

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**EVALUACIÓN DE TRATAMIENTO TÉRMICO CON VAPOR
DE AGUA PARA DESINFECCIÓN DE SUSTRATO**

por

**Camila DÍAZ BERNASCHINA
Mauricio JORDÁN VILLAGRÁN**

**TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo.**

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2018**

Tesis aprobada:

Director:

Ing. Agr. Agueda Scattolini

Ing. Agr. Fernando Irisity

Ing. Agr. Guillermo Morás

Fecha: 22 de noviembre de 2018

Autores:

Camila Díaz Bernaschina

Mauricio Jordán Villagrán

AGRADECIMIENTOS

A todas las personas que de alguna u otra manera me apoyaron durante la realización de este trabajo, y a lo largo de toda la carrera.

A mi familia, en especial a mis padres Kati y Perucho, quienes fueron y serán siempre mis pilares, formándome para ser tanto una buena persona, como una buena profesional.

A los amigos, los de siempre y a los que fui adquiriendo en este largo camino; gracias por su compañía, por sus motivaciones y por hacerme disfrutar de estos años de carrera.

A la empresa Montes del Plata por la confianza y los insumos brindados; y a los Ing. Agr. Agueda Scattolini e Ing. Agr. Fernando Irisity, por el apoyo y los conocimientos aportados para este trabajo.

A todos Muchas Gracias...

Camila.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	VII
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
1.1 <u>OBJETIVOS</u>	2
1.1.1 <u>Objetivo general</u>	2
1.1.2 <u>Objetivos específicos</u>	2
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	3
2.1 <u>VIVERO FORESTAL</u>	3
2.1.1 <u>Definición de vivero</u>	3
2.1.2 <u>Objetivos del vivero</u>	3
2.1.3 <u>Vivero destinado a producción de planta en envase</u> ...	3
2.2 <u>CALIDAD DE PLANTINES</u>	4
2.3 <u>SUSTRATOS</u>	5
2.3.1 <u>Definición de los sustratos</u>	5
2.3.2 <u>Características de los sustratos</u>	5
2.3.3 <u>Tipos de sustratos</u>	7
2.3.3.1 Componentes orgánicos.....	7
2.3.3.2 Componentes inorgánicos.....	9
2.4 <u>MÉTODOS DE DESINFECCIÓN DE SUSTRATOS</u>	11
2.4.1 <u>Métodos químicos</u>	11
2.4.1.1 Amonios cuaternarios.....	11
2.4.1.2 Clorados.....	12
2.4.1.3 Bromuro de metilo.....	13
2.4.2 <u>Métodos físicos</u>	14
2.4.2.1 Temperatura.....	14
2.4.2.2 Radiación ultravioleta.....	16
2.5 <u>TEMPERATURAS CARDINALES DE LOS MICROORGANISMOS</u>	16
2.5.1 <u>Comportamiento térmico de <i>Botrytis cinerea</i></u>	17

2.5.2 <u>Comportamiento térmico de <i>Cylindrocladium sp.</i></u>	17
2.6 SANIDAD DE PLANTAS DE VIVERO.....	17
2.6.1 <u>Problemas sanitarios de plantines de <i>Eucalyptus spp.</i></u> <u>en vivero</u>	17
2.6.2 <u>Enfermedades producidas por <i>Botrytis cinerea</i></u>	19
2.6.2.1 Generalidades.....	19
2.6.2.2 Ciclo.....	19
2.6.2.3 Síntomas y signo.....	19
2.6.2.4 Manejo.....	20
2.6.3 <u>Enfermedades producidas por <i>Cylindrocladium</i></u>	20
2.6.3.1 Generalidades.....	20
2.6.3.2 Ciclo.....	21
2.6.3.3 Síntomas y signo.....	21
2.6.3.4 Manejo.....	21
3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	23
3.1 SUSTRATO.....	23
3.2 TRATAMIENTOS TÉRMICOS.....	23
3.3 MÉTODOS DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS.....	24
3.3.1 <u>Test de supresividad</u>	24
3.3.2 <u>Trampeo de <i>Cylindrocladium</i></u>	24
3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	25
4. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	26
4.1 TEST DE SUPRESIVIDAD.....	26
4.2 TRAMPEO DE <i>CILINDROCLADIUM SP.</i>	26
5. <u>CONCLUSIONES</u>	29
6. <u>RESUMEN</u>	30
7. <u>SUMMARY</u>	31
8. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	32

9. ANEXOS..... 40

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1. Tratamientos térmicos.....	23
2. Áreas bajo la curva del diámetro promedio de colonia fúngica en función del tiempo.....	26
3. Comparación de la presencia de los géneros fúngicos entre los diferentes tratamientos.....	27

1. INTRODUCCIÓN

El presente trabajo se enmarca dentro de la cadena forestal; en Uruguay, un país tradicionalmente ganadero que en sus últimas décadas ha experimentado un empuje sin precedentes en el sector forestal.

En 1987, es aprobada la ley forestal No. 15.939. Como objetivos principales de dicha política se destacan la conservación de los bosques naturales y la ampliación de la base forestal, para permitir un desarrollo industrial posterior. Esta ley impulsa el manejo forestal sostenible mediante diversos mecanismos de promoción como el financiamiento a través de líneas de crédito con plazos y demás condiciones acordes con los ciclos de la plantación forestal, incentivos económicos y tributarios (exoneraciones impositivas a las áreas forestadas y calificadas por la Dirección Forestal como bosques protectores o de rendimiento y a las rentas provenientes de esos bosques, y reintegro del 50% del costo ficto de plantación a partir del año de la plantación y constatado un prendimiento superior al 75% de la plantación inicial) y exoneración de impuestos y tasas a la importación de insumos y bienes de capital destinados a la producción y procesamiento de las maderas nacionales.

Estos beneficios se han reducido de manera importante permaneciendo alguno de ellos exclusivamente para la producción de madera con destino a la industria del aserrío, tableros de madera y para bosques protectores.

Previo a esta ley, la superficie de bosques plantados con fines industriales era de 46.000 hectáreas y al 2016 fue de aproximadamente 1,2 millones de hectáreas. Al año 2015, los departamentos con mayor concentración de plantaciones forestales son Rivera, Tacuarembó, Paysandú, Río Negro y Lavalleja. Esta distribución obedece a la mayor concentración en dichas zonas de suelos de prioridad forestal. Los cuales presentan buena aptitud para el crecimiento de los árboles, y son a su vez de baja productividad agrícola y pecuaria. Las especies más utilizadas son *Eucalyptus dunnii* (57%), *Eucalyptus grandis* (29%), *Eucalyptus benthamii* (8%), *Eucalyptus globulus* (2%), *Eucalyptus smithii* (2%) y *Pinus* (2%, SPF, 2016).

Uruguay tiene el 70% de la producción concentrada en tan solo 3 viveros y la producción total es de más de 69 mill. de plantas. Los departamentos con mayor producción son: Paysandú con 42% de la producción total, Río Negro con el 28 %, Durazno con el 8%, Rivera con el 6% y Lavalleja con el 5% (MGAP. DGF, 2016).

El vivero M´Bopicuá (ubicado en el departamento de Rio Negro), donde se desarrolla el presente trabajo, tiene una de las mayores producciones del país, produciendo hasta 20 millones de platines anuales.

El ciclo productivo comienza en el jardín clonal, donde se encuentran las plantas madres de las futuras generaciones. Las cuales tienen un período productivo de 3 o 4 años. A partir de las mismas, se obtienen estacas de 10 cm de altura y con una base lo suficientemente lignificada, debiendo ser pinchadas en el sustrato en menos de dos horas. Luego, pasan al sector de enraizamiento donde deben desarrollar su sistema radicular. Para esto, el sector presenta un ambiente controlado, con una humedad relativa superior a 90% y temperaturas de entre 24-28 °C. Sector de cría: los plantines se desarrollan y se comienzan a clasificar según sus características de desarrollo físico y se disminuye a la mitad su densidad. Luego se someten a la etapa de rustificación, donde sufren condiciones de estrés hídrico, nutricional y de temperatura, simulando las condiciones que afrontarán a campo. Los plantines que se envían a campo deben tener entre 15 y 35 cm de altura, sistema radicular completo y consistente, 3 pares de hojas adultas sanas, buen estado nutricional y con presencia de un único líder. Alrededor de un 20% del sustrato que ingresa al vivero es eliminado en los procesos de clasificación de los plantines: 15% en la clasificación previa a la etapa de crecimiento y 5% previo al embarque. En este trabajo se estudia una alternativa para disminuir los costos de producción reciclando el sustrato que se descarta en la primera clasificación de plantines. Para ello se revisan los posibles tratamientos a aplicar y se prueban tratamientos de mínimo impacto ambiental.¹

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo general

Estudiar el efecto del tratamiento térmico con vapor de agua aplicado con presión en la desinfección del sustrato.

1.1.2 Objetivos específicos

- Evaluar el potencial supresor del sustrato.
- Evaluar la presencia de *Cylindrocladium* spp. a través de técnicas de trampeo.

¹ Alonso, A. 2016. Com. personal.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 VIVERO FORESTAL

2.1.1 Definición de vivero

“Es una superficie de terreno dedicada a la producción de plantas de especies forestales, destinadas a las repoblaciones forestales” (Ruano Martínez, 2008).

“Los viveros forestales constituyen el primer paso en cualquier programa de repoblación forestal. Se definen como sitios destinados a la producción de plantas forestales, en donde se les proporciona todos los cuidados requeridos para ser trasladadas al terreno definitivo de plantación” (Jiménez Peris, 1993).

2.1.2 Objetivos del vivero

“Su misión es obtener plantas de calidad, que garanticen una buena supervivencia y crecimiento en el lugar donde se establezcan en forma definitiva” (Buamscha et al., 2012).

“Crear un ambiente en el cual se dé 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. Debe buscarse producir plantas sanas, resistentes y uniformes” (Irisity, 1999).

Se busca controlar todas las condiciones durante la delicada etapa que va desde la semilla a un plantín lo suficientemente “criado” como para crecer sano y fuerte cuando se plante. Existen diferentes tipos de viveros forestales. Según la duración que tengan, pueden ser permanentes o temporarios; según el tipo de producción, serán plantas en envase o a raíz desnuda y según el tamaño, pueden ser pequeños (menor a 50.000 plantas/año), medianos o grandes. Cada uno de estos tipos de vivero tiene su propio diseño y manejo (Navall, 2011).

2.1.3 Vivero destinado a producción de planta en envase

Los sistemas de producción de cultivo en contenedores tuvieron su gran expansión en la segunda mitad del siglo XX en Europa y luego en EE.UU. Desde su inicio se planteó la necesidad de un cambio conceptual con respecto al cultivo tradicional en el suelo. Las causas que los impulsaron son bien conocidas: cultivos de alto valor de renta en pequeñas superficies, necesidad

de cantidad y calidad de productos cerca de los grandes centros de consumo, posibilidad de realizarlos a contra estación utilizando sistemas más o menos complejos de control del ambiente (a través del uso de invernáculos) y disminución de cuantiosas pérdidas por patógenos de suelo (Valenzuela y Gallardo, 2004).

