

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA RICA

ESCUELA DE INGENIERÍA FORESTAL

MAESTRÍA EN CIENCIAS FORESTALES

IDENTIFICACIÓN DE LOS PATÓGENOS CAUSANTES DE LA PUDRICIÓN DE LA BASE Y RAÍZ DE
Tectona grandis L.f Y SU AFECTACIÓN EN LAS PROPIEDADES DE LA MADERA, GUANACASTE,
COSTA RICA

Ing. ESTEBAN MONTENEGRO HERNÁNDEZ

TRABAJO DE GRADUACIÓN PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE MAGISTER SCIENTIAE EN CIENCIAS
FORESTALES CON EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRÍA

CARTAGO, COSTA RICA

NOVIEMBRE, 2024

Identificación de los patógenos causantes de la pudrición de la base y raíz de *Tectona grandis* L.f y su afectación en las propiedades de la madera, Guanacaste, Costa Rica. © 2024 by [Montenegro-Hernández, E.](#) is licensed under [CC BY-NC-ND 4.0](#) 

Montenegro-Hernández, E. (2024). Identificación de los patógenos causantes de la pudrición de la base y raíz de *Tectona grandis* L.f y su afectación en las propiedades de la madera, Guanacaste, Costa Rica. [Tesis de maestría, Instituto Tecnológico de Costa Rica].

RESUMEN GENERAL

Dentro del marco del proyecto “Identificación y manejo integrado de las principales plagas forestales presentes en sistemas productivos forestales de Costa Rica” surge esta investigación para conocer y entender el comportamiento de los patógenos causantes de la pudrición de la base y raíz de *Tectona grandis* L.f y su afectación en las propiedades de la madera. En un primer capítulo se explica cómo se realizó el diagnóstico de la enfermedad en las plantaciones comerciales de teca del área de estudio, a través de la evaluación de la incidencia, severidad y recolección de muestras infectadas, posteriormente se procedió a identificar morfológica y molecularmente los principales patógenos encontrados en las muestras de madera. Finalmente, se evaluó la patogenicidad en plántulas de *T. grandis*. Los resultados obtenidos indicaron que a través del diagnóstico se creó una escala diagramática para la identificación de la enfermedad, los patógenos identificados fueron *Kretzschmaria zonata* y *Lasiodiplodia pseudotheobromae* y ambos resultaron ser patogénicos en plántulas de *T. grandis*.

En el segundo capítulo, con los hongos patógenos ya identificados, se evaluó el efecto en las propiedades mecánicas, químicas y resistencia a la degradación de la madera de *T. grandis* L.f frente a la pudrición causada por estos agentes causales. Para las propiedades mecánicas se efectuaron pruebas con probetas de madera infectada y sana del área de estudio, se obtuvieron los valores del módulo de ruptura (MOR) y elasticidad (MOE) en los cuáles se determinaron que había una disminución de estos parámetros en las muestras infectadas con hongo. Las pruebas químicas consistieron en determinar la cantidad de micro y macro elementos, celulosa y lignina contenidas tanto en madera infectada en campo y material inoculado en laboratorio, en este caso únicamente las muestras infectadas provenientes del área de estudio indicaron una disminución estadísticamente diferente en la cantidad de celulosa respecto a las demás muestras. Los ensayos de resistencia a la degradación también se realizaron en laboratorio siguiendo las normas correspondientes y utilizando a parte de los hongos de estudio, dos hongos de referencia para comparar los resultados finales. La resistencia de la madera frente a la exposición de todos los hongos utilizados en el ensayo resultó en la clasificación de altamente resistente.

GENERAL ABSTRACT

Within the framework of the project "Identification and integrated management of the main forest pests present in productive forestry systems in Costa Rica", this research was carried out to understand the behavior of the pathogens that cause the rotting of the base and root of *Tectona grandis* L.f. and its effect on the properties of the wood. The first chapter explains how the disease was diagnosed in commercial teak plantations in the study area, through the evaluation of the incidence, severity and collection of infected samples, followed by the morphological and molecular identification of the main pathogens found in the wood samples. Finally, pathogenicity was evaluated in *T. grandis* seedlings. The results obtained indicated that through diagnosis a diagrammatic scale was created for disease identification, the pathogens identified were *K. zonata* and *L. pseudotheobromae* and both were found to be pathogenic in *T. grandis* seedlings.

