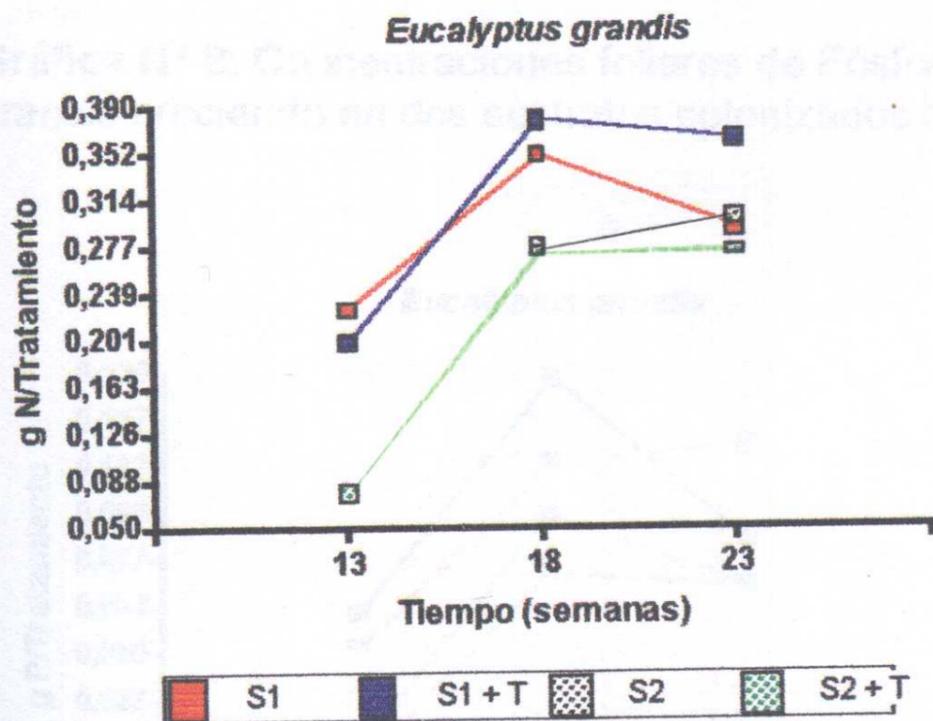
Cuadro N° 24: Concentraciones foliares de macronutrientes en *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.

Tratamiento	N (g/Tratamiento)			P (g/Tratamiento)			K (g/Tratamiento)		
	Tiempo (semanas)								
	13	18	23	13	18	23	13	18	23
Sustrato 1 (S ₁)	0,225	0,350	0,292	0,052	0,106	0,112	0,111	0,161	0,200
S ₁ + T. harzianum	0,199	0,379	0,363	0,062	0,130	0,085	0,142	0,186	0,153
Sustrato 2 (S ₂)	0,080	0,277	0,299	0,021	0,077	0,071	0,058	0,130	0,153
S ₂ + T. harzianum	0,079	0,270	0,270	0,025	0,091	0,071	0,057	0,156	0,151

Estos valores refieren a las concentraciones foliares de 30 plantines.

* a las 16 semanas se comenzó con el plan de fertilización vía riego.

Gráfica N° 7: Concentraciones foliares de Nitrógeno en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.



Respecto al comportamiento de los nutrientes en los sustratos evaluados, se podría decir que en los plantines de *E. grandis* se observaron tendencias similares a las ocurridas en las dos especies vistas anteriormente.

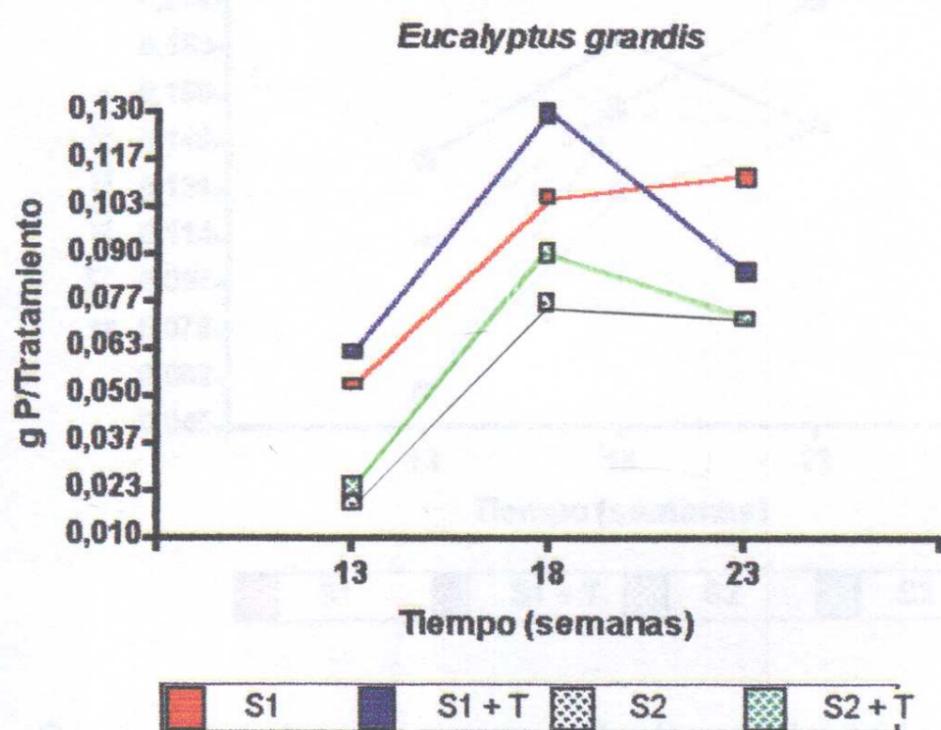
Se puede observar que para el caso de S1 a las 13 semanas los plantines tuvieron 181% más de Nitrógeno que los correspondientes al S2; pero en la siguiente medición, a las 18 semanas, esta diferencia fue menor alcanzando el 26% y a las 23 semanas no hay diferencias entre sustratos.

En la Gráfica N° 7 se muestran los plantines de *E. grandis*, en este caso, creciendo en S1 a las 13 semanas tuvieron 181% más de N que los correspondientes al S2. Pero en la siguiente medición esta diferencia fue menor alcanzando a las 18 semanas el 26% y desapareciendo a las 23 semanas.

Luego del comienzo de la fertilización a la semana 16, en S1 se produjo un incremento del N del 56% hasta la 18ª semana, pero en la 23ª semana los plantines sufrieron una disminución en el contenido del mismo del 17%; en el S2, en el primer lapso fue superior alcanzando el 246% no observándose aumento en el nivel de N en el periodo de las 18 a 23 semanas.

El agregado de *Trichoderma* en el S₁ no tuvo efecto en el contenido del N de los plantines en la primera y segunda medición (13 y 18 semanas), pero registrándose a las 23 semanas un efecto promotor del *Trichoderma* del 24%, en la absorción de N. La inclusión de *Trichoderma* en S₂ no tuvo variación apreciable en la dinámica del N.

Gráfica N° 8: Concentraciones foliares de Fósforo en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.



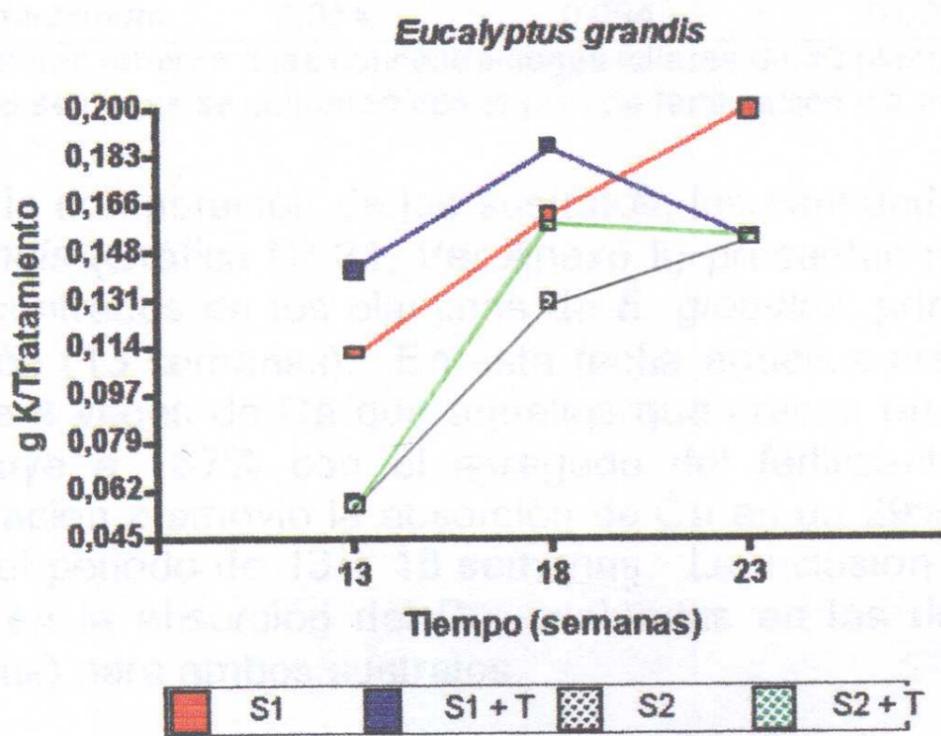
El Fósforo como se puede observar en la Gráfica N° 8 también presentó diferencias en los suministros por parte de los sustratos. Se observaron diferencias importantes a favor del S₁ en el contenido del mismo en plantines de *E. grandis*. Este sustrato fue 148% superior al S₂ antes de incorporar el fertilizante. Luego de las 16 semanas, la ventaja de S₁ sobre S₂ fue del 38% a las 18 semanas, aumentando a 58% a las 23 semanas.

La respuesta a la fertilización al igual que en *E. globulus* fue muy significativa en el S₂, que incrementó el P en los plantines un 267% y 104% para el caso del S₁ desde la 13^a a la 18^a semana y desde la 18^a a la 23^a semana no hubo variación en ninguno de los dos sustratos.

En *E. grandis*, la incorporación de *Trichoderma* dio respuestas similares en los dos sustratos. Los plantines creciendo en S₁ + *Trichoderma*, tuvieron 19% más de P que aquellos del S₁. Esta diferencia se mantuvo a la 18^a semana (23%), pero se revirtió el efecto promotor en la última medición,

disminuyendo 24%. En el S₂ se observó que el *Trichoderma* promovía un 19% y un 18% la absorción de P a las 13 y 18 semanas respectivamente, desapareciendo el efecto a las 23 semanas.

Gráfica N° 9: Concentraciones foliares de Potasio en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.



Se puede observar que a lo largo de todo el ciclo el S₁ aportó mayor cantidad de Potasio que el S₂. A las 13 semanas el S₁ aportó 91% más a los plantines que S₂. Esta diferencia disminuye a 24% a las 18 semanas y a las 23 semanas fue de 31%.

La fertilización de los sustratos en el periodo de las 13 a las 18 semanas produjo una mayor variación en S₂. Para el S₁, el incremento fue del 45% y para el S₂ del 124%. En el periodo de 18 a 23 semanas los valores fueron de 24% y 18% respectivamente.

La inclusión de *Trichoderma* respecto a la absorción de K produjo un aumento del 28% y del 16% en el sustrato S₁, a la 13^a y 18^a semana respectivamente. Esta promoción se revirtió a la semana 23 y el *Trichoderma* pasó a disminuir el contenido del nutriente en un 24%. El *Trichoderma* en el S₂ no infirió diferencia a las 13 y 23 semanas, pero en la segunda medición (18 semanas) se evidenció una promoción del 20% por parte del mismo.

Cuadro N° 25: Concentraciones foliares de macronutrientes en *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.

Tratamiento	Ca (g/Tratamiento)		Mg (g/Tratamiento)	
	Tiempo (semanas)			
	13	18	13	18
Sustrato 1 (S ₁)	0,198	0,255	0,056	0,057
S ₁ + T. harzianum	0,213	0,263	0,055	0,045
Sustrato 2 (S ₂)	0,048	0,089	0,020	0,035
S ₂ + T. harzianum	0,054	0,094	0,020	0,037

Estos valores refieren a las concentraciones foliares de 30 plantines.

* a las 16 semanas se comenzó con el plan de fertilización vía riego.

En la comparación de los sustratos, las cantidades foliares de **Calcio** en *E. grandis* (Gráfica N° 31, Ver Anexo II) presentan mayores variaciones que las encontrados en los plantines de *E. globulus*, principalmente en la primer medición (13 semanas). En esta fecha aquellos creciendo en S₁ contienen más de 4 veces de Ca que aquellos que crecen en S₂, pero esta diferencia disminuye a 187% con el agregado del fertilizante (18 semanas). Esta fertirrigación promovió la absorción de Ca en un 29% para S₁ y un 85% para S₂ en el periodo de 13 a 18 semanas. La inclusión de *Trichoderma* no tuvo efecto en la absorción del Ca, evaluadas en las dos mediciones (13 y 18 semanas) para ambos sustratos.

A las 13 semanas se observan las diferencias entre sustratos en ausencia de fertilización, medidas a través de los gramos del nutriente. El contenido de **Magnesio** en S₁ fue 180% mayor que en S₂. Esta diferencia disminuye a 63% en la 18ª semana (Gráfica N° 32, Ver Anexo II).

La fertilización promovió un incremento de las 13 a las 18 semanas del orden del 75% para S₂, pero al igual que para *E. globulus* no se registró diferencia en el contenido de Mg de los plantines creciendo en S₁ en el mismo periodo.

La incorporación de *Trichoderma* no presentó variación en el contenido de Mg a las 13 semanas, pero a las 18 semanas se observó menos (21%) Mg en el S₁ + *Trichoderma*. Contrariamente, para el S₂ ni a las 13, ni a las 18 semanas hubo respuesta al agregado de *Trichoderma* para este nutriente.

Cuadro N° 26: Concentraciones foliares de micronutrientes en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.

Tratamiento	Fe (g/Tratamiento)		Mn (g/Tratamiento)		Cu (g/Tratamiento)		Zn (g/Tratamiento)		B (g/Tratamiento)	
	Tiempo (semanas)									
	13	18	13	18	13	18	13	18	13	18
Sustrato 1 (S ₁)	13,12	9,427	233,6	198,6	1,258	0,589	6,109	5,696	8,805	11,59
S ₁ + T. harzianum	13,34	11,75	225,6	215,2	1,067	0,810	5,867	5,875	8,534	11,75
Sustrato 2 (S ₂)	3,959	8,293	8,586	17,64	0,572	0,813	2,957	5,285	2,003	6,098
S ₂ + T. harzianum	4,174	9,202	8,642	20,96	0,491	0,852	2,946	6,475	2,013	4,090

Estos valores refieren a las concentraciones foliares de 30 plantines

* 1×10^{-2}

* a las 16 semanas se comenzó con el plan de fertilización vía riego.

El contenido de Hierro muestra un comportamiento bastante similar al observado en *E. globulus* (Gráfica N° 33, Ver Anexo II). En el S₁ en ausencia de fertirrigación, el contenido del nutriente en los plantines fue 231% superior al que presentaron los del S₂, y luego de la fertirrigación, a las 18 semanas, esta diferencia desaparece.

La fertirrigación, al igual que para *E. globulus* (pero en menor %) disminuyó el contenido de Fe de los plantines creciendo en S₁ en un 28%, en el periodo comprendido entre la semana 13 y 18. Mientras que en el S₂ se dio lo contrario, aumentando dicho contenido un 109%.

La inclusión de *Trichoderma* produjo un incremento del 25% en el Fe de los plantines del S₁ en la 18ª semana, pero no existió diferencia en la semana 13. Para el caso de S₂ no hubo diferencias en las dos fechas, 13 y 18 semanas.

El Manganeseo al igual que para las otras dos especies fue el micronutriente que sufrió mayor variación entre sustratos (Gráficas N° 34 y 35, Ver Anexo II). Antes de la fertilización (13 semanas), en S₁, la cantidad de Mn de los plantines fue 27 veces mayor que la encontrada en los de S₂, pero en la medición sucesiva (18 semanas) la concentración en los plantines disminuyó a 11 veces

Entre 13 y 18 semanas, los plantines creciendo en S₁ disminuyeron 15% el contenido de Mn, mientras que los del S₂, lo aumentaron un 105%.

La inclusión de *Trichoderma* en el sustrato S₁ no tuvo incidencia en el Mn de los plantines en las dos fechas. Para el sustrato S₂ a las 13 semanas no hubo respuesta ante el agregado de *Trichoderma*, en la absorción del nutriente pero a las 18 semanas se registró un efecto promotor (del 19%).

Respecto al **Cobre**, a las 13 semanas, los plantines de *E. grandis* creciendo en S₁ tenían 120% más Cu que los que crecían en S₂. Pero a las 18 semanas los plantines del S₁ tuvieron 28 % menos que los del S₂ (Gráfica N° 36, Ver Anexo II).

La fertilización a la 16^a semana produjo una disminución del Cu del 53% en los plantines de S₁ y en el S₂ se dio un aumento del 42%.

La inclusión de *Trichoderma* en S₁, a nivel de tendencia, produjo una disminución del 15% en el nivel de Cu a las 13 semanas, pero a las 18 semanas tiene un efecto positivo siendo 38% mayor el contenido de los plantines creciendo en S₁. En S₂, la inclusión de *Trichoderma* no causó ningún tipo de efecto en las dos mediciones.

En caso del **Zinc** los plantines de *E. grandis* del S₁ presentaron 107% más que aquellos del S₂ a la 13^a semana, pero a la 18^a semana no hubo diferencia (Gráfica N° 37, Ver Anexo II). El incremento en el contenido de Zn respecto a la fertilización fue de 79% para S₂, no registrando ninguna variación en aquellos del S₁ en el mismo periodo.

La inclusión de *Trichoderma* no presentó variación en las concentraciones de los plantines del S₁ a las 13 y 18 semanas. Para el S₂ no hubo efecto de ningún tipo a las 13 semanas pero en la siguiente medición se evidenció un efecto positivo del 23% por parte del *Trichoderma*.

Los plantines de *E. grandis* de S₁ tuvieron casi 3,5 veces y 90% más de Boro que los del S₂ en la semana 13 y 18 respectivamente (Gráfica N° 38, Ver Anexo II). Ante el agregado de la fertilización, el S₁ incrementó 32% el contenido de B de los plantines, pero en el S₂ éste incremento fue mayor alcanzando el 204%.

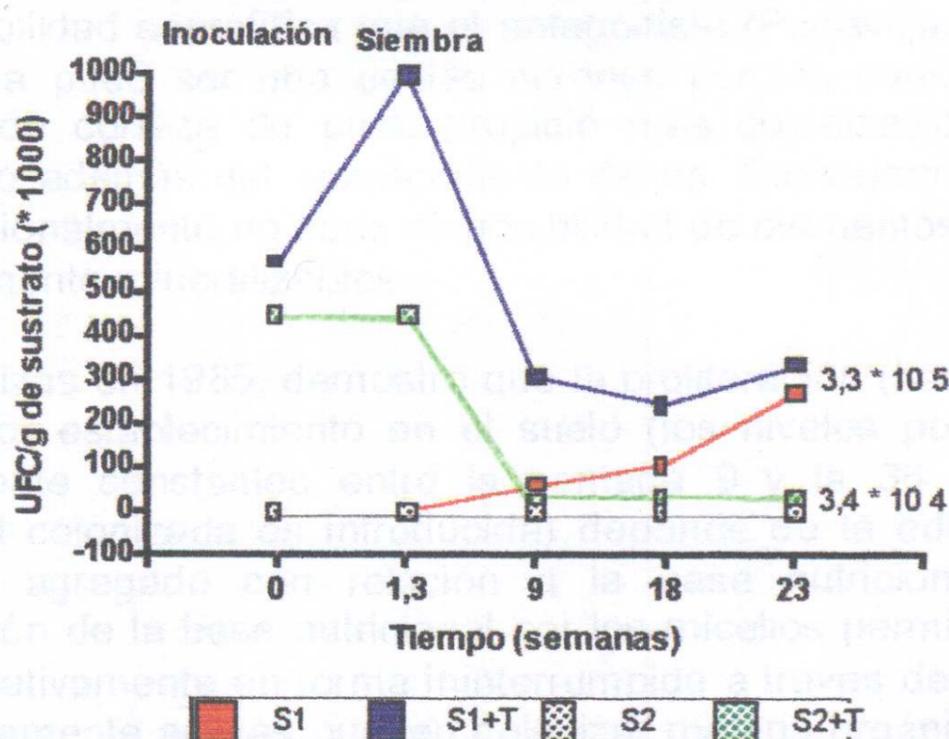
La presencia de *Trichoderma* no tuvo incidencia en el B encontrado en los plantines del S₁. En S₂ no hubo diferencia en la primera medición, pero en la segunda medición fue el único nutriente que *Trichoderma* disminuyó la absorción.

6 DISCUSION

6.1 Colonización y sobrevivencia de *Trichoderma* en los dos sustratos

A partir de los resultados se pudo constatar que las diferencias provenientes tanto de la formulación y composición de un sustrato como de la previa esterilización o no del mismo por el método que se establezca, son responsables en la definición de la capacidad de colonización y sobrevivencia de *Trichoderma* o cualquier otro antagonista en dicho sustrato. Los análisis físico-químicos establecieron diferencias notorias entre S₁ y S₂ tanto en la relación C/N, como en la composición de los componentes de la fracción orgánica potencialmente mineralizable que determinan la disponibilidad de nutrientes (Ver Materiales y Métodos). Como se aprecia en la Gráfica N° 10 los niveles calculados a partir de la dosis de inoculación y los obtenidos por recuento a los 10 días se duplicaron en el caso de S₁, mientras que en S₂ se mantuvieron. A partir de esta fecha, los valores tuvieron un leve descenso hasta estabilizarse, pero no se podría considerar que haya habido colonización del sustrato.

Gráfica N° 10: Colonización y sobrevivencia de *Trichoderma harzianum* en dos sustratos comerciales para cultivo de especies forestales en vivero.



Los conidios de *Trichoderma* germinan con facilidad sobre muchos sustratos (42), pero los niveles disponibles de nutrientes endógenos y exógenos es un requerimiento crítico para la germinación de los mismos (Steiner y Lockwood, 1969) (28) y más adelante Brodie y Blakeman, (1976) y Blakeman, (1978) (28) confirman lo mismo. Ensayos *in vitro* realizados por Steiner y Lockwood, (1969) (20) confirman que la falta de nutrientes en el sustrato como es el caso de S₂ reduce la tasa y el porcentaje de germinación de los conidios en las formulaciones comerciales y aún de conidios frescos de *T. harzianum*. Por lo contrario, las grandes esporas de *Botrytis sp.* tienen reservas endógenas que le permiten germinar en superficies pobres en nutrientes.

Los conidios de Trichosoil®, por las condiciones de formulación, se encuentran viables pero en latencia. La disponibilidad de nutrientes hasta las 16 semanas fue muy baja para el S₂ y superior para el S₁. Como no estuvo presente la planta, todos los nutrientes disponibles fueron absorbidos por *Trichoderma*. G. C. Papavizas (datos no publicados) ha demostrado que las enmiendas orgánicas agregadas al suelo conjuntamente con los conidios de *T. hamatum*, *T. harzianum*, y *T. viride* no permiten la proliferación del mismo. Una posible explicación para esto es sugerida por Nelson, Kuter y Hoitink, (1983) quienes encontraron que la proliferación de *Trichoderma* en el suelo es influenciada por el grado de descomposición del compost de corteza de latifoliadas (42). Además, los sustratos orgánicos pueden ser colonizados y explotados más rápidamente por hongos patógenos o saprófitos que tengan mayor habilidad saprofítica que el antagonista (Papavizas y Lumsden, 1980) (42). Esta pudo ser una de las razones por las cuales el S₁, que tiene compost de corteza de pino, propició más colonización del *Trichoderma* introducido además del apareamiento de un *Trichoderma* nativo, que el S₂ que nutricionalmente no tiene disponibilidad de elementos de origen orgánico potencialmente mineralizables.

Papavizas en 1985, demostró que la proliferación (hasta que doble 10⁶) y el posterior establecimiento en el suelo (los niveles poblacionales quedan relativamente constantes entre la semana 9 y la 36 luego que la base nutricional colonizada es introducida) depende de la edad del inoculo y de cómo es agregado con relación a la base nutricional. La minuciosa colonización de la base nutricional por los micelios permite que *Trichoderma* crezca relativamente en forma ininterrumpida a través del suelo. Estas hifas metabólicamente activas pueden colonizar materia orgánica nueva y también atacar y destruir propagulos de patógenos (42).

Es crítica la forma en la que es agregado el inóculo y será necesario proveer algunos nutrientes para permitir germinar, crecer y esporular a los conidios de *Trichoderma*, para incrementar los niveles de inóculo efectivo (11).

Antes de las 18 semanas de realizada la siembra, había diferencias significativas en el número de UFC entre el S₁ y el S₁ + *Trichoderma*, mientras que en el S₂ en la misma fecha no se detectaron UFC y en el S₂ + *Trichoderma* hubo menos que en el otro sustrato. Una de las posibles causas de la desaparición de estas diferencias pudo haber sido la aplicación del fertilizante, la cual comenzó en la semana 16. Al haber una mayor disponibilidad de nutrientes en el sustrato, los propagulos que llegaban o ya estaban en los tratamientos sin inoculación artificial (testigos) tuvieron la oportunidad de desarrollarse y colonizar el mismo, igualando al tratamiento inoculado. Los valores se estabilizan en $3,3 \times 10^5$ para el S₁ y $3,4 \times 10^4$ para el S₂, siendo esta diferencia de una unidad logarítmica. Por otro lado Kubicek y Harman, 1998 (33) sugieren que la supervivencia de estos microorganismos, en parte está dada por su habilidad para producir un gran número de propagulos, por los cuales gasta la mayor parte de su vida como propagulos quiescentes y comienza el crecimiento con la adición de una fuente de energía adecuada.

En los testigos contaminados la colonización fue más alterada. En S₁, el *Trichoderma* nativo alcanzó niveles muy elevados demostrando su gran adaptación y capacidad de proliferar en los materiales derivados del compost de corteza de pino. Esta contaminación natural también fue reportada por Nemeč, et al. (1996) (41), quienes encontraron que en el testigo que no tenía *Trichoderma*, también había colonias, pero en menor porcentaje.

Una forma de promover mayor colonización o aumentar la velocidad de germinación de los conidios en S₂ podría ser la inclusión de una base nutricional para promover la producción de micelios y propágulos nuevos que son los responsables del antagonismo. La capacidad de colonización de un sustrato por parte de un antagonista como *Trichoderma* puede estar indicando de antemano las futuras interacciones en la planta. Si el antagonista no coloniza bien el sustrato, es poco probable que la planta se desarrolle bien a causa de la inmovilización de nutrientes disponibles principalmente el Nitrógeno. Esto desde el punto de vista estrictamente nutricional. La fertilización corrige las deficiencias permitiendo salir de posibles periodos de inmovilización que afectarían el desarrollo de los plantines en el vivero.

Con respecto a la sobrevivencia, ambos sustratos fueron capaces de sostener las poblaciones de *Trichoderma* sin que se observaran los efectos negativos de algún factor inherente a la naturaleza de los materiales que tuviera efecto fungistático o fungicida.