Se facilita el prendimiento, con los plantines en envase ya que la raíz se mantiene unida al medio de crecimiento. Además estos plantines se producen bajo condiciones más controladas, generalmente en invernáculo, lo que permite que se pueda administrar a los mismos la humedad y nutrientes necesarios en todo momento. Una ventaja frente a los plantines producidos a raíz desnuda, es que son especialmente adecuados para sitios secos, ya que la proporción raíz/tallo suele ser más alta. Por estas razones la proporción de plantines producidos en envases en invernáculos crece constantemente en todo el mundo, no solo en países fríos y templados, sino también en lugares subtropicales (Buamscha et al., 2012).

2.2 CALIDAD DE PLANTINES

Una planta de calidad, es aquella que reúne características morfológicas y fisiológicas adecuadas para sobrevivir y crecer satisfactoriamente bajo las distintas condiciones ambientales y ecológicas de los posibles lugares de plantación (Rodríguez Laguna, 2010).

En cuanto a los criterios para elegir los atributos que mejor puedan predecir el establecimiento en campo, deben considerarse aquellos que mejor reflejen la supervivencia y crecimiento de la planta y, a la vez, sean sencillos de medir (Scagel y Mattsson, citados por Navarro et al., 2006).

Existe una normativa vigente de calidad de planta de la Unión Europea, y en sus correspondientes transposiciones (RD 1356/1998, BOE 153, 27 de junio de 1998), que define la altura y el diámetro del tallo que deben cumplir los lotes de plantas en distintas especies forestales para ser considerados de calidad de forma justa (Pemán, citado por Navarro et al., 2006).

La actividad intensa del cultivo de plantines forestales, no sólo tiende a generar cantidad, sino también un producto de calidad en la forma más eficiente posible. Las dos consecuencias básicas de utilizar plantas de calidad serían la supervivencia y el crecimiento (Duryea, citado por Buamscha et al., 2012).

Es decir, que no sólo es importante lograr un alto porcentaje de prendimiento, sino también que los plantines crezcan y prosperen. Dado que los

atributos morfológicos y fisiológicos que afectan el comportamiento de las plantas son numerosos y resultar difícil decidir que conviene medir. La morfología del plantín en contenedor puede tener un importante efecto sobre su desempeño en plantación (D'Aoust, citado por Buamscha et al., 2012).

El mejor predictor de supervivencia de un plantín en envase es el diámetro del cuello. La altura de los plantines suele no tener relación con la supervivencia cuando las condiciones del sitio son buenas. Sin embargo, en sitios rigurosos los plantines altos pueden tener menor supervivencia. Las prácticas de manejo que reducen el crecimiento en altura (leve estrés hídrico, poda aérea) pueden minimizar este riesgo. El diámetro del cuello y la altura están correlacionados con la altura y el crecimiento en volumen a largo plazo. Por lo tanto, el desempeño a largo plazo de una plantación depende de la calidad de los plantines en el momento del establecimiento (Buamscha et al., 2012).

2.3 SUSTRATOS

2.3.1 Definición de los sustratos

“El término ‘sustrato’, que se aplica en la producción viverística, se refiere a todo material sólido diferente del suelo, que puede ser natural o sintético, mineral u orgánico y que colocado en contenedor, de forma pura o mezclado, permite el anclaje de la planta a través de su sistema radicular; el sustrato puede intervenir o no en el proceso de nutrición de la planta allí ubicada” (Pastor Sáez, 1999).

“Un sustrato consiste en un sistema conformado por tres fases: sólida, líquida y gaseosa; en ese ambiente crecerán las raíces y es por ello que cobra relevancia el volumen del contenedor. En ese volumen restringido, las propiedades físicas, y dentro de ellas las relaciones agua-aire del sustrato, cobran gran importancia; de allí que se considera que un buen sustrato debe tener más del 85% de porosidad total” (Valenzuela y Gallardo, 2004).

2.3.2 Características de los sustratos

Según Ruano Martínez (2008), las características que debe poseer un buen sustrato serán aquellas que permitan la producción de plantas sanas y con la mejor calidad. Para obtener óptimos resultados durante la germinación, el enraizamiento y el crecimiento de las plántulas, se requieren las siguientes características del medio de cultivo.

Un pH ligeramente ácido: el principal efecto del pH es su influencia en la disponibilidad de los nutrientes minerales, especialmente en los micronutrientes. Muchos nutrientes minerales pueden ser inaccesibles a las raíces o, a veces tóxicos, con pH extremo (la disponibilidad máxima de nutrientes en suelos minerales es con un pH de 6,5 comparado con un pH de 5,5 para suelos orgánicos). Se deben mantener los valores de pH en el sustrato del cultivo con un rango ligeramente ácido entre 5,5 - 6,5 (Ruano Martínez, 2008).

Alta capacidad de intercambio catiónico (CIC): la CIC puede ser definida como la suma de los cationes intercambiables que un mineral puede absorber por unidad de peso o de volumen. Se pretende que la CIC del sustrato sea alta, porque mantiene una reserva de fertilidad que nutre las plantas entre cada fertilización. Debido a la alta frecuencia de riegos muchos cationes son lixiviados por lo que se requiere un alto valor de CIC, por lo cual se puede decir que el valor más alto para la capacidad de intercambio catiónico de un sustrato, es el que presenta mayor resistencia a la lixiviación (Ruano Martínez, 2008).

Baja fertilidad intrínseca: muchas especies de semillas no requieren ninguna fertilización durante las primeras semanas, a excepción quizás, del fósforo. El beneficio mayor de una baja fertilidad inicial es que el viverista puede conocer y controlar las concentraciones de nutrientes en el sustrato a través de sus formulaciones y fertilizaciones (Ruano Martínez, 2008). Según Irisity (1999), lograr un balance en el contenido de nitrógeno, que permita evitar la aparición de hongos del damping-off.

Adecuado equilibrio del tamaño de los poros: es considerada la propiedad física más importante de un sustrato. Una equilibrada estructura de poros proporciona un buen intercambio gaseoso por el sistema radicular, lo cual afecta directamente a todas las funciones de las raíces como la absorción de agua y la de nutrientes minerales (Ruano Martínez, 2008). *“La porosidad recomendada para los sustratos está por encima del 80% de su volumen total (...) A mayor porosidad, menor densidad del sustrato, lo que beneficia en el manejo y transporte de las plantas”* (Irisity, 1999).

“Relación Carbono/Nitrógeno: es importante desde el punto de vista de la nutrición, ya que un valor alto supondrá un alto consumo de nitrógeno para descomponer el carbono presente, y desde el punto de vista de la estabilidad del sustrato, ya que valores altos de esta relación afectaran la estabilidad. Los valores más altos admisibles para esta relación no deben ser superiores a 20, y si llegan a superarse deberán corregirse al menos con aportes suplementarios

de nitrógeno para evitar que la descomposición interna del sustrato afecte al crecimiento normal de las plantas” (Irisity, 1999).

“Estabilidad biológica y física: la estabilidad de los sustratos es fundamental ya que es garantía de su funcionamiento homogéneo durante el cultivo. Naturalmente que es impensable una estabilidad absoluta en materiales que en gran parte serán de origen orgánico, pero debe intentarse una alteración mínima en el periodo previsto de cultivo” (Irisity, 1999).

2.3.3 Tipos de sustratos

Los materiales que pueden ser utilizados como sustratos pueden ser muy variados. Es normal que se recurra a las mezclas de estos para obtener características apropiadas para el cultivo. Los materiales más tradicionales están siendo sustituidos por muchos residuos o subproductos derivados de explotaciones agrícolas o industriales. La mayor parte de los materiales procedentes de residuos, requieren un proceso de adecuación que permitan convertirlos en estables. Se ha logrado utilizar como sustratos y revalorizar muchos subproductos. Los sustratos en general se clasifican según sean inorgánicos u orgánicos, y también por el origen de los materiales. De hecho, los sustratos que se utilizan pueden tener procedencias muy distintas (Burés, 2001).

2.3.3.1 Componentes orgánicos

Los materiales orgánicos son usados para proporcionan microporos lo que se traduce en una mejora de la capacidad de retención de agua. Además tienen, alta capacidad de intercambio catiónico y por consiguiente ayudan a retener nutrientes evitando la lixiviación y proporcionando al mismo tiempo una amortiguación contra los cambios rápidos de salinidad. Presentan baja densidad y por lo tanto un peso liviano que facilita el transporte y el manipuleo (Alvarado, 2002).

El término turba (peat) hace referencia a varios materiales que son similares en origen pero muy distintos en composición botánica y en propiedades físicas y químicas. La turba se forma por la acumulación de vegetación acuática, pantanosa en lugares mal drenados, por lo tanto se presenta parcialmente descompuesta. Aumentar la capacidad de retención de agua; la densidad aparente; la porosidad, lo que mejora la aireación y el drenaje; facilitando el desarrollo radicular. Tiene un efecto amortiguador del pH y las sales solubles; es una fuente de liberación lenta de N y logra mejorar la disponibilidad de nutrientes para la planta (Alvarado 2002, FAO 2002).

Los distintos tipos de turba se diferencian por el tipo de vegetal que la compone, su grado de descomposición, contenido mineral, la temperatura local, la calidad del agua en que se forma y el grado de acidificación. Se identifican en cuatro tipos: turba de musgo Sphagnum, turba de musgo Hypneum, turba de cañuela y junco, y turba de humus o estiércol (Alvarado 2002, FAO 2002).

La turba del musgo Sphagnum es la más recomendable para cultivos en contenedores de plantas forestales. Puede ser turba rubia o clara y turba negra u oscura. Estas últimas posee casi el doble de capacidad de intercambio catiónico que la turba rubia (Ruano Martínez, 2008).

La turba negra contiene alrededor del 50% de materia orgánica debido a su alto grado de descomposición y un 50% de cenizas, que indican su avanzado estado de mineralización. La CIC está entre 250 y 350 meq/l. La turba rubia tiene un 80 a 90% de materia orgánica y 4% a 20% de cenizas. La capacidad de intercambio catiónico (CIC) es de 60 meq/l a 120 meq/l (FAO, 2002).

La fibra de coco tiene buena absorción de agua, y logra una mejor y más temprana germinación de las semillas, en comparación con la turba (Ruano Martínez, 2008).

El aserrín es el residuo de la madera más común y más ampliamente distribuido. Mejoran las condiciones físicas del sustrato. Se puede comparar con la turba en sus efectos sobre la densidad, porosidad y aireación. Su durabilidad, su pH – que puede variar entre 4,8 y 6,8 - y la cantidad de nitrógeno complementario que se requiera para mantener un crecimiento normal de las plantas, depende de la especie de árbol de la que se haya obtenido. Después de su descomposición ocurre un aumento en la agregación e intercambio de cationes en los sustratos (Alvarado, 2002).