In the second chapter, with the pathogenic fungi already identified as *Kretzschmaria zonata* and *Lasiodiplodia pseudotheobromae*, the effect on the mechanical and chemical properties and decay resistance of *T. grandis* L.f. wood against rot caused by these causal agents was evaluated. For the mechanical properties, tests were carried out with samples of infected and healthy wood from the study area, the values of the modulus of rupture (MOR) and elasticity (MOE) were obtained, in which it was determined that there was a decrease in these parameters in the samples infected with fungus. The chemical tests consisted of determining the quantity of micro and macro elements, cellulose and lignin contained in both wood with the fungus naturally infected in the field and material inoculated in the laboratory. In this case, only the infected samples from the study area showed a statistically different decrease in the amount of cellulose with respect to the other samples. The degradation resistance tests were also carried out in the laboratory following the corresponding standards and using two reference fungi in addition to the study fungi to compare the final results. The resistance of the wood to exposure to all the fungi used in the test resulted in the classification of highly resistant.

ACREDITACIÓN

CONSTANCIA DE DEFENSA PÚBLICA DE PROYECTO DE GRADUACIÓN

Trabajo final de graduación sometido al Tribunal Evaluador del Área Académica de Posgrado en Ciencias Forestales del Instituto Tecnológico de Costa Rica y aprobada como requisito parcial para optar por el grado de Magister.

Miembros del Tribunal evaluador

M.Sc. María Rodríguez Solís

Tutora de tesis

M.Sc. Diego Camacho Cornejo

Coordinador de maestría

PhD. Alexander Berrocal Jiménez

Lector

M.Sc. Dawa Méndez Álvarez

Lectora

Ing. Esteban Montenegro Hernández

Sustentante

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIA

A mis papás Rita y Carlos, a mi familia quienes siempre estuvieron apoyando mi avance en la maestría.

A mi profesora tutora María Rodríguez, por sus observaciones, ideas, oportunidades y seguimiento en todo el proceso de mi trabajo.

A los profesores Alexander Berrocal, Dawa Méndez, Diego Camacho y Roger Moya por su acompañamiento en el desarrollo de la maestría.

A Francisco Sage por su disponibilidad y acompañamiento en el área de estudio.

A la empresa Forestal Río Grande S.A por aportar el material y parte del financiamiento para ejecutar esta investigación.

A Olman Murillo y Yorleny Badilla por facilitar el material vegetal para realizar las pruebas.

Profesores del Instituto Tecnológico de Costa Rica que me apoyaron en el desarrollo de las actividades relacionadas a la maestría.

A mis compañeros y compañeras de maestría Priscila, Yostin, Jair y Adriana.

A Sebastián y Beatriz por la ayuda brindada en el laboratorio.

Dedicatoria

Para mi abuela Rita Tencio Barahona, cuyo amor incondicional, consejos y apoyo fueron siempre mi motivación. Tus palabras y abrazos me acompañaron en cada logro. Gracias por estar siempre a mi lado.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN GENERAL	1
GENERAL ABSTRACT	2
ACREDITACIÓN	3
AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIA	4
ÍNDICE GENERAL	5
ÍNDICE DE CUADROS	7
ÍNDICE DE FIGURAS	8
CAPÍTULO 1	1
Resumen	1
Abstract	2
Introducción.....	3
Metodología	5
Área de estudio	5
Diagnóstico de la enfermedad	5
Evaluación de la incidencia y el índice promedio de severidad	6
Recolección de muestras y aislamiento e identificación de los patógenos.....	7
Pruebas de patogenicidad	8
Monitoreo y protocolo de control de la enfermedad	9
Resultados	10
Diagnóstico de la enfermedad	10
Evaluación de la Incidencia y severidad	12
Identificación de los patógenos y pruebas de patogenicidad	16

Medidas de prevención y control	23
Discusión	26
Conclusiones	30
Referencias	30
CAPÍTULO 2	36
Resumen	36
Abstract	37
Introducción.....	38
Metodología	39
Análisis estadístico.....	42
Resultados	43
Evaluación de las propiedades mecánicas mediante ensayos de flexión estática	43
Análisis de la composición elemental en madera de <i>T. grandis</i>	44
Ensayo de resistencia a la degradación con el método suelo-bloque.....	45
Evaluación de la composición química de las muestras de <i>T. grandis</i>	47
Evaluación de las propiedades mecánicas mediante ensayos de flexión estática	48
Análisis de la composición elemental en madera de <i>T. grandis</i>	50
Ensayo de resistencia a la degradación con el método suelo-bloque.....	50
Evaluación de la composición química de las muestras de <i>T. grandis</i>	51
Otras propiedades y procedimientos realizados en las muestras de <i>T. grandis</i>	52
Conclusiones	54
Referencias	55
RECOMENDACIONES	60
CONCLUSIONES GENERALES.....	60