Otra gran diferenciación entre los sustratos S_1 y S_2 fue el tratamiento de esterilización aplicado a S_1 con Bromuro de metilo. Sin tomar en consideración los aspectos ecológicos y ambientales que establecen severas restricciones a esta práctica, lo cierto es que promueve lo que Katan denomina vacío biológico y que significa el incremento significativo en la disponibilidad de nichos que para el caso del presente trabajo, seguramente fueron ocupados por *Trichoderma*. Esto explicaría también las diferencias de conteos entre S_1 y S_2 que superan una unidad logarítmica. El S_2 dada la gran estabilidad de los materiales que lo componen (fibras, turbas) tiene baja actividad biológica de su microflora autóctona. Para *Trichoderma* (cepa L1) esto representa una dificultad para colonizar efectivamente. No se encontraron cepas autóctonas de *Trichoderma* en S_2 como ocurrió con S_1 . Las colonias de recuento que aparecen en el testigo sin *Trichoderma* son del tipo cultural de L1. En cambio, la presencia de un *Trichoderma* nativo sobreviviente del tratamiento de esterilización del S_1 , mostró características muy interesantes que justificaron su aislamiento: a) rápida colonización del sustrato, b) alta capacidad de multiplicación aún en competencia con L1 de la que se distingue a simple vista por los aspectos morfológicos y culturales, y c) capacidad de colonizar y sobrevivir en condiciones de baja disponibilidad de nutrientes y de carbono, lo que indicaría su adaptabilidad ecológica a estas condiciones de producción.

El hecho de que a las 9 semanas el S_2 sin inocular se presente limpio y sin contaminación, es indicador de la capacidad de Agroplus® como sustrato orgánico inerte. Agroplus® (com. pers. Ing. Agr. (MSc) Amalia Baraibar) fue desarrollado para plantines hortícolas en bandejas y requiere fertilización permanente (Ver Materiales y Métodos), no recibe ni demanda ningún tratamiento sanitario y el agregado de *Trichoderma* sería un aditivo muy interesante para distinguirlo como sustrato para producción orgánica.

Alternativas al Bromuro de metilo podrían ser la esterilización del sustrato con vapor, con agentes químicos o con fungicidas y en condiciones de cantero o suelo, son una herramienta muy interesante cuando se quiere introducir un antagonista para crearle los nichos necesarios.

Todo esto lleva a concluir que hay poca información respecto a los requerimientos de un microorganismo introducido en un sustrato, y de qué

manera el sustrato interactúa con dicho antagonista, favoreciendo o perjudicando su colonización y sobrevivencia. La inclusión de la planta complica más la situación y demanda afinar para cada situación planta x sustrato x microorganismo, la nutrición óptima.

6.2 Pinus taeda

Se cuantificaron las diferencias entre S_1 y S_2 para cada parámetro estudiado en cada muestreo y como evolucionaron dichas diferencias en función de la fertilización. La información está en el Cuadro N° 27.

Cuadro N° 27: Comparación de las respuestas de los sustratos evaluados para la producción de plantines de *P. taeda* en cada uno de los parámetros analizados.

Parámetro		Semanas		
		13	18	23
Altura	$S_1 > S_2$	13	19	23
Diámetro	$S_1 > S_2$	30	21	19
Peso fresco	$S_1 > S_2$	60	50	43
Peso seco	$S_1 > S_2$	100	100	100
N	$S_1 > S_2$	111	48	59
P	$S_1 > S_2$	50	79	79
K	$S_1 > S_2$	22	61	61
Ca	$S_1 > S_2$	71	56	
Mg	$S_1 > S_2$	38	68	
Fe	$S_1 > S_2$	176	279	
Mn	$S_1 > S_2$	18 veces +	33 veces +	
Cu	$S_1 > S_2$	83	153	
Zn	$S_1 > S_2$	=	=	
B	$S_1 > S_2$	137	130	

* diferencias en porcentaje (%) de S_1 con S_2 (=) similar

Para el caso de *P. taeda*, se observó que en todos los parámetros evaluados excepto la concentración foliar de Zn, los plantines creciendo en el S_1 tuvieron mejores respuestas que aquellos creciendo en el S_2 .

Los sustratos orgánicos difieren marcadamente entre sí en el contenido de nutrientes asimilables. En este caso, el S_1 es en su mayoría corteza de pino compostada, la cual presenta mayor disponibilidad de nutrientes fácilmente asimilables por los vegetales. La disponibilidad de compuestos biodegradables (carbohidratos, ácidos grasos y proteínas), determina la velocidad de descomposición. (Raviv et al., 1986) (26). En cualquiera de los

dos sustratos y para obtener un crecimiento óptimo de los plantines, debe añadirse nutrientes adicionales como fertilizantes de base y / o fertilizantes durante el ciclo del cultivo (Ansorena, 1994) (40).

A las 13 semanas, la superioridad de S_1 frente a S_2 en peso seco y N fue de 100% y 111% respectivamente, siendo expresión de la disponibilidad de este elemento proveniente del sustrato. Después que se fertilizó (muestreo de la semana 18), las diferencias en el N disminuyeron a la mitad, manteniéndose los niveles de superioridad en peso seco. Para el peso seco en pino, no hay compensación y S_1 siempre fue 100% superior que S_2 . En otros parámetros (diámetro y Ca), S_2 se recupera con la fertilización pero no alcanza a S_1 y en otros casos S_1 se aleja cada vez más de S_2 : P, K, Mg, Fe, Mn, entre otros.

La alta concentración de Mn en el S_1 puede deberse según Ansorena, 1994 (40) a un inadecuado proceso de compostaje de la corteza de pino.

A nivel general, se puede observar que si bien S_1 y S_2 responden a la fertilización, S_2 no se recupera del estrés inicial.

La relación C/N de los sustratos (Ver Materiales y Métodos) es mayor a la óptima, según Silva (1991) (52). Para este autor es deseable una relación C/N menor a 20, por lo tanto en éste caso ocurrió inmovilización de N, principalmente en S_2 debido a que todos los tejidos de los microorganismos que se alimentan de la materia orgánica que descomponen, tienen una relación C/N del orden de 10 – 12. Por lo tanto, si descomponen y alimentan de materiales con una relación C/N superior, se necesitará para su crecimiento una parte extra de nitrógeno, que tomarán del nitrógeno soluble presente en el medio de cultivo, compitiendo con las plantas (Ansorena, 1994) (40).

En el Cuadro N° 28 se cuantificó las diferencias entre ambos sustratos en respuesta a la fertilización.

Cuadro N° 28: Evaluación del comportamiento de cada sustrato con la incorporación del fertilizante a las 16 semanas, a través de los parámetros analizados para la producción de plantines de *P. taeda*.

Parámetro		De 13 a 18 semanas	De 18 a 23 semanas
Altura	S ₁	26	11
	S ₂	20	8
Diámetro	S ₁	30	7
	S ₂	40	8
Peso fresco	S ₁	53	-6
	S ₂	23	7
Peso seco	S ₁	14	28
	S ₂	14	38
N	S ₁	33	38
	S ₂	90	29
P	S ₁	42	27
	S ₂	58	26
K	S ₁	48	=
	S ₂	=	=
Ca	S ₁	17	
	S ₂	29	
Mg	S ₁	40	
	S ₂	15	
Fe	S ₁	=	
	S ₂	-75	
Mn	S ₁	83	
	S ₂	=	
Cu	S ₁	45	
	S ₂	=	
Zn	S ₁	81	
	S ₂	52	
B	S ₁	22	
	S ₂	25	

* diferencias en porcentaje (%) de la respuesta de cada sustrato a la fertilización, (=) similar

En la comparación de la respuesta de los sustratos respecto al aporte del fertilizante se puede observar que hay diferencias en cuanto a las respuestas en los distintos periodos considerados (de 13 a 18 y de 18 a 23 semanas). Comparando los dos periodos se observó un mayor incremento en el primero (de 13 a 18 semanas), de todos los parámetros morfológicos evaluados excepto el peso seco que incrementó al doble. Respecto a los contenidos de P, y N principalmente, ocurrió algo similar.

A su vez el porcentaje de incremento para el N y el P fue mayor en el S₂. El S₂ aumentó el 90% de su contenido de N en respuesta a la fertilización y el P un 58%. En cambio las respuestas de S₁ no fueron tan significativas. Esta mayor respuesta frente al agregado del fertilizante a partir del 23/5, que si

bien fue igual para ambos, puede ser debida a lo que se denomina efecto compensatorio ya que S₂ mostró ser más deficiente en relación al aporte nutricional. Por otro lado, para otros nutrientes como ser el K, Mg, Mn, Cu y Zn el S₁ presentó mayor incremento en la absorción de los mismos.

Cuadro N° 29: Evaluación comparativa de la respuesta de cada sustrato a la inoculación con *Trichoderma*, a través de los parámetros analizados para la producción de plantines de *P. taeda*.

Parámetro		Semanas		
		13	18	23
Altura	S ₁ + T	-19	-20	-16
	S ₂ + T	≈	≈	≈
Diámetro	S ₁ + T	-19	-16	-16
	S ₂ + T	≈	≈	≈
Peso fresco	S ₁ + T	-35	-47	-35
	S ₂ + T	≈	21	14
Peso seco	S ₁ + T	-37	-44	-35
	S ₂ + T	≈	19	17
N	S ₁ + T	-43	-31	-25
	S ₂ + T	20	≈	≈
P	S ₁ + T	-29	-44	-35
	S ₂ + T	≈	21	≈
K	S ₁ + T	-18	-37	-36
	S ₂ + T	≈	≈	≈
Ca	S ₁ + T	-38	-46	
	S ₂ + T	≈	22	
Mg	S ₁ + T	-30	-50	
	S ₂ + T	≈	18	
Fe	S ₁ + T	-27	-250	
	S ₂ + T	-15	21	
Mn	S ₁ + T	-21	-42	
	S ₂ + T	≈	27	
Cu	S ₁ + T	-159	-180	
	S ₂ + T	≈	≈	
Zn	S ₁ + T	-24	-47	
	S ₂ + T	-15	≈	
B	S ₁ + T	-31	-39	
	S ₂ + T	≈	22	

* diferencias en porcentaje (%) respecto al tratamiento sin Trichosoil; (≈) similar

El efecto producido por el *Trichoderma* sobre los parámetros evaluados fue diferente en los dos sustratos. En el S₁ el comportamiento fue negativo, observándose menores valores en todos los parámetros morfológicos y fisiológicos, y también en la absorción de nutrientes.

En cambio en el S₂ los pesos, ya sea tanto fresco como seco se vieron favorecidos por la inclusión del microorganismo. A su vez, en la absorción de nutrientes hubo periodos en los cuales *Trichoderma* favoreció y en otros no presentó diferencias entre tratamientos (al nivel de tendencia), como lo fue para el K y el Cu que presentaron similar absorción en todas las evaluaciones. A las 13 semanas la absorción de N se vio favorecida por la inclusión de *Trichoderma*, a la 18 semanas esta mayor absorción se dio en el P, Ca, Mg, Fe, Mn y B. Estas diferencias en el comportamiento del *Trichoderma* en los diferentes sustratos pueden deberse a las características nutricionales de cada uno.

Lo observado en el S₁ respecto a la actividad de *Trichoderma* podría deberse al número similar de UFC encontradas en el inoculado artificialmente y el testigo, y a su vez L1 al estar seleccionada en medios ricos es más exigente en niveles nutricionales altos.

Por otra parte en el S₂ las menores disponibilidades nutricionales se reflejaron en un menor desarrollo de la cepa L1 que requiere más nutrientes. La falta de diferencia entre el testigo y el inoculado artificialmente pudo deberse a la inmovilización de nutrientes disponibles por parte de L1.

Los efectos positivos del *Trichoderma* sobre el crecimiento vegetal pueden ser explicados por varios posibles mecanismos: control de patógenos menores, producción de hormonas vegetales, producción de vitaminas, conversión de materiales no utilizables a formas utilizables por la planta, e incremento en la absorción y translocación de minerales (3); (Baker, 1989; Chang et al, 1986; Kleifeld y Chet, 1992; Paulitz, Windham y Baker, 1986) (29); (38); (54).

Para este caso en particular estos efectos se hicieron en parte evidentes luego del agregado del fertilizante, lo que podrían indicar que cuando este microorganismo tiene sus necesidades satisfechas puede expresar un efecto promotor.

En este caso no se puede comparar los crecimientos obtenidos en el ensayo con los aceptados por el vivero debido a la diferencia de tiempo transcurridos en ambos casos, sin embargo el tratamiento S1 es el que más se acercaría a los valores del vivero 5 semanas antes del trasplante.

En el caso de los pinos el % de emergencia se vio claramente favorecido por el agregado de *Trichoderma* principalmente en el S1, al igual que lo encontrado por varios autores (14); (Chang et al, 1986; Kleifeld y Chet, 1992; Paulitz, Windham y Baker, 1986) (29); (38). Pero no se observaron

diferencias entre sustratos. Podría deberse a sustancias del tipo hormonas de crecimiento vegetal que estimulan la germinación, excretadas por L1.

Si se comparan los contenidos foliares de los plantines de *P. taeda* obtenidos en cada uno de los sustratos con los distintos rangos estándares de requerimientos nutricionales, se puede observar, que los contenidos nutricionales de los plantines creciendo en ambos sustratos están por encima de los requeridos, particularmente en el P y el Mn. No se observaron diferencias importantes respecto a la inclusión de Trichoderma, pero si hubo más diferencias entre sustratos, principalmente en el Fe, Mn, Zn y B. No hay antecedentes bibliográficos publicados sobre estos temas por lo que se sugiere la continuación de estos estudios profundizando los mecanismos y la dinámica nutricional.

6.3 Eucalyptus globulus

Se cuantificaran diferencias entre sustratos en cada parámetro evaluado y en cada fecha de muestreo ante y depuse de la fertilización. La información e presenta en el Cuadro N° 30.

Cuadro N° 30: Comparación de las respuestas de los sustratos evaluados para la producción de plantines de *E. globulus* en cada uno de los parámetros analizados.

Parámetro		Semanas		
		13	18	23
Altura	S ₁ > S ₂	25	=	-18
Diámetro	S ₁ > S ₂	16	16	=
Peso fresco	S ₁ > S ₂	44	31	-13
Peso seco	S ₁ > S ₂	123	42	=
N	S ₁ > S ₂	101	29	-24
P	S ₁ > S ₂	107	37	=
K	S ₁ > S ₂	58	56	=
Ca	S ₁ > S ₂	107	59	
Mg	S ₁ > S ₂	73	32	
Fe	S ₁ > S ₂	4 veces +	=	
Mn	S ₁ > S ₂	14 veces +	6 veces +	
Cu	S ₁ > S ₂	82	53	
Zn	S ₁ > S ₂	59	=	
B	S ₁ > S ₂	191	100	

* diferencias en porcentaje (%) de S₁ con S₂; (=) similar

Los plantines de *E. globulus* presentaron diferencias debidas al sustrato en el que se desarrollaban. La superioridad de S₁ en nutrientes disponibles se hace evidente también para *E. globulus*. Se puede decir que en la primera fecha de evaluación, es decir antes de la fertilización, los parámetros morfológicos y fisiológicos medidos presentaron siempre un mejor comportamiento en el S₁. En el peso seco y los contenidos de N, P, Ca y B las diferencias son de más del 100% y para el Fe y el Mn supera el 400%.

Luego de la fertilización, en la segunda fecha se repite pero con menores diferencias entre sustratos, estas diferencias caen a la 3^a parte aproximadamente. Excepto para la altura y los contenidos de Fe y Zn en los cuales desaparecen.

En cambio en la tercera fecha hubo parámetros que no presentaron diferencias según el sustrato donde fueron evaluados como ser el diámetro, el peso seco y los contenidos de P y K. Pero en la altura, el peso fresco y la concentración de N se revirtió la situación obteniéndose mejores resultados en el S₂. Esto fue debido a la fertilización que corrigió las deficiencias del S₂ que como fue dicho, es un sustrato que requiere fertirrigación permanente.

Al igual que para *P. taeda* este comportamiento puede estar dado por las diferencias nutricionales de cada sustrato, marcando el comportamiento diferencial de un sustrato según la especie a cultivar. Sin embargo para esta especie se evidencia una mayor respuesta a la fertilización y define el momento de mayores demandas nutricionales.

En el Cuadro N° 31 se cuantifican las diferencias entre sustratos en respuesta a la fertilización.

Cuadro N° 31: Evaluación del comportamiento de cada sustrato con la incorporación del fertilizante a las 16 semanas, a través de los parámetros analizados para la producción de plantines de *E. globulus*.

Parámetro		De 13 a 18 semanas	De 18 a 23 semanas
Altura	S ₁	22	12
	S ₂	56	28
Diámetro	S ₁	46	3
	S ₂	49	19
Peso fresco	S ₁	35	=
	S ₂	66	59
Peso seco	S ₁	12	32
	S ₂	45	118
N	S ₁	68	-21
	S ₂	162	33
P	S ₁	93	27
	S ₂	193	=
K	S ₁	63	-22
	S ₂	65	42
Ca	S ₁	22	
	S ₂	58	
Mg	S ₁	=	
	S ₂	42	
Fe	S ₁	-128	
	S ₂	44	
Mn	S ₁	16	
	S ₂	156	
Cu	S ₁	=	
	S ₂	19	
Zn	S ₁	=	
	S ₂	66	
B	S ₁	23	
	S ₂	79	

* diferencias en porcentaje (%) de la respuesta de cada sustrato a la fertilización: (=) similar

La fertilización se comportó de forma diferente de acuerdo al sustrato. Los incrementos registrados en todos los parámetros evaluados fueron mayores en S₂, lo cual puede ser atribuido a la misma causa que en los pinos o sea a la menor disponibilidad de nutrientes de S₂ y las mayores demandas de la planta. Se destacó el incremento significativo en altura, peso fresco, peso seco y los contenidos de N y P siendo estos últimos más que importantes (162% y 193% respectivamente).

En esta comparación de sustratos, la fertilización produjo diferentes respuestas en los distintos periodos considerados. Comparando los mismos se evidenció un comportamiento similar al observado en *P. taeda*,

presentando en el primer periodo (de 13 a 18 semanas), un mayor incremento de todos los parámetros morfológicos evaluados excepto el peso seco. Este último, en el 2º periodo fue muy significativo en el S₂, presentó 118% de incremento, lo que indica una vez más el atraso producido en el desarrollo de plantines con S₂ sin fertilizar.

En el segundo periodo los plantines del S₁ disminuyeron en un 20% aproximadamente los contenidos de N y K.

Para *E. globulus* en el S₂ se observa una mayor respuesta a la fertilización, pero a diferencia de lo observado en pinos en este caso la planta se recupera del estrés inicial y al final ésta mayor respuesta al agregado de fertilizante hace que S₂ supere S₁.

En el Cuadro N° 32 se cuantificó la respuesta al agregado de *Trichoderma* en cada sustrato antes y después de la fertilización.

Cuadro N° 32: Evaluación comparativa de la respuesta de cada sustrato a la inoculación con *Trichoderma*, a través de los parámetros analizados para la producción de plantines de *E. globulus*.

Parámetro		Semanas		
		13	18	23
Altura	S ₁ + T	-15	-6	=
	S ₂ + T	8	8	=
Diámetro	S ₁ + T	-25	-16	=
	S ₂ + T	=	=	=
Peso fresco	S ₁ + T	-31	-38	=
	S ₂ + T	15	31	-8
Peso seco	S ₁ + T	-34	=	-34
	S ₂ + T	15	20	=
N	S ₁ + T	-33	=	18
	S ₂ + T	22	=	=
P	S ₁ + T	-41	-21	=
	S ₂ + T	36	32	=
K	S ₁ + T	-26	-25	=
	S ₂ + T	=	34	=
Ca	S ₁ + T	-40	=	
	S ₂ + T	24	=	
Mg	S ₁ + T	-36	=	
	S ₂ + T	=	=	
Fe	S ₁ + T	-25	=	
	S ₂ + T	65	23	
Mn	S ₁ + T	-33	=	
	S ₂ + T	40	=	
Cu	S ₁ + T	-27	=	
	S ₂ + T	=	20	
Zn	S ₁ + T	-37	-18	
	S ₂ + T	38	23	
B	S ₁ + T	-34	=	
	S ₂ + T	21	18	

* diferencias en porcentaje (%) respecto al tratamiento sin Trichosoil (=) similar

El efecto producido por el *Trichoderma* en los plantines de *E. globulus* sobre los parámetros evaluados fue diferente en los dos sustratos y también hubo diferencias dentro de cada uno.

En todos los parámetros morfológicos y en el contenido de P y K de los plantines creciendo en S₁ el comportamiento del *Trichoderma* fue negativo en la 13^a y 18^a semana desapareciendo este efecto en la 23^a semana. Con esta misma tendencia pero siendo el efecto negativo solamente a la semana 13 para desaparecer en la semana 18 están las concentraciones foliares de Ca, Mg, Fe, Mn, Cu y B. Por último en el N y el Zn se observó un comportamiento

distinto al anterior, siendo las dos primeras mediciones similares en cuanto al efecto del *Trichoderma* pero en la última hubo un efecto positivo del mismo.

En el S₁ la mayor disponibilidad de elementos nutricionales principalmente a partir del compost determinó inmovilización temporaria por parte del *Trichoderma* inoculado, o sea L1, una cepa seleccionada que es obtenida en condiciones de amplia disponibilidad de nutrientes. La cepa L1 compete con los plantines por los nutrientes disponibles por eso su efecto fue negativo. La fertilización posterior compensa la falta de nutrientes y *Trichoderma* libera los elementos inmovilizados más adelante en el ciclo. Por otra parte el sustrato se coloniza con una cepa nativa que va incrementando sus poblaciones hasta hacerse dominante tanto en el tratamiento inoculado como en el no inoculado. Probablemente por ser nativa del sustrato requiera menos aporte de nutrientes por eso a pesar de estar en cantidades muy altas (10^5 , Ver Resultados, Cuadro N° 4) no inmoviliza a punto de afectar los plantines. Hacia el final del ciclo se establece el equilibrio en el sistema sustrato x plantín x *Trichoderma* que como se vera más adelante se expresa en mayor porcentaje de plantas sanas.

En un sistema deprimido y con baja disponibilidad nutricional como el S₂ el agregado de *Trichoderma* a diferencia con el S₁, produce un efecto promotor. En la altura de plantín y en las concentraciones de Fe, Zn y B este efecto positivo se observó en todo el ciclo. En el peso fresco y seco y la concentración de P el efecto positivo fue en las dos primeras mediciones desapareciendo en la última. Mientras que en el N, Ca y Mn la promoción fue solamente en la primera medición. Y por último el contenido de Cu fue superior en la segunda fecha no existiendo ningún tipo de efecto en la primera. A su vez, en este sustrato se observa algo similar a lo del S₁, en lo que refiere a la desaparición de la respuesta positiva en la última medición, posiblemente por la igualación en los tratamientos del número de UFC.

Lo observado en el S₁ respecto a la actividad de *Trichoderma* es diferente al caso de los pinos debido a la compleja y particular interacción que ocurre entre el *Trichoderma* y la especie vegetal en cuestión.

En cambio en el S₂ la situación fue distinta observándose una notoria promoción del crecimiento vegetal, posiblemente debido a una mayor absorción de nutrientes como lo muestra los resultados del experimento y como encontró Altomare, et al. (1999) e Inbar, et al. (1994).

Al contrario de lo observado en los pinos, en este caso una menor población de *Trichoderma* produce mayor efecto promotor, sugiriendo la

importancia de las características metabólicas y fisiológicas que tenga el vegetal a estudiar.

En este caso, el fertilizante no parece haber influenciado tanto sobre el comportamiento del *Trichoderma* en la respuesta vegetal, pero se observa una tendencia a la disminución de las diferencias entre tratamientos y sustratos.

En este caso, se podría decir que los plantines obtenidos en el ensayo se asemejan en cuanto a altura y diámetro a los obtenidos comercialmente en el vivero (Ver Anexo II, Gráficas N° 40 y 41). El tratamiento que presentó mejor comportamiento fue el S2 + T respecto al parámetro altura de plantín, estando todos los tratamientos igualmente dentro del rango de altura usado por el vivero. En cambio para el diámetro no hubo diferencias entre tratamientos estando todos los tratamientos por debajo del mínimo requerido para llevar a campo. Aún así, el S2 + T fue el que más se aproximó.

6.3.1 Sanidad de plantines

En *E. globulus* no hubo respuesta al agregado de *Trichoderma* en el % de emergencia, ni tampoco se observaron diferencias significativas entre sustratos. Otros investigadores (14) han sugerido que hay varios factores desconocidos que interactúan en mediar la respuesta de promoción.

En las primeras etapas de crecimiento del cultivo no se registró ataques de *Botrytis cinerea*, dado que unos de los requisitos para la germinación de los conidios y la posterior infección del huésped es la existencia de nutrientes exógenos sobre la superficie del hospedero (45), esto no se dio debido a que se comenzó con la fertilización en la semana 16ª. A pesar de las similares condiciones de HR y T que se dieron en la primera etapa del cultivo, otro factor que incidió en la ausencia de ataques, pudo haber sido, la menor susceptibilidad del mismo, ya que la etapa de mayor riesgo se da al tercer o cuarto mes de producción, por el contacto entre copas y la creación de un microambiente favorable (22, 50, 52).

En la primera evaluación de ataque de plantas no se registraron diferencias entre sustratos ni debidas al *Trichoderma*, pero en la segunda fecha de evaluación, hubo diferencias entre sustratos, siendo los plantines del S₂ más atacados que los del S₁ (Ver Resultados, Cuadro N° 14).

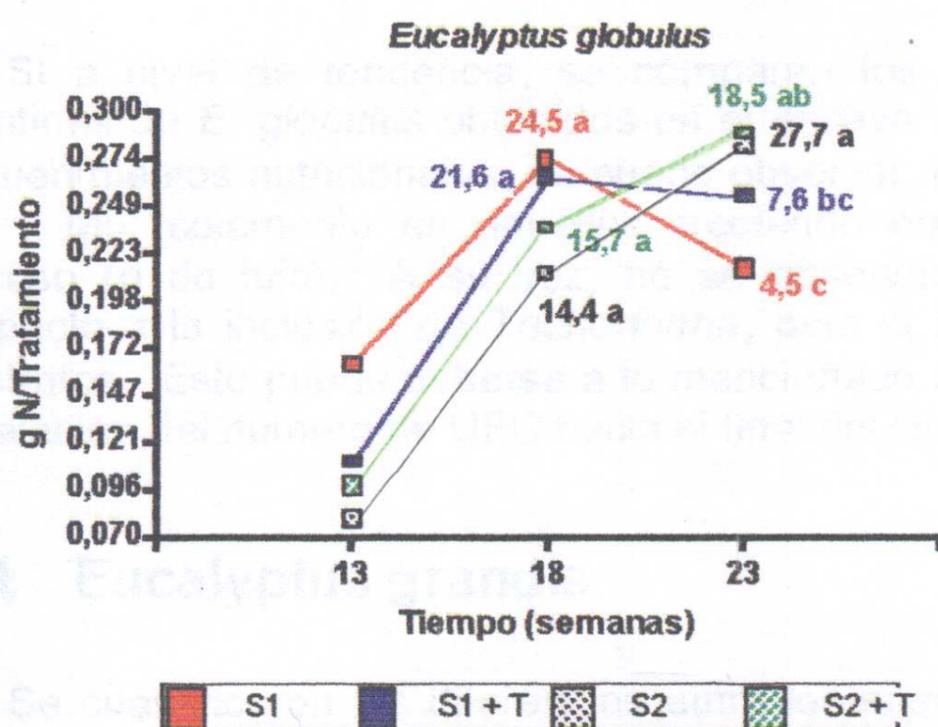
La mayor cantidad de plantines con sintomatología de ataque de *Botrytis*, en la primera evaluación (18 semanas), pudo deberse a una serie de factores que favorecen la infección y el desarrollo de la enfermedad. Si bien ya había nutrientes exógenos disponibles y una menor ventilación entre los plantines debido a su mayor desarrollo, uno de los factores decisivos, de acuerdo con (Alderman, Lacy y Everts, 1985; Blakeman, 1980; Carre y Coyier, 1984; Elad, 1989; Jarvis, 1980; Marois, Redmond y MacDonald, 1988; Salinas, Glandorf, Picavet y Verhoeff, 1989; Yunis, Shtienberg, Elad y Mahrer, 1994) (49); (Baker, 1946; Thomas, Marois y English, 1988) (50), son las condiciones favorables de Humedad Relativa y Temperatura ambiente (Ver Anexo I, Cuadro N° 36 y Anexo II, Gráficas N° 42 y 43).