Las características de este material son: su alta relación c/n que provoca una acentuada inmovilización de N del sustrato, y puede causar su carencia en el cultivo y la posible presencia de compuestos fitotóxicos, que inhiban la germinación y el crecimiento de las plantas si se usa muy fresco. Por ello es conveniente almacenarlos y someterlos a tratamiento de descomposición durante algunos meses, antes de su empleo. Para la eliminación de la fitotoxicidad de algunos restos de maderas duras (Alvarado, 2002).

La cascarilla de arroz carbonizada, se utiliza directamente o pre compostada. Se caracteriza por ser un material rico en K, P, Mn, Si y B, pero pobre en N. Posee alta porosidad, permeabilidad y aireación; es un material ligero (90 kg/m^3 a 220 kg/m^3) de pH neutro y CIC baja. Presenta calidad uniforme, resistencia media a alta a la descomposición (potencial de reutilización), puede ser usada sola o en mezclas (Ruano Martínez, 2008).

2.3.3.2 Componentes inorgánicos

La finalidad de los componentes inorgánicos es la de producir y mantener una estructura de macroporos que aporte aireación y drenaje. Muchos tienen una pequeña capacidad de intercambio catiónico y proporcionan al medio de crecimiento un soporte físico con una base química prácticamente inerte. Los materiales más usados son por orden de uso: la vermiculita, la perlita y la arena (Landis et al., 1990a).

La vermiculita es un mineral formado por silicatos de aluminio, hierro y magnesio (del grupo de las micas), también contiene algo de potasio y magnesio y alta capacidad de intercambio catiónico - CIC de 19 meq/100g a 22,5 meq/100g -. Se le somete a una temperatura de $1.000 \text{ }^\circ\text{C}$ antes de su uso, logrando expandir las partículas 15 o 20 veces más respecto a su tamaño original, disminuir su peso, aumentar la capacidad de retención de agua y esterilizarla. A consecuencia de su esterilidad, puede ser reutilizada, mediante algún proceso de desinfección (Ruano Martínez, 2008).

Las partículas de vermiculita son inestables estructuralmente en medio húmedo, incluso se rompe cuando es manipulada en esas condiciones, lo cual reduce mucho la aireación. En consecuencia, no debe ser usada sola, ni con arena, sino mezclada con perlita o turba, que le otorguen resistencia a la compactación y por lo tanto, su empleo es mejor para plantas en envase donde la mezcla es utilizada una vez (Ward y Bunt, citados por Landis et al. 1990a, Alvarado 2002).

Se diferencian cuatro tipos según el tamaño de las partículas, lo que determina la proporción relativa de macro y microporos. Los tipos 2 (0,6 mm a 4,7 mm) y 3 (0,1 mm a 2,4 mm) son los más usados; el tipo 2 otorga una mayor porosidad de aireación, mientras que el tipo 3 produce una mayor porosidad de retención de humedad (Ward y Bunt, citados por Landis et al., 1990a).

La perlita es una roca volcánica silíceas, la que es triturada y calentada a $982 \text{ }^\circ\text{C}$. En ese proceso se expande y se torna de color blanco y con celdas de aire encerrado. El resultado es un material estéril, con una CIC insignificante

de 0,15 meq/100 cc por lo que se lo considera inerte, donde el agua puede adherirse a la superficie, pero no ser absorbida, que presenta un valor de **pH de 7,0 a 7,5** y que no es afectado por la pasterización. Se utiliza cuando se necesita bajar la densidad del sustrato (Alvarado, 2002).

Proporciona aireación al medio de cultivo, y estabiliza la temperatura. Puede producir toxicidad por Al en plántulas cuando el pH del medio de cultivo es bajo y hay poco suministro de agua (FAO, 2002).

Debido a su estructura con celdas cerradas, tiene la tendencia a flotar en la parte superior del medio de crecimiento durante el riego (Mastalerz, citado por Landis et al., 1990a); esto no es normalmente un problema por las pequeñas porciones empleadas en los sustratos de los plantines, que son producidos en contenedor. Las partículas de perlita tienden a aglutinarse sobre las paredes de los contenedores en bloque de poliestireno expandido, lo cual puede causar daño a los cepellones cuando las plantas son extraídas (Gates, citado por Landis et al., 1990a).

En viveros forestales la perlita se utiliza en una proporción no mayor al 30% de la mezcla. Usualmente se agrega a componentes orgánicos, como la turba de musgo, para incrementar la porosidad de aireación, fundamentalmente cuando se utilizan contenedores de pequeño volumen (Landis et al., 1990a).

La arena es utilizada para la obtención de sustratos a partir de mezclas con materiales orgánicos. Su porosidad se encuentra alrededor del 40% del volumen aparente y sus partículas deben presentar un diámetro de entre 0,5 mm a 2 mm. No contiene nutrientes y no tiene capacidad amortiguadora, su CIC es de 5 meq/l a 10 meq/l (FAO, 2002).

La ventaja de la arena es que es un material fácilmente disponible y relativamente barato. Las recomendaciones en cuanto a su tamaño varían, pero las partículas de arena muy pequeñas se alojan en los espacios porosos existentes reduciendo la aireación y el drenaje, lejos de contribuir a incrementar la porosidad (Ward, citado por Landis et al., 1990a).

En cultivos sin suelo la arena de río es la que presenta las mejores características cuando no está mezclada con arcillas y el río no está contaminado. Para no alterar la solución nutritiva, la arena utilizada no debe presentar niveles elevados de carbonato de calcio (Mora, 1999).

El calcáreo dolomítico, es una roca natural, proveniente de minas. Es una combinación de carbonato de calcio y carbonato de magnesio. Se caracteriza por desarrollar una lenta disolución en el sustrato, mejorando la estabilidad del pH. Mientras que el yeso agrícola (sulfato de calcio dihidratado), mejora la tasa de infiltración del agua en el sustrato, previniendo o minimizando la formación del encostramiento en el mismo (Landis et al., 1990a).

2.4 MÉTODOS DE DESINFECCIÓN DE SUSTRATOS

La desinfección del sustrato se hace para eliminar microorganismos fitopatógenos, semillas de malas hierbas, huevos y larvas de insectos. Existen varios métodos de desinfección (Davey, citado por Rodríguez Laguna, 2010).

Uno de esos métodos es el biológico, usando *Trichoderma sp* y *Bacillus sp*, que logra eliminar o disminuir la densidad y/o actividad de los microorganismos patógenos y reducir los riesgos patológicos asociados a la recirculación del sustrato (García Jiménez, 2012).

2.4.1 Métodos químicos

Los productos químicos que han sido utilizados para desinfección de suelos y/o sustratos son:

2.4.1.1 Amonios cuaternarios

Los cuaternarios de amonio fueron desarrollados en 1935; contienen como estructura básica al ion amonio NH_4 , donde cada uno de los hidrógenos está sustituido generalmente por radicales de tipo alquil y aril. Se presentan en forma de sales. Según distintas modificaciones moleculares dan lugar a diferentes generaciones. Los compuestos clasificados como de primera generación son fungicidas, viricidas pero presentan muy baja actividad frente a bacterias y esporas. Los compuestos de segunda y tercera generación son más efectivos en presencia de agua dura. Tienen mayor efecto biocida y por lo tanto tienen efecto bactericida (Arévalo y Hernández, citados por Sánchez-Saldaña y Sáenz Anduaga, 2005). Ya sean bacterias gram positivas o gram negativas (estas últimas en menor grado). Pueden desarrollar su actividad en medio ácido como alcalino, aunque en este último muestran mejores acciones (Negróni, citado por García Jiménez, 2012).

Su modo de acción consiste en desorganizar la disposición de las proteínas y fosfolípidos de la membrana celular liberando los metabolitos de la

célula y por lo tanto, interfiriendo con el metabolismo energético y el transporte activo (Sánchez-Saldaña y Sáenz Anduaga, 2005).

Según García Jiménez (2012), los cuaternarios de amonio se clasifican de la manera siguiente:

- Primera generación, surge hace más de 50 años, tienen relativamente baja actividad biocida y pueden existir resistencias bacterianas al producto. Sin embargo, se sigue utilizando en la desinfección hospitalaria y veterinaria. El producto que los representa es el Cloruro de benzalconio, o cloruro de n-alkil dimetil bencil amonio, donde la cadena alquílica tiene variaciones en la composición de número de carbonos. Las cadenas alquílicas de 12 y 14 carbonos, son las que cuentan con mayor poder antibacterial.
- Segunda generación, representado por el cloruro de n-alkil dimetil etil bencil amonio, que tiene un radical etil en el anillo aromático.
- Tercera generación, es la mezcla de las dos primeras generaciones que resulta tener un incremento en la actividad biocida, baja toxicidad y además evita la resistencia bacteriana al uso constante de una sola molécula.
- Cuarta generación, son superiores en cuanto a actividad germicida, son de baja espuma y alta tolerancia a las cargas de proteína y al agua dura. Se recomiendan para desinfección en industria alimenticia y de bebidas, ya que se pueden aplicar por su baja toxicidad. Presentan cadenas dialquílicas lineales y sin anillo bencénico como: cloruro de didecil dimetil amonio o cloruro de dioctil dimetil amonio o cloruro de octil decil amonio, cada uno aislado.
- Quinta generación, es una mezcla de la cuarta y la segunda generación: cloruro de didecil dimetil amonio, cloruro de n-alkil dimetil bencil amonio y otras variedades según las formulaciones.

2.4.1.2 Clorados

Entre los diferentes compuestos químicos que se vienen utilizando como agentes desinfectantes de sustratos, se destacan los compuestos clorados (cloro, sales de hipoclorito y dióxido de cloro, Urrestarazu, citado por García Jiménez, 2012).

Según Sánchez-Saldaña y Sáenz Anduaga (2005), los hipocloritos son los desinfectantes más utilizados de los derivados clorados. Presentan extenso

espectro de acción, son bactericidas, virucidas, fungicidas y esporicidas, pero su eficiencia es variable frente a micobacterias, dependiendo de la concentración utilizada. No se conoce bien su mecanismo de acción, pero se estima que inhiben las reacciones enzimáticas y desnaturalizan las proteínas.

Las soluciones de hipoclorito de sodio (NaClO al 2% y al 5%) son compuestos liberadores de halógenos. Son de fácil manejo y costo relativamente bajo pero; pierde gran parte de su actividad en presencia de materia orgánica por lo que se absorbe e inactiva en el suelo y sus soluciones concentradas son corrosivas para la piel, metales y otros materiales (Sánchez-Saldaña y Sáenz Anduaga, 2005).

2.4.1.3 Bromuro de metilo

El bromuro de metilo (CH₃Br) se introduce en la agricultura en 1970 convirtiéndose en el principal método fumigante de suelo en el control de plagas, enfermedades y malezas, en cultivos intensivos de alto valor, hasta hace pocos años. Presenta un amplio espectro de acción y ninguna selectividad por lo cual es altamente biocida. Su efecto es rápido y en un amplio rango de temperaturas (PNUMA, 2014).

Ha sido el método que más se ha utilizado en América latina; sin embargo degrada la capa de ozono afectando la salud humana. Como consecuencia de su uso comenzaron a aparecer, lesiones oculares y dérmicas (CCOO, 1997).