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Características de los lotes evaluados en la zona de estudio.	6
Cuadro 2. Lista de los tratamientos establecidos para las pruebas de patogenicidad en plantas de <i>Tectona grandis</i>	8
Cuadro 3. Incidencia de la enfermedad en los lotes de la finca con mayor número de individuos enfermos.....	12
Cuadro 4. Escala diagramática para evaluar la severidad de la enfermedad causada por hongos patógenos en una plantación de <i>T. grandis</i> en Guanacaste, Costa Rica.....	13
Cuadro 5. Medidas preventivas y protocolo de control contra la enfermedad causante de la pudrición de base y raíz en <i>T. grandis</i>	24
Cuadro 6. Dimensiones de las ascosporas para la especie <i>K. zonata</i> y reportes de referencia.	27
Cuadro 7. Dimensiones de las conidias para la especie <i>L. pseudotheobromae</i> y reportes de referencia.....	29
Cuadro 8. Tipos de resistencia de la madera contra un hongo según pérdida de peso en porcentaje.	41
Cuadro 9. Análisis elemental en muestras de madera de <i>T. grandis</i> sanas y con los hongos <i>K. zonata</i> y <i>L. pseudotheobromae</i>	45
Cuadro 10. Resultados de pérdida de peso (%) promedio para albura y duramen en muestras de <i>T. grandis</i> expuestas a cuatro hongos de pudrición durante 16 semanas.....	45
Cuadro 11. Resultados de la determinación de celulosa y lignina en muestras de <i>T. grandis</i>	47
Cuadro 12. Resultados de la determinación de celulosa y lignina en muestras de <i>T. grandis</i> provenientes de los ensayos de resistencia a la degradación por hongos.	48
Cuadro 13. Valores de MOR y MOE reportados en la literatura para la especie <i>T. grandis</i>	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación de la zona de estudio en la provincia de Guanacaste, Costa Rica.	5
Figura 2. Síntomas y signos de la enfermedad en <i>T. grandis</i> (flecha roja). a) Estado inicial con abultamiento de la corteza. b) Afectación en el 50% de la base del tronco. c) Anillamiento. d) Cuerpo fructífero del hongo en árbol muerto.	11
Figura 3. Síntomas en madera de <i>T. grandis</i> a diferentes alturas (corchetes rojos). a) Afectación hasta los 10 cm de altura. b) Afectación hasta los 20 cm. c) Afectación hasta los 70 cm.	11
Figura 4. Hojas de un árbol sano de <i>T. grandis</i> (izq) y hojas de un árbol enfermo de <i>T. grandis</i> (der).	12
Figura 5. Distribución por categoría de severidad de árboles enfermos de <i>T. grandis</i>	15
Figura 6. Mapa de categorización de la severidad y distribución de la enfermedad de pudrición de base y raíz de <i>T. grandis</i>	16
Figura 7. Estructuras morfológicas. a) Cultivo axénico del patógeno. b) Estromas del hongo en árboles de <i>T. grandis</i> . c, d) Conidias del patógeno principal.	17
Figura 8. Árbol filogenético basado en secuencias de ADN ITS de aislados representativos de <i>K. zonata</i> y otras especies de Xylariaceae. El árbol se enraizó con el aislado de <i>Dothidea sambuci</i> . El patógeno aislado <i>K. zonata</i> CR está resaltada en el árbol.	18
Figura 9. Longitud de las heridas provocadas por <i>K. zonata</i> en plántulas de <i>T. grandis</i>	19
Figura 10. Crecimiento micelial y estructuras del segundo patógeno. a) Micelio gris claro. b) Conidias maduras e inmaduras.....	20
Figura 11. Árbol filogenético basado en secuencias de ADN región ITS de aislados representativos de <i>L. pseudotheobromae</i> y otras especies de Botryosphaeriaceae. El árbol se enraizó con el aislado de <i>Botryosphaeria dothidea</i> , La secuencia del patógeno <i>L. pseudotheobromae</i> _CR está resaltada en el árbol.	21
Figura 12. Longitud de las heridas provocadas por <i>L. pseudotheobromae</i> en plántulas de <i>T. grandis</i>	22
Figura 13. Longitud de las heridas provocadas por <i>K. zonata</i> y <i>L. pseudotheobromae</i> y su combinación (Kz+Lp) en plántulas de <i>T. grandis</i>	23

Figura 14. Comparación de árboles enfermos identificados entre 2022-2023 sin fungicida (izq.) y árboles enfermos identificados en 2020 tratados con fungicida (der.), según su categoría de severidad.....	25
Figura 15. Módulo de ruptura (MOR) evaluado en probetas infectadas y sanas de <i>T. grandis</i>	43
Figura 16. Módulo de elasticidad (MOE) en probetas infectadas y sanas de <i>T. grandis</i>	44
Figura 17. Valores de pérdida de peso promedio en muestras de albura y duramen de <i>T. grandis</i> expuestos a cuatro diferentes hongos durante 16 semanas.	46
Figura 18. Estructuras anatómicas de madera de <i>T. grandis</i> (corte transversal). a) Madera sin daños provocados por hongos. b) Hifas de <i>K. zonata</i> (flecha roja) generando degradación de la celulosa de las paredes celulares.	53
Figura 19. Vista de los vasos sin afectación por organismos fúngicos, madera expuesta: a) <i>L. pseudotheobromae</i> b) <i>T. versicolor</i> c) <i>G. trabeum</i>	54