Las condiciones de HR y T registradas en el periodo anterior de la segunda evaluación (23 semanas), muestran una situación más desfavorable para el desarrollo de la enfermedad.

Además de las condiciones ambientales, uno de los nutrientes que afecta en mayor grado la susceptibilidad de la planta al ataque de *Botrytis*, según (4), es el Nitrógeno. En la primera evaluación los contenidos de N en el plantín creciendo en S₁ principalmente, eran mayores que en la segunda.

Si bien en la segunda evaluación, las condiciones ambientales no son tan favorables para el patógeno (Ver Anexo I, Cuadro N° 36), los contenidos de N en el plantín son superiores a los tenores más altos requeridos. En los dos sustratos el incremento de plantas enfermas estuvo asociado a la dinámica de desarrollo del plantín. El más alto incremento en parámetros como el peso fresco, el cual está muy relacionado al contenido de N, fue acompañado por una mayor incidencia de *Botrytis* (Gráfica N° 11). Para S₁, la velocidad de crecimiento fue mayor hasta las 18 semanas y después se estabilizó. En tanto que para S₂ el mayor incremento se dio a partir de la 18ª semana y más allá de las 23 semanas. Esto explicaría el menor porcentaje de plantas atacadas en el S₁ y el mayor ataque registrado en el S₂ cuyo ciclo de desarrollo viene más atrasado. Si bien S₂ alcanza los niveles de calidad a través de los parámetros, también hay 15 % más de plantas muertas que en S₁ y esto debe ser tomado en cuenta.

Gráfica N° 11: Evolución del contenido de N (g de N/Tratamiento) y del % de plantas con síntomas de moho gris (*Botrytis cinerea*) en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos y en presencia de *Trichoderma harzianum*, a lo largo de todo el ciclo.



Por otro lado, la diferencia entre sustratos respecto al % de ataque podría también explicarse por la presencia del antagonista, ya que el menor número de plantas atacadas del S₁ corresponde con el mayor número de UFC/g encontradas en el análisis del sustrato (Ver Resultados, Cuadro N° 4). A su vez, los plantines del S₂ + T comparados con los de S₂, a nivel de tendencia presentaron menor número de plantas atacadas, correspondiéndose con un mayor número de UFC/g en el sustrato.

La inadecuada evaluación de los diferentes tratamientos, por falta de un adecuado control de la enfermedad por parte de *T. harzianum* pudo haber ocurrido, además de los aspectos nutricionales antes dichos, por la falta de condiciones ambientales (HR y T) favorables para la germinación y esporulación. A su vez, otro factor que pudo haber estado interfiriendo es la presencia de inóculo de *Botrytis* en el área experimental desarrollándose en el tratamiento S₁, el cual pudo haber "contaminado" las parcelas del S₂ cuando los plantines estaban propensos. Estas razones pueden haber influenciado en la inexistencia de diferencias significativas entre los que habían y no habían sido inoculados con *T. harzianum* (28, 33, 42, 53).

Hay tantos factores interaccionando en el proceso de infección y desarrollo de la enfermedad que con la información disponible, no se podría explicar estas diferencias encontradas en dicha interacción.

6.3.2 Nutrición de plantines

Si a nivel de tendencia, se comparan los contenidos foliares de los plantines de *E. globulus* obtenidos en el ensayo con los distintos tenores de requerimientos nutricionales, se puede observar, que en los contenidos de P, Ca y Mn (solamente en aquellos creciendo en el S₁) hubo consumo en exceso (o de lujo). A su vez, no se observaron diferencias importantes respecto a la inclusión de *Trichoderma*, pero si hubo más diferencias entre sustratos. Esto puede deberse a lo mencionado anteriormente, respecto a la igualación del número de UFC hacia el final del ciclo de producción.

6.4 Eucalyptus grandis

Se cuantificaron las diferencias entre los sustrato empleados, evaluando los parámetros estudiados en cada muestreo antes y después de la fertilización. La información e presenta en el Cuadro N° 33.

Cuadro N° 33: Comparación de las respuestas de los sustratos evaluados para la producción de plantines de *E. grandis* en cada uno de los parámetros analizados.

Parámetro		Semanas		
		13	18	23
Altura	S ₁ > S ₂	125	40	25
Diámetro	S ₁ > S ₂	35	11	7
Peso fresco	S ₁ > S ₂	178	41	40
Peso seco	S ₁ > S ₂	277	142	47
N	S ₁ > S ₂	181	26	=
P	S ₁ > S ₂	148	38	58
K	S ₁ > S ₂	91	24	31
Ca	S ₁ > S ₂	4 veces +	187	
Mg	S ₁ > S ₂	180	63	
Fe	S ₁ > S ₂	231	=	
Mn	S ₁ > S ₂	27 veces +	11 veces +	
Cu	S ₁ > S ₂	120	-28	
Zn	S ₁ > S ₂	107	=	
B	S ₁ > S ₂	3,5 veces +	90	

* diferencias en porcentaje (%) de S₁ con S₂; (=) similar

Los plantines de *E. grandis* al igual que las otras dos especies presentaron diferencias debidas al sustrato. En la primera fecha de evaluación (13 semanas), se puede decir que en esta especie fue donde se registró la mayor diferencia entre los sustratos evaluados. Todos los parámetros morfológicos y fisiológicos medidos presentaron un mejor comportamiento en el S₁. Esto da una idea de los requerimientos tempranos que tiene esta especie forestal, entre otros, por ejemplo se puede observar que el peso seco de los plantines en S₁ fue 277% más alto que en S₂. En la segunda fecha estas diferencias disminuyen aunque siguen siendo significativas para la mayoría de los parámetros, excepto para los contenidos de Fe y Zn (igual a *E. globulus*) que desaparecen, y en el caso particular del Cu se da la situación inversa.

En la tercera fecha, si bien estas diferencias siguen disminuyendo en algunos parámetros para el contenido de N desaparecen, y en el caso particular del P y K ocurre lo inverso.

Se puede observar que si bien S₁ y S₂ responden a la fertilización, S₂ en este caso se recupera un poco más del estrés inicial que en *P. taeda*, pero no lo hace totalmente. Al igual que para las otras dos especies, este comportamiento puede estar dado por las diferencias nutricionales de cada sustrato. Sin embargo acá se evidencia una mayor respuesta a la fertilización como se vera a continuación.

En el Cuadro N° 34 se cuantificaron las diferencias entre los sustratos evaluados en respuesta a la fertilización.

Cuadro N° 34: Evaluación del comportamiento de cada sustrato con la incorporación del fertilizante a las 16 semanas, a través de los parámetros analizados para la producción de plántulas de *E. grandis*.

Parámetro		De 13 a 18 semanas	De 18 a 23 semanas
Altura	S ₁	21	10
	S ₂	94	22
Diámetro	S ₁	21	8
	S ₂	66	14
Peso fresco	S ₁	30	15
	S ₂	112	17
Peso seco	S ₁	9	50
	S ₂	70	91
N	S ₁	56	-17
	S ₂	246	≈
P	S ₁	104	≈
	S ₂	267	≈
K	S ₁	45	24
	S ₂	124	18
Ca	S ₁	29	
	S ₂	85	
Mg	S ₁	≈	
	S ₂	75	
Fe	S ₁	-28	
	S ₂	109	
Mn	S ₁	-15	
	S ₂	105	
Cu	S ₁	-53	
	S ₂	42	
Zn	S ₁	≈	
	S ₂	79	
B	S ₁	32	
	S ₂	204	

* diferencias en porcentaje (%) de la respuesta de cada sustrato a la fertilización, (≈) similar

Al igual que para las otras dos especies los incrementos registrados en todos los parámetros evaluados fueron mayores en S₂ respecto a S₁, por lo cual al igual que para pinos, es coherente con la recomendación comercial de fertirrigación permanente que requiere S₂.

La respuesta a la fertilización fue diferente según el periodo considerado. En el primer periodo, al igual que en los casos anteriores, se evidenció un mayor incremento de todos los parámetros morfológicos evaluados excepto el peso seco principalmente en S₁. En este periodo, a su vez, el Mg y el Zn no respondieron a la fertilización (al igual que en *E. globulus*), y el Fe, Mn y Cu respondieron negativamente.

En el S₂ los incrementos de respuesta a la fertilización estuvieron en el entorno de 70% a más de 200% para el periodo de 13 a 18 semanas. Para el periodo de 18 a 23 semanas las respuestas disminuyen para ambos sustratos, excepto para el peso seco que ocurre lo inverso. Pero el N y P no variaron con el fertilizante. Para el S₁, fueron menores las diferencias entre las respuestas de los dos periodos considerados. En el segundo periodo los plantines disminuyeron en un 17% el contenido de N y la fertilización no tuvo efecto sobre el contenido de P.

En esta especie el plantín se recupera de la menor disponibilidad inicial y al final no hay respuesta al fertilizante en el N y P. Pero S₁ sigue siendo superior a S₂ a diferencia con *E. globulus*. En este caso el fertilizante no compensa la menor disponibilidad inicial.

En el Cuadro N° 35 se cuantificaron las respuestas al agregado de *Trichoderma* en cada sustrato antes y después de la fertilización.

Cuadro N° 35: Evaluación comparativa de la respuesta de cada sustrato a la inoculación con *Trichoderma*, a través de los parámetros analizados para la producción de plantines de *E. grandis*.

Parámetro		Semanas		
		13	18	23
Altura	S ₁ + T	-13	-11	≈
	S ₂ + T	≈	≈	≈
Diámetro	S ₁ + T	≈	-8	-13
	S ₂ + T	≈	≈	≈
Peso fresco	S ₁ + T	≈	-11	-20
	S ₂ + T	≈	-9	-7
Peso seco	S ₁ + T	≈	≈	-17
	S ₂ + T	≈	≈	≈
N	S ₁ + T	≈	≈	24
	S ₂ + T	≈	≈	≈
P	S ₁ + T	19	23	-24
	S ₂ + T	19	18	≈
K	S ₁ + T	28	16	-24
	S ₂ + T	≈	20	≈
Ca	S ₁ + T	≈	≈	
	S ₂ + T	≈	≈	
Mg	S ₁ + T	≈	-21	
	S ₂ + T	≈	≈	
Fe	S ₁ + T	≈	25	
	S ₂ + T	≈	≈	
Mn	S ₁ + T	≈	≈	
	S ₂ + T	≈	19	
Cu	S ₁ + T	-15	38	
	S ₂ + T	≈	≈	
Zn	S ₁ + T	≈	≈	
	S ₂ + T	≈	23	
B	S ₁ + T	≈	≈	
	S ₂ + T	≈	-33	

^ diferencias en porcentaje (%) respecto al tratamiento con Trichosoil, (≈) similar

Al igual que para las otras dos especies, el efecto producido por el *Trichoderma* en los plantines de *E. grandis* fue diferente en los dos sustratos. A su vez, hubo diferencias dentro de cada sustrato, similar a lo observado en *E. globulus*. En el S₁ el agregado de *Trichoderma* tuvo efecto negativo en los parámetros morfológicos en tanto que para el S₂ a partir de las 18 semanas se observó algún efecto positivo. El comportamiento de los plantines frente al agregado de *Trichoderma* fue más variable en el S₁. En este caso, para la altura de plantín el *Trichoderma* tuvo efecto negativo en todas las evaluaciones. En el diámetro y el peso fresco, el efecto negativo apareció en la 2ª y 3ª fecha, mientras que en el peso seco solo fue en la 3ª. En los siguientes parámetros evaluados, Ca, Mg, Mn, Zn y B, el *Trichoderma* no

vario las concentraciones de estos nutrientes, excepto que el Mg en la última medición disminuyó su concentración. El efecto positivo del microorganismo fue observado en el N, Fe, Cu, P y K, pero en estos dos últimos se dio lo inverso en la última medición.

En general el agregado de *Trichoderma* en el S₂ no altera los parámetros evaluados, pero al igual que para *E. globulus*, en algunos nutrientes el *Trichoderma* favorece la absorción de los mismos, como ser el P, K, Mn y Zn. Solamente en dos casos se observó efecto negativo, estos fueron el peso fresco y el contenido de B.

Al igual que en los casos anteriores, aparecen diferencias en el comportamiento del *Trichoderma* en los diferentes sustratos, pero en este caso se da un comportamiento diferente, ya que las variaciones mayores aparecen en las últimas mediciones, cuando hay menor diferencia en las poblaciones de *Trichoderma*. Para el S₁ parecería que el comportamiento de la cepa nativa de *Trichoderma* presente en el tratamiento sin inocular supera a la cepa inoculada L1 en casi todos los parámetros fisiológicos.

Lo observado en el S1 respecto a la actividad de *Trichoderma* es diferente al caso de los pinos, pero se asemeja a lo observado en la otra especie de *Eucalyptus*, esto puede deberse al mayor parentesco que existe entre las especies de un mismo género.

Si bien en el S2 la situación fue similar al comportamiento del *E. globulus*, en este caso el efecto positivo en el crecimiento vegetal no es tan notorio. Debido posiblemente a las diferencias entre especies como se menciono anteriormente.

En este caso, el fertilizante parece haber tenido una mayor influencia sobre el comportamiento del *Trichoderma* en la respuesta vegetal, ya que en las últimas mediciones hay más variación entre los tratamientos dentro de un mismo sustrato, si bien las poblaciones del microorganismo se tienden a igualar.

Si comparamos con los parámetros usados en el vivero, en este caso, se podría decir que los plantines obtenidos en el ensayo sobre el S₁ alcanzaron la altura deseada a las 18 semanas, pero solamente los que no fueron inoculados con *Trichoderma* tuvieron el diámetro mínimo, por lo que se deduce que la inoculación tuvo respuesta atrasada para los plantines en S₁ (Ver Anexos II, Gráficas N° 44 y 45) Resulta interesante resaltar que, si se hubiera manejado mejor el aspecto nutricional, quizás hubiera sido más remarcada la respuesta a favor de la promoción de *Trichoderma*.

En un trabajo realizado por Cabrera y Tejera, 2002 (10), se encontró que el agregado de *Trichoderma* acortaba el ciclo del plantín en el vivero, llegando antes a los valores óptimos de calidad propuestos por Cópola et al. (2000). Se lograron 20 – 25 cm de altura y 2 – 3 mm de diámetro un mes antes que la práctica corriente. También se obtuvo mayor peso seco, un 22% en el segundo muestreo. Lo et al. (1997) (10) encontraron que hay un mayor aprovechamiento de nutrientes disponibles en el sustrato y provenientes de fertilizantes cuando el sistema contiene un microorganismo. Sin embargo, Cabrera y Tejera, 2002 (10) encontraron que la ausencia de fertilización retrasa la obtención de los parámetros de calidad. La fertilización tuvo un efecto positivo en la altura de los plantines en *E. grandis*: a mayor dosis mayor altura, siendo el nitrógeno el elemento que comanda esta respuesta; también mayor diámetro de plantín con mayor NPK. A su vez, los tratamientos creciendo con *Trichoderma* y menores dosis de fertilizante, tuvieron mayor desarrollo radicular y mayor cantidad de raíces primarias o de anclaje.

En cambio, los plantines del S₂ alcanzaron estas dimensiones en la semana 23^a, debido a que este sustrato no aportó los nutrientes demandados en la etapa de arranque y cría. Tampoco *Trichoderma* mostró efecto promotor en *E. grandis*. En ambos sustratos se observó la misma tendencia a emparejarse las alturas y diámetros hacia el final del ciclo.

6.4.1 Sanidad de plantines

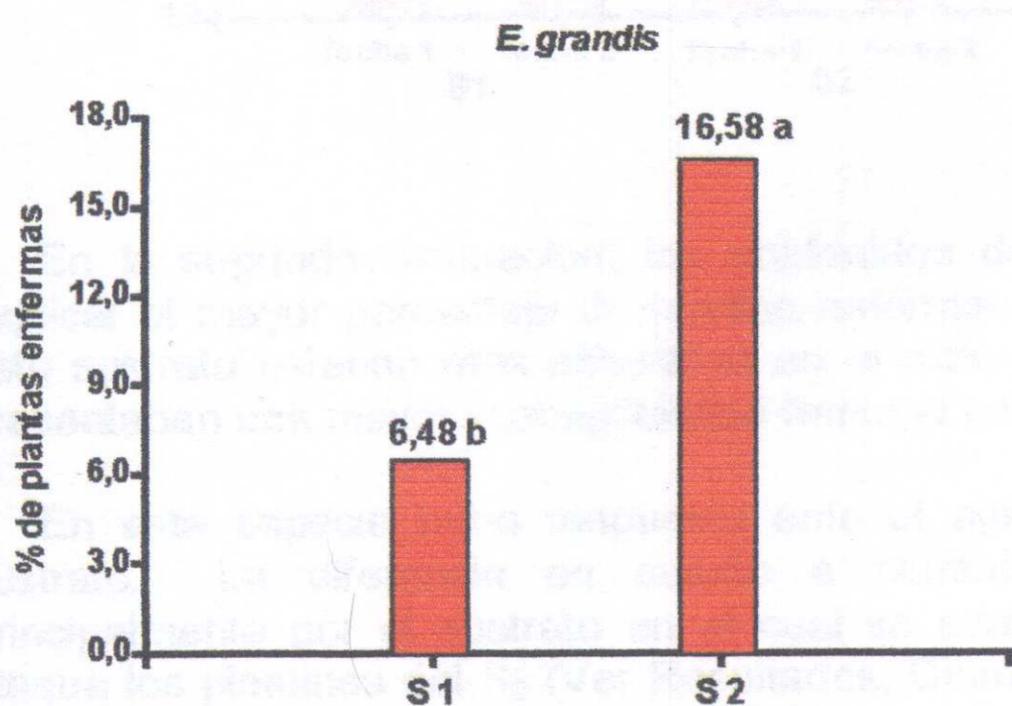
En *E. grandis*, a la inversa de lo observado en *P. taeda* hubo respuesta negativa en el S₁, al agregado de *Trichoderma* y en el S₂ no se observaron diferencias. En cuanto a los sustratos se observaron diferencias entre los mismos, siendo el S₁ el que presentó mayor porcentaje de germinación. Esto puede deberse, como se mencionó anteriormente a las características nutricionales de cada sustrato y al efecto inmovilizador de nutrientes de L1. L1 interactúa negativamente con *E. grandis*, en emergencia indirectamente significativo en S₁ y con leve tendencia en S₂. Algunos investigadores (14) han sugerido que hay varios factores desconocidos que interactúan en mediar la respuesta de promoción.

Al igual que lo ocurrido en *E. globulus*, en la primera evaluación de ataque de plantas no se registraron diferencias entre sustratos ni debidas a la inclusión de *Trichoderma*, pero en la segunda fecha de evaluación, hubo

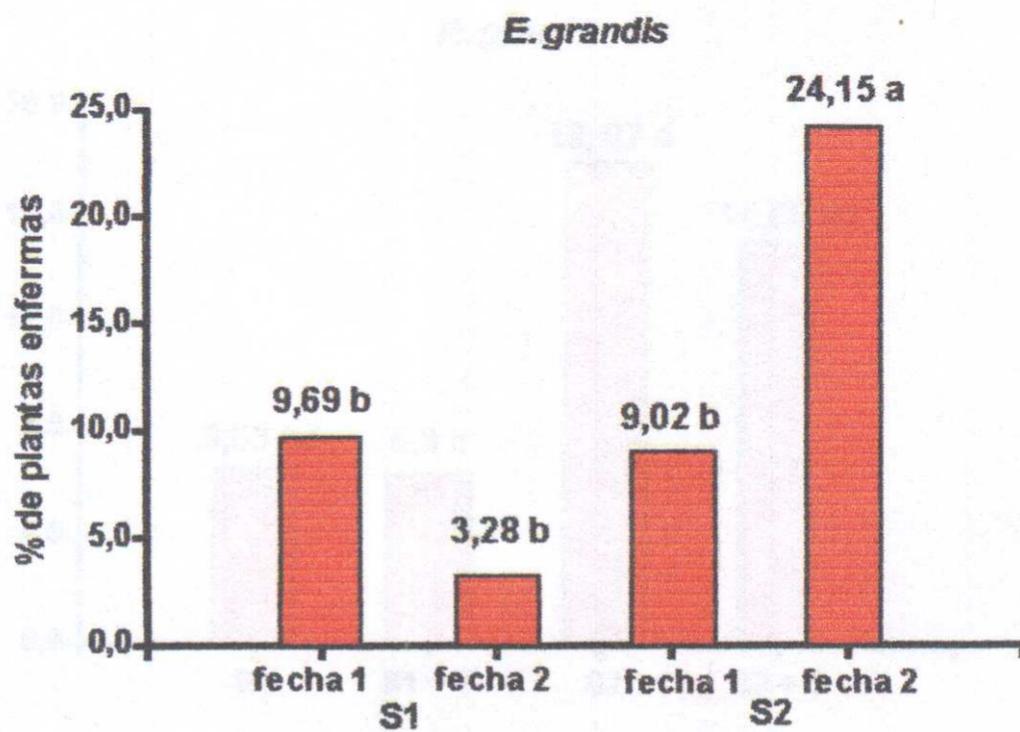
diferencias entre sustratos, siendo los plantines del S₂ más atacados que los del S₁.

En la comparación de las dos fechas de evaluación, hubo diferencias en los sustratos empleados, presentando el S₂ mayor porcentaje de plantas enfermas (Ver Resultados, Cuadro N° 17_a) (Gráfica N° 12). A su vez, dentro de este sustrato hubo más plantas atacadas en la segunda fecha (Ver Resultados, Cuadro N° 17_b) (Gráfica N° 13). Esta situación no podría ser explicada por las mismas razones que en *E. globulus*, ya que en el momento que se dieron las condiciones más favorables para el ataque en cuanto a HR, T y concentración de N hubo menor número de plantas enfermas.

Gráfica N° 12: % de plantas con síntomas de moho gris (*Botrytis cinerea*) en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos y en presencia de *Trichoderma harzianum*, comparando las dos fechas de muestreo (18 y 23 semanas de edad).



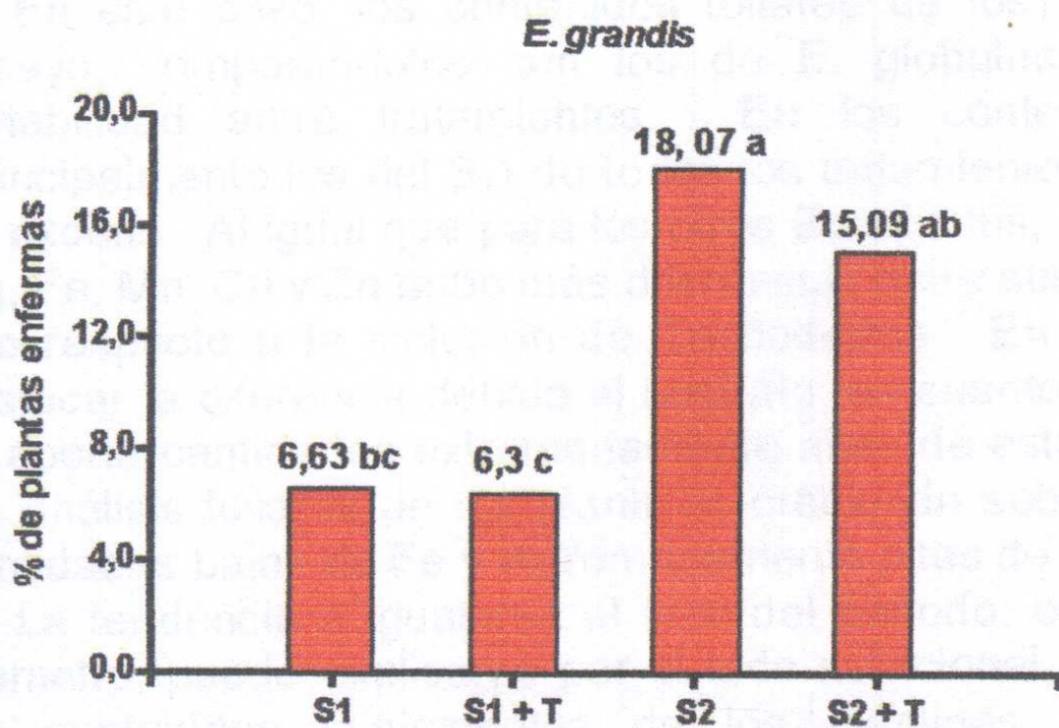
Gráfica N° 13: % de plantas con síntomas de moho gris (*Botrytis cinerea*) en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos y en presencia de *Trichoderma harzianum*, comparando las dos fechas de muestreo (18 y 23 semanas de edad).



En la segunda evaluación, los contenidos de N en la planta podrían explicar el mayor porcentaje de plantas enfermas en el S₂. Las plantas en este sustrato estaban más atrasadas en el ciclo de crecimiento por lo que presentaban una mayor susceptibilidad frente al patógeno.

En esta especie hubo respuesta ante el agregado de *Trichoderma* al sustrato. La diferencia en cuanto a plantas enfermas estaba dada principalmente por el sustrato en el cual se evaluaba, presentando mayor ataque los plantines del S₂ (Ver Resultados, Cuadro N° 17c) (Gráfica N° 14). En cambio, las diferencias debidas al *Trichoderma* dentro de cada sustrato solo fueron a nivel de tendencia, presentando en ambos sustratos un efecto positivo en el control de la enfermedad (7, 19, 21, 27, 28, 31, 39, 43, 57). Esto, a su vez coincide con los análisis de sustrato (Ver Resultados, Cuadro N° 4) ya que el S₁ presentó mayor cantidad de UFC/g, que el S₂ y a nivel de tendencia también hubo diferencias dentro de cada sustrato.

Gráfica N° 14: % de plantas con síntomas de moho gris (*Botrytis cinerea*) en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos y en presencia de *Trichoderma harzianum*, comparando las dos fechas de muestreo (18 y 23 semanas de edad).



En ambas especies de *Eucalyptus* el bajo porcentaje de plantas enfermas encontradas en el S₁, a su vez, podría ser explicado por el estado nutricional del plantín. En el S₁ la planta estaba más equilibrada que en el S₂, pudiendo presentar en este último, una mayor susceptibilidad al ataque del patógeno. Otro factor a tener en cuenta es la cepa nativa de *Trichoderma* encontrada en el S₁, pero para poder afirmar esto sería necesario un mayor conocimiento de la biología, ecología y capacidad de biocontrol de dicha cepa.

Para las dos especies de *Eucalyptus*, bajo las condiciones productivas en las cuales se llevaba a cabo el experimento se podría decir que los porcentajes de ataque fueron relativamente bajos (com. pers. Ing. Agr. Graciela Romero). Esto pudo deberse a que hubieron pocos días de HR promedio (Ver Anexo I, Cuadro N° 36) que estaban dentro del rango requerido para la germinación y otras fases del desarrollo de *Botrytis*. Sin embargo, los valores de T en el mismo periodo se encontraban dentro de los requeridos por el patógeno. Esto conjuntamente con el manejo integral que realizaban en el vivero, cuando las condiciones son más favorables para la ocurrencia de *Botrytis*, como por ejemplo disminuir la frecuencia y/o la magnitud del riego, la ventilación del invernáculo en los momentos de elevada HR, así como el

retiro de las bandejas atacadas, pudo haber sido la causa del bajo porcentaje de ataque.