En 1992, la comunidad internacional reconoce al bromuro de metilo como una Sustancia Agotadora del Ozono (SAO) y lo incluyó bajo el Protocolo de Montreal. Estableciendo en este acuerdo, que se debe eliminar el uso del bromuro de metilo en los países en vía de desarrollo, antes del 1 de enero del 2015 (PNUMA, 2014).

Se han estado probando desinfectantes de uso médico, veterinario y de procesos industriales de higiene para la protección de cultivos agrícolas, porque son de baja toxicidad y tienen efecto contra varios hongos, bacterias y virus (Slusarski, citado por García Jiménez, 2012).

2.4.2 Métodos físicos

Hay varios métodos de desinfección física de sustratos como por ejemplo la desinfección térmica, la radiación ultravioleta, la filtración por membrana y por filtros de arena con flujos de baja velocidad (García Jiménez, 2012).

2.4.2.1 Temperatura

Para la desinfección del sustrato, se requiere una temperatura superior a los 80 °C por lo menos, durante 30 minutos, para poder de esta manera, eliminar hongos, bacterias, nematodos, insectos y la mayoría de las semillas de malezas. Temperaturas superiores a los 95 °C no son aconsejables, ya que se pueden producir metabolitos que podrían resultar tóxicos para las plantas. El sustrato no debe ser usado en las primeras 24 a 48 horas después de aplicado el tratamiento, debido a la posible acumulación de nitrógeno amoniacal, producto de la descomposición de la materia orgánica que puede ser tóxico para las semillas (Carrasco et al., 2005).

Solarización: Joseph Katan, en 1976, crea el método de solarización para la desinfección de suelos, basada en la colocación de un plástico fino transparente por un tiempo de 4 a 10 semanas, sobre el suelo removido, desnudo y húmedo (Velasquí, citado por Aguirre, 2013). Combate numerosos parásitos, fitopatógenos y malezas, sin tener que aplicar productos químicos (FAO, 2002).

Según Velasquí, citado por Aguirre (2013), se recomienda el plástico transparente para que transmita el calor al suelo y eleve en unos cuantos grados su temperatura habitual y no lo almacene como lo hace el plástico negro. Esto provoca tres efectos:

1) se acelera la multiplicación y metabolismo de los microorganismos termófilos entre los que se cuentan muchos saprofitos y agentes antagónicos como *Trichoderma* spp. y *Bacillus subtilis*.

2) mayor crecimiento y vigor de los cultivos que se establecen en dicho suelo debido a las concentraciones más altas de sustancias solubles en agua, tanto de la materia orgánica como de los minerales.

3) reducción de la viabilidad de los agentes patógenos por el cambio de temperatura producido en el suelo que permanece por bastante tiempo a temperaturas superiores a la temperatura máxima de desarrollo.

Vaporización: este método tiene bajo impacto ambiental y puede ser considerado como una técnica aceptada bajo las normas de las Buenas Prácticas Agrícolas. Para realizar la vaporización el contenido de humedad del

sustrato debe ser igual o inferior a 20%, porque si fuera mayor no habría buena difusión del vapor en su interior (Carrasco et al., 2005).

Equipos de desinfección por vapor

Equipos de fabricación artesanal: consisten en una caldera que genera vapor, por la energía obtenida de la leña, un sistema de tuberías de conducción de vapor y un contenedor de sustrato abierto. Equipos vaporizadores industriales: logran una temperatura de aplicación que oscila entre los 70 °C y 90 °C, por un tiempo de proceso de 40 a 60 minutos que dependerá de la densidad y grado de humedad del sustrato; estos equipos utilizan como fuente de energía el petróleo o la electricidad (Carrasco et al., 2005).

La vaporización puede ser pasiva o activa. La primera se caracteriza por el movimiento y penetración del vapor en el sustrato lentamente, forzado por su propia presión de entrada, generada por el calentamiento del agua superando los 100 °C. Este tipo de vaporización es el que actúa en los vaporizadores artesanales. El movimiento del vapor al interior del sustrato es lento y no llega con la misma temperatura a cada unidad de volumen a desinfectar. Las temperaturas en el interior del sustrato varían entre 25 °C y los 85 °C. Las bajas temperaturas se encuentran en los puntos más distantes al punto de entrada del vapor, y las mayores en los puntos próximos (Carrasco et al., 2005).

En la vaporización activa el equipo cuenta además con un extractor de aire que ejerce una presión negativa, forzando el movimiento del vapor a través del sustrato. Obtiene una distribución térmica más homogénea, entre 85°C y 90°C y constante en el interior del sustrato, lo que trae consigo una disminución de entre un 20% y un 30% en los tiempos de desinfección y por ende en los costos (Carrasco et al., 2006, anexo No. 1).

Con un sustrato mullido y con suficiente humedad el vapor se distribuye uniformemente dentro de él, colocándose la manga de entrada del vapor siempre abajo. La temperatura debe medirse en el interior de la pila de sustrato y el tiempo debe empezar a contabilizarse cuando se llegue a la temperatura deseada, cuando se termina el tiempo se debe dejar todo cerrado hasta que se enfríe el sustrato (Otazú, 2007).

El control de las temperaturas es un factor que debe tenerse en cuenta en un proceso de desinfección y/o esterilización de sustratos con vapor de

agua. Una temperatura de 70 °C por media hora, mata la mayoría de patógenos del sustrato (Otazú, 2007).

Cuando la temperatura del sustrato pasa los 80 °C, puede haber liberación de manganeso (Mn) tóxico para las plantas. El Mn puede permanecer tóxico hasta 60 días, a no ser que se lave con agua. Su presencia también induce deficiencia de hierro (Otazú, 2007).

En la práctica se podrían utilizar equipos denominados de vaporización activa en “bunker”, para la aplicación de vapor de agua como método de desinfección. Ya que son recomendados para la producción de plantas en viveros forestales, por ejemplo donde se trabaja con un gran volumen de sustrato anualmente (anexo No.1).

2.4.2.2 Radiación ultravioleta

La radiación ultravioleta es una radiación de longitud de onda entre 100 nm y 400 nm; que es eficaz como germicida a 254 nm (García Jiménez, 2012). Según Baixauli y Aguilar, citados por García Jiménez (2012), el método consiste en pasar una lámpara con luz incandescente de cuarzo o de vapor de mercurio sobre el material a esterilizar.

La luz ultravioleta inactiva los microbios al cambiarles la estructura bioquímica de las moléculas de las nucleoproteínas, perdiendo estas su funcionalidad (Millán et al., 2015).

2.5 TEMPERATURAS CARDINALES DE LOS MICROORGANISMOS

Las temperaturas mínimas, óptimas y máximas son conocidas también como temperaturas cardinales del desarrollo y son particulares para cada especie, genotipo y etapa fenológica (Derieux y Bonhomme, citados por Ruiz-Corral et al., 2002).

Los hongos junto a los virus son los microorganismos menos resistentes a la esterilización, de acuerdo al Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad de España (MSSI, 2013, anexo No. 2).

Otazú (2007) determina que muchos hongos fitopatógenos son inactivados sometiéndolos a 50°C o más, por 30 minutos (anexo No. 3).

2.5.1 Comportamiento térmico de *Botrytis cinerea*

Éste patógeno crece bien en medio PDA (Potato Dextrose Agar), con temperaturas entre 20 °C a 30 °C, sus colonias producen micelios aéreos de coloración cenicienta. Con más de 7 días de edad se observó esclerocios negros en la superficie del medio del cultivo y en la periferia de la placa de Petri. Los esclerocios formados son generalmente solitarios, con un tamaño variable que oscilan de unos milímetros hasta más de 1 centímetro (Alvez, citado por Reyna, 2000). Según Otazú (2007) la temperatura de inactivación de *Botrytis cinerea* es de 55 °C.

2.5.2 Comportamiento térmico de *Cylindrocladium* sp.

La enfermedad causada por *Cylindrocladium* aumenta con pH bajo y temperaturas entre 25 °C y 30 °C; y disminuye con pH alto y temperaturas superiores a 32 °C (Chase y Poole, citados por Crous, 2002).

Un trabajo publicado por Henricot y Culham (2002), destaca que la temperatura óptima de crecimiento de *Cylindrocladium buxicola* es de 25 °C (creciendo 2,8 mm/d). Sin embargo, a 27,5 °C reduce radicalmente el crecimiento (0,13 mm/d) y cesa a 30 °C. Observando cómo temperatura cardinal 33 °C en todos los aislados de la especie.

La temperatura óptima para la supervivencia de los microesclerotos es de 25 °C, independientemente de la humedad del suelo (Almeida y Bolkan, citados por Crous, 2002). Las temperaturas del suelo entre 30 °C y 40 °C, son altamente perjudiciales para la germinación de los microesclerotos (Graham y Griffin, citados por Crous, 2002).

2.6 SANIDAD DE PLANTAS DE VIVERO

2.6.1 Problemas sanitarios de plantines de *Eucalyptus* spp. en vivero

El objetivo de un vivero es la obtención de plantines con un buen desarrollo y sanidad. Por ello en los invernaderos se controlan los niveles de humedad, riego, temperatura, fertilización, dióxido de carbono, requerimientos de luz y densidad de plantas (Landis, 1990b)

La sanidad de los plantines puede verse afectada por la presencia de plagas o enfermedades. El entorno del vivero es determinante en la posible presencia o ausencia de las mismas (Ruano Martínez, 2008).

Según Landis (1990b), los ambientes diseñados para la producción de plantas favorecen también el desarrollo de enfermedades. Algunos de los factores de manejo de invernaderos que provocan la presencia de enfermedades son:

- temperaturas moderadas (10 °C a 20 °C), mínima incidencia del viento y un alto nivel de humedad,
- alta densidad de plantines, que genera elevada humedad del aire e insuficiente aireación,
- homogeneidad genética del material en propagación, que genera una presión sobre las poblaciones microbianas tendientes a seleccionar a los únicos que puedan sobrevivir, y por lo tanto desarrollar enfermedad.

Las enfermedades más comunes en los viveros son las pudriciones radiculares y “damping-off”, el oidio del *Eucalyptus* spp. causado por *Sphaeroteca pannosa* y las podredumbres causadas por *Botrytis* spp. y por *Cylindrocladium scoparium* (Ruano Martínez, 2008).

Damping off hace referencia a la falta de emergencia o muerte de plántulas atribuidas a un amplio número de hongos patógenos del suelo, ubicuistas y polífagos, de gran distribución geográfica. Los hongos más frecuentemente encontrados son *Pythium* spp., *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Botrytis* spp., *Alternaria* spp., *Cylindrocarpon* spp., *Phitophora* spp., entre otros (Ruano Martínez 2008, Telechea 2010). Para esta enfermedad son fundamentales las medidas preventivas, ya que luego de establecidas no se revierten (Ramírez, 2008).