CAPÍTULO 1

Diagnóstico de la enfermedad e identificación de hongos patógenos causantes de la pudrición de base y raíz de *Tectona grandis*, Guanacaste, Costa Rica

Resumen

En plantaciones comerciales de *Tectona grandis* de 15 años en Costa Rica, se han detectado hongos fitopatógenos sin identificar, estos causan principalmente síntomas de pudrición con signos en la base del tallo y raíz. Se realizó un diagnóstico que permitió determinar cuatro categorías de severidad de la enfermedad, evaluar el porcentaje de incidencia y severidad, la identificación morfológica y molecular de los agentes causales, y la patogenicidad de estos en plántulas de *T. grandis*. Los resultados mostraron una incidencia entre el 2 y el 21% dependiendo de lote de estudio, mientras que el índice promedio de severidad estuvo entre 35,42 y 53,32. En la identificación morfológica, y molecular (con los cebadores ITS), se identificaron los hongos *Kretzschmaria zonata* y *Lasiodiplodia pseudotheobromae*. Se realizaron pruebas de patogenicidad en plantas de *T. grandis* con los hongos encontrados; después de 30 días se observaron síntomas de necrosis en el tallo. Finalmente se determinó que *K. zonata* y *L. pseudotheobromae* son los agentes causales de la enfermedad de la pudrición de base y raíz en *T. grandis*.

Palabras clave: agentes causales, fitopatología, morfológica, *Lasiodiplodia pseudotheobromae*, *Kretzschmaria zonata*, patogenicidad, teca.

Abstract

In 15-year-old commercial plantations of *Tectona grandis* in Costa Rica, unidentified phytopathogenic fungi have been detected, mainly causing rot symptoms with signs at the base of the stem and root. A diagnosis was made that allowed the determination of four categories of disease severity, to evaluate the percentage of incidence and severity, the morphological and molecular identification of the causal agents, and their pathogenicity in *T. grandis* seedlings. The results showed an incidence between 2 and 21% depending on the study lot, while the average severity index was between 35,42 and 53,32. Morphological and molecular identification (with ITS primers) identified the fungi *Kretzschmaria zonata* and *Lasiodiplodia pseudotheobromae*. Pathogenicity tests were performed on *T. grandis* plants with the fungi found; after 30 days, symptoms of necrosis were shown on the stem. Finally, it was determined that *K. zonata* and *L. pseudotheobromae* are the causal agents of base and root rot disease in *T. grandis*.

Keywords: causal agents, morphological, *Lasiodiplodia pseudotheobromae*, *Kretzschmaria zonata*, pathogenicity, phytopathology, teak.

Introducción

Tectona grandis L.f es una de las especies más plantadas en la región tropical del continente americano (Badilla y Murillo, 2022), es una especie latifoliada que pertenece a la familia Lamiaceae. Árbol grande, deciduo, que puede alcanzar más de 50 m de altura y dos metros de diámetro en su lugar de origen. En Costa Rica alcanza alturas superiores a los 35 m en los mejores sitios (Fonseca, 2004), se planta en regiones con climas diversos, con temperaturas entre 21° C y 28° C, precipitaciones que van desde los 1400 mm a 2500 mm anuales y una época seca de 0 a 6 meses (De Camino y Pierre, 2013; Badilla y Murillo, 2016).

Según la Oficina Nacional Forestal (ONF) (2022), la teca en Costa Rica se utiliza para muebles, tableros, componentes decorativos, pisos, tarimas, entre otros. Además, la mayor parte del volumen exportado de madera en bruto pertenece a esta especie, estadísticas indicaron que se exportó un volumen aproximado de 158 817m³ equivalente para el 2021 a \$ 31,6 millones, cuyos principales destinos fueron India, China y Vietnam.

Los árboles de teca como cualquier otra planta, a pesar de su vigorosidad, son susceptibles al ataque de plagas como insectos, virus, hongos y otros patógenos, sin embargo, según Ugalde (2013) los daños sobre esta especie tienden a ser moderados y manejables. Arguedas *et al.* (2013) reporta en América tropical 34 patógenos, de ellos 17 son hongos fitopatógenos como *Fusarium* sp. en plántulas, *Nigrospora* sp., *Olivea tectonae* en follaje y *Botryodiplodia* sp. en fuste, mientras que en la zona de la raíz se han reportado *Cylindrocladium* sp., *Dematophora* sp., *Fusarium oxysporum* y *Penicilium* sp.