6.4.2 Nutrición de plantines

En este caso, los contenidos foliares de los plantines obtenidos en el ensayo, comparándolos con los de *E. globulus* presentaron una mayor variabilidad entre tratamientos. En los contenidos de P, Ca y Mn (principalmente los del S₁) de todos los tratamientos se observó un consumo en exceso. Al igual que para los otros *Eucalyptus*, en los contenidos de N, K, Mg, Fe, Mn, Cu y Zn hubo más diferencias entre sustratos que dentro de cada uno respecto a la inclusión de *Trichoderma*. En ambos *Eucalyptus* es de destacar la diferencia debida al sustrato, en cuanto al aporte de Fe y Mn. El S₁ aporta cantidades extremadamente altas de estos dos nutrientes, pero en los análisis foliares de los plantines creciendo sobre este sustrato aparecen cantidades bajas de Fe y extremadamente altas de Mn.

La tendencia a igualarse al final del periodo, observada en la altura y el diámetro, puede explicarse por el lado nutricional, ya que al final del mismo los contenidos nutricionales de los plantines inoculados artificialmente respecto a sus respectivos testigos muestran el mismo comportamiento. Lo que a su vez coincide con las poblaciones de microorganismos encontradas en el sustrato.

7 CONCLUSIONES

A partir del análisis integrado de los resultados de todos los parámetros evaluados en el presente experimento se puede concluir que:

1. Se evidenciaron claramente las diferencias entre los dos sustratos en estudio a través de los parámetros morfológicos y fisiológicos de los plantines de *P. taeda*, *E. globulus* y *E. grandis*. El sustrato de Colonvade (S₁) con mayor disponibilidad de nutrientes en solución promovió mayor desarrollo de arranque que el Agroplus (S₂). Este último requiere fertirrigación permanente debido a la gran estabilidad de sus componentes orgánicos.
2. Si bien las tendencias generales fueron similares, las tres especies forestales se comportaron de forma bien diferente en cuanto a la dinámica de crecimiento en los dos sustratos y a través de todo el ciclo de evaluación.
3. Se observó en todos los plantines respuesta significativa a la fertilización a partir de la 16^a semana, y esa respuesta fue claramente condicionada por el tipo de sustrato y la especie forestal. El S₂ tuvo respuesta más significativa que el S₁ principalmente en el período transcurrido hasta las 18 semanas. Luego, y hasta la 23^a semana de evaluación, la diferencia se acorta.
4. La respuesta a la incorporación de *Trichoderma* en el sistema sustrato x plantín, fue muy diferente en función del tipo de sustrato. Ocurrió inmovilización en el S₁ y promoción en el S₂, siendo esta respuesta muy dependiente de la especie forestal. La ausencia de información nacional e internacional en estos aspectos amerita continuar los estudios antes de establecer conclusiones.
5. La colonización y sobrevivencia de *Trichoderma* en los sustratos no tuvo restricciones importantes y se alcanzaron niveles adecuados a pesar de las limitaciones nutricionales. Se aisló una cepa nativa del S₁ con características interesantes de adaptabilidad y competitividad.
6. Ninguno de los sustratos evidenció problemas de damping-off, siendo la emergencia e implantación adecuadas. *Botrytis cinerea* promovida por condiciones ambientales de humedad relativa tuvo mayor incidencia en plantines con mayor porcentaje de nitrógeno en planta promovido por fertilizaciones tardías en la fase de terminación en *E. globulus* y *E.*

grandis. Algún efecto antagonista pudo observarse en S₂ + T en *E. globulus*.

SUGERENCIAS:

Con estas conclusiones preliminares se sugiere:

1. Repetir el estudio con un plan de fertilización que contemple la optimización del desarrollo de la especie en cada sustrato.
2. Incluir *Trichoderma* en condiciones de colonización, en niveles superiores a 10⁶ UFC/g y sin limitantes nutricionales
3. Estudiar en mayor profundidad la cepa nativa.
4. Realizar una aplicación foliar preventiva, del antagonista antes de los picos de Humedad relativa.

8 RESUMEN

El sustrato es la vía más económica para incorporar un microorganismo al sistema suelo-planta. Hay muy poca información a nivel comercial de los beneficios que acarrea al sistema, la inclusión de agentes biológicos promotores del crecimiento vegetal, lo que en la literatura se cita como PGPR (plant growth promoting organism). Varios trabajos citan a *Trichoderma* como un agente microbiano promotor del crecimiento en algunas especies, principalmente en floricultura por mecanismos que no están bien definidos aún.

El uso de productos biológicos en la producción agrícola es bastante reciente si se lo compara con el uso de los agroquímicos. Los estudios e investigaciones sobre estos agentes de biocontrol comenzaron en el sector hortifrutícola, debido a la creciente presión a nivel mundial en la disminución y la mayor concientización del efecto del uso de productos químicos, principalmente por tratarse de productos de consumo directo.

Se planteo realizar un estudio de incorporación de *Trichoderma harzianum* a dos sustratos en la producción comercial de plantines de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden.; *Eucalyptus globulus* spp. *Globulus* Labill. y *Pinus taeda* L. El ensayo se llevo a cabo en un vivero forestal en los meses de febrero a julio del 2001.

Se determinó la colonización y sobrevivencia de *T. harzianum* en ambos sustratos. Además, en los plantines creciendo en los diferentes sustratos inoculados con *Trichoderma* se evaluaron: parámetros morfológicos y fisiológicos, la incidencia y severidad de *Botrytis cinerea* y aspectos nutricionales durante el ciclo de producción.

Se evidenciaron claramente las diferencias entre los dos sustratos en estudio a través de los parámetros morfológicos y fisiológicos de las tres especies. El sustrato de Colonvade (S₁) con mayor disponibilidad de nutrientes en solución promovió mayor desarrollo de arranque que el Agroplus (S₂). Este último requiere fertirrigación permanente debido a la gran estabilidad de sus componentes orgánicos.

Si bien las tendencias generales fueron similares, las tres especies forestales se comportaron de forma bien diferente en cuanto a la dinámica de crecimiento en los dos sustratos y a través de todo el ciclo de evaluación

Se observó en todos los plantines respuesta significativa a la fertilización y esa respuesta fue claramente condicionada por el tipo de sustrato y la especie forestal.

La respuesta a la incorporación de *Trichoderma* en el sistema sustrato x plantín, fue muy diferente en función del tipo de sustrato. Ocurrió inmovilización en el S₁ y promoción en el S₂, siendo esta respuesta muy dependiente de la especie forestal.

La colonización y sobrevivencia de *Trichoderma* en los sustratos no tuvo restricciones importantes y se alcanzaron niveles adecuados a pesar de las limitaciones nutricionales.

Ninguno de los sustratos evidenció problemas de damping-off, siendo la emergencia e implantación adecuadas. *Botrytis cinerea* promovida por condiciones ambientales de humedad relativa tuvo mayor incidencia en plantines con mayor porcentaje de nitrógeno en planta promovido por fertilizaciones tardías en la fase de terminación en *Eucalyptus*. Algún efecto antagonista pudo observarse en el S₂ inoculado artificialmente en *E. globulus*.

Debido a la ausencia de información nacional e internacional entorno a estos aspectos, para lograr una implementación de esta herramienta con el fin de sustituir o disminuir el uso de productos químicos en la producción agropecuaria, es necesario continuar los estudios antes de establecer conclusiones.

9 SUMMARY

The substrate is the cheapest way to incorporate a microorganism into soil-plant system. There is little information about the benefits that the introduction of plant growth promoting organism (later referred to as PGPR) brings about to the system. *Trichoderma* is said to be a promoting agent of some species growth, mainly in floriculture, by means which have not been determined yet.

The use of biological products in agricultural production is quite recent in comparison with the use of chemical products. The studies and research on these biocontrol agents began in the horticultural area, due to worldwide increasing pressure on the decrease of the use of chemical products for being directly consumed.

The idea was to carry out research on the incorporation of *Trichoderma harzianum* into two substrates in the commercial production of *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden; *Eucalyptus globulus* spp. *globulus* Labill. and *Pinus taeda* L. The study was carried out in a forestry greenhouse during February and July 2001.

The colonization and survival of *T. harzianum* in both substrates were determined. Moreover, things such as morphological and physiological parameters as well as the incidence and severity of *Botrytis cinerea* and nutritional features during the production cycle, were evaluated in the growth of the seedlings placed in the different substrates inoculated with *Trichoderma*.

Clear differences were found between the two substrates studied through the morphological and physiological parameters of the three species. The Colonvade (S₁) substrate, with more nutrient availability in the solution, allowed better initial development than Agroplus (S₂), since the latter requires permanent fertilizer irrigation due to the great stability of its organic components.

Although the general tendencies were similar, the three forestry species behaved differently regarding their growth in the substrates throughout the evaluation cycle.

All the seedlings clearly responded to fertilization, and this reaction totally depended on the kind of substrate and the forestry species.

Response to the incorporation of *Trichoderma* into substrate-seedling system was completely different depending on the kind of substrate used. Immobilization was seen in S₁ while S₂ showed development, reaction which varied depending on the forestry species.

The colonization and survival of *Trichoderma* in the preparations showed no important restrictions, and adequate levels were reached despite nutritional limitations.

None of the preparations showed damping-off problems, having adequate emergence and later growth. *Botrytis cinerea*, which was promoted by environmental humid conditions, had a higher influence upon seedlings with a higher percentage of Nitrogen in the plant, due to late fertilizations in the *Eucalyptus* round up phase. Some antagonist effects were observed in S₂, which was artificially inoculated in *E. globulus*.

In order to achieve a successful implementation of this tool with the objective of decreasing the use of chemical products in agricultural production, it will be necessary to continue doing research on these studies before drawing any certain conclusions, owing to the lack of national as well as international information on these issues.

10 BIBLIOGRAFIA

- 1- AGRIOS, G.N. 1995. Fitopatología. 2ª. edición. Mexico, Limusa. 838 p.
- 2- AHMAD, J. S.; BAKER, R. 1987. Rhizosphere competence of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology* 77: 182-189
- 3- ALTOMARE, C.; NORVELL, W. A.; BJORKMAN, T.; HARMAN, G. E. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 2926-2933
- 4- ALVEZ FERREIRA, F. 1989. Patologia florestal; Principais doenças Florestais no Brasil. Brasil, Visosa-MG. 570 p.
- 5- ANSORENA MINER, J. 1994. Sustratos. Propiedades y caracterización. España, Mundi-Prensa. 172 p.
- 6- ATTIWILL, P. M.; ADAMS, M. A. 1996. Nutrition of Eucalyptus. Australia, CSIRO. 440 p.
- 7- BÉLANGER, R. R.; DUFOUR, N.; CARON, J.; BENHAMOU, N. 1995. Chronological events associated with the antagonistic properties of *Trichoderma harzianum* against *Botrytis cinerea*: indirect evidence for sequential role of antibiosis and parasitism. *Biocontrol Science and Technology* 5: 41-53
- 8- BENITEZ, T.; DELGADO-JARANA, J.; RINCON, A.; REY, M.; LIMON, M. C. 1998. Biofungicidas: *Trichoderma* as a biocontrol agent against phytopathogenic fungi. *Recent Res. Devel. in Microbiology* 2: 129-150
- 9- BETTIOL, W. 1997. Biocontrole na fitosfera: problemas e perspectivas. *Revisao Anual de Patologia de Plantas* 5: 59-97
- 10- CABRERA, R.; TEJERA, R. 2002. Evaluación de diferentes dosis de fertilización en la producción de plantines de *Eucalyptus grandis* en presencia de *Trichoderma harzianum*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 120 p.
- 11- CAMPBELL, R. 1989. Biological control of microbial plant pathogens. Great Britain, Cambridge University Press. 218 p.

12- CARNEIRO, J. G. 1983. Influencia dos fatores ambientais, das técnicas de produção sobre o desenvolvimento de mudas florestais e a importancia dos parâmetros que definem sua qualidade. Anais do simposio realizado em Viçosa (1983, Minas Gerais). Florestas plantadas nos Neotropicos como fonte de energia. Minas Gerais, IMPRENSA UNIVERSITARIA. pp. 10-24.

13- CAZZOLINO, D. 1997. Determinación de materia seca con horno de microondas. INIA

14- CHANG, Y.-C.; CHANG, Y.-C.; BAKER, R.; KLEIFELD, O.; CHET, I. 1986. Increased Growth of Plants in the Presence of the Biological Control Agent *Trichoderma harzianum*. Plant Disease 70: 145-148

15- CHAO, W.L.; NELSON, E.B.; HARMAN, G.E.; HÖCH, H.C. 1986. Colonization of the Rhizosphere by Biological Control Agents Applied to Seeds. Phytopathology 76: 60-65

16- COPPOLA, F. M.; MENDOZA, G. N.; REGULES, H. P. 2000. Caracterización de plantines de *Eucalyptus* y *Pinus* desde el punto de vista de la calidad en el Uruguay. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 105 p.

17- DE MEYER, G.; BIGIRIMANA, J.; ELAD, Y.; HOFTE, M. 1998. Induced systemic resistance in *Trichoderma harzianum* T39 biocontrol of *Botrytis cinerea*. European Journal of Plant Pathology 104: 279-286

18- EDEN, M.A.; HILL, R.A.; STEWART, A. 1996. Biological control of *Botrytis* stems infection of greenhouse tomatoes. Plant Pathology 45: 276-284

19- ELAD, Y. 1990. Reasons for the delay in development of biological control of foliar pathogens. Phytoparasitica 18: 99-105

20- ELAD, Y. 2000. Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. Crop Protection 19: 709-714

21- ELAD, Y.; CHET, I.; HENIS, Y. 1982. Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. Canadian Journal of Microbiology 28: 719-725

22- ELAD, Y.; EVENSEN, K. 1995. Physiological Aspects of Resistance to *Botrytis cinerea*. Phytopathology 85: 637-643

- 23- ELAD, Y.; YUNIS, H.; VOLPIN, H. 1993. Effect of nutrition on susceptibility of cucumber, eggplant, and pepper crops to *Botrytis cinerea*. Canadian Journal of Botany 71: 602-608
- 24- Taller IV Forestal. 2002. Salida a zona Centro-Norte. Informe de vivero. Montevideo. Facultad de Agronomía. Finocchietti, S.; Schiavo, G.; Venturino, A. 16 p.
- 25- FRAVEL, D. 1997. Commercial biocontrol products for use against soilborne crop diseases. <http://www.spg.wau.nl/fyto/botrytis.htm>
- 26- GUELVENZU, R. C. 2001. Evaluación agronómica de cuatro sustratos en la producción de plantines de tomate. Tomo 1. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, facultad de Agronomía. 107 p.
- 27- HARMAN, G.E. 2000. Myths and Dogmas of Biocontrol. Changes in Perceptions Derived from Research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant Disease 84: 377-393
- 28- HJELJORD, L.G.; STENSVAND, A.; TRONSMO, A. 2000. Effect of temperature and nutrient stress on the capacity of commercial Trichoderma products to control *Botrytis cinerea* and *Mucor piriformis* in greenhouse strawberries. Biological control 19, 149-160
- 29- INBAR, J.; ABRAMSKY, D.; COHEN, D.; CHET, I. 1994. Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedlings grown under commercial conditions. European Journal of Plant Pathology 100: 337-346
- 30- IRURETA, F.; IRISITY, F. 1996. Micorrización de plantines de *Eucalyptus grandis* producidos en viveros comerciales del Uruguay, y su relación con practicas de producción. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, facultad de Agronomía. 56 p.
- 31- KAPAT, A.; ZIMAND, G.; ELAD, Y. 1998. Effect of two isolates of *Trichoderma harzianum* on the activity of hydrolytic enzymes produced by *Botrytis cinerea*. Physiological and Molecular Plant Pathology 52, 127-137
- 32- KOHL, J.; MOLHOEK, W.M.L.; VAN DER PLAS, C.H.; FOKKEMA, N.J. 1995. Suppression of sporulation of *Botrytis* sp. as a valid biocontrol strategy. European Journal of Plant Pathology 101: 251-259

- 33- KUBICEK, C.P.; HARMAN, G.E. 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium*. Basic biology, taxonomy and genetics. United Kingdom, Taylor & Francis Ltd. V 1. 278 p.
- 34- LARNIER, L.; JOLY, P.; BONDOUX, P.; BELLEMÈRE, A. 1978. Mycologie et Pathologie Forestières. Paris, Masson. 487 p. Mycologie forestière. V. 1.
- 35- LEWIS, J.A.; PAPAIVIZAS, G.C. 1984. Chlamydospore formation by *Trichoderma* sp. in natural substrates. Canadian Journal of Microbiology 30: 1-7
- 36- LEWIS, J.A.; PAPAIVIZAS, G.C. 1984. A New Approach to Stimulate Population Proliferation of *Trichoderma* species and Other Potential Biocontrol Fungi Introduced into Natural Soils. Phytopathology 74: 1240-1244
- 37- MENDEZ, S. V.; MONDINO, P. 1999. Control Biológico en Postcosecha en Uruguay. Horticultura Internacional, año 7 n° 26
- 38- MONACO, C. 1990. Incremento en el crecimiento de las plantas inducido por *Trichoderma harzianum* y *T. koningii*. Revista de la Facultad de Agronomía T. 66/67: 75-77
- 39- MONTE, E. 2001. Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. Int. Microbiol. 4: 1-4
- 40- MORI ALVEZ, C. 2001. Evaluación agronómica de sustratos en la producción de plantines de tomate. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 133 p.
- 41- NEMEC, S.; DATNOFF, L. E.; STRANDBERG, J. 1996. Efficacy of biocontrol agents in planning mixes to colonize plant roots and control root diseases of vegetables and citrus. Crop Protection 15: 735-742
- 42- PAPAIVIZAS, G.C. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, Ecology, and Potential for Biocontrol. Annual Review of Phytopathology 23: 23-54
- 43- PEZET, R.; PONT, V.; TABACCHI, R. 1999. Simple analysis of 6-pentyl-alfa-pyrone, a major antifungal metabolite of *Trichoderma* sp., useful for testing the antagonistic activity of these fungi. Phytochemical Analysis 10, 285-288

- 44- PRITCHETT, W. L. 1979. Properties and Management of forest soils. John Wiley and Sons. New York. 500 p.
- 45- REYNA, R. 2000. Evaluación de métodos biológicos y químicos para el control de *Botrytis cinerea* en viveros de *Eucalyptus globulus*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 70 p.
- 46- ROMERO, G. 1995. Enfermedades en Eucalyptus en Uruguay. Montevideo. Facultad de Agronomía. 7p.
- 47- ROMERO, G. 1993. Enfermedades forestales en el Uruguay. Montevideo. Facultad de Agronomía. 26 p.
- 48- SAYAGUES, L.; ROLANDO, L. 1986. Evaluación de progenies de individuos de diferentes orígenes de *Pinus taeda*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 121 p.
- 49- SHTIENBERG, D.; ELAD, Y. 1997. Incorporation of weather forecasting in Integrated, Biological-Chemical Management of *Botrytis cinerea*. *Phytopathology* 87: 332-340
- 50- SOUZA, M. G.; FERREIRA, F. A. 1999. Temperatura e tempo de agua livre favorecem a infectividade de *Botrytis cinerea* em mudas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Meiden, via inoculações. *Revista Arvore* 23: 193-196
- 51- URUGUAY. MINISTERIO DE GANADERÍA AGRICULTURA Y PESCA. DIRECCION GENERAL FORESTAL. SECCION MANEJO Y PROTECCION FORESTAL. 2001. Undécimo censo de viveros forestales. Montevideo. 6 p.
- 52- VON STOWASSER, E. S.; FERREIRA, F. A. 1997. Avaliação de fungos para o biocontrole de *Botrytis cinerea* em viveiros suspensos de eucalipto. *Revista Arvore* 21: 147-153
- 53- WIDDEN, P.; SCATTOLIN, V. 1988. Competitive interactions and ecological strategies of *Trichoderma* species colonizing Spruce litter. *Mycologia* 80: 795-803
- 54- WINDHAM, M. T.; ELAD, Y.; BAKER, R. 1986. A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* sp. *Phytopathology* 76: 518-521

55- ZAMALVIDE, J. P. 1997. Aplicación de los fertilizantes en el riego por goteo. In Manejo de la fertilidad en producciones intensivas (Horticultura y Fruticultura). J. P. Zamalvide. Montevideo. Facultad de Agronomía. pp 55-60

56- ZHANG, P. G.; SUTTON, W. T.; HOPKIN, A. A. 1996. *Gliocladium roseum* reduces physiological changes associated with infection of black spruce seedlings by *Botrytis cinerea*. Canadian Journal of Plant Pathology 18: 7-13

57- ZIMAND, G.; ELAD, Y.; CHET, I. 1996. Effect of *Trichoderma harzianum* on *Botrytis cinerea* pathogenicity. Phytopathology 86: 1255-1260

ANEXO I

Cuadro N° 36: Registros de Humedad Relativa y Temperatura tomados por la Estación Meteorológica del Vivero desde el 14/5/01 al 24/7/01.

Fecha	Humedad Relativa (%)			Temperatura (°C)		
	Mínima	Máxima	Promedio	Mínima	Máxima	Promedio
14/05/01	67	95	81	8,5	13	10,75
15/05/01	64	100	82	8,5	17	12,75
16/05/01	94	100	97*	11	13,5	12,25
17/05/01	70	100	85	10	15,5	12,75
18/05/01	66	100	83	7	17	12
19/05/01	65	100	82,5	4,5	18	11,25
20/05/01	59	100	79,5	11	22,5	16,75
21/05/01	93	100	96,5*	14	16,5	15,25
22/05/01	72	100	86	12,5	18,5	15,5
23/05/01	79	100	89,5	8,5	16,5	12,5
24/05/01	58	100	79	8,5	21	14,75
25/05/01	69	100	84,5	9	22	15,5
26/05/01	70	100	85	12,5	23	17,75
27/05/01	73	100	86,5	11,5	22	16,75
28/05/01	68	100	84	9	21,5	15,25
29/05/01	88	100	94*	14	20	17
30/05/01	78	100	89	13,5	23,5	18,5
31/05/01	98	100	99*	18	21,5	19,75
01/06/01	100	100	100*	18	21,5	19,75
02/06/01	100	100	100*	17,5	21,5	19,5
03/06/01	80	100	90	17	23,5	20,25
04/06/01	87	100	93,5*	17	22,5	19,75
05/06/01	75	100	87,5	15	23,5	19,25
06/06/01	59	100	79,5	9,5	17,5	13,5
07/06/01	95	100	97,5*	7,5	15	11,25
08/06/01	96	100	98*	12,5	16,5	14,5
09/06/01	81	100	90,5	15,5	23	19,25
10/06/01	73	100	86,5	15	23	19
11/06/01	70	100	85	13,5	21	17,25
12/06/01	71	100	85,5	13,5	22,5	18
13/06/01	67	100	83,5	14,5	24	19,25
14/06/01	59	92	75,5	17,5	25,5	21,5
15/06/01	72	100	86	11	21	16
16/06/01	73	99	86	8	11	9,5
17/06/01	82	92	87	7	9,5	8,25

18/06/01 (1)	77	98	87,5	3,5	10	6,75
19/06/01	63	100	81,5	5	10	7,5
20/06/01	52	77	64,5	5	8,5	6,75
21/06/01	27	70	48,5	2,5	12	7,25
22/06/01	32	69	50,5	3	13	8
23/06/01	29	71	50	2,5	14,5	8,5
24/06/01	53	75	64	3,5	11	7,25
25/06/01	75	80	77,5	9	12,5	10,75
26/06/01	48	81	64,5	6,5	12	9,25
27/06/01	33	76	54,5	3,5	15	9,25
28/06/01	43	80	61,5	4	15,5	9,75
29/06/01	56	80	68	7	15,5	11,25
30/06/01	47	77	62	9	19	14
01/07/01	47	79	63	9,5	21	15,25
02/07/01	74	81	77,5	11	14,5	12,75
03/07/01	66	72	69	12	19	15,5
04/07/01	48	77	62,5	9,5	20	14,75
05/07/01	31	72	51,5	3	11	7
06/07/01	57	75	66	3	14	8,5
07/07/01	40	77	58,5	11	24	17,5
08/07/01	45	75	60	14	22	18
09/07/01	43	75	59	15	25,5	20,25
10/07/01	77	81	79	14,5	18,5	16,5
11/07/01	12	76	44	7	12,5	9,75
12/07/01	15	70	42,5	2	11,5	6,75
13/07/01	36	68	52	2	14	8
14/07/01	48	75	61,5	6,5	16,5	11,5
15/07/01	47	80	63,5	4,5	19	11,75
16/07/01	40	77	58,5	12	24	18
17/07/01	42	73	57,5	14,5	21,5	18
18/07/01	53	79	66	12,5	19,5	16
19/07/01	72	80	76	12,5	18	15,25
20/07/01	41	81	61	10	16,5	13,25
21/07/01	43	78	60,5	6	13,5	9,75
22/07/01	32	75	53,5	5	9,5	7,25
23/07/01	27	73	50	-0,5	9,5	4,5
24/07/01 (2)	49	75	62	2,5	12,5	7,5

(1) Primer conteo de plantas con sintomatología de ataque de *Botrytis*

HR promedio entre el 14/5/01 y el 17/6/01: 87,9 %

T promedio en el mismo periodo: 15,8 °C

(2) Segundo conteo de plantas con sintomatología de ataque de *Botrytis*

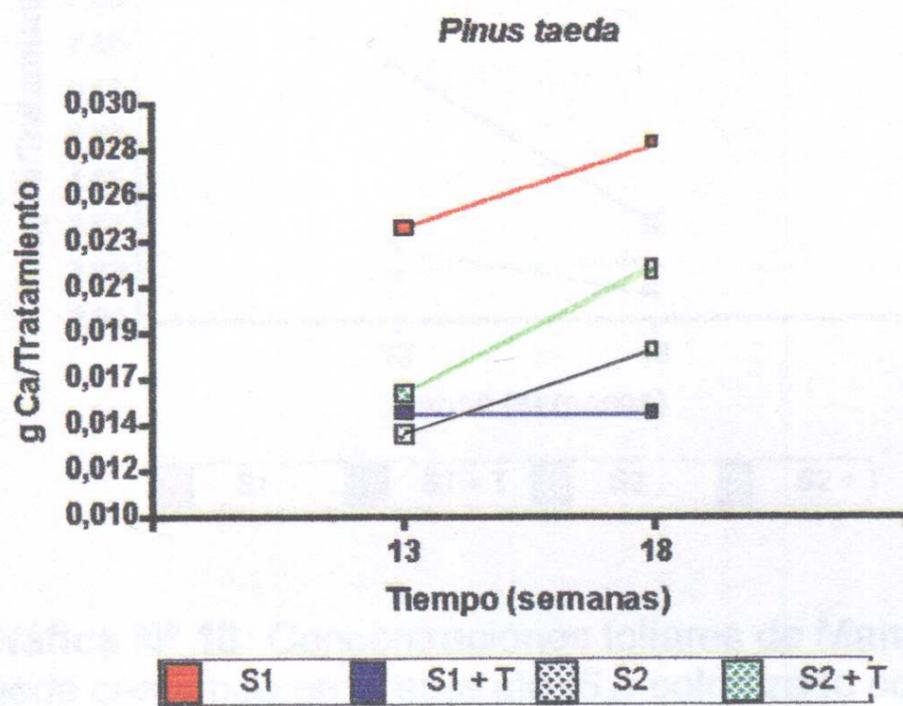
HR promedio entre el 18/6/01 y el 23/7/01: 62,4 %

T promedio en el mismo periodo: 10,9 °C

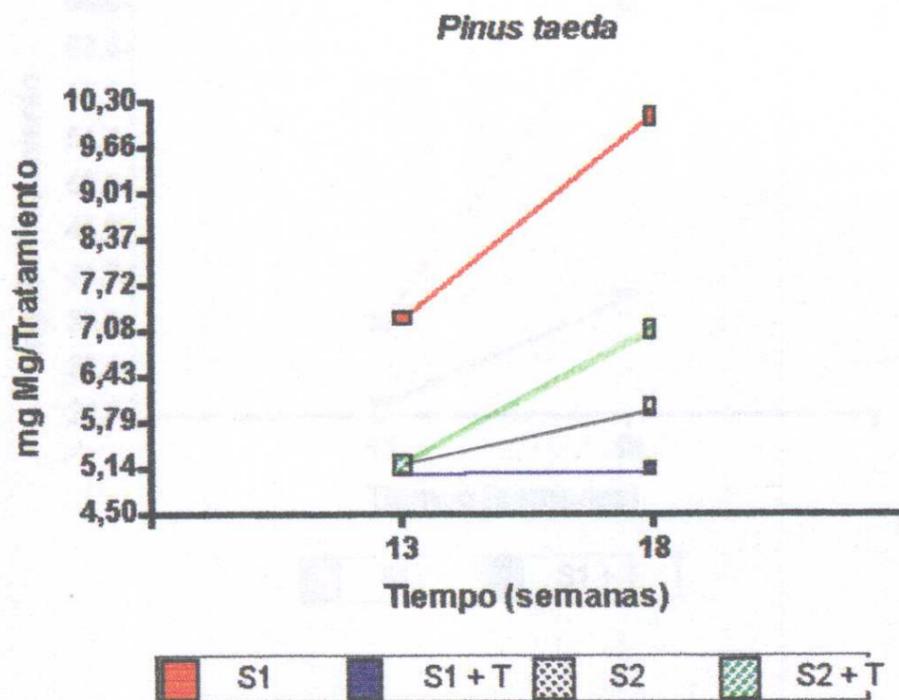
* Condiciones favorables para la germinación de los conidios de *Botrytis* y la posterior infección del huésped.