El “moho ceniciento” es causado por *Botrytis cinerea*, que puede permanecer en el vivero asociado a la presencia de restos vegetales en el sitio. Es un hongo fitopatógeno que infecta una amplia variedad de plantas y que puede hacer uso de diferentes mecanismos de infección (Benito et al., 2000). Produce podredumbres en frutos y otros órganos de cultivos como frutilla, tomate, morrón, viña, arándanos y en plantines de ornamentales y forestales; además posee alta capacidad para hacerse resistente a los fungicidas (Gepp et al., 2012).

Cylindrocladium spp. son responsables de enfermedades en hospederos de hasta 100 familias distintas. Puede producir síntomas como la pudrición en corte (principalmente en especies forestales, donde se generan plantines clonales), damping-off, mancha foliar, tizón, cancro, enfermedades radiculares (Crous, 2002). Tiene especial importancia en la producción de semilleros y estaquillas en viveros forestales (Andrés, 2015). Particularmente

Cylindrocladium scoparium ocasiona pérdidas tanto en plántulas en distintos estadios como en plantación (Telechea, 2010).

2.6.2 Enfermedades producidas por *Botrytis cinerea*

2.6.2.1 Generalidades

Botrytis cinerea es un hongo saprofito que coloniza plantas muertas o en proceso de descomposición. La enfermedad puede ser identificada por la presencia de micelio gris, algodonoso y por las masas de esporas sobre la superficie del tejido infectado. El mayor impacto de *Botrytis cinerea* ocurre cuando el hongo invade el tallo principal de las plántulas, provocando un cancro que puede ocasionar la muerte de la plántula (Landis, 1990b).

Presenta un rango de huéspedes muy amplio pudiéndose citar, entre los hospedantes forestales: *Picea abies*, *Acer pseudoplatanus*, *Quercus robur*, *Pinus* sp., *Eucalyptus* sp., siendo muy susceptibles *Sequoia* sp. y *Cupressus* sp. (Ruano Martínez, 2008).

2.6.2.2 Ciclo

Las esporas de *B. cinerea* pueden ser introducidas en el vivero a través del aire, agua de riego o a través de semillas contaminadas. Si bien no infecta las semillas, las contamina con sus esclerocios. Estos se producen cuando las condiciones ambientales son desfavorables para la sobrevivencia de la especie. Germinan una vez que las condiciones se presentan favorables produciendo filamentos miceliales que infectan directamente a los tejidos del hospedante. El hongo invade el tejido debilitado o dañado de la planta ya sea en forma directa o indirecta. Para que la espora germine, forme del tubo germinativo y se de la infección, las condiciones deben ser: temperaturas entre 9°C y 21°C, humedad relativa mayor a 98% o presencia de agua libre sobre la superficie foliar (Landis 1990b, Reyna 2000).

2.6.2.3 Síntomas y signos

Los síntomas de la enfermedad en plántulas de vivero comienzan por el secado de las hojas apicales y/o una podredumbre en la base del tallo, lo que puede provocar la caída y la muerte de la misma (FAO, 2002).

Además se puede observar en las plántulas de vivero un enrollamiento de las hojas, donde se puede encontrar una capa de moho gris que es el resultado de la esporulación del hongo, con abundante producción de conidióforos con conidios. Ese micelio algodonoso puede estar presente en

hojas caídas en la bandeja o en hojas en senescencia de la plántula que aún no han caído (Reyna 2000, Agrios 2008).

2.6.2.4 Manejo

La disminución del daño de moho gris se logra a través de una combinación entre los controles culturales y químicos que se han desarrollado en los viveros. Estos son:

- eliminación de plantas enfermas y/ o dañadas, manteniendo solamente las vigorosas y saludables,
- manejo de una densidad que permita una buena circulación del aire durante períodos donde las plántulas son más vulnerables,
- reducción al mínimo de la humedad del follaje de la planta
- remoción y destrucción de los restos de plantas, y esterilización de contenedores.
- fertilización en forma balanceada, evitando excesos

2.6.3 Enfermedades producidas por *Cylindrocladium*

2.6.3.1 Generalidades

Diversas especies de *Cylindrocladium*, ocasionan enfermedades en cítricos, plátanos, arroz, soya, cocotero, eucalipto y mango (Rivas y Ronnie, 2008). En 1915, Graves, citado por Crous (2002) ya lo describe como un microorganismo saprófito, siendo numerosos los trabajos posteriores que lo constatarían.

Provocan podredumbres de varios tipos (podrición negra, por ejemplo), mancha foliar, tizón, cancro, problemas en la raíz, damping off del tipo pre-emergente, matando la plántula antes de que emerja de la tierra. También provoca damping off post-emergente, cuando la plántula todavía está constituida por tejido joven (sensible). A pesar de que se establece que este género se encuentra involucrado en estas enfermedades, no es mucho lo que se sabe sobre su importancia como patógeno (Sharma y Mohanan, citados por Crous, 2002).

2.6.3.2 Ciclo

La infección inicia con la germinación del conidio, microescleroto o ascospora, con condiciones de alta humedad y agua libre (lluvias, riego y/o rocío). La mayoría de las especies presentan penetración directa (Crous, 2002). Se da generalmente a nivel del suelo, sin embargo, puede ocurrir en las raíces

y propagarse hacia arriba, logrando el colapso. Los cotiledones de las plántulas pueden pasar extensos períodos protegidos por los restos de la semilla, la cual puede estar contaminada con éste hongo y así originarse damping-off (“top killing”) y producción de esporulación. Las esporas son usualmente salpicadas por el agua de riego hacia otras plántulas sanas (Mohanan y Sharma, citados por Crous, 2002).

Cuando el material vegetal infectado o la planta cosechada, las hojas y otras partes de la planta caen, se liberan los microesclerotos al suelo. Los cuales pueden sobrevivir sin la presencia de un hospedero por más de 15 años (Thies et al., citados por Crous, 2002).

2.6.3.3 Síntomas y signos

Cylindrocladium produce diversas manchas foliares. Según el hospedero, la edad del hospedero y la especie del patógeno. Sin embargo, por lo general las primeras lesiones aparecen en las zonas donde la hoja permanece por más tiempo empapada, causando coloraciones rojizas y púrpuras en las láminas, a veces de marrón claro a oscuro usualmente rodeadas por bordes de color rojo, marrón oscuro o púrpura y una zona clorótica (Barnard, citado por Crous, 2002). Según Ferreira, citado por Crous (2002), una alta densidad de manchas foliares y canchros, pueden derivar en un tizón apical.

Los cotiledones de las plántulas pueden pasar extensos períodos protegidos por los restos de la semilla contaminados y así originarse damping-off (“top killing”). Las plántulas se tornan de marrón a negro y presentan abundante esporulación en la parte inferior del tallo (Mohanan y Sharma, citados por Crous, 2002).

2.6.3.4 Manejo

- evitar la utilización de compost que no esté maduro
- desinfección de herramientas y recipientes
- conocer el origen del agua (evitando la contaminación con fitopatógenos)
- minimizar los desplazamientos del personal y maquinaria (que pueden actuar de vectores entre el inóculo y el futuro hospedante)
- eliminación de plantas afectadas (fuentes de inóculo)

- rustificación de plantines, disminuyendo la vulnerabilidad al patógeno
- elevar el nivel técnico y tecnológico que se implementa en el vivero (Telechea, 2010).
- utilización de bandejas y la siembra en compartimentos individuales, para disminuir la incidencia de damping off por *Cylindrocladium* (Crous, 2002).
- prácticas culturales de manejo, las cuales son importantes para modificar la temperatura del suelo. Ya que por ejemplo, algunas especies de este género pueden producir enfermedades que disminuyen cuando la temperatura del suelo excede los 25 °C y se detiene cuando supera los 35 °C (Sidebottom y Beute, citados por Crous, 2002).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 SUSTRATO

El sustrato estudiado corresponde al vivero M´Bopicuá, de la empresa Montes del Plata que está ubicado en el departamento de Rio Negro. Sus componentes son: turba de *Sphagnum* (58%), vermiculita expandida (40%), calcáreo dolomítico (1,5%) y yeso agrícola (0,5%). Los tratamientos se probaron en el sustrato que se retira del sistema productivo al momento de descartar las estacas que no prenden a aproximadamente 35 días de la plantación.

3.2 TRATAMIENTOS TÉRMICOS

Los tratamientos térmicos a evaluar se definieron en función de las temperaturas cardinales de *Botrytis* y *Cylindrocladium*, por ser patógenos importantes en vivero de *Eucalyptus*. Fueron aplicados utilizando un autoclave Vertical Pressure Steam Sterilizer, modelo LS-B75L-I. Tiene un volumen de 75 litros y trabaja a una presión máxima de 0.22 Mpa y una temperatura máxima de 134°C. Se encuentra en el Laboratorio de Fitopatología, de la Facultad de Agronomía de la Universidad de la República (UdelaR).

Cuadro No. 1. Tratamientos térmicos

trat. térmico 1:	40 °C durante 15 minutos
trat. térmico 2:	40°C durante 30 minutos
trat. térmico 3:	55°C durante 15 minutos
trat. térmico 4:	55°C durante 30 minutos
trat. testigo 5:	sustrato sin uso, ni tratamiento térmico
trat. testigo 6:	sustrato con 35 días de uso, sin tratamiento térmico

Cada tratamiento térmico se realizó con tres repeticiones de 300 g de sustrato. Se obtuvieron 14 unidades experimentales (UE): 12 repeticiones tratadas térmicamente más una repetición de cada testigo.

3.3 MÉTODOS DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

3.3.1 Test de supresividad

Para evaluar la capacidad de los sustratos bajo estudio de inhibir el desarrollo de hongos fitopatógenos, se utilizaron dos hongos de reconocida importancia en vivero: *Botrytis cinerea* y *Cylindrocladium* sp se aplicó la metodología propuesta por De Boer et al. (2003) modificada por el agregado de agar agua al sustrato para facilitar las mediciones.

Se colocaron 20 gramos de sustrato con 20 ml de Agar Agua en cada una de cinco placas de Petri por unidad experimental. Una vez solidificado se le colocó encima un disco de 6 mm de diámetro de medio Potato Dextrosa Agar (PDA) de la zona de crecimiento de la colonia fúngica de forma invertida. Se incubaron a 24 °C y 12 horas de fotoperiodo y se midió el diámetro del micelio cada 48 horas durante 33 días. Se realizaron 15 repeticiones por cada tratamiento térmico y 5 repeticiones de los tratamientos testigo.

Se obtuvo la evolución del diámetro de colonias de los dos géneros fúngicos tomados durante ese período de tiempo. Luego se calculó el área bajo la curva promedio de cada tratamiento para someterlos al análisis estadístico.

3.3.2 Trampeo de *Cylindrocladium*

Para analizar la presencia de *Cylindrocladium* en el sustrato bajo estudio, se aplicó la técnica de trampeo propuesta por Goncalves et al. (2001). Se colocaron 20 gramos de sustrato en placas de Petri y 4 discos de hojas juveniles de *Eucalyptus dunnii* de 5 mm de diámetro en forma equidistantes y semienterrados. Las hojas de *E. dunnii* fueron previamente lavadas con agua corriente y esterilizadas superficialmente con alcohol 70%. Se realizaron 12 repeticiones por cada tratamiento térmico y 5 repeticiones de los tratamientos testigo.