En México se ha identificado como agentes causales de enfermedades radicales los hongos *Phymatotrichopsis omnivora*, *Kretzschmaria zonata* y *Armillaria tabescens* (Cibrián, 2013). Un caso reportado en este mismo país es el de una plantación comercial de teca de 4000 ha, donde se detectó una enfermedad que causó la muerte del arbolado joven (4 a 8 años de edad) en un 2 %; la mayoría de los árboles presentaron entre la base del tallo y el cuello de la raíz un tejido calloso y en su parte baja estromas, de color negro con tonalidades grises y blancas, los síntomas observados fueron la pudrición de la madera del sistema radical y base del tronco, además, las hojas tomaron un color de verde amarillento, se secaron y posteriormente se produjo la muerte de los individuos (Cibrián *et al.*, 2014). Alfenas *et al.* (2021), realizó un primer reporte de *K. zonata* en plantaciones de *T. grandis* en Brasil.

Para prevenir y mitigar los efectos negativos de estos organismos patógenos en las plantaciones forestales, es necesario realizar un diagnóstico que permita identificar el agente causal, evaluar el nivel de incidencia y severidad, además de establecer las medidas de manejo integrado más adecuadas (Comisión Nacional Forestal, 2020).

Otro aspecto importante dentro del manejo de problemas fitosanitarios en plantaciones forestales es el monitoreo, el cual consiste en mediciones u observaciones periódicas en el tiempo del problema identificado, además el mismo permite determinar la ocurrencia, tamaño, dirección e importancia de los cambios que se den en el sitio, permitiendo conocer el momento aproximado en el que aparecen las plagas o enfermedades o mejor aún, inferir cómo evolucionan en la plantación (Vera *et al.*, 2019).

En la provincia de Guanacaste, Costa Rica, se han identificado plantaciones de *T. grandis* con signos y síntomas similares a los reportados por Cibrián (2013) y Alfenas *et al.* (2014), por tal motivo se cree que uno o un conjunto de diferentes géneros de hongos podría ser el causante de estas afectaciones. Como parte del proyecto “Identificación y manejo integrado de las principales plagas forestales presentes en sistemas productivos forestales de Costa Rica”, surge el desarrollo de esta investigación cuyo objetivo fue: Determinar los agentes causales de la pudrición de la base y raíz en *T. grandis*, Guanacaste, Costa Rica.

Metodología

Área de estudio

Este proyecto se realizó en la empresa Forestal Río Grande S.A cuyas plantaciones forestales de 15 años están ubicadas en la Palmita de Abangares en la provincia de Guanacaste (10° 12' 55" N y 84° 57' 31" O) (figura 1). Este sitio presenta una temperatura media de 28°C y un rango de precipitación durante el año de 2000-3000 mm. La estación seca está presente en los meses de noviembre a abril, mientras que la época lluviosa va desde mayo hasta octubre (IMN, 2009).