ANEXO II

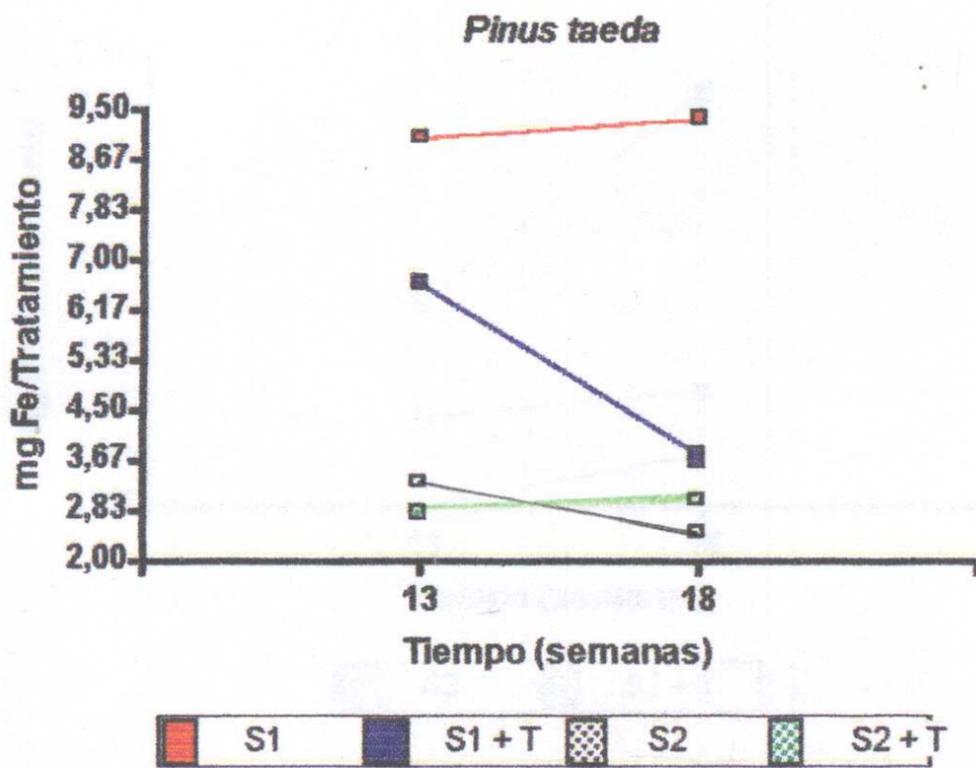
Gráfica N° 15: Concentraciones foliares de Calcio en plantines de *Pinus taeda* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.



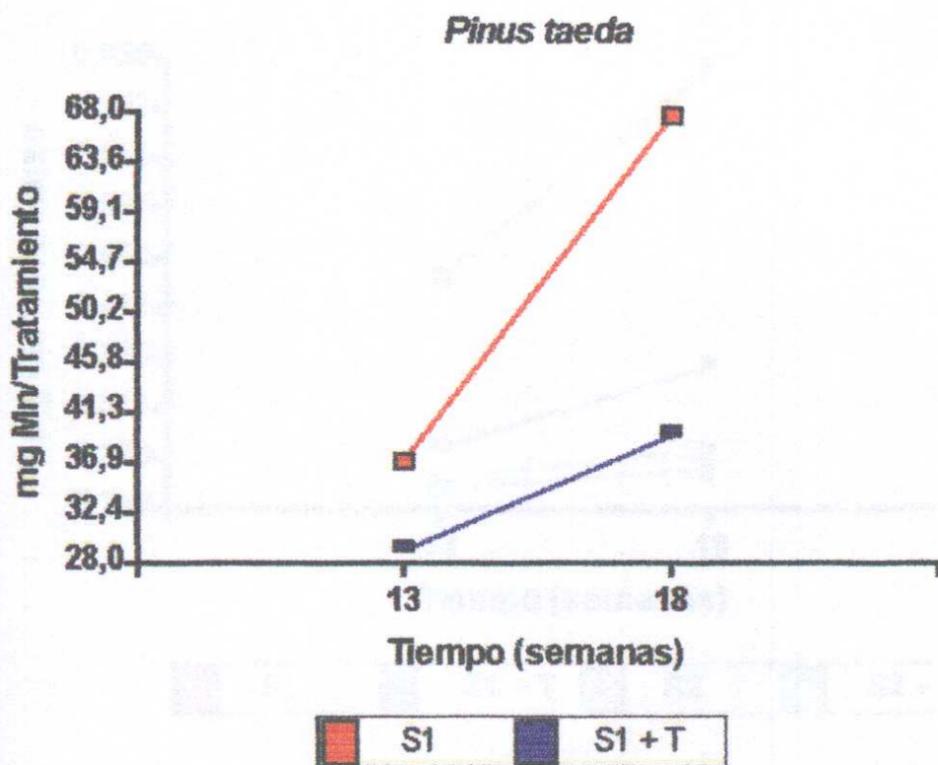
Gráfica N° 16: Concentraciones foliares de Magnesio en plantines de *Pinus taeda* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.



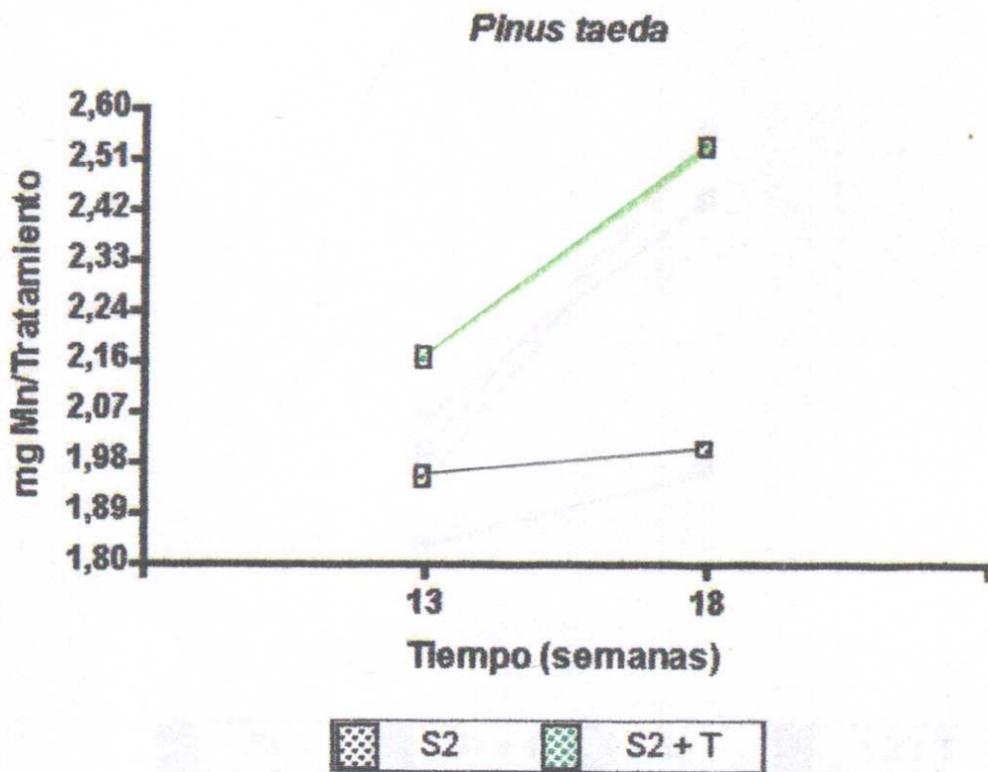
Gráfica N° 17: Concentraciones foliares de Hierro en plantines de *Pinus taeda* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.



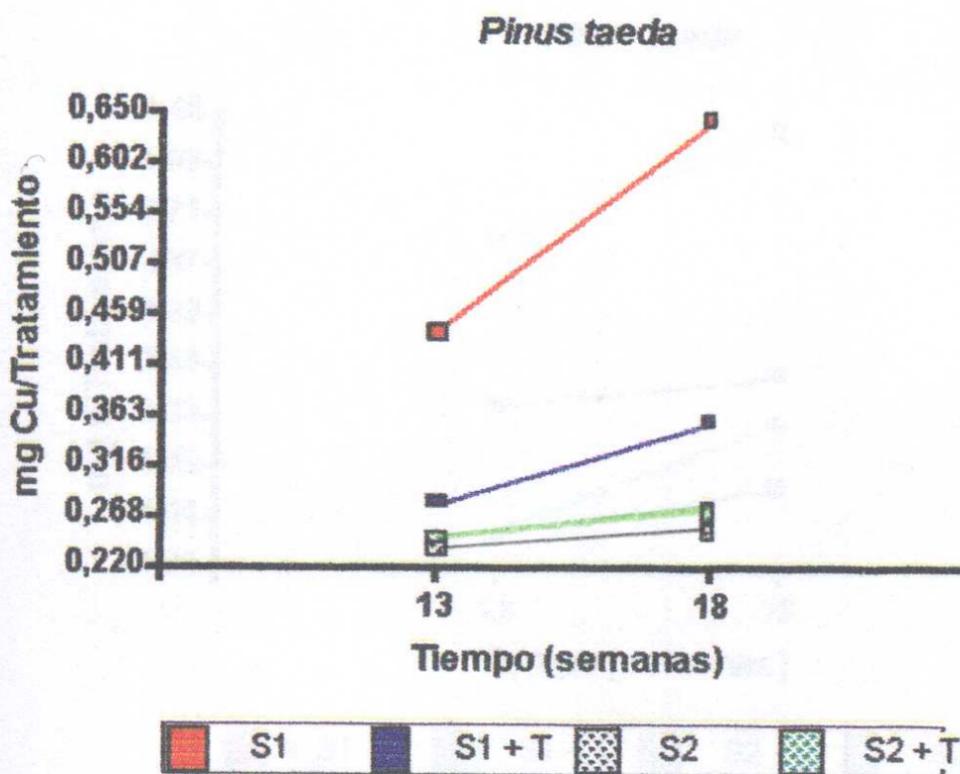
Gráfica N° 18: Concentraciones foliares de Manganeso en plantines de *Pinus taeda* creciendo en el sustrato (S₁) colonizado con *Trichoderma harzianum*.



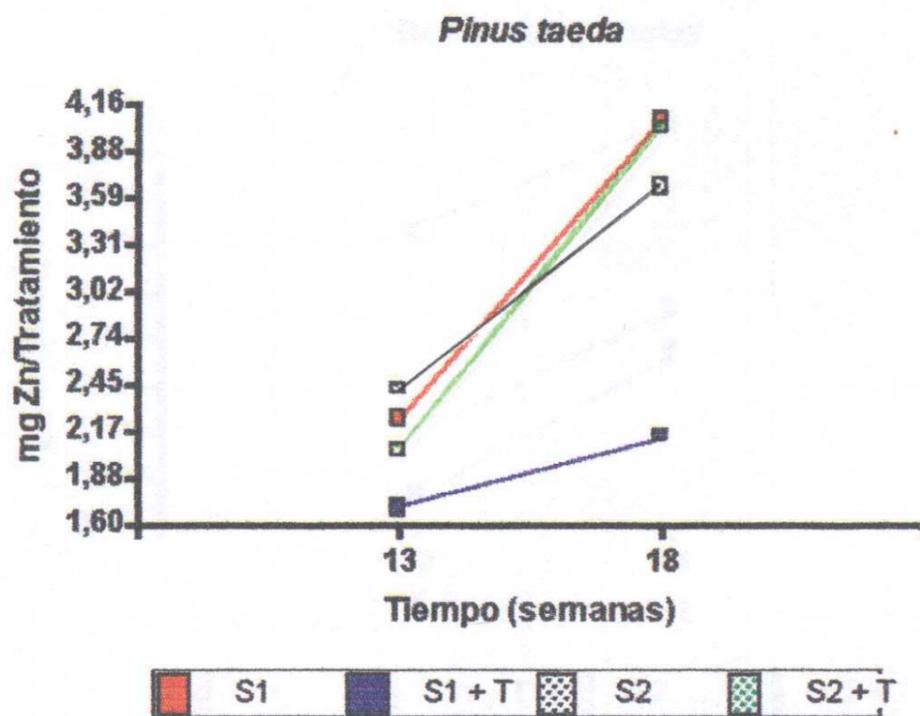
Gráfica N° 19: Concentraciones foliares de Manganeso en plantines de *Pinus taeda* creciendo en el sustrato (S₂) colonizado con *Trichoderma harzianum*.



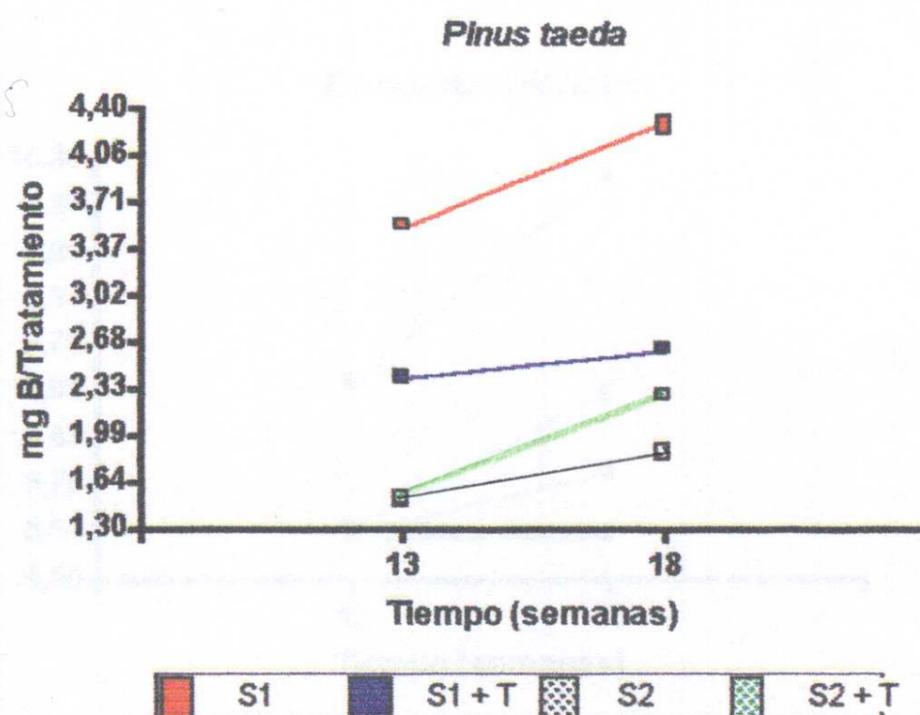
Gráfica N° 20: Concentraciones foliares de Cobre en plantines de *Pinus taeda* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.



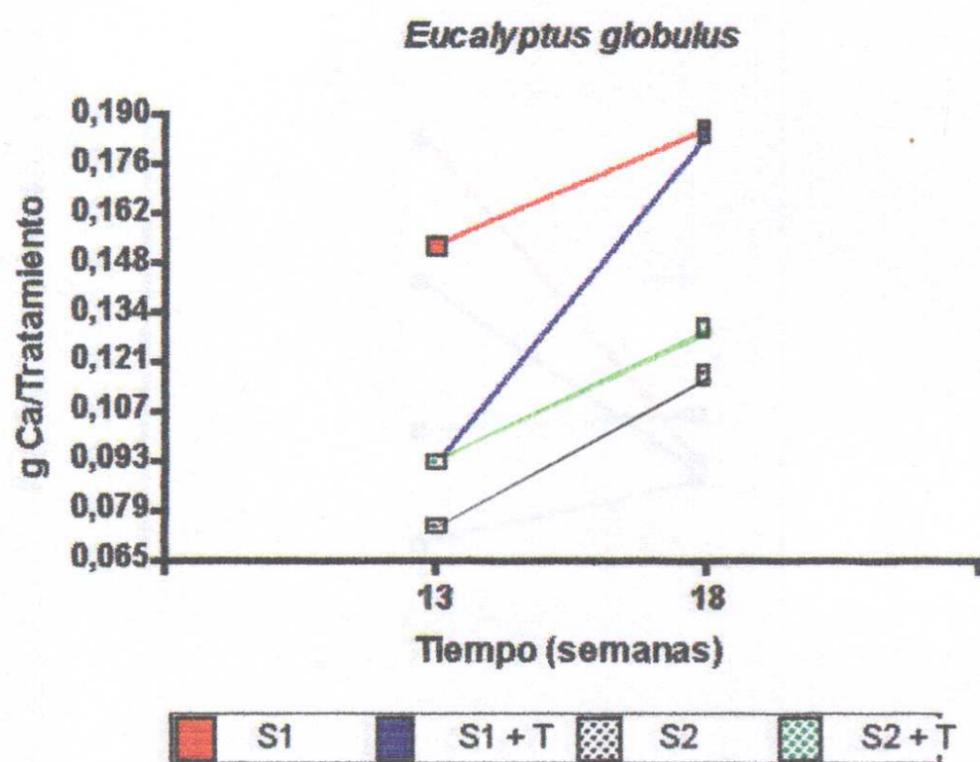
Gráfica N° 21: Concentraciones foliares de Zinc en plantines de *Pinus taeda* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.



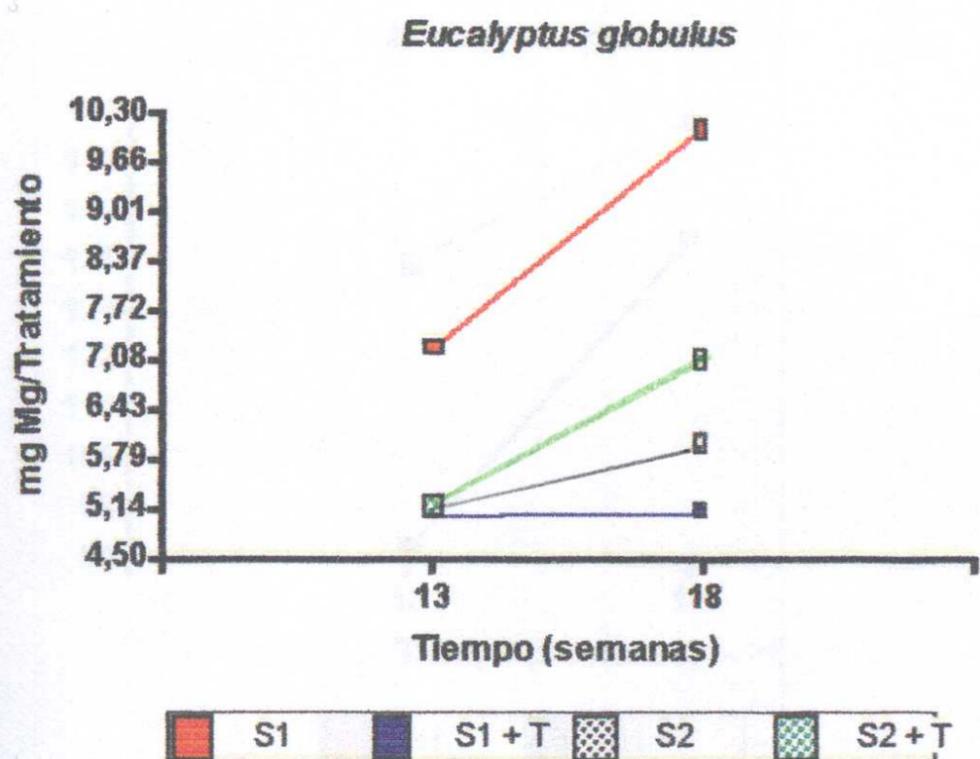
Gráfica N° 22: Concentraciones foliares de Boro en plantines de *Pinus taeda* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.



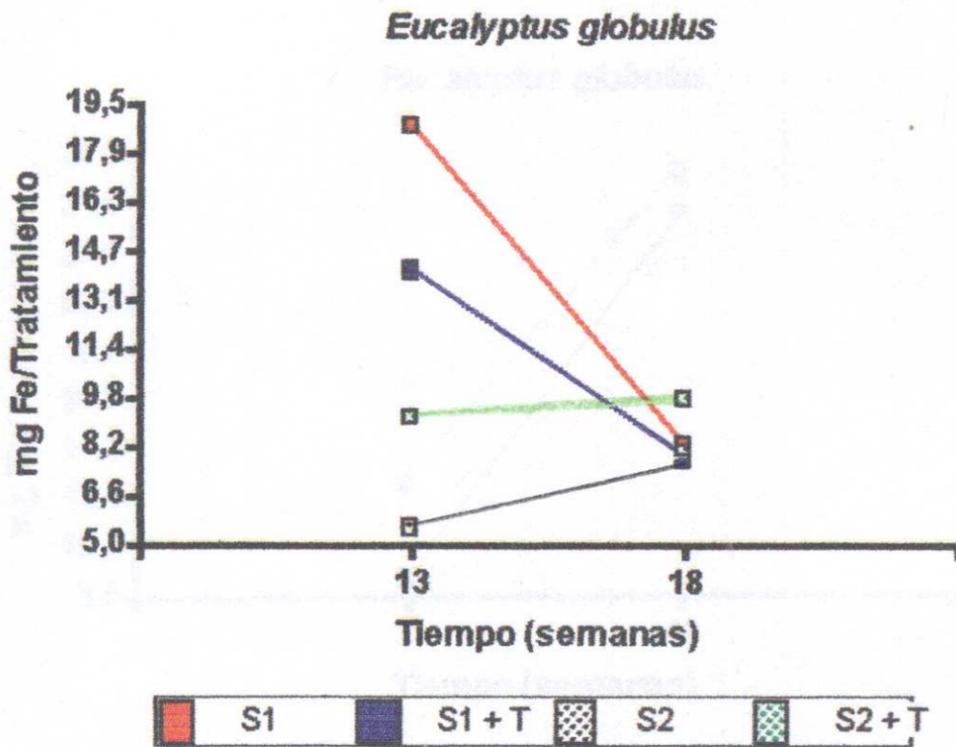
Gráfica N° 23: Concentraciones foliares de Calcio en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.



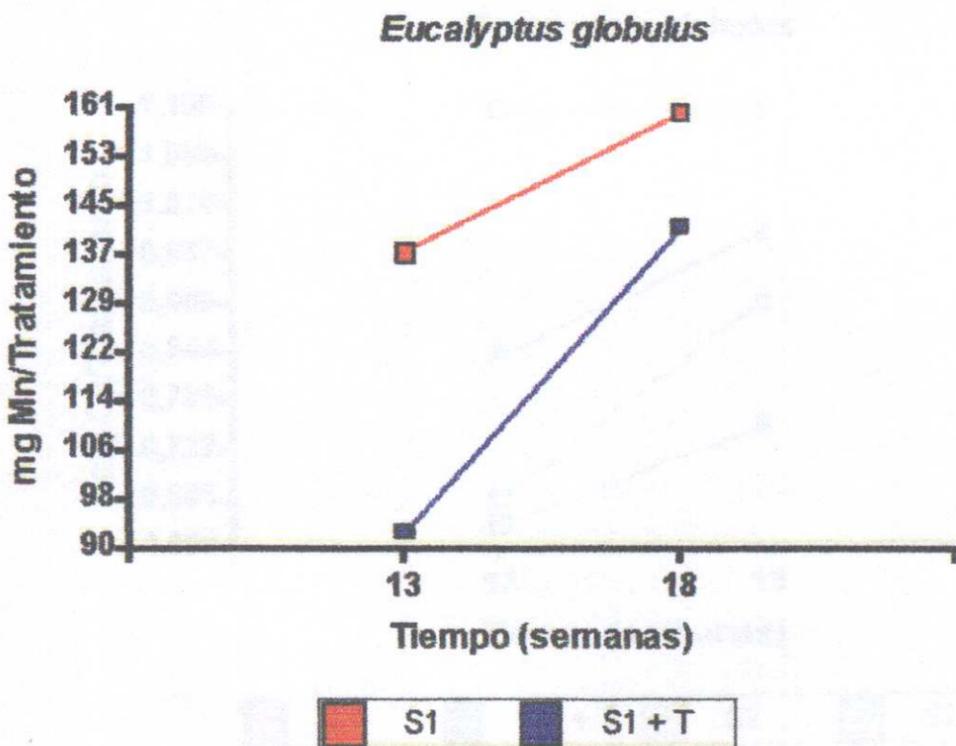
Gráfica N° 24: Concentraciones foliares de Magnesio en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.



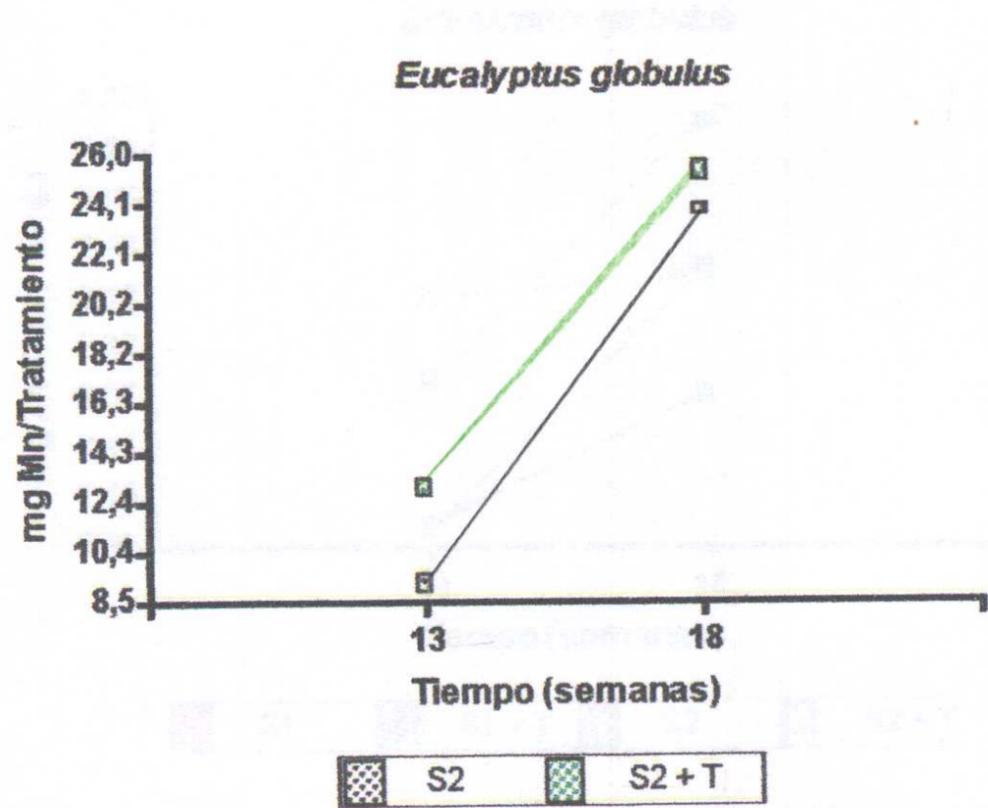
Gráfica N° 25: Concentraciones foliares de Hierro en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.