Las 58 placas resultantes se mantuvieron en ambiente controlado con 12 horas de fotoperiodo y 24 °C de temperatura durante 5 días. Posteriormente, con una lupa estereoscópica, se observaron los discos de hoja para registrar presencia o ausencia de signo de *Cylindrocladium* sp. Se volvieron a lavar con agua corriente, se esterilizaron superficialmente con NaClO durante 45 segundos y se enjuagaron dos veces con agua destilada estéril. Se colocaron en placas de Petri con medio PDA con pH 4. Se incubaron durante 5 días a 24 °C y luego se registraron los géneros fúngicos desarrollados.

3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el procesamiento de datos se utilizó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey, utilizando el programa R, de GNU (General Public License: licencia de software libre protegida de apropiación indebida, Santana y Mateos Farfán, 2014).

En el caso del test de supresividad, a la evolución del diámetro de las colonias fúngicas sobre los sustratos con los diferentes tratamientos se le calculó el área bajo la curva para cada una de las repeticiones de los distintos tratamientos y luego se les comparó con el test de Tukey ($p < 0,05$).

En el caso del trampeo de *Cylindrocladium*, a los diferentes valores de presencia de los distintos géneros fúngicos obtenidos de los sustratos con diferentes tratamientos, se las comparó con el test de Tukey ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 TEST DE SUPRESIVIDAD

Cuadro No. 2. Áreas bajo la curva del diámetro promedio de colonia fúngica en función del tiempo

géneros fúngicos	trat. 1	trat. 2	trat. 3	trat. 4	trat. 5	trat. 6
<i>Botrytis cinerea</i>	0,59 (A)	0,58 (A)	0,47 (A)	0,44 (A)	0,74 (A)	0,86 (A)
<i>Cylindrocladium</i> sp.	0,35 (B)	0,54 (AB)	0,53 (AB)	0,33 (B)	0,85 (A)	0,76 (A)

Los valores seguidos por la misma letra no presentan diferencias significativas según el test de Tukey ($p < 0,05$)

Como se observa en el cuadro No. 2, no hubo capacidad supresora sobre *Botrytis cinerea* en ninguno de los tratamientos. Dicho hongo coloniza con facilidad todo tipo de sustratos y una amplia gama de hospederos (Landis, 1990b), lo que explicaría su competitividad para superar la potencial capacidad supresora del sustrato.

En el mismo cuadro se observa que todos los tratamientos térmicos permitieron menor desarrollo de *Cylindrocladium* en relación a los tratamientos testigo. Sin embargo sólo los tratamientos 1 y 4 presentaron diferencias significativas con respecto a los testigos 5 y 6 ($p > 0,05$). Estos últimos, que no recibieron tratamiento térmico son los que menos inhiben el crecimiento del patógeno manifestando de esa forma menor efecto supresor.

4.2 TRAMPEO DE *CYLINDROCLADIUM*

En las siembras de las hojas trampa en PDA no se desarrolló ninguna colonia de *Cylindrocladium*, esto coincide con lo que se conocía a priori: que no se contaba con problemas sanitarios causados por éste patógeno, haciendo suponer su ausencia en el sustrato. *Botrytis cinerea* tampoco surgió en ningún resultado, es un dato valioso considerando que es un hongo patógeno muy popular en viveros forestales.

Se identificaron otros géneros de hongos conocidos como fitopatógenos. Los géneros fúngicos más frecuentes en todos los tratamientos fueron *Fusarium*, *Trichoderma* y *Alternaria* (anexo No. 6).

Cuadro No. 3. Comparación de la presencia esperada de los géneros fúngicos entre los diferentes tratamientos

géneros fúngicos	trat. 1	trat. 2	trat. 3	trat. 4	trat. 5	trat. 6
<i>Fusarium</i> spp.	2,25 (A)	3,08 (A)	3,58 (A)	2,25 (A)	3,20 (A)	2,80 (A)
<i>Trichoderma</i> sp.	2,58 (A)	1,67 (AB)	1,92 (AB)	2,75 (A)	0,60 (B)	1,80 (AB)
<i>Alternaria</i> sp.	1,42 (AB)	2,00 (A)	1,17 (AB)	1,50 (AB)	0,40 (B)	1,40 (AB)
no identificado	0,33 (A)	0,25 (A)	0,00 (A)	0,08 (A)	0,20 (A)	0,00 (A)

Los valores seguidos por la misma letra no presentan diferencias significativas según el test de Tukey ($p < 0,05$).

En el cuadro No. 3 se observa que la presencia esperada del género *Fusarium* varió entre 2,25 y 3,58 pero no presentó diferencias significativas entre los distintos tratamientos. Los hongos del género *Fusarium* presentan muchas especies que tienen una gran capacidad de ocasionar enfermedades en especies de plantas cultivadas, los principales problemas que le generan a la planta son marchitamiento vascular, manchas y pudriciones en distintos órganos (Nelson 1990, Booth, citado por Arbeláez Torres 2000).

El género *Alternaria* presentó diferencias significativas en su presencia esperada entre los distintos tratamientos. El valor de presencia esperada más alto se observó en el tratamiento 2 (2,00) y le siguieron en forma decreciente la de los tratamientos 4 (1,50) y 1 (1,42). El género *Trichoderma* también presentó diferencias significativas en esta variable obteniendo la mayor presencia esperada en el tratamiento 4 (2,75) seguido por los tratamientos 1 (2,58) y 3 (1,92).

El rango de temperaturas de desarrollo de *Alternaria* es desde -3 hasta 35 °C, siendo su rango óptimo entre 22 y 28 °C (Sommer, citado por Pavone, 2012). Es de destacar que en el tratamiento 2 coincide una alta presencia esperada de *Alternaria* con un valor de presencia esperada intermedio bajo de *Trichoderma*; por otro lado en los tratamientos 1, 3 y 4 valores de presencia

esperada intermedios altos de *Trichoderma* coinciden con valores de presencia esperada intermedios bajos de *Alternaria* lo que puede estar expresando un efecto antagónico entre ambos géneros. Sería conveniente identificar las especies de ambos géneros presentes en el sustrato de interés y estudiar su interacción.

Trichoderma es un género relevante considerando que presenta especies biocontroladoras. Si la planta no está enferma, la presencia de *Trichoderma* puede por sí sola ejercer un efecto protector frente a posibles infecciones (Campbell, 1989). Por lo que lograr mediante algún tratamiento aumentar su presencia en el sustrato puede ser de gran ayuda para mantener o mejorar la sanidad del vivero.

En el cuadro No. 3, se puede apreciar que en los tratamientos 1 y 4 *Trichoderma* presenta el mayor valor de presencia esperada y que es en esos mismos tratamientos que *Cylindrocladium* presenta su mayor inhibición (cuadro No. 2) en el test de supresividad. Esto permite deducir que el *Trichoderma* presente puede estar expresando actividad de biocontrol y de esa forma estar dificultando el desarrollo de *Cylindrocladium*. Esto es coherente con lo que establecen Lorito et al., citados por Zimand et al. (1996), sobre la existencia de actividad antifúngica de *Trichoderma* sp. por acción de enzimas quitinolíticas.

Existen numerosos trabajos que comprueba la capacidad inhibitoria de especies de este género frente a diversos patógenos. Por ejemplo el que realizaron Páez y Sanabria de Albarracín (2007), que estudiaron y comprobaron el efecto inhibitorio que demostró *Trichoderma koningii* sobre el crecimiento y esporulación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Cubillos Hinojosa et al. (2011) comprobaron que *Trichoderma harzianum* presenta efecto biocontrolador sobre *Fusarium solani*, causante de marchitez; disminuyendo significativamente los síntomas, el número de plántulas enfermas, plantas con pudrición en corona y plántulas muertas, en condiciones de invernadero. Ciancas, citado por Puño et al. (2011), demostró la capacidad biocontroladora de *Trichoderma inhamatum* sobre *Botrytis cinerea* in vitro, obteniendo una inhibición del 80%; Astorga-Quirós et al. (2014), observaron un buen desempeño de las cepas de *Trichoderma* como biocontroladoras a través de procesos de competencia, antibiosis y parasitismo, logrando inhibición y destrucción de la pudrición por *Penicillium* del ajo, la bacteriosis por *Pseudomonas marginalis* y pudrición blanca por *Sclerotium cepivorum*. Estos últimos autores se refieren a *Trichoderma* como “un hongo que ataca, parasita y desplaza otros hongos que producen enfermedades en las plantas”.

5. CONCLUSIONES

En los ensayos de trampeo, en ningún tratamiento se recuperó *Cylindrocladium* ni *B. cinerea*.

En todos los tratamientos se detectó la presencia de *Trichoderma* sp. que presenta especies biocontroladoras..

En los ensayos de supresividad se observó un mayor desarrollo de *Cylindrocladium* en los tratamientos testigo. En los sustratos con tratamientos térmicos hubo mayor supresividad de *Cylindrocladium* coincidiendo con los valores más altos de presencia de *Trichoderma* spp. en los trampeos.

Es necesario un estudio adicional para identificar las especies de los géneros detectados y conocer el verdadero potencial biocontrolador de las cepas presentes en el sustrato utilizado en la producción de los plantines.

6.RESUMEN

Este trabajo estudia posibles tratamientos de sustrato de vivero de *Eucalyptus* spp, de la empresa Montes del Plata. Fue realizado en el laboratorio de la Unidad de Fitopatología, de la Facultad de Agronomía, de la Universidad de la República. El objetivo del mismo fue estudiar el efecto del tratamiento térmico con vapor de agua, aplicado con presión en la desinfección de sustrato con un mes de uso. Para ello se probaron combinaciones de dos temperaturas (40 y 55°C) y dos tiempos de tratamiento (15 y 30 minutos), considerando las temperaturas cardinales de dos géneros fúngicos: *Botrytis cinerea* y *Cylindrocladium* spp, patógenos importantes del cultivo de *Eucalyptus*: estudiándose el efecto supresor de los sustratos sobre *Botrytis cinerea* y *Cylindrocladium* sp, y la posible presencia de *Cylindrocladium* sp.a través de trampas de *Eucalyptus dunnii*. En todos los tratamientos térmicos hubo menor desarrollo de colonias de los patógenos probados pero sólo en el caso de *Cylindrocladium* fue estadísticamente significativa. En la técnica de trampeo de *Cylindrocladium*, no se detectó este género, sin embargo se registraron *Fusarium* spp., *Alternaria* spp. y *Trichoderma* spp La presencia de *Trichoderma* fue mayor en los tratamientos 1 y 4, asociándose a las mayores inhibiciones de *Cylindrocladium* para los mismos tratamientos, en las pruebas de supresividad.

Palabras clave: Sustrato; Tratamientos térmicos; Hongos; Vapor de agua.