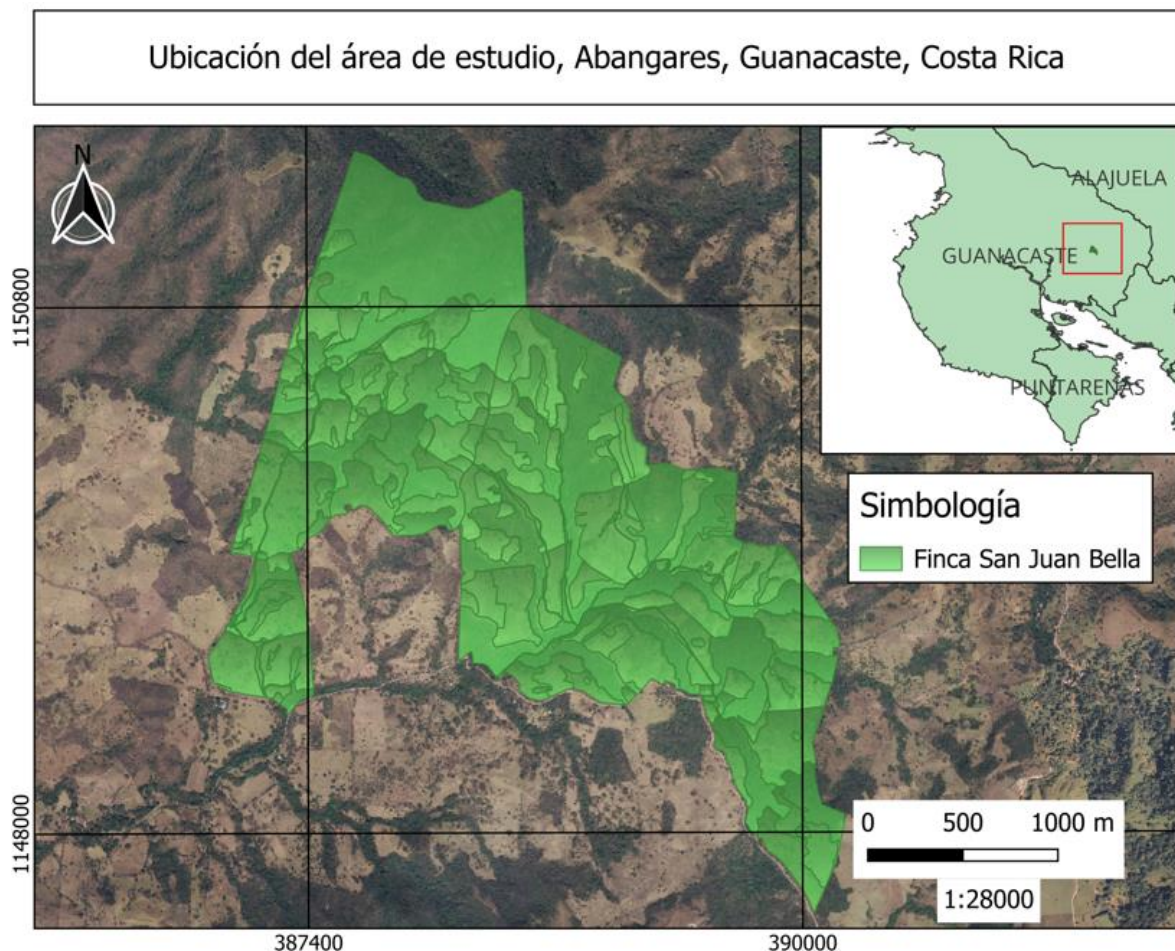


Figura 1. Ubicación de la zona de estudio en la provincia de Guanacaste, Costa Rica.

Diagnóstico de la enfermedad

Se realizó una visita de campo donde se ubicó y tomó el punto con GPS de los árboles afectados por los hongos patógenos, además se localizaron los árboles previamente identificados por los trabajadores en la plantación. Cada árbol se marcó con pintura a una altura de

aproximadamente dos metros para efectos de ubicarlos más fácilmente en futuros monitoreos fitosanitarios.

Se realizó una escala diagramática adaptada para esta enfermedad con el fin ofrecer una mejor comprensión de esta, asimismo, los criterios utilizados para la escala fueron los síntomas mostrados en el follaje y en la base del árbol tanto externa como internamente.

Evaluación de la incidencia y el índice promedio de severidad

La escogencia de los lotes para evaluar la incidencia y el índice promedio de severidad se dio con base en las visitas realizadas al área de estudio y entrevistas realizadas a los administradores y trabajadores de la plantación. El área evaluada fue de 38 ha, de las cuáles se distribuyeron en los siguientes lotes (cuadro 1)

Cuadro 1. Características de los lotes evaluados en la zona de estudio.

Lote	Edad	Área (ha)	Altura total promedio	Dap promedio
Picapica	15	12	15	28,9
Almendro	15	14	15	29,3
Canelo 1	15	3	15	24,4
Bolsón 2	15	9	15	27,1

Con esta información se realizó un censo dirigido de todos los árboles (sanos y enfermos) en los lotes seleccionados para poder evaluar la incidencia (ecuación 1) y el índice promedio de severidad de la enfermedad (ecuación 2) de acuerdo con lo propuesto por Arauz (1998) y Couto *et al.* (2007):

$$Incidencia (\%) = \frac{Total\ de\ árboles\ enfermos}{Total\ de\ árboles\ muestreados} * 100$$

[Ecuación 1]

$$IPS = \frac{\sum (Grado\ de\ categoría * Frecuencia)}{Total\ de\ árboles\ evaluados} * 100$$

[Ecuación 2]

Para calcular el índice promedio de severidad (IPS) fue necesario utilizar la escala diagramática que recolectó información de los distintos avances de la enfermedad en categorías.

Recolección de muestras y aislamiento e identificación de los patógenos

Se cortaron 10 árboles de diferentes estados de la enfermedad, se extrajeron con sierra hasta un metro de altura 10 secciones de aproximadamente 10 cm de grosor, además se recolectaron hojas sanas y enfermas de zonas de crecimiento similar para posteriormente medir su área foliar. Todas estas muestras se trasladaron al Laboratorio de Patología Forestal de la Escuela de Ingeniería Forestal ubicada en el Campus Central del Instituto Tecnológico de Costa Rica para su procesamiento.