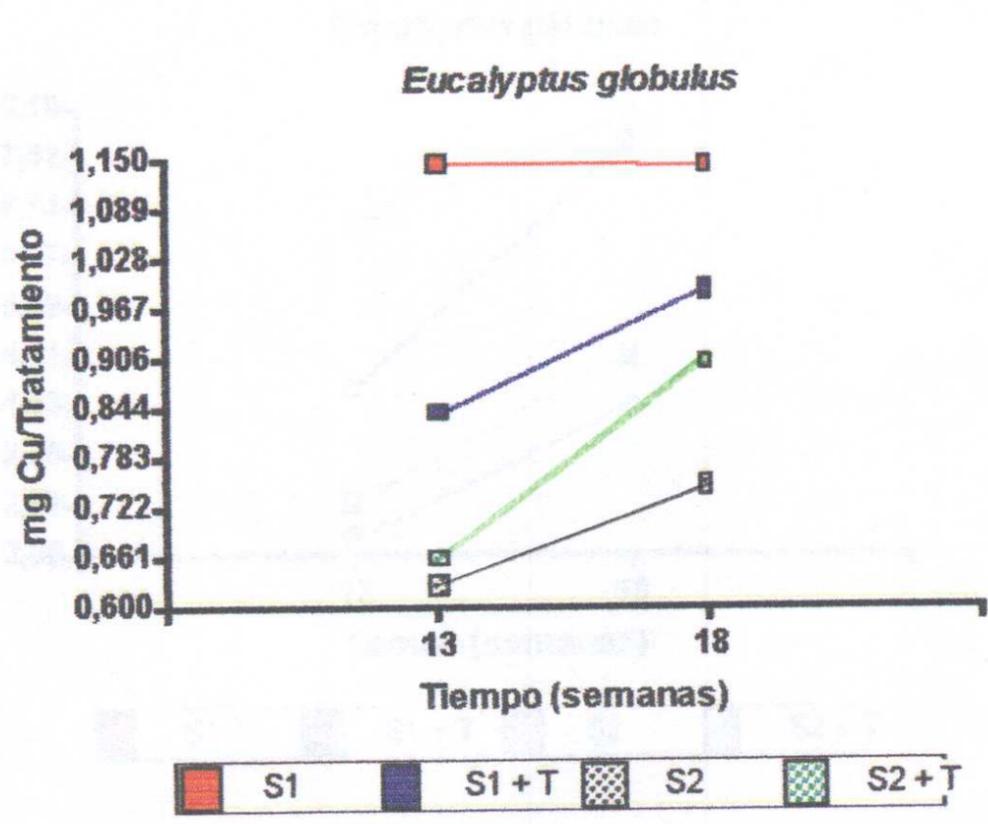
Gráfica N° 26: Concentraciones foliares de Manganeso en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en el sustrato (S₁) colonizado con *Trichoderma harzianum*.



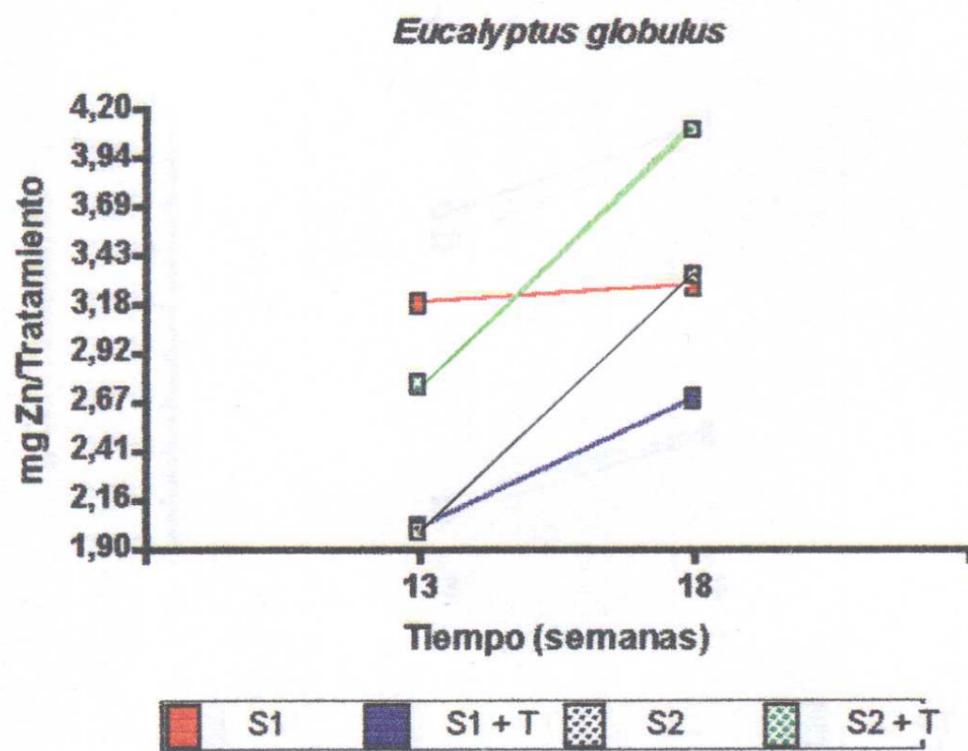
Gráfica N° 27: Concentraciones foliares de Manganeso en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en el sustrato (S₂) colonizado con *Trichoderma harzianum*.



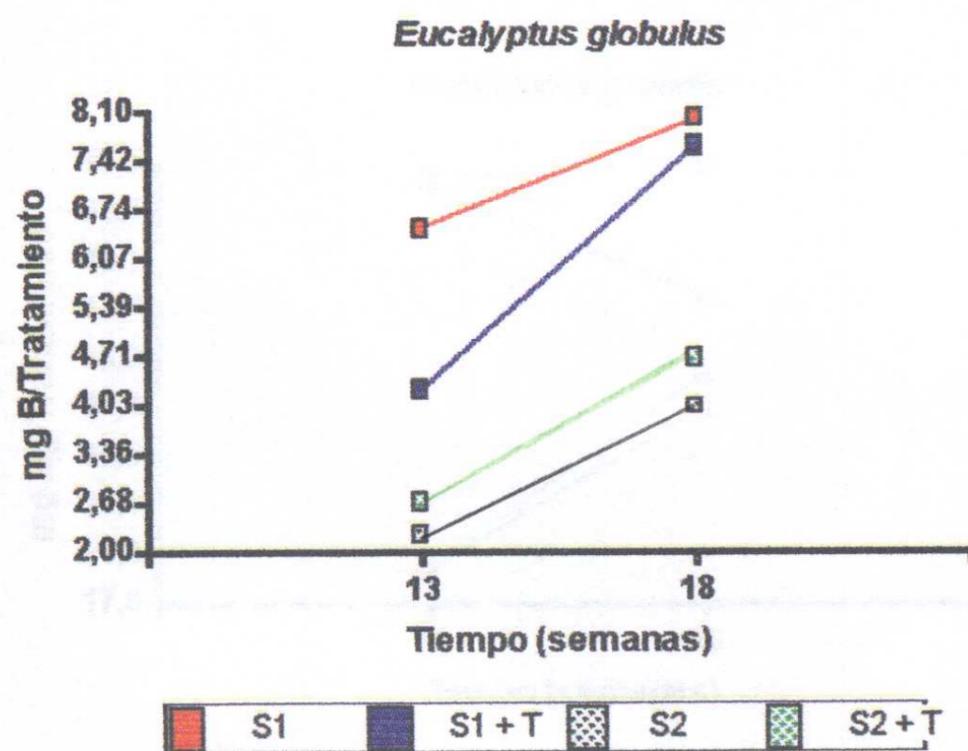
Gráfica N° 28: Concentraciones foliares de Cobre en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.



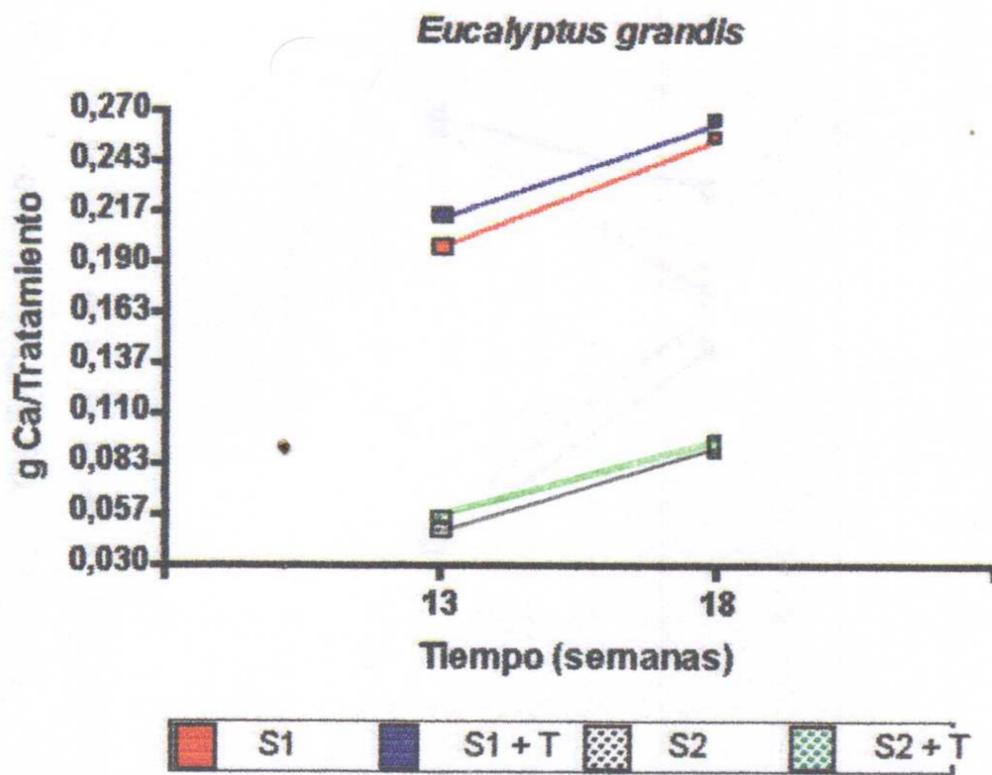
Gráfica N° 29: Concentraciones foliares de Zinc en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.



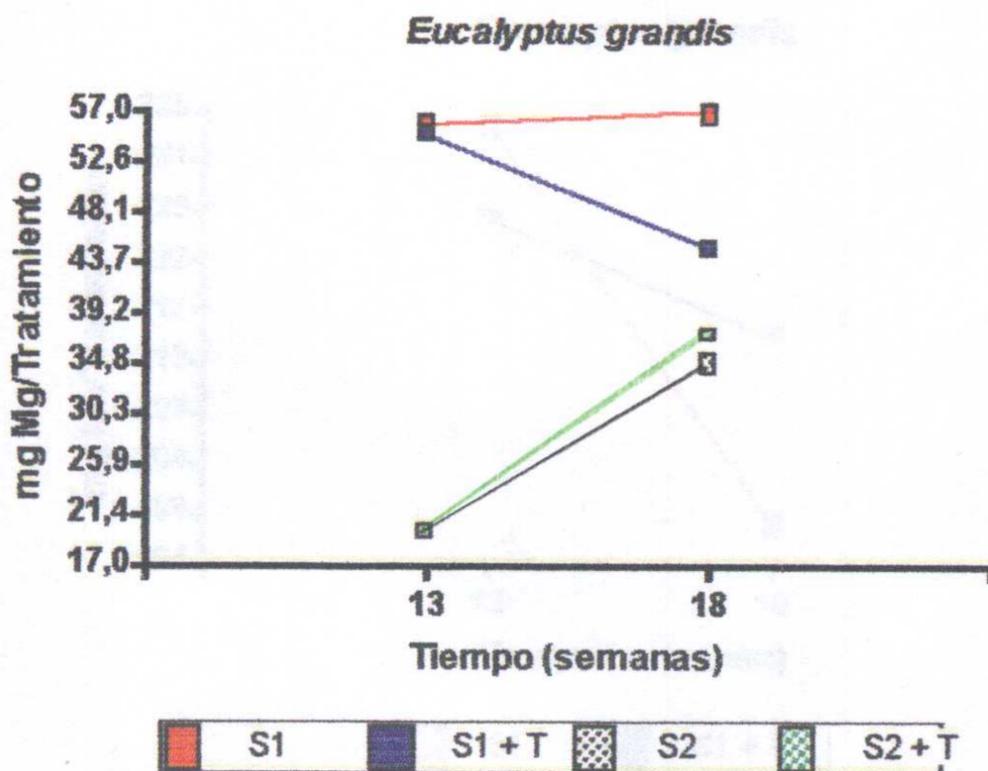
Gráfica N° 30: Concentraciones foliares de Boro en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.



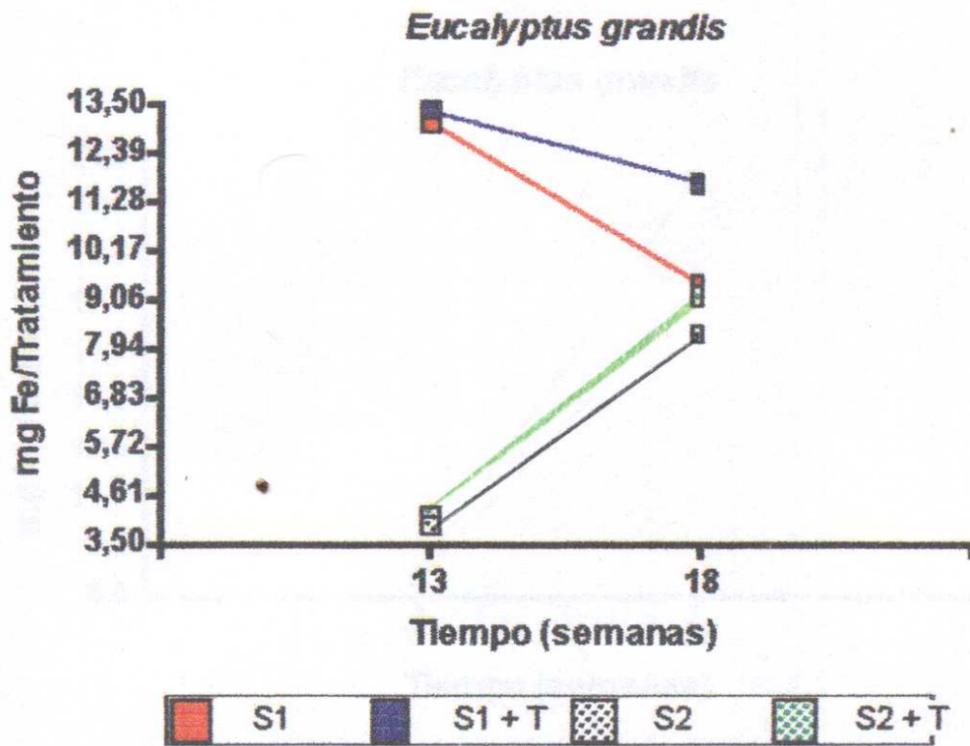
Gráfica N° 31: Concentraciones foliares de Calcio en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.



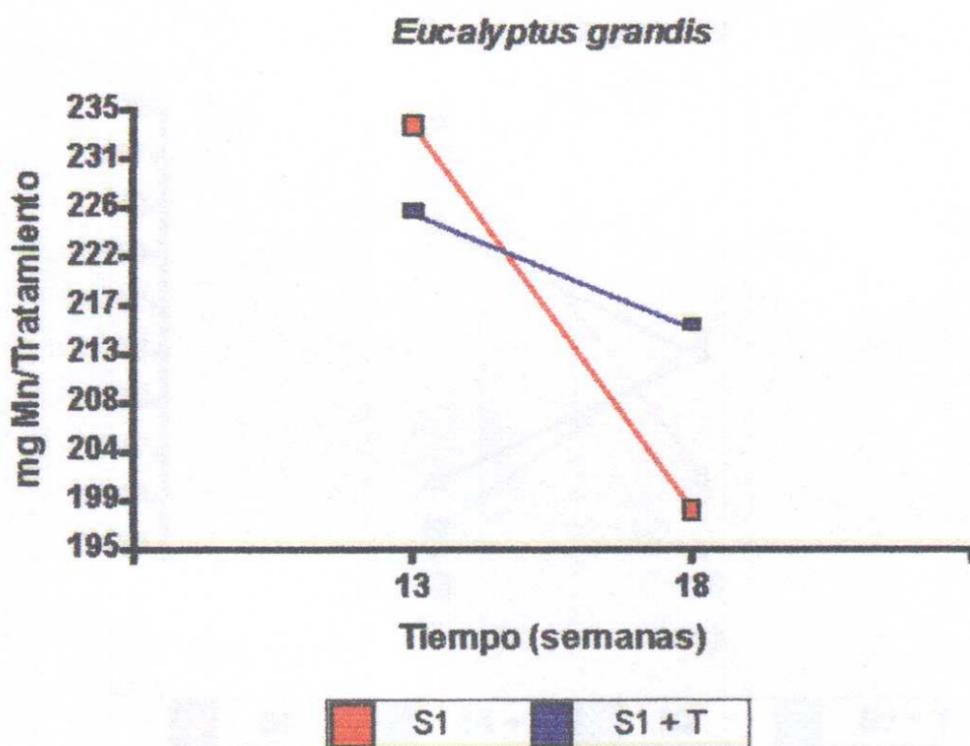
Gráfica N° 32: Concentraciones foliares de Magnesio en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.



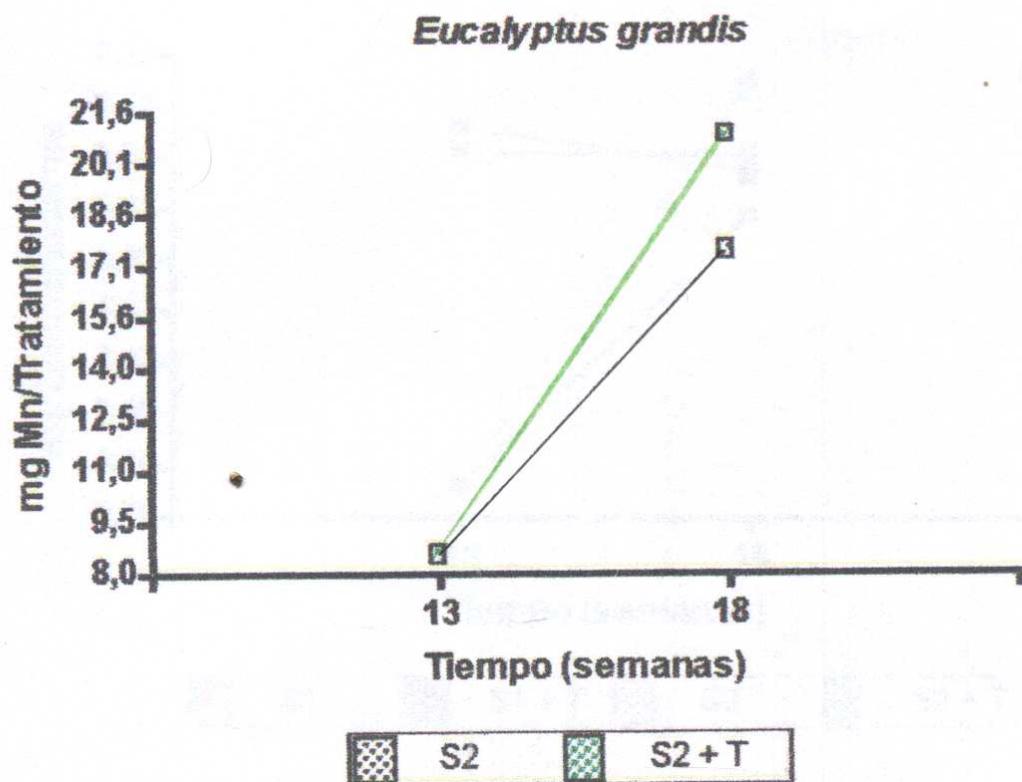
Gráfica N° 33: Concentraciones foliares de Hierro en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.



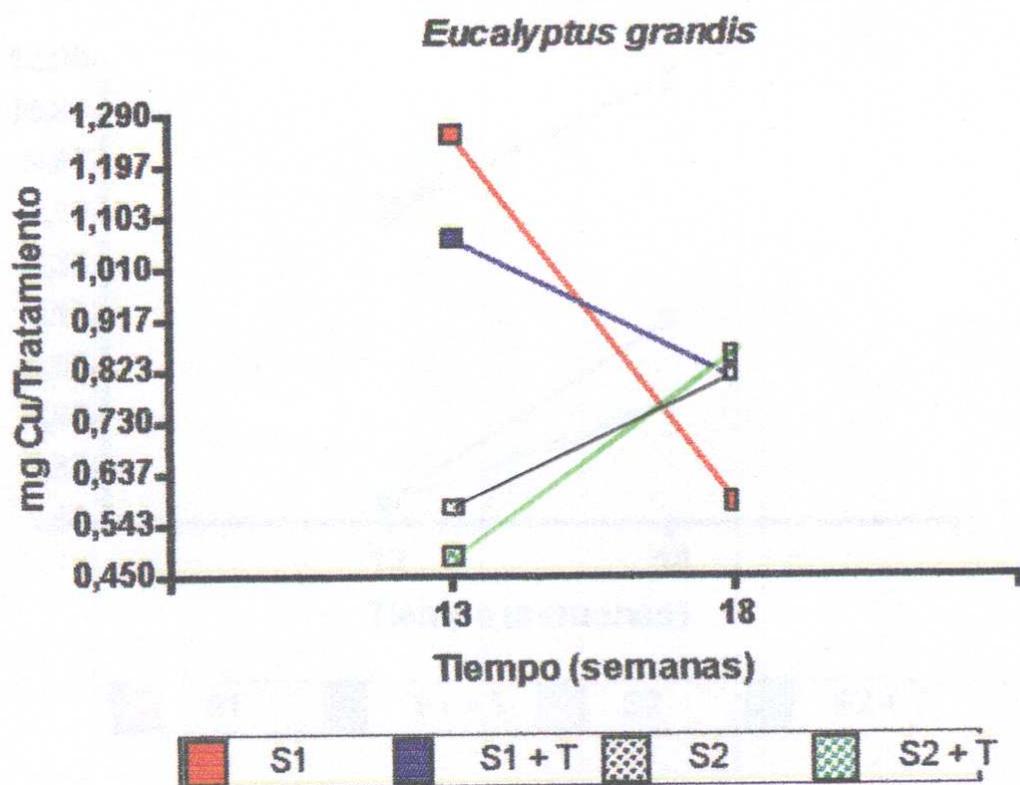
Gráfica N° 34: Concentraciones foliares de Manganeso en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en el sustrato (S₁) colonizado con *Trichoderma harzianum*.



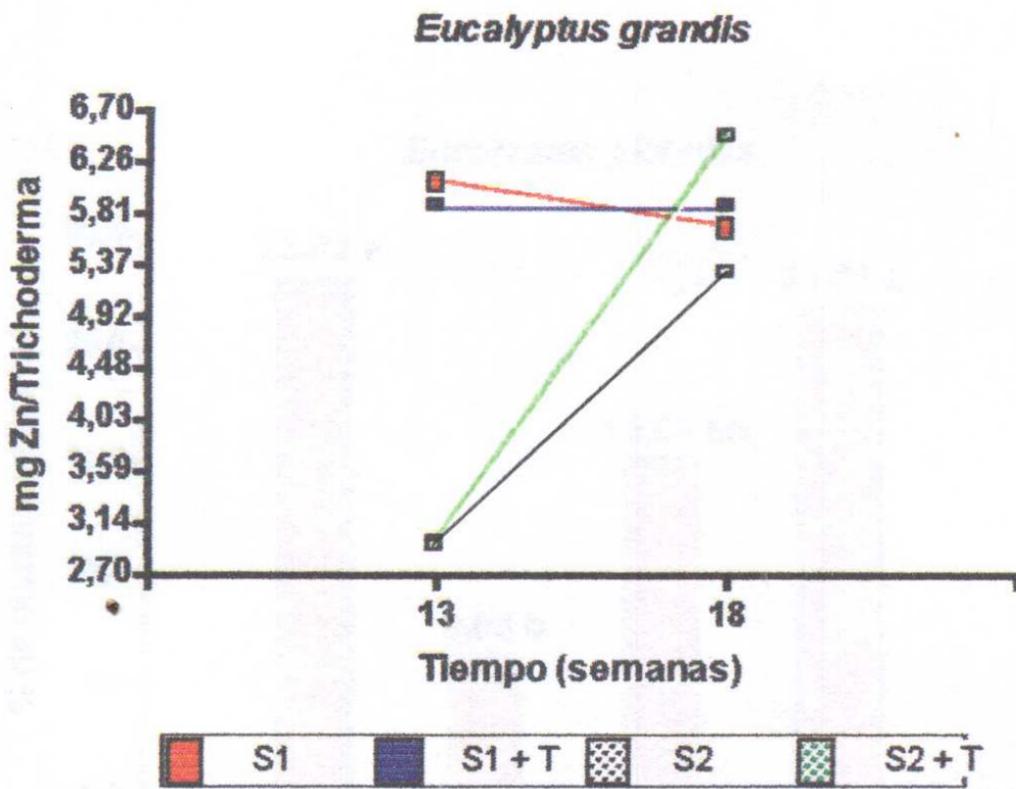
Gráfica N° 35: Concentraciones foliares de Manganeso en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en el sustrato (S₂) colonizado con *Trichoderma harzianum*.