7.SUMMARY

The research studies the substrate treatments of the M'boficuá nursery, from the company Montes del Plata. It was done in the laboratory of Phytopathology Department (Agronomy Faculty, UdelaR). The objective was to study the effect of the thermal treatment with water vapor, applied with pressure in the disinfection of substrate with a month of use. For this, combinations of two temperatures (40 and 55 ° C) and two treatment times (15 and 30 minutes) were tested, considering the cardinal temperatures of two important fungic genera because of the potential damage that they can mean to the cultivation of *Eucalyptus*: *Botrytis cinerea* and *Cylindrocladium* sp., studying the suppressive effect of the substrates and the possible presence of *Cylindrocladium* sp. through trapping techniques. In the trapping technique of *Cylindrocladium* sp., this genus was not detected, but *Fusarium* spp., *Alternaria* spp. and *Trichoderma* spp. were found. The presence of *Trichoderma* in treatments 1 and 4 was associated to the inhibitions of *Cylindrocladium* sp. in the suppressive tests.

Key words: Substrate; Thermal treatment; Mushrooms; Water vapor.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Aguirre, N. 2013. Métodos de desinfección de sustrato para el control de damping-off en semillero de Teca (*Tectona grandis* Linn F.), bajo invernadero de la empresa Seragroforest, provincia Santo Domingo de los Tsáchilas. (en línea). Tesis Ing. Forestal. Riobamba, Ecuador. Facultad de Recursos Naturales. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 106 p. Consultado 10 may. 2017. Disponible en <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/2992/1/33T0120%20.pdf>
2. Alvarado, M. 2002. Producción de sustratos para viveros. (en línea). Costa Rica, OIRSA. 46 p. Consultado 10 set. 2016. Disponible en <http://www.cropprotection.es/documentos/Compostaje/Sustratos-para-Viveros.pdf>
3. Andrés Ares, J. L. 2015. Plantas leñosas ornamentales: control de enfermedades producidas por hongos y cromistas. (en línea). Madrid, Mundi-Prensa. s.p. Consultado 16 ago. 2017. Disponible en <https://books.google.com.uy/books?id=i3cCgAAQBAJ&pg=PA349&lpq=PA349&dq=enfermedades+provocadas+por+cylindrocladium&source=bl&ots=vvgFDhu3WQ&sig=qYtuCuv1Apt0RPIlfacc8eydUQY&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiUy5GoodrVAhXKFZAKHYH9CwxQ6AEITTAJ#v=onepage&q=enfermedades%20provocadas%20por%20cylindrocladium&f=false>
4. Arbeláez Torres, G. 2000. Algunos aspectos de los hongos de género *Fusarium* y de la especie *Fusarium oxysporum*. (en línea). Revista Agronomía Colombiana. 17: 11-22. Consultado 25 ago. 2018. Disponible en <https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/21538/2543>
5. Astorga-Quirós, K.; Meneses-Montero, K.; Zúñiga-Vega, C.; Brenes-Madriz, J.; Rivera-Méndez, W. 2014. Evaluación del antagonismo de *Trichoderma* sp. y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo. (en línea). Tecnología en Marcha. 27(2):82 -91. Consultado 03 set. 2018. Disponible en http://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/1929/1755

6. Benito, E. P.; Arranz, M.; Eslava, A. P. 2000. Factores de patogenicidad de *Botrytis cinerea*. (en línea). Revista Iberoamericana de Micología. 17: S43 - S46. Consultado 15 ago. 2017. Disponible en <http://www.reviberoammicol.com/2000-17/S43S46.pdf>
7. Buamscha, M. G.; Contardi, L. T.; Dumroese, R. K.; Enricci, J. A.; Escobar, R.; Gonda, H.; Jacobs, D.; Landis, T.; Luna, T.; Mexal, J.; Wilkinson, K. 2012. Producción de plantas en viveros forestales. (en línea). Buenos Aires, Argentina, Consejo Federal de Inversores. 190 p. (Colección Nexos). Consultado 15 may. 2016. Disponible en http://ciefap.org.ar/documentos/pub/Produc_plantas_viv.pdf
8. Burés, S. 2001. Curso de gestión de viveros forestales. (en línea). Barcelona, España, Consejería de Medio Ambiente. Junta de Andalucía. s.p. Consultado 30 ago. 2016. Disponible en http://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/consolidado/publicacionesdigitales/80-373_I_CURSO_DE_GESTION_DE_VIVEROS_FORESTALES/80-373/7_MANEJO_DE_SUSTRATOS.PDF
9. Campbell, R. 1989. Biological control of microbial plant pathogens. Bristol, Cambridge University. 218 p.
10. Carrasco, J.; Riquelme, J.; Pastén, F.; Torres, A. 2005. Vaporización de sustratos para la producción de plántulas de especies hortícolas. Introducción de alternativas sustentables de reemplazo al bromuro de metilo en la producción de tomates en invernaderos de Colín. (en línea). Villa Alegre, Chile, INIA. 8 p. Consultado 6 mar. 2017. Disponible en <http://documentslide.com/documents/cartilla-vapor-inia.html#>
11. _____.; _____.; _____.; Silva, L.; Gonzales, S. 2006. La vaporización: una opción real para desinfectar sustratos. Alternativas al bromuro de metilo. (en línea). Villa Alegre, Chile, INIA. pp. 20-23. Consultado 8 mar. 2017. Disponible en <http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/ta/NR33765.pdf>
12. CCOO (Confederación Sindical de Comisiones Obreras, ES). 1997. Protocolo de protección de la capa de ozono: bromuro de metilo

(en línea). Daphnia. No. 9. 16 p. Consultado 10 set. 2017.
Disponible en <http://www.istas.ccoo.es/descargas/daphnia09.pdf>

13. Crous, P. W. 2002. Taxonomy and pathology of *Cylindrocladium* (*Calonectria*) and *Allied genera*. St. Paul, Minnesota, USA, APS. 274 p.
14. Cubillos Hinojosa, J. G.; Páez Redondo, A.; Mejía Doria, L. 2011. Evaluación de la capacidad biocontroladora de *Trichoderma harzianum* Rifai contra *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. asociado al complejo “secadera” en maracuyá, bajo condiciones de invernadero. (en línea). Revista Facultad Nacional de Agronomía (Medellín). 64(1):5821 -5830. Consultado 03 set. 2018. Disponible en <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v64n1/a08v64n01.pdf>
15. De Boer, W.; Verheggen, P.; Klein Gunnewiek, P. J. A.; Kowalchuk, G. A.; Van Veen J. A. 2003. Microbial community composition affects soil fungistasis. Applied and Environmental Microbiology. 69(2):835 -844.
16. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT). 2002. El cultivo protegido en clima mediterráneo. (en línea). Roma. 318 p. (Estudio FAO. Producción y Protección Vegetal no. 90). Consultado 17 jun. 2016. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/005/S8630S/s8630s07.htm>
17. García Jiménez, A. 2012. Desinfestación de sustrato y solución nutritiva contaminados con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. (en línea). Tesis Maestro en Ciencias en Horticultura. Chapingo, México. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Fitotecnia. Instituto de Horticultura. Postgrado en Horticultura. 59 p. Consultado 10 may. 2016. Disponible en <https://chapingo.mx/horticultura/pdf/tesis/TESISMCH2012071609127034.pdf>
18. Gepp, V.; Vero, S.; Cassanello, M. E.; Romero, G.; Silvera, E.; González, P.; Rebellato, J.; Ferreira, Y.; Bentancur, O. 2012. Resistencia a fungicidas en *Botrytis cinerea* en el Uruguay. (en línea). Agrociencia. 16(1):97 -107. Consultado 15 ago. 2017. Disponible en <http://www.acuedi.org/doc/6176/resistencia-a-fungicidas-en-botrytis-cinerea-en-el-uruguay.html>

19. Goncalves, R. C.; Alfenas, A. C.; Maffia L. A.; Crous, P. W. 2001. Evaluation of bioassays to quantify *Cylindrocladium* inocula in soil. *Mycoscience*. 42: 261 - 264.
20. Henricot, B.; Culham, A. 2002. *Cylindrocladium buxicola*, a new species affecting *Buxus* spp., and its phylogenetic status. *Mycologia*. 94 (6): 980 - 987.
21. Irisity, F. 1999. Vivero forestal. Montevideo, Facultad de Agronomía. 99 p.
22. Jiménez Peris, F. 1993. Viveros forestales para producción de planta a pie de repoblación. (en línea). Madrid, España, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. 36 p. (Hojas Divulgadoras no. 6). Consultado 25 nov. 2016. Disponible en http://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_19_93_06.pdf
23. Landis, T. D.; Tinus, R. W.; Mc Donald, S. E.; Barnett, J. P. 1990a. Contenedores y medios de crecimiento. Washington, D. C., USDA. Servicio Forestal. v.2, 119 p. (Manual Agrícola no. 674).
24. _____. 1990b. Manejo de plagas y enfermedades. (en línea). In: Landis, T. D.; Tinus, R. W.; Mc Donald, S. E.; Barnett, J. P. eds. Manual de viveros para la producción de especies forestales en contenedor. Washington, D. C., USDA. Servicio Forestal. v.5, pp. 1 - 99 (Agriculture Handbook no. 674). Consultado 5 abr. 2017. Disponible en http://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/15375/mod_resource/content/0/Enfermedades_2013/Lectura_obligatoria_yo_complementaria/Vol_5_cap_1.pdf
25. MGAP. DGF (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección Forestal, UY). 2016. Manual de campo: plagas y enfermedades de eucaliptos y pinos en el Uruguay. Montevideo. 167 p.
26. Millán, D.; Romero, L.; Brito, M.; Ramos-Villarroel, A. 2015. Luz ultravioleta: inactivación microbiana en frutas. (en línea). *Saber*. 27 (3): 454 - 469. Consultado 18 ago. 2017. Disponible en <http://www.redalyc.org/html/4277/427743080011/>

27. Mora, L. 1999. Sustratos para cultivos sin suelo o hidroponía. (en línea). In: Congreso Nacional Agronómico (11^o.), Congreso Nacional de Suelos (3^o., 1999, San José, Costa Rica). Trabajos presentados. San José, s.e. pp. 95 - 100. Consultado 10 set. 2017. Disponible en http://www.mag.go.cr/congreso_agronomico_xi/a50-6907-III_095.pdf
28. MSSSI. INGESA (Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Instituto Nacional de Gestión Sanitaria, ES). 2013. Guía para el manejo del autoclave en la central de esterilización del hospital universitario de CEUTA. (en línea). Madrid. 101 p. Consultado 12 may. 2017. Disponible en <http://www.ingesa.msssi.gob.es/estadEstudios/documPublica/inter-net/pdf/Autoclave.pdf>
29. Navall, J. 2011. El vivero forestal: guía para el diseño y producción de un vivero forestal de pequeña escala de plantas de envases. (en línea). Santiago del Estero, Argentina, INTA 14 p. Consultado 25 nov. 2016. Disponible en <http://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta-viveroforestal.pdf>
30. Navarro, R.; Villar-Salvador, P.; Del Campo, A. 2006. Morfología y establecimiento de los plantones; introducción. (en línea). In: Calidad de planta forestal para la restauración en ambientes mediterráneos. Madrid, Ministerio de Medio Ambiente. Dirección General para la Biodiversidad. pp. 67 – 88. Consultado 01 dic. 2016. Disponible en http://www.mapama.gob.es/es/parques-nacionales-oapn/publicaciones/calidad_planta_forestal_tcm7-22941.pdf
31. Otazú, V. 2007. Esterilización de sustratos de invernadero por vapor. (en línea). In: Alternativas al uso del bromuro de metilo en la producción de semillas de papa de calidad. Lima, CIP. pp. 15-25 (División de Manejo Integrado de Cultivos. Documentos de Trabajo no. 2). Consultado 24 may. 2017. Disponible en <https://books.google.com.uy/books?id=ekfD7Ab7DREC&pg=PA10&lpg=PA10&dq=autoclave+sustrato&source=bl&ots=-MSns9iPBW&sig=D1fR2NcVeLGv1DXNeu6u2apWmVk&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiw-JCzljUAhVDGJAKHZVNAfQQ6AEIZDAO#v=onepage&q&f=false>