Las muestras de madera se lavaron con jabón antibacterial y se enjuagaron con abundante agua, se extrajeron secciones de aproximadamente 1x1cm donde se observaban líneas de avance del patógeno, posteriormente se realizó una desinfección con alcohol al 70% por 30 segundos, hipoclorito de sodio al 5% i.a. durante 1 minuto y finalmente, se realizaron tres lavados consecutivos en agua destilada estéril. Las secciones de madera se secaron en papel absorbente estéril y se colocaron en platos Petri de vidrio que contenían medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA) con 0,2 g/L de penicilina, estreptomicina y cloranfenicol.

Los aislados se incubaron a 30°C durante siete días con fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad, posteriormente se observó crecimiento de diferentes especies de hongos. Se seleccionó los dos morfotipos más frecuentes para obtener colonias individuales, mediante la transferencia de puntas de hifas a medio PDA con antibióticos bajo las mismas condiciones de crecimiento (30°C durante siete días).

Para la identificación morfológica se tomó micelio de diferentes posiciones en la colonia y se colocó en portaobjetos con ácido láctico (Phillips *et al.*, 2013, citado por Rodríguez, 2019), en el caso donde no se encontró ascosporas o conidias de los hongos, se realizó nuevos aislados a los cuáles se indujo la esporulación con exposición a luz ultravioleta (Castaño-Zapata *et al.*, 1993). Se utilizó el microscopio óptico Nikon Eclipse - Ni y se tomaron fotografías mediante el software instalado en la computadora NisElements. Se realizó al menos 30 mediciones del largo y ancho de ascosporas y conidias para calcular sus dimensiones promedio y desviación estándar.

Las muestras de los cultivos axénicos se enviaron al Laboratorio de Técnicas Moleculares aplicadas a la Fitoprotección, del Centro de Investigaciones en Protección de Cultivos (CIPROC) de

la Universidad de Costa Rica, donde se realizó la extracción de ADN y el PCR con el cebador de la región ITS (ITS4 – ITS5), para su respectiva identificación molecular mediante secuenciación Sanger. Con las secuencias consenso se realizó una comparación con las accesiones del GenBank mediante la herramienta NCBI Blast, posteriormente se elaboró un análisis filogenético de máxima verosimilitud con el modelo de Kimura de 2 (Kimura, 1980) y 100 bootstraps mediante el software MEGA versión 11 (Tamura *et al.*, 2021).

Pruebas de patogenicidad

Se establecieron ensayos utilizando un diseño experimental completamente aleatorio, en un primer ensayo se utilizaron dos tratamientos (Patógeno 1 y Control), un segundo ensayo también dos tratamientos (Patógeno 2 y Control) y un tercer ensayo con cuatro tratamientos como se muestra en el Cuadro 2, en todos los ensayos se utilizaron 10 plantas de 8 meses de edad y una altura aproximada de 50 a 90 cm.

La variable respuesta que se midió fue la longitud de la herida en centímetros. Todas las plantas se midieron e inocularon el mismo día y se colocaron bajo condiciones de invernadero durante 30 días con riego diario. Los ensayos se realizaron en el Instituto Tecnológico de Costa Rica sede San Carlos, con condiciones de temperatura media anual de 26 °C y una precipitación pluvial media es de 3500 mm anuales (Tecnológico de Costa Rica, 2024)

Cuadro 2. Lista de los tratamientos establecidos para las pruebas de patogenicidad en plantas de *Tectona grandis*.

Número tratamiento	Tratamiento: Inoculación
1	Patógeno 1
2	Patógeno 2
3	Control
4	Patógeno 1 + Patógeno 2

Para la inoculación se realizó una herida con un sacabocados N°2 donde el cambium quedó expuesto, en el tratamiento 1 y 2 se colocó un disco de micelio orientado hacia el tallo (Rodríguez,

2019), para el tratamiento 3 se colocó un disco de PDA sin los patógenos y en el tratamiento 4 se colocó el disco de micelio a 1 cm de la base del tallo para el patógeno 1 y a 10 cm de altura para el patógeno 2, finalmente se selló con papel Parafilm (Pérez *et al.*, 2010).

Posterior a los 30 días, se midió la lesión generada por los hongos en el punto de inoculación y la lesión cicatrizada en las plantas control. Como parte de la evaluación e identificación de la enfermedad se continuó con los postulados de Koch, donde se escogió una plántula de cada tratamiento y se extrajo una sección afectada para posteriormente aislar en un plato Petri con medio PDA e incubar durante siete días a 30°C los patógenos del hospedero enfermo.

El análisis estadístico se realizó con el programa Infostat versión 2020, donde se comprobó los supuestos de independencia, normalidad (Prueba de Shapiro-Wilks modificada) y homocedasticidad de los datos (Prueba de Levene). Posteriormente se realizó el ANDEVA (Análisis de Varianza) y la prueba de comparación de medias múltiples Tukey con un nivel de confianza del 95%.