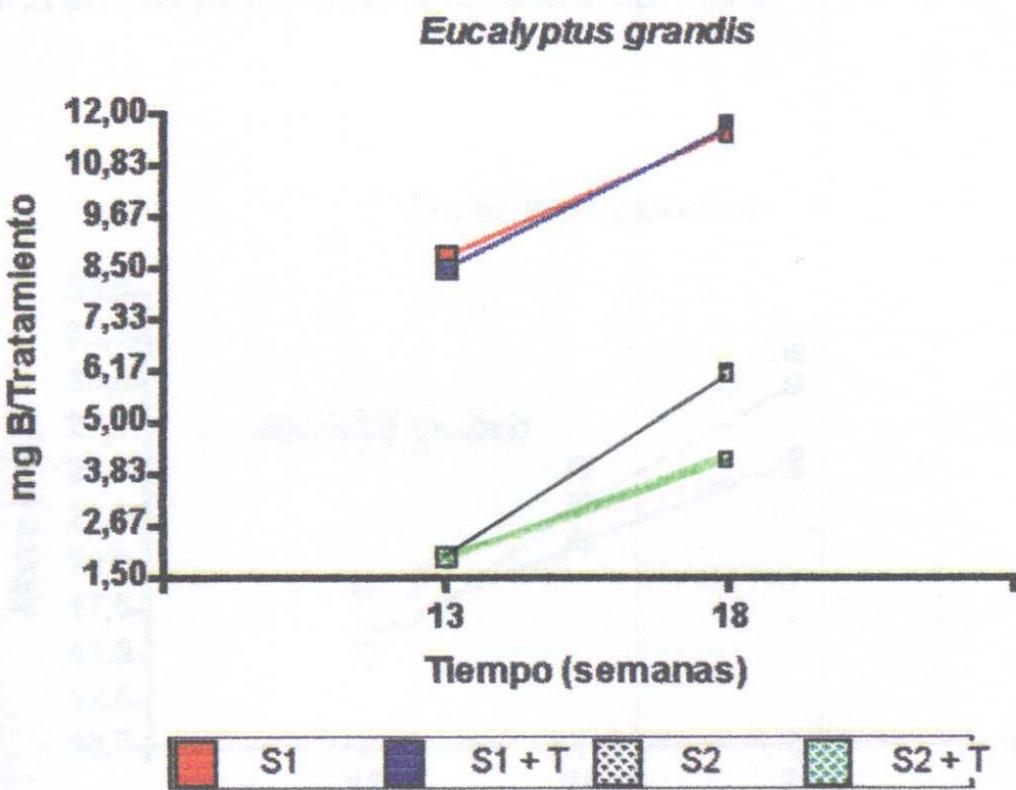
Gráfica N° 36: Concentraciones foliares de Cobre en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.



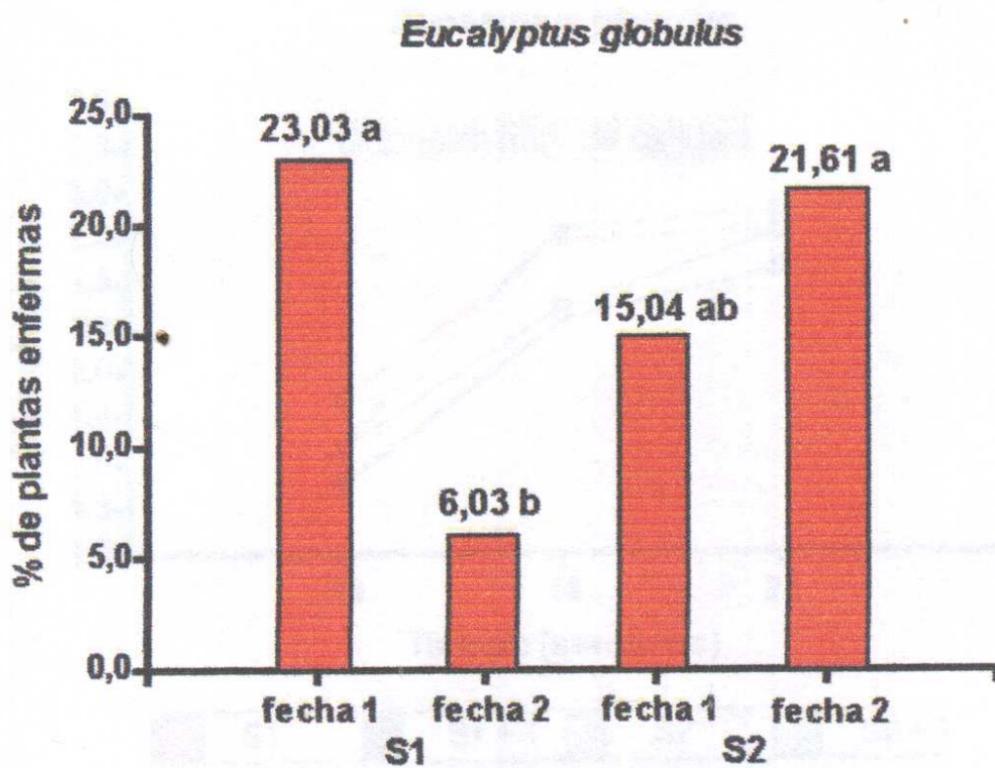
Gráfica N° 37: Concentraciones foliares de Zinc en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.



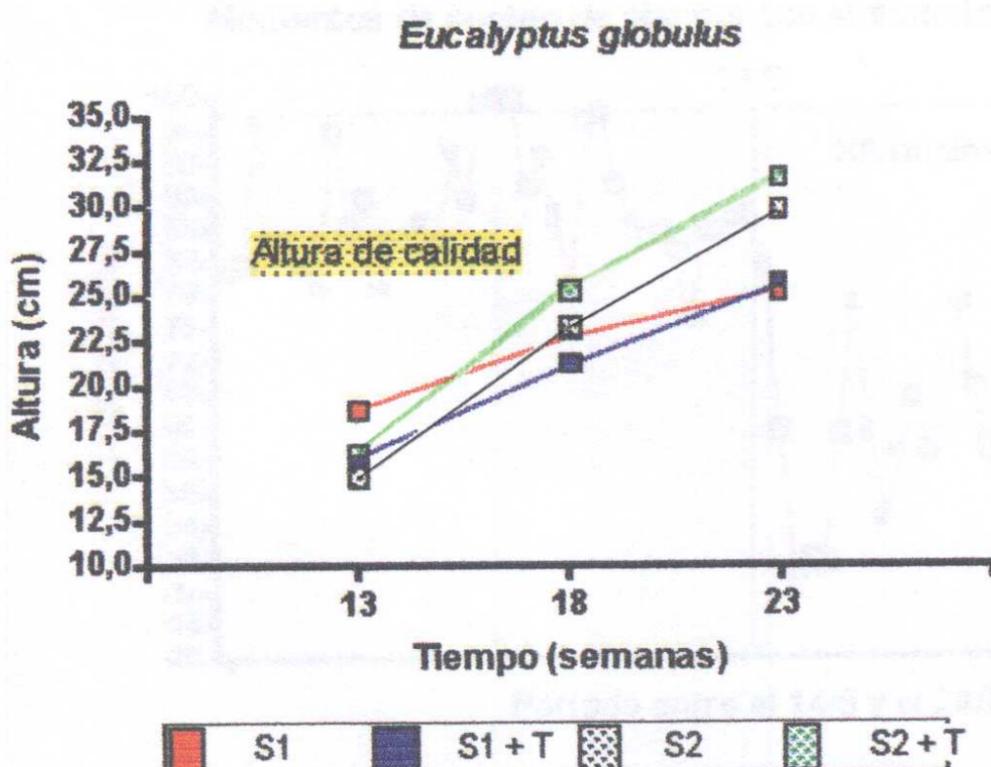
Gráfica N° 38: Concentraciones foliares de Boro en plantines de *Eucalyptus grandis* creciendo en dos sustratos colonizados con *Trichoderma harzianum*.



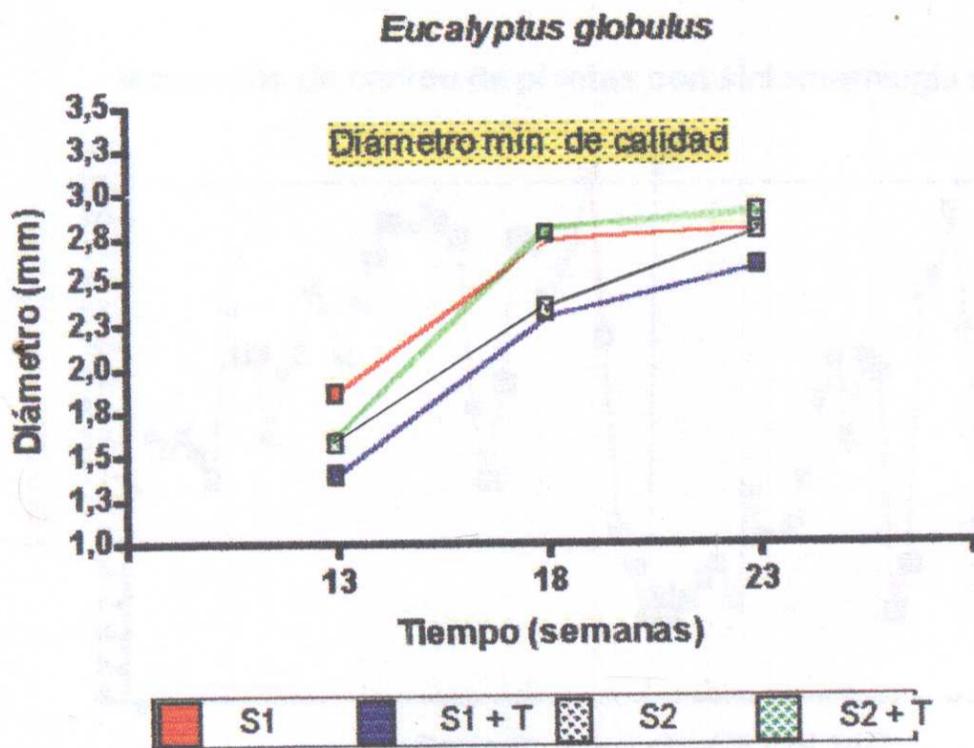
Gráfica N° 39: % de plantas con síntomas de moho gris (*Botrytis cinerea*) en plantines de *Eucalyptus globulus* creciendo en dos sustratos y en presencia de *Trichoderma harzianum*, comparando las dos fechas de muestreo (18 y 23 semanas de edad).



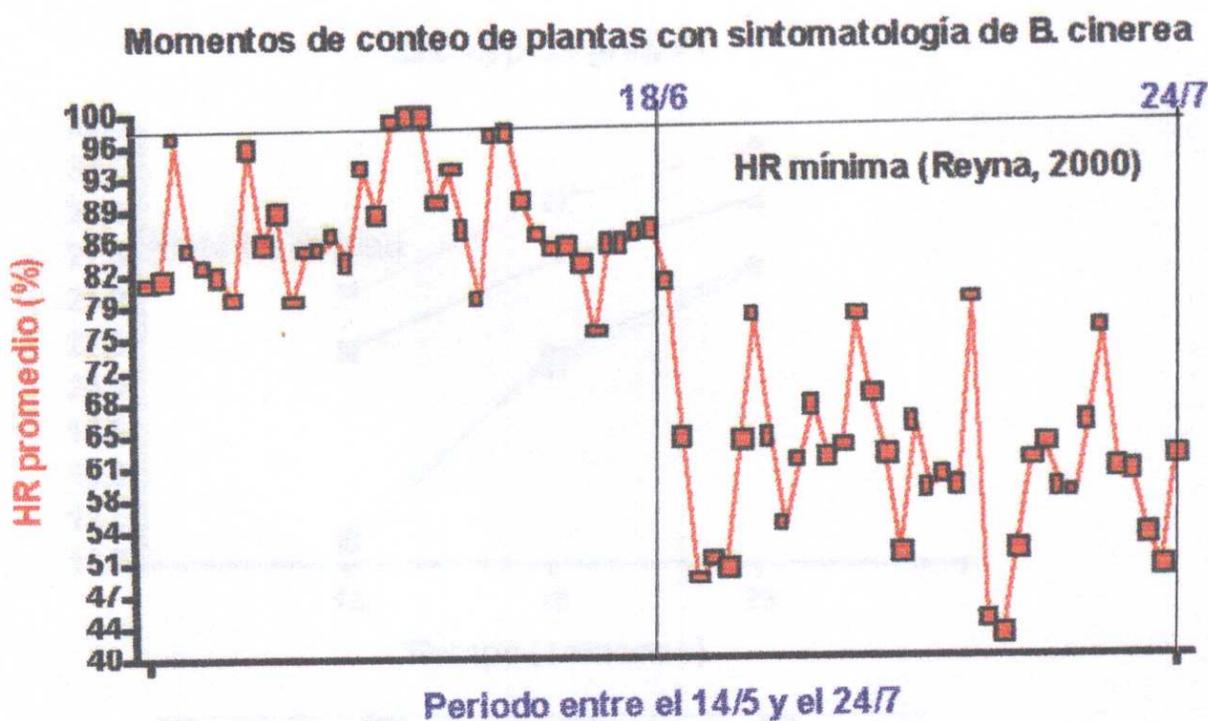
Gráfica N° 40: Evolución de la altura de plantines forestales de *E. globulus* creciendo en los dos sustratos (S_1 y S_2) colonizados o no con *Trichoderma harzianum* junto con altura de calidad.



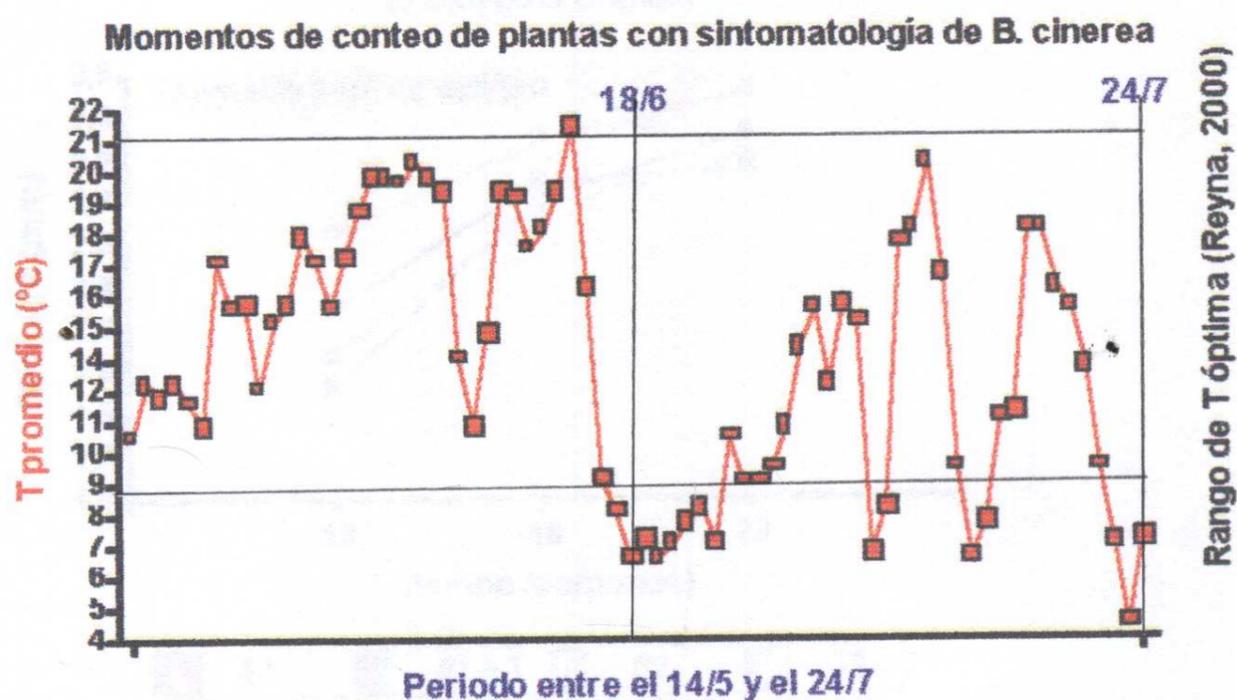
Gráfica N° 41: Evolución del diámetro de plantines forestales de *E. globulus* creciendo en los dos sustratos (S_1 y S_2) colonizados o no con *Trichoderma harzianum* junto al diámetro mínimo de calidad.



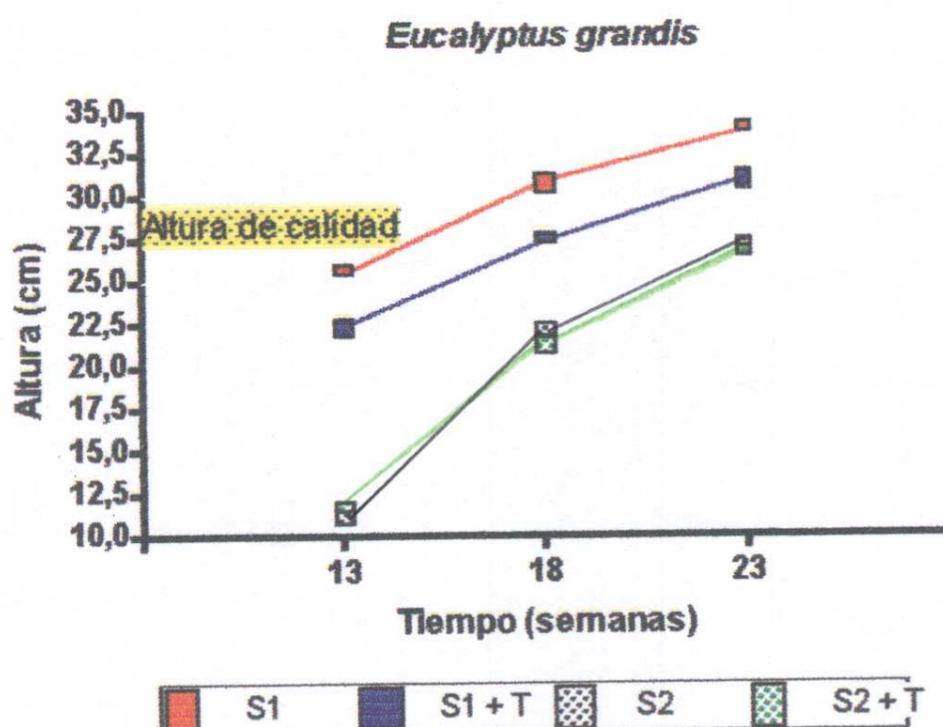
Gráfica N° 42: Valores de HR promedio (%) recopiladas por la estación meteorológica del vivero, en el periodo comprendido entre el 14/5/01 y el 23/7/01, mostrando los momentos de evaluación de plantas atacadas (18/6 y 24/7).



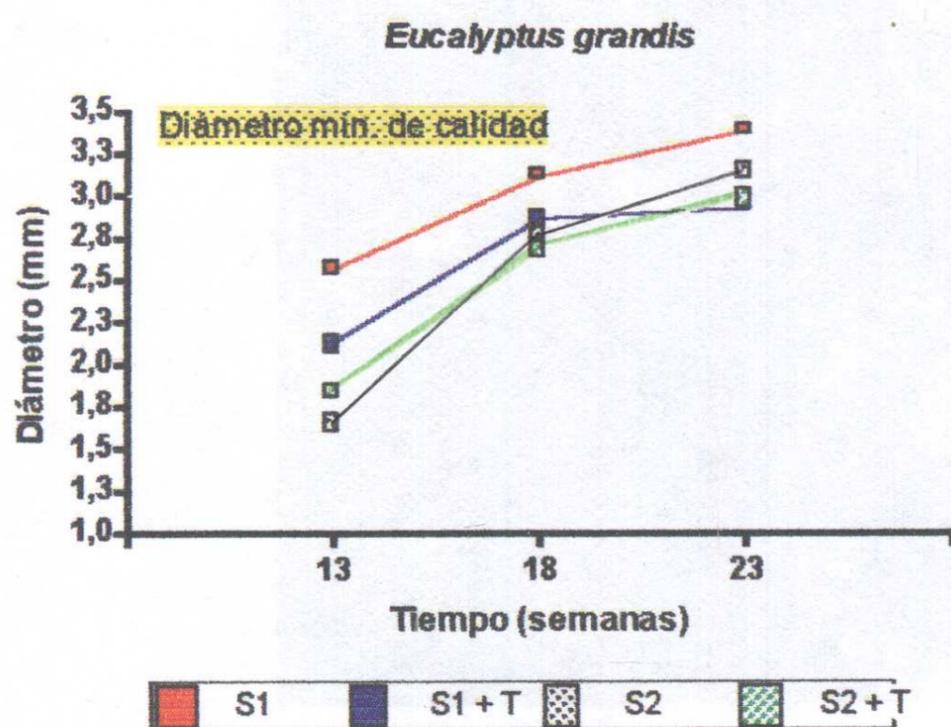
Gráfica N° 43: Valores de T promedio (°C) recopiladas por la estación meteorológica del vivero, en el periodo comprendido entre el 14/5/01 y el 23/7/01, mostrando los momentos de evaluación de plantas atacadas (18/6 y 24/7).



Gráfica N° 44: Evolución de la altura de plantines forestales de *E. grandis* creciendo en los dos sustratos (S_1 y S_2) colonizados o no con *Trichoderma harzianum* junto con altura de calidad.



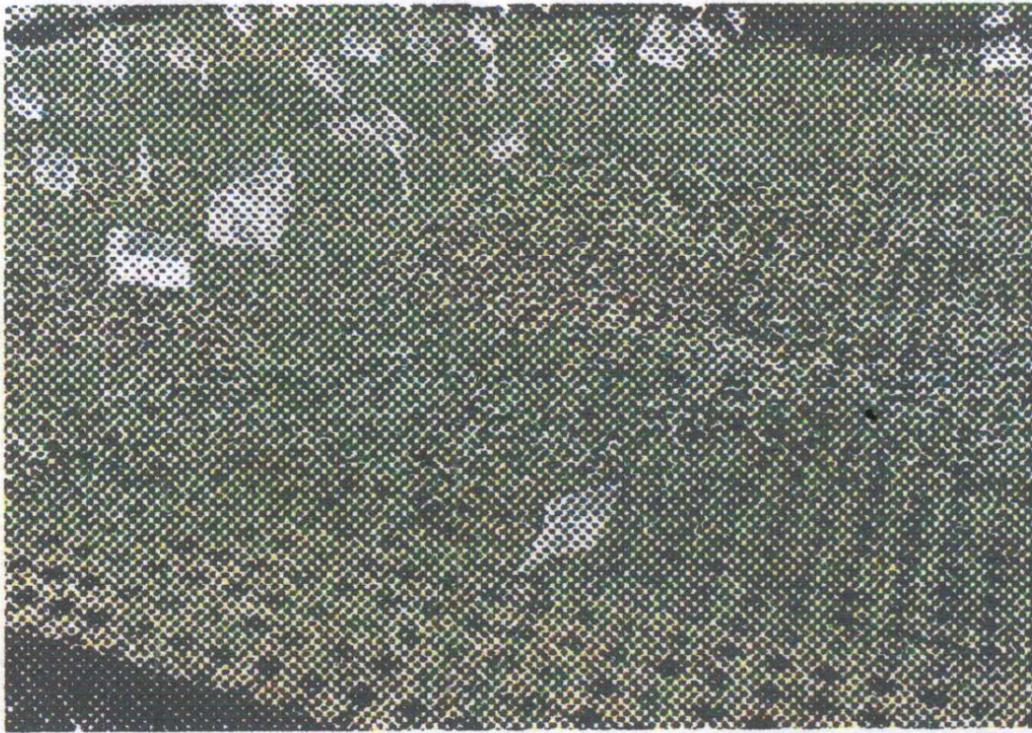
Gráfica N° 45: Evolución del diámetro de plantines forestales de *E. grandis* creciendo en los dos sustratos (S_1 y S_2) colonizados o no con *Trichoderma harzianum* junto al diámetro mínimo de calidad.



Fotografía N° 1: Cobertor de Trichoderma en un cultivo de maíz.
propagadas en el S. 1. 1. con Trichoderma.

ANEXO III

Fotografía N° 1: Vista general del ensayo al mes y medio de la siembra.



Fotografía N° 2: Plantines de *E. grandis*, extraídos para la evaluación del peso fresco y peso seco, y para análisis foliar.



Fotografía N° 3: Colonias de *Trichoderma* creciendo en medio de cultivo, provenientes del "Sustrato 1 con *Trichoderma*".



Fotografía N° 4: Sintomatología de ataque de *Botrytis* en plantines de *E. globulus*.



Fotografía N° 5: Sintomatología de ataque de *Botrytis* en plantines de *E. grandis*.



ANEXO IV

Parámetros morfológicos

Altura de la parte aérea

Datos de altura de Pinus taeda en el primer (semana 13), segundo (semana 18) y tercer (semana 23) muestreo.

TRATAMIENTOS	ALTURA		
	SEMANA 13	SEMANA 18	SEMANA 23
1	8,1	11,8	13,1
1	10,8	14,0	15,3
1	9,7	11,8	12,8
1	8,9	11,3	12,7
1	10,6	12,3	14,2
1	9,8	11,8	13,1
2	9,2	10,7	12,5
2	7,8	9,1	10,5
2	6,7	9,2	10,7
2	7,8	9,6	11,3
2	8,4	10,0	12,0
2	6,8	9,5	11,0
3	8,2	9,6	9,9
3	8,0	9,7	10,8
3	8,5	10,0	10,8
3	8,5	10,3	10,6
3	8,4	11,3	12,8
3	9,5	10,3	11,1
4	8,7	9,7	10,3
4	8,1	9,3	10,0
4	7,3	9,3	10,3
4	10,3	11,0	11,7
4	9,4	10,5	11,1
4	6,8	9,1	10,1

Análisis de varianza para la altura de *Pinus taeda* en el primer muestreo.

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	10,82	3	3,61	3,67	0,0295
SUST	0,35	1	0,35	0,36	0,557
TRICH	5,7	1	5,7	5,81	0,0257
SUST*TRICH	4,77	1	4,77	4,86	0,0394
Error	19,65	20	0,98		
Total	30,47	23			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 0,69784

Error: 0,9823 gl: 20

SUST	Medias	n	
L	8,48	12	A
C	8,72	12	A

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 0,69784

Error: 0,9823 gl: 20

TRICH	Medias	n	
si	8,11	12	A
no	9,08	12	B

* Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,10$)

Análisis de varianza para la altura de *Pinus taeda* en el segundo muestreo.

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	23,98	3	7,99	14,42	<0,0001
SUST	5,04	1	5,04	9,09	0,0068
TRICH	12,33	1	12,33	22,23	0,0001
SUST*TRICH	6,62	1	6,62	11,93	0,0025
Error	11,09	20	0,55		
Total	35,07	23			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 0,52432			
Error: 0,5545 gl: 20			
SUST	Medias	n	
L	10,01	12	A
C	10,93	12	B

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 0,52432			
Error: 0,5545 gl: 20			
TRICH	Medias	n	
si	9,75	12	A
no	11,18	12	B

* Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,10$)

Análisis de varianza para la altura de *Pinus taeda* en el tercer muestreo.

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	31,21	3	10,4	13,75	<0,0001
SUST	16,17	1	16,17	21,37	0,0002
TRICH	10,27	1	10,27	13,57	0,0015
SUST*TRICH	4,77	1	4,77	6,3	0,0208
Error	15,14	20	0,76		
Total	46,35	23			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 0,61252			
Error: 0,7568 gl: 20			
SUST	Medias	n	
L	10,79	12	A
C	12,43	12	B

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 0,61252			
Error: 0,7568 gl: 20			
TRICH	Medias	n	
si	10,96	12	A
no	12,27	12	B

* Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,10$)

Datos de altura de *Eucalyptus globulus* en el primer (semana 13), segundo (semana 18) y tercer (semana 23) muestreo.

TRATAMIENTOS	ALTURA		
	SEMANA 13	SEMANA 18	SEMANA 23
1	11,5	15,2	15,7
1	19,7	25,0	29,0
1	20,2	23,8	25,8
1	21,6	26,2	30,8
1	20,0	24,0	27,1
1	18,8	22,0	23,7
2	17,8	23,8	28,4
2	15,5	20,7	27,2
2	17,5	23,5	28,4
2	8,5	14,8	16,3
2	20,5	21,9	24,6
2	15,7	22,7	28,8
3	14,1	24,6	-
3	17,2	21,4	30,3
3	15,4	21,4	29,8
3	13,7	24,5	30,5
3	14,8	24,4	30,4
3	14,5	23,7	28,3
4	13,7	23,0	34,5
4	16,2	27,8	34,1
4	18,2	24,4	29,3
4	16,5	26,1	-
4	15,1	24,7	27,9
4	17,4	26,1	-

Análisis de varianza para la altura de *Eucalyptus globulus* en el primer muestreo.