32. Páez, M. E.; Sanabria de Albarracín, N. 2007. Evaluación de la capacidad antagonista de *Trichoderma koningii* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. (en línea). Revista Facultad Nacional de Agronomía (México). 24 (1): 27 - 31. Consultado 10 may. 2018 Disponible en <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v64n1/a08v64n01.pdf>
33. Pastor Sáez, J. N. 1999. Utilización de sustratos en viveros. (en línea). Terra Latinoamericana. 17 (3): 231 - 235. Consultado 20 jun. 2016. Disponible en <http://www.redalyc.org/pdf/573/57317307.pdf>
34. Pavone, D. F. 2012. Biocontrol de *Rhizoctonia solani* KÜHN por *Trichoderma* spp. (en línea). Tesis Ing. Agr. Caracas, Venezuela. Universidad Central de Venezuela. 192 p. Consultado 11 ago. 2017. Disponible en http://saber.ucv.ve/bitstream/123456789/3296/1/T026800002665-0-Tesis_Final_Domenico_Pavone-000.pdf
35. Puño, R.; Terrazas, E.; Alvares, T.; Giménez, A.; Mendoza, L.; Hugh, S.; Loza-Murguía, M. 2011. Evaluación de la capacidad biocontroladora de metabólicos de *Trichoderma inhamatum* Bol12 QD sobre cepas nativas de *Phytophthora infestans* in vitro. (en línea). Journal of the Selva Andina Research Society. 2 (1): 26 - 33. Consultado 03 set. 2018. Disponible en <http://www.scielo.org.bo/pdf/jsars/v2n1/a04.pdf>
36. Ramírez, A. 2008. Aspectos fitosanitarios en plantaciones forestales. (en línea). s.n.t. s.p. Consultado 30 jul. 2017. Disponible en [http://www.elsemillero.net/pdf_memorias/ASPECTOS%20FITOSANITARIOS%20EN%20PLANTACIONES%20FORESTALES%20\(2\).pdf](http://www.elsemillero.net/pdf_memorias/ASPECTOS%20FITOSANITARIOS%20EN%20PLANTACIONES%20FORESTALES%20(2).pdf)
37. 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. Universidad de la República. Facultad de Agronomía. 70 p.
38. Rivas, E.; Ronnie, E. 2008. Determinación de variables biológicas en *Cylindrocladium scoparium* Morgan para su manejo laboral. (en línea). Temas de Ciencia y Tecnología. 12 (35): 3 - 8.

Consultado 22 ago. 2017. Disponible en
http://www.utm.mx/edi_anteriores/temas035/1%20ensayo-35.pdf

39. Rodríguez Laguna, R. 2010. Manual de prácticas de viveros forestales. (en línea). Pachuca Hgo, México, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias Agrarias. 52 p. (Manuales de Ingeniería Forestal). Consultado 25 nov. 2016. Disponible en https://www.uaeh.edu.mx/investigacion/icap/LI_IntGenAmb/Rodri_Laguna/2.pdf
40. Ruano Martínez, R. 2008. Viveros forestales. Madrid, España, Mundi-Prensa. 208 p.
41. Sánchez-Saldaña, L.; Sáenz Anduaga, E. 2005. Antisépticos y desinfectantes. (en línea). Dermatología Peruana. 15 (2): 82 -103. Consultado 15 oct. 2016. Disponible en http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/dermatologia/v15_n2/pdf/a02.pdf
42. Santana, J. S.; Mateos Farfán, E. 2014. El arte de programar en R: un lenguaje para la estadística. (en línea). Morelos, México, IMTA. 182 p. Consultado 25 mar. 2018. Disponible en https://cran.r-project.org/doc/contrib/Santana_El_arte_de_programar_en_R.pdf
43. SPF (Sociedad de Productores Forestales del Uruguay, UY). 2016. Uruguay forestal: marco legal. (en línea). Montevideo, Uruguay. s.p. Consultado 18 nov. 2016. Disponible en <http://www.spf.com.uy/uruguay-forestal-marco-legal>
44. Telechea, N. 2010. Algunas enfermedades y plagas de *Eucalyptus* y *Pinus* en Uruguay. (en línea). In: Jornadas Forestales de Entre Ríos (24as., 2010, Concordia, Argentina). Trabajos presentados. Concordia, s.e. pp. 0-10. Consultado 1 ago. 2017. Disponible en <http://www.jornadasforestales.com.ar/jornadas/2010/428.VIII.Telechea.pdf>
45. Valenzuela, O.; Gallardo, C. 2004. Un insumo clave en los sistemas de producción en plantines: sustratos hortícolas. (en línea). Idia XXI. 4:25 - 29. Consultado 24 nov. 2016. Disponible en <http://www.biblioteca.org.ar/libros/210663.pdf>

46. Zimand, G.; Elad, Y.; Chet, I. 1996. Effect of *Trichoderma harzianum* on *Botrytis cinerea* pathogenicity. *Phytopathology*. 86: 1255-1260.

9. ANEXOS

Anexo No. 1. Vaporización activa en “bunker”:

Existen equipos diseñados para vaporizar 1 m³ de sustrato en un tiempo aproximado de 40 a 50 minutos, y otros equipos que poseen la capacidad de desinfectar un volumen de sustrato entre 4 m³ y 5 m³, logrando desinfectar por día unos 32 m³ a 40 m³, considerando una jornada de 8 horas. Estos equipos se denominan vaporización activa en “bunker” y son recomendados para la producción de plantas en viveros forestales por ejemplo donde se trabaja con un gran volumen de sustrato anual (Carrasco et al., 2006).

Fotos de la vaporización activa en “bunker”



Sistema “bunker” con una caldera de construcción, que genera vapor y lo inyecta al interior del sustrato. Las “carpas” azules evitan pérdidas de vapor y temperatura. Y equipo extractor de vapor, que permite aumentar la eficiencia de la desinfección de sustratos, bajo el sistema “bunker”. Las flechas naranjas indican el sentido del flujo de vapor (Carrasco et al., 2006).

Anexo No. 2. Resistencia de los microorganismos a la desinfección:

MSSSI (2013) clasifica la resistencia de los microorganismos a la esterilización, de menos resistente a más resistente:

- virus grandes con envoltura lipídica
- formas vegetativas de bacterias y hongos
- esporas de hongos
- virus grandes sin envoltura
- virus pequeños sin envoltura
- protozoos
- micobacterias
- esporas bacterianas
- priones

Anexo No. 3. Cuadro de Inactivación térmica de algunos patógenos:

patógeno	temperatura (°C)	tiempo de exposición (min)
mayoría de bacterias	60 – 70	10
bacterias termotolerantes	90	30
<i>Botrytis cinerea</i>	55	15
<i>Cylindrocarpon destructans</i>	50	30
<i>Didymella lycopersici</i>	50	30
<i>F.sp dinathi</i>	60	30
<i>F.sp gladioli</i>	57	30
<i>Phialophora cinerescens</i>	50	30
<i>Phytophthora cryptogea</i>	50	30
<i>Pythium</i> sp.	53	30
<i>P. irregulare</i>	53	30
<i>P. ultimum</i>	46	20-40
<i>Rhizoctonia</i> sp.	52	30
<i>R. solani</i>	53	30
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	50	5
<i>Sclerotium rolfsii</i>	50	30
<i>Thielaviopsis basicola</i>	48	30
<i>Verticillium albo-atrum</i>	53	30
<i>V. dahliae</i>	58	30

mayoría hongos patógenos	60	30
nematodos foliares	49	15
<i>Heterodera marioni</i>	48	15
<i>Meloidogyne incognita</i>	48	10
<i>Pratylenchus penetrans</i>	49	10
mayoría de virus	100	15
insectos y ácaros	60-70	30
gusanos, babosas	60	30
semillas de malezas	70-80	15

Fuente: tomado de Otazú (2007).

Anexo No. 4. Evolución del diámetro promedio (cm) de las colonias de *Botrytis cinerea* sobre los sustratos con diferentes tratamientos:

<i>Botrytis cinerea</i>						
días	trat. 1	trat. 2	trat. 3	trat. 4	trat. 5	trat. 6
2	1,08	0,92	1,37	0,98	1,03	1,06
4	1,5	1,14	2,06	1,17	1,19	1,17
6	1,42	1,24	2,16	1,22	1,31	1,12
8	1,35	1,35	2,08	1,35	1,45	1,34
10	1,13	1,33	1,93	1,23	1,49	1,21
12	0,77	1,01	0,71	1	1,41	1,17
14	0,44	0,64	0,4	0,65	1,24	0,78
16	0,36	0,57	0,28	0,56	1,23	0,75
18	0,2	0,51	0,14	0,26	0,9	0
20	0	0,44	0,14	0	0,65	0
22	0	0	0	0	0,62	0
24	0	0	0	0	0	0

Anexo No. 5. Evolución del diámetro promedio (cm) de las colonias de *Cylindrocladium* sp. sobre los sustratos con los diferentes tratamientos:

<i>Cylindrocladium</i> sp.						
días	trat. 1	trat. 2	trat. 3	trat. 4	trat. 5	trat. 6
2	0,8	0,75	0,78	0,9	1,24	0,89
4	0,94	1	0,93	1,06	1,43	1,06
6	1,05	1,18	1,04	1,18	1,41	1,17
8	1,07	1,37	1,05	1,26	1,49	1,17
10	1,05	1,23	1,02	1,12	1,51	1,1
12	0,71	1,01	0,66	0,92	1,48	0,96
14	0,35	0,52	0,59	0,49	1,2	0,66
16	0,25	0,5	0,45	0,42	1,18	0,65
18	0,2	0,38	0,45	0,16	0,78	0
20	0	0,37	0,43	0	0,75	0
22	0	0	0	0	0,73	0

Anexo No. 6. No. de apariciones/género/tratamiento:

Tratamientos	Géneros		
	<i>Fusarium</i>	<i>Trichoderma</i>	<i>Alternaria</i>
tratamiento 1	27	31	17
tratamiento 2	37	20	24
tratamiento 3	43	23	14
tratamiento 4	27	33	18
tratamiento 5	16	3	2
tratamiento 6	14	9	7