Monitoreo y protocolo de control de la enfermedad

En el área de estudio desde el año 2020 los administradores de las plantaciones aplicaron una serie de combinaciones de fungicidas a base de carbendazina y fosetil aluminio conocidos por controlar o reducir la afectación de las pudriciones de hongos ascomicetos. Estos árboles tratados fueron marcados en el fuste con pintura de color azul y se les evaluó visualmente su área afectada por parte de los trabajadores encargados de los lotes de la plantación.

Los árboles fueron monitoreados nuevamente en el periodo 2022-2023 utilizando la escala diagramática desarrollada para esta investigación con el fin de evaluar si se han logrado recuperar o no. De igual manera en el mismo periodo 2022-2023 los nuevos árboles afectados se marcaron con pintura de color naranja y su respectivo registro en GPS para mantener un constante monitoreo en los próximos años.

Adicionalmente de estas actividades de monitoreo se elaboró un protocolo de medidas preventivas y acciones de control en diferentes estados de la enfermedad.

Resultados

Diagnóstico de la enfermedad

Se encontraron árboles de *T. grandis* enfermos de forma aislada y en ocasiones en grupos de tres a cinco árboles. Los principales síntomas de la enfermedad (figura 2) son el abultamiento de la corteza en la base del tronco, pudrición de la base, raíz y en algunas ocasiones disminución y marchitez del follaje. En la base de algunos individuos principalmente con la enfermedad avanzada en árboles moribundos o muertos y después de la época lluviosa, se observaron, placas estromáticas de color negro o gris siendo estos los cuerpos fructíferos de uno de los hongos patógenos principales (figura 2d).

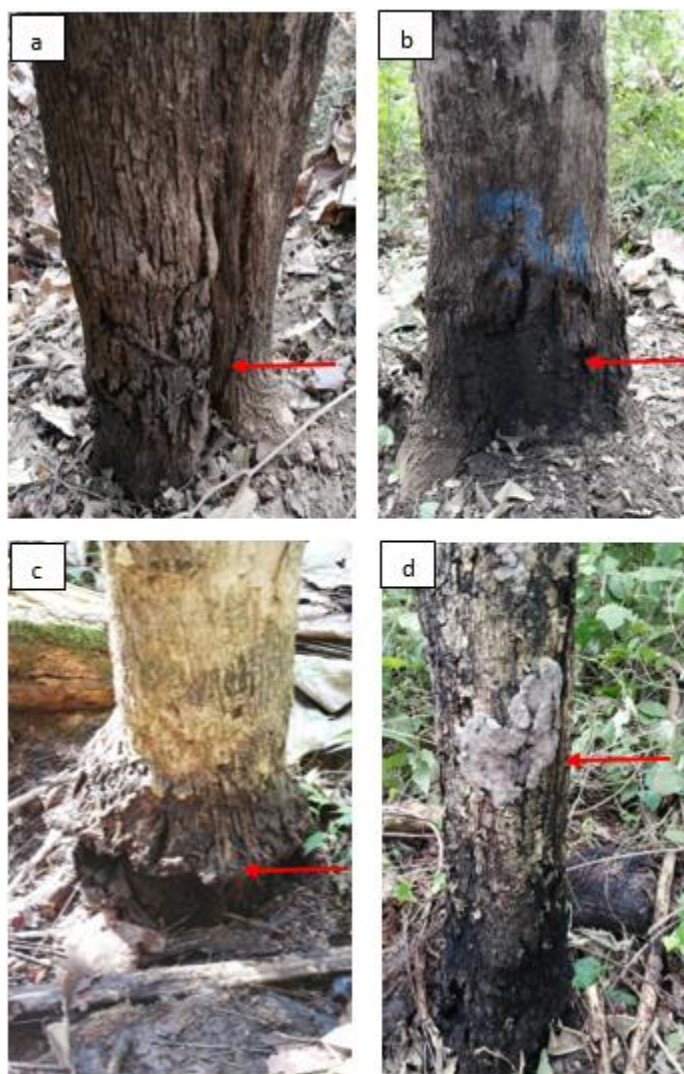


Figura 2. Síntomas y signos de la enfermedad en *T. grandis* (flecha roja). a) Estado inicial con abultamiento de la corteza. b) Afectación en el 50% de la base del tronco. c) Anillamiento. d) Cuerpo fructífero del hongo en árbol muerto.

En cortes realizados a los individuos con diferentes estados de avance de la enfermedad se observó que en árboles en estados iniciales la altura a donde llegaba la afectación fue hasta los 10 cm medidos desde la base (figura 3a). En estados intermedios a los 20 cm (figura 3b), en estados avanzados hasta los 70 cm de altura (figura 3c) y finalmente en árboles moribundos o muertos la pudrición en la madera era total. En todos los casos a excepción de cuando el árbol ya está muerto la