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	44,21	3	14,74	1,75	0,1887
SUST	17,51	1	17,51	2,08	0,1645
TRICH	3,3	1	3,3	0,39	0,5381
SUST*TRICH	23,4	1	23,4	2,78	0,1109
Error	168,23	20	8,41		
Total	212,44	23			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 2,04208			
Error: 8,4112 gl: 20			
SUST	Medias	n	
L	15,57	12	A
C	17,28	12	A

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 2,04208			
Error: 8,4112 gl: 20			
TRICH	Medias	n	
si	16,05	12	A
no	16,79	12	A

* Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,10$)

Análisis de varianza para la altura de *Eucalyptus globulus* en el segundo muestreo.

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	52,5	3	17,5	2,2	0,1193
SUST	33,84	1	33,84	4,26	0,0522
TRICH	0,45	1	0,45	0,06	0,8135
SUST*TRICH	18,2	1	18,2	2,29	0,1457
Error	158,86	20	7,94		
Total	211,36	23			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 1,98444			
Error: 7,9431 gl: 20			
SUST	Medias	n	
C	21,97	12	A
L	24,34	12	B

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 1,98444			
Error: 7,9431 gl: 20			
TRICH	Medias	n	
no	23,02	12	A
si	23,29	12	A

* Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,10$)

Análisis de varianza para la altura de *Eucalyptus globulus* en el tercer muestreo.

F.V.	SC	GI	CM	F	Valor p
Modelo	138,72	3	46,24	2,66	0,0809
SUST	132,89	1	132,89	7,66	0,0132
TRICH	3,6	1	3,6	0,21	0,6547
SUST*TRICH	2,24	1	2,24	0,13	0,7241
Error	294,99	17	17,35		
Total	433,71	20			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 3,17897			
Error: 17,3521 gl: 17			
SUST	Medias	n	
C	25,48	12	A
L	30,66	9	B

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 3,16442			
Error: 17,3521 gl: 17			
TRICH	Medias	n	
no	27,61	11	A
si	28,53	10	A

* Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,10$)

Datos de altura de *Eucalyptus grandis* en el primer (semana 13), segundo (semana 18) y tercer (semana 23) muestreo.

TRATAMIENTOS	ALTURA		
	SEMANA 13	SEMANA 18	SEMANA 23
1	25,1	29,2	34,4
1	31,2	37,2	40,5
1	26,6	33,5	36,0
1	24,5	29,4	32,1
1	26,0	32,4	35,0
1	20,1	23,3	25,3
2	21,5	28,0	29,5
2	25,6	28,4	30,1
2	17,1	23,4	27,0
2	24,6	29,0	35,5

2	25,3	29,5	34,9
2	19,4	26,0	28,9
3	11,9	21,4	26,7
3	13,0	21,8	29,4
3	12,0	20,6	29,3
3	10,9	23,0	28,4
3	9,8	21,1	17,0
3	10,7	24,6	31,3
4	10,6	21,3	29,2
4	12,9	25,0	-
4	13,5	21,2	26,9
4	11,8	20,4	26,2
4	10,1	20,1	23,8
4	10,4	19,3	26,5

Análisis de varianza para la altura de *Eucalyptus grandis* en el primer muestreo.

F.V.	SC	GI	CM	F	Valor p
Modelo	963,43	3	321,14	45,24	<0,0001
SUST	930,02	1	930,02	131,02	<0,0001
TRICH	15,04	1	15,04	2,12	0,161
SUST*TRICH	18,38	1	18,38	2,59	0,1233
Error	141,97	20	7,1		
Total	1105,4	23			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 1,87595			
Error: 7,0983 gl: 20			
SUST	Medias	n	
L	11,47	12	A
C	23,92	12	B

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 1,87595			
Error: 7,0983 gl: 20			
TRICH	Medias	n	
si	16,9	12	A
no	18,48	12	A

* Letras distintas indican diferencias significativas (p<=0,10)

Análisis de varianza para la altura de *Eucalyptus grandis* en el segundo muestreo.

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	371,72	3	123,91	14,69	<0,0001
SUST	333,76	1	333,76	39,58	<0,0001
TRICH	27,95	1	27,95	3,31	0,0837
SUST*TRICH	10,01	1	10,01	1,19	0,2889
Error	168,66	20	8,43		
Total	540,38	23			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 2,04471			
Error: 8,4329 gl: 20			
SUST	Medias	n	
L	21,65	12	A
C	29,11	12	B
Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 2,04471			
Error: 8,4329 gl: 20			
TRICH	Medias	n	
si	24,3	12	A
no	26,46	12	B

*Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,10$)

Análisis de varianza para la altura de *Eucalyptus grandis* en el tercer muestreo.

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	208,62	3	69,54	3,98	0,0234
SUST	182,72	1	182,72	10,46	0,0044
TRICH	17,65	1	17,65	1,01	0,3275
SUST*TRICH	8,25	1	8,25	0,47	0,5003
Error	331,97	19	17,47		
Total	540,59	22			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 3,01560			
Error: 17,4723 gl: 19			
SUST	Medias	n	
L	26,77	11	A
C	32,43	12	B

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 3,01560			
Error: 17,4723 gl: 19			
TRICH	Medias	n	
si	28,75	11	A
no	30,45	12	A

* Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,10$)

Diámetro a la altura del cuello

Datos de diámetro a la altura del cuello de *Pinus taeda* en el primer (semana 13), segundo (semana 18) y tercer (semana 23) muestreo.

TRATAMIENTOS	DIÁMETRO		
	SEMANA 13	SEMANA 18	SEMANA 23
1	1,8	2,5	2,4
1	1,9	2,6	2,7
1	2,3	2,5	2,5
1	2,0	2,3	2,6
1	1,9	2,3	2,7
1	1,4	2,5	2,8
2	1,7	2,0	2,1
2	1,5	1,9	2,2
2	1,7	2,2	2,2
2	1,5	1,9	2,2
2	1,7	2,1	2,2
2	1,1	2,2	2,3
3	1,4	1,9	2,1
3	1,0	2,0	2,2
3	1,3	1,9	2,3
3	1,7	2,0	2,0
3	1,4	2,3	2,3
3	1,9	2,1	2,3
4	1,4	2,0	2,0
4	1,9	2,0	2,2
4	1,5	2,1	2,2
4	1,5	2,2	2,7
4	1,7	2,1	2,6
4	1,7	2,0	2,1

Análisis de varianza para el diámetro a la altura del cuello de *Pinus taeda* en el primer muestreo.

F.V	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	0,63	3	0,21	3,1	0,05
SUST	0,18	1	0,18	2,69	0,1165
TRICH	0,05	1	0,05	0,74	0,4003
SUST*TRICH	0,4	1	0,4	5,87	0,025
Error	1,37	20	0,07		
Total	2	23			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 0,18395			
Error: 0,0682 gl: 20			
SUST	Medias	n	
L	1,53	12	A
C	1,71	12	A

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 0,18395			
Error: 0,0682 gl: 20			
TRICH	Medias	n	
si	1,58	12	A
no	1,67	12	A

* Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,10$)

Análisis de varianza para el diámetro a la altura del cuello de *Pinus taeda* en el segundo muestreo.

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	0,74	3	0,25	16,19	<0,0001
SUST	0,26	1	0,26	16,99	0,0005
TRICH	0,2	1	0,2	13,26	0,0015
SUST*TRICH	0,28	1	0,28	18,31	0,0003
Error	0,32	21	0,02		
Total	1,06	24			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 0,08506			
Error: 0,0153 gl: 21			
SUST	Medias	n	
L	2,05	13	A
C	2,25	12	B

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 0,08506			
Error: 0,0153 gl: 21			
TRICH	Medias	n	
si	2,05	13	A
no	2,24	12	B

* Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,10$)

Análisis de varianza para el diámetro a la altura del cuello de *Pinus taeda* en el tercer muestreo.

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	0,73	3	0,24	7,44	0,0014
SUST	0,2	1	0,2	6,03	0,0229
TRICH	0,18	1	0,18	5,58	0,0279
SUST*TRICH	0,35	1	0,35	10,7	0,0036
Error	0,69	21	0,03		
Total	1,41	24			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 0,12440			
Error: 0,0326 gl: 21			
SUST	Medias	n	
L	2,23	13	A
C	2,41	12	B

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 0,12440			
Error: 0,0326 gl: 21			
TRICH	Medias	n	
si	2,23	13	A
no	2,41	12	B

* Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,10$)

Datos de diámetro a la altura del cuello de *Eucalyptus globulus* en el primer (semana 13), segundo (semana 18) y tercer (semana 23) muestreo.

TRATAMIENTOS	DIÁMETRO		
	SEMANA 13	SEMANA 18	SEMANA 23
1	2,0	2,0	2,3
1	2,3	3,0	2,9
1	2,3	3,0	3,1
1	1,5	3,0	3,0
1	1,3	3,0	2,9
1	1,8	2,4	2,6
2	1,4	2,3	2,5
2	1,5	2,4	2,8
2	2,0	2,5	2,6
2	1,0	1,8	2,1
2	1,5	2,8	3,0
2	1,0	2,0	2,5
3	1,5	2,1	-
3	1,9	2,0	2,2
3	2,0	2,4	2,9
3	1,0	2,5	3,0
3	1,3	2,7	3,0
3	1,8	2,4	2,9
4	1,0	2,7	3,0
4	2,0	3,1	3,0
4	1,5	2,5	2,8
4	1,8	2,7	-
4	1,7	2,6	2,8
4	1,5	3,0	-

Análisis de varianza para el diámetro a la altura del cuello de *Eucalyptus globulus* en el primer muestreo.

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	0,67	3	0,22	1,54	0,2346
SUST	0,02	1	0,02	0,1	0,7507
TRICH	0,33	1	0,33	2,26	0,1483
SUST*TRICH	0,33	1	0,33	2,26	0,1483
Error	2,89	20	0,14		
Total	3,56	23			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,05 DMS: 6,15635				
Error: 111,3429 gl: 40				
Sust	Medias	n		
C	6,48	24	A	
L	16,58	24	B	
Test : LSD Fisher Alfa: 0,05 DMS: 6,15635				
Error: 111,3429 gl: 40				
Trich	Medias	n		
Si	10,71	24	A	
No	12,35	24	A	
Test : LSD Fisher Alfa: 0,05 DMS: 6,15635				
Error: 111,3429 gl: 40				
Fecha	Medias	n		
fecha 1	9,35	24	A	
fecha 2	13,71	24	A	
Test : LSD Fisher Alfa: 0,05 DMS: 8,70639				
Error: 111,3429 gl: 40				
Sust	trich	Medias	n	
C	si	6,33	12	A
C	no	6,63	12	AB
L	si	15,09	12	BC
L	no	18,07	12	C
Test : LSD Fisher Alfa: 0,05 DMS: 8,70639				
Error: 111,3429 gl: 40				
Sust	fecha	Medias	n	
C	fecha 2	3,28	12	A
L	fecha 1	9,02	12	A
C	fecha 1	9,69	12	A
L	fecha 2	24,15	12	B
Test : LSD Fisher Alfa: 0,05 DMS: 8,70639				
Error: 111,3429 gl: 40				
Trich	fecha	Medias	n	
Si	fecha 1	7,47	12	A
No	fecha 1	11,24	12	A
No	fecha 2	13,47	12	A
Si	fecha 2	13,95	12	A

* Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 0,26766			
Error: 0,1445 gl: 20			
SUST	Medias	n	
L	1,58	12	A
C	1,63	12	A

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 0,26766			
Error: 0,1445 gl: 20			
TRICH	Medias	n	
si	1,49	12	A
no	1,73	12	A

* Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,10$)

Análisis de varianza para el diámetro a la altura del cuello de *Eucalyptus globulus* en el segundo muestreo.

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	1,09	3	0,36	3,34	0,0398
SUST	0,01	1	0,01	0,1	0,7605
TRICH	0,00042	1	0,00042	0,0038	0,9513
SUST*TRICH	1,08	1	1,08	9,94	0,005
Error	2,18	20	0,11		
Total	3,28	23			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 0,23255			
Error: 0,1091 gl: 20			
SUST	Medias	n	
C	2,52	12	A
L	2,56	12	A

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 0,23255			
Error: 0,1091 gl: 20			
TRICH	Medias	n	
Si	2,53	12	A
No	2,54	12	A

* Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,10$)

Análisis de varianza para el diámetro a la altura del cuello de *Eucalyptus globulus* en el tercer muestreo.

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	0,28	3	0,09	1,14	0,3615
SUST	0,12	1	0,12	1,45	0,2452
TRICH	0,04	1	0,04	0,42	0,5241
SUST*TRICH	0,13	1	0,13	1,55	0,2307
Error	1,41	17	0,08		
Total	1,69	20			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 0,21965			
Error: 0,0828 gl: 17			
SUST	Medias	n	
C	2,69	12	A
L	2,85	9	A

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 0,21865			
Error: 0,0828 gl: 17			
TRICH	Medias	n	
si	2,74	10	A
no	2,8	11	A

* Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,10$)

Datos de diámetro a la altura del cuello de *Eucalyptus grandis* en el primer (semana 13), segundo (semana 18) y tercer (semana 23) muestreo.

TRATAMIENTOS	DIÁMETRO		
	SEMANA 13	SEMANA 18	SEMANA 23
1	2,8	3,1	3,6
1	3,0	3,6	3,8
1	3,0	3,2	3,8
1	2,0	3,0	2,8
1	2,3	3,0	3,3
1	2,3	2,8	3,0
2	2,0	3,1	3,1
2	2,0	2,7	3,0

2	2,2	2,9	2,8
2	2,1	3,0	3,0
2	2,8	3,0	3,0
2	1,7	2,5	2,6
3	2,0	2,9	3,1
3	2,0	2,9	3,3
3	2,5	3,0	3,1
3	1,0	2,8	3,3
3	1,0	2,4	2,8
3	1,5	2,6	3,3
4	2,5	2,9	3,2
4	2,0	2,8	-
4	1,6	2,6	3,1
4	1,8	2,8	2,9
4	1,3	2,6	2,5
4	1,8	2,4	3,3

Análisis de varianza para el diámetro a la altura del cuello de *Eucalyptus grandis* en el primer muestreo.

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	2,81	3	0,94	4,44	0,0151
SUST	2,16	1	2,16	10,25	0,0045
TRICH	0,11	1	0,11	0,51	0,4849
SUST*TRICH	0,54	1	0,54	2,56	0,125
Error	4,21	20	0,21		
Total	7,02	23			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 0,32318

Error: 0,2107 gl: 20

SUST	Medias	n	
L	1,75	12	A
C	2,35	12	B

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 0,32318

Error: 0,2107 gl: 20

TRICH	Medias	n	
Si	1,98	12	A
No	2,12	12	A

* Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,10$)

Análisis de varianza para el diámetro a la altura del cuello de *Eucalyptus grandis* en el segundo muestreo.

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	0,64	3	0,21	4,06	0,021
SUST	0,43	1	0,43	8,18	0,0097
TRICH	0,17	1	0,17	3,19	0,089
SUST*TRICH	0,04	1	0,04	0,8	0,3821
Error	1,04	20	0,05		
Total	1,68	23			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 0,16082			
Error: 0,0522 gl: 20			
SUST	Medias	n	
L	2,73	12	A
C	2,99	12	B
Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 0,16082			
Error: 0,0522 gl: 20			
TRICH	Medias	n	
si	2,78	12	A
no	2,94	12	B

* Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,10$)

Análisis de varianza para el diámetro a la altura del cuello de *Eucalyptus grandis* en el tercer muestreo.

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	0,74	3	0,25	2,84	0,0652
SUST	0,03	1	0,03	0,31	0,586
TRICH	0,57	1	0,57	6,57	0,019
SUST*TRICH	0,14	1	0,14	1,65	0,2147
Error	1,65	19	0,09		
Total	2,39	22			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 0,21271			
Error: 0,0869 gl: 19			
SUST	Medias	n	
L	3,08	11	A
C	3,15	12	A
Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 0,21271			
Error: 0,0869 gl: 19			
TRICH	Medias	n	
si	2,96	11	A
no	3,27	12	B

* Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,10$)

Sanidad de plantines

Emergencia de plantines

Datos de emergencia de Pinus taeda (1 mes).

TRATAMIENTOS	EMERGENCIA (%)
1	83,3
1	74,3
1	81,3
1	80,6
1	81,3
1	86,8
2	88,9
2	83,3
2	88,9
2	83,3
2	86,8
2	91
3	82,6
3	76,4
3	80,6
3	90,3
3	80,6
3	82,6
4	78,5
4	84
4	92,4
4	82,6
4	87,5
4	85,4

Análisis de varianza para el % de emergencia al mes de *Pinus taeda*.

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
SUST	1,65	1	1,65	0,09	0,7614
TRICH	112,23	1	112,23	6,43	0,0197
SUST*TRICH	12,47	1	12,47	0,71	0,408
Error	349,21	20	17,46		
Total	475,57	23			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 2,94218			
Error: 17,4604 gl: 20			
Sust	Medias	n	
2	83,63	12	A
1	84,15	12	A

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 2,94218			
Error: 17,4604 gl: 20			
Tricho	Medias	n	
no	81,73	12	A
si	86,05	12	B

*Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,10$)

Datos de emergencia de *Eucalyptus globulus* (1 mes).

TRATAMIENTOS	EMERGENCIA (%)
1	94,4
1	87,5
1	79,2
1	80,6
1	86,1
1	80,6
2	79,2
2	70,8
2	95,8
2	94,4
2	86,1
2	86,1
3	94,4
3	90,3
3	90,3
3	84,7

3	77,8
3	88,9
4	90,3
4	91,7
4	79,2
4	95,8
4	87,5
4	94,4

Análisis de varianza para el % de emergencia al mes de *Eucalyptus globulus*.

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
SUST	82,51	1	82,51	1,73	0,2036
TRICH	11,34	1	11,34	0,24	0,6313
SUST*TRICH	3,01	1	3,01	0,06	0,8043
Error	955,02	20	47,75		
Total	1051,88	23			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 4,86556			
Error: 47,7508 gl: 20			
Sust	Medias	n	
1	85,07	12	A
2	88,78	12	A

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 4,86556			
Error: 47,7508 gl: 20			
Tricho	Medias	n	
no	86,23	12	A
si	87,61	12	A

*Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,10$)

Datos de emergencia de *Eucalyptus grandis* (1 mes).

TRATAMIENTOS	EMERGENCIA (%)
1	88,9
1	97,2
1	90,3
1	95,8
1	84,7
1	87,5

2	80,6
2	77,8
2	90,3
2	80,6
2	87,5
2	81,9
3	79,2
3	90,3
3	95,8
3	97,2
3	84,7
3	84,7
4	90,3
4	90,3
4	77,8
4	94,4
4	87,5
4	72,2

Análisis de varianza para el % de emergencia al mes de *Eucalyptus grandis*.

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
SUST	0,07	1	0,07	0,0017	0,9678
TRICH	176,58	1	176,58	4,18	0,0542
SUST*TRICH	28,82	1	28,82	0,68	0,4183
Error	844,01	20	42,2		
Total	1049,48	23			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 4,57404

Error: 42,2002 gl: 20

Sust	Medias	n	
1	86,93	12	A
2	87,03	12	A

Test : LSD Fisher Alfa: 0,10 DMS: 4,57404

Error: 42,2002 gl: 20

Tricho	Medias	n	
si	84,27	12	A
no	89,69	12	B

*Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,10$)

Porcentaje de plantas con síntomas de moho gris (Botrytis cinerea)

Porcentajes de plantas de *Eucalyptus globulus* con síntomas de ataque.

TRATAMIENTOS	% DE ATAQUE	
	SEMANA 18	SEMANA 23
1	38,24	11,76
1	25,40	4,76
1	15,79	5,26
1	25,86	0,00
1	0,00	1,61
1	41,38	3,45
2	28,07	5,26
2	9,80	5,88
2	0,00	0,00
2	51,47	11,76
2	29,03	8,06
2	11,29	14,52
3	11,76	44,12
3	13,85	18,46
3	9,23	0,00
3	21,31	40,98
3	16,07	32,14
3	14,06	12,50
4	10,77	27,69
4	12,12	12,12
4	17,54	19,30
4	26,09	23,19
4	15,87	11,11
4	11,76	17,65

Análisis de varianza para el % de plantas de *Eucalyptus globulus* con síntomas de ataque en el primer muestreo.

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	412,47	3	137,49	0,89	0,4651
SUST	3,48	1	3,48	0,02	0,8824
TRICH	383,2	1	383,2	2,47	0,1317
SUST*TRICH	25,79	1	25,79	0,17	0,6878
Error	3102,52	20	155,13		
Total	3514,99	23			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,05 DMS: 10,60652			
Error: 155,1259 gl: 20			
trich	Medias	n	
si	18,65	12	A
no	19,41	12	A
Test : LSD Fisher Alfa: 0,05 DMS: 10,60652			
Error: 155,1259 gl: 20			
sust	Medias	n	
L	15,04	12	A
C	23,03	12	A

* Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Análisis de varianza para el % de plantas de *Eucalyptus globulus* con síntomas de ataque en el segundo muestreo.

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	1600,01	3	533,34	5,58	0,006
sust	1456,11	1	1456,11	15,22	0,0009
trich	14,26	1	14,26	0,15	0,7035
sust*trich	129,64	1	129,64	1,36	0,2581
Error	1913,17	20	95,66		
Total	3513,18	23			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,05 DMS: 8,32901			
Error: 95,6587 gl: 20			
sust	Medias	n	
C	6,03	12	A
L	21,61	12	B
Test : LSD Fisher Alfa: 0,05 DMS: 8,32901			
Error: 95,6587 gl: 20			
trich	Medias	n	
si	13,05	12	A
no	14,59	12	A

* Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Análisis de varianza para el % de plantas de *Eucalyptus globulus* con síntomas de ataque comparando las dos fechas de muestreo.

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	2203,4	6	367,23	2,92	0,0182
sust	172,67	1	172,67	1,37	0,2478
trich	15,92	1	15,92	0,13	0,7237
fecha	326,46	1	326,46	2,6	0,1146
sust*trich	19,89	1	19,89	0,16	0,6928
sust*fecha	1666,63	1	1666,63	13,27	0,0008
trich*fecha	1,83	1	1,83	0,01	0,9047
Error	5151,24	41	125,64		
Total	7354,63	47			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,05 DMS: 6,53322				
Error: 125,3923 gl: 40				
sust	Medias	n		
C	14,53	24	A	
L	18,32	24	A	
Test : LSD Fisher Alfa: 0,05 DMS: 6,53322				
Error: 125,3923 gl: 40				
trich	Medias	n		
si	15,85	24	A	
no	17	24	A	
Test : LSD Fisher Alfa: 0,05 DMS: 6,53322				
Error: 125,3923 gl: 40				
fecha	Medias	n		
fecha 2	13,82	24	A	
fecha 1	19,03	24	A	
Test : LSD Fisher Alfa: 0,05 DMS: 9,23937				
Error: 125,3923 gl: 40				
sust	trich	Medias	n	
C	no	14,46	12	A
C	si	14,6	12	A
L	si	17,1	12	A
L	no	19,54	12	A

sust	fecha	Medias	n	
C	fecha 2	6,03	12	A
L	fecha 1	15,04	12	A B
L	fecha 2	21,61	12	B
C	fecha 1	23,03	12	B

trich	fecha	Medias	n	
si	fecha 2	13,05	12	A
no	fecha 2	14,59	12	A
si	fecha 1	18,65	12	A
no	fecha 1	19,41	12	A

* Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Porcentajes de plantas de *Eucalyptus grandis* con síntomas de ataque.

TRATAMIENTOS	% DE ATAQUE	
	SEMANA 18	SEMANA 23
1	9,38	4,69
1	24,29	1,43
1	0,00	0,00
1	5,80	0,00
1	18,03	3,28
1	9,52	3,17
2	0,00	3,45
2	14,29	1,79
2	6,15	4,62
2	0,00	3,45
2	25,40	1,59
2	3,39	11,86
3	12,28	8,77
3	9,23	30,77
3	8,70	8,70
3	22,86	50,00
3	6,56	24,59
3	8,20	26,23
4	0,00	4,62
4	0,00	47,69
4	3,57	37,50
4	8,82	19,12
4	22,22	31,75
4	5,77	0,00

Análisis de varianza para el % de plantas de *Eucalyptus grandis* con síntomas de ataque en el primer muestreo.

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	91,86	3	30,62	0,44	0,728
sust	2,69	1	2,69	0,04	0,8463
trich	85,28	1	85,28	1,22	0,2823
sust*trich	3,89	1	3,89	0,06	0,8159
Error	1396,99	20	69,85		
Total	1488,85	23			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,05 DMS: 7,11726			
Error: 69,8495 gl: 20			
sust	Medias	n	
L	9,02	12	A
C	9,69	12	A
Test : LSD Fisher Alfa: 0,05 DMS: 7,11726			
Error: 69,8495 gl: 20			
trich	Medias	n	
si	7,47	12	A
no	11,24	12	A

* Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Análisis de varianza para el % de plantas de *Eucalyptus grandis* con síntomas de ataque en el segundo muestreo.

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	2635,35	3	878,45	5,75	0,0053
sust	2612,72	1	2612,72	17,09	0,0005
trich	1,41	1	1,41	0,01	0,9245
sust*trich	21,23	1	21,23	0,14	0,7133
Error	3056,73	20	152,84		
Total	5692,07	23			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,05 DMS: 10,52796			
Error: 152,8363 gl: 20			
sust	Medias	n	
C	3,28	12	A
L	24,15	12	B
Test : LSD Fisher Alfa: 0,05 DMS: 10,52796			
Error: 152,8363 gl: 20			
trich	Medias	n	
no	13,47	12	A
si	13,95	12	A

* Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Análisis de varianza para el % de plantas de *Eucalyptus grandis* con síntomas de ataque comparando las dos fechas de muestreo.

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	2951,72	6	491,95	4,53	0,0013
sust	1223,82	1	1223,82	11,26	0,0017
trich	32,39	1	32,39	0,3	0,5881
fecha	227,98	1	227,98	2,1	0,1552
sust*trich	21,64	1	21,64	0,2	0,6578
sust*fecha	1391,59	1	1391,59	12,8	0,0009
trich*fecha	54,29	1	54,29	0,5	0,4837
Error	4457,19	41	108,71		
Total	7408,91	47			

Test : LSD Fisher Alfa: 0,05 DMS: 6,15635				
Error: 111,3429 gl: 40				
Sust	Medias	n		
C	6,48	24	A	
L	16,58	24	B	
Test : LSD Fisher Alfa: 0,05 DMS: 6,15635				
Error: 111,3429 gl: 40				
Trich	Medias	n		
Si	10,71	24	A	
No	12,35	24	A	
Test : LSD Fisher Alfa: 0,05 DMS: 6,15635				
Error: 111,3429 gl: 40				
Fecha	Medias	n		
fecha 1	9,35	24	A	
fecha 2	13,71	24	A	
Test : LSD Fisher Alfa: 0,05 DMS: 8,70639				
Error: 111,3429 gl: 40				
Sust	trich	Medias	n	
C	si	6,33	12	A
C	no	6,63	12	AB
L	si	15,09	12	BC
L	no	18,07	12	C
Test : LSD Fisher Alfa: 0,05 DMS: 8,70639				
Error: 111,3429 gl: 40				
Sust	fecha	Medias	n	
C	fecha 2	3,28	12	A
L	fecha 1	9,02	12	A
C	fecha 1	9,69	12	A
L	fecha 2	24,15	12	B
Test : LSD Fisher Alfa: 0,05 DMS: 8,70639				
Error: 111,3429 gl: 40				
Trich	fecha	Medias	n	
Si	fecha 1	7,47	12	A
No	fecha 1	11,24	12	A
No	fecha 2	13,47	12	A
Si	fecha 2	13,95	12	A

* Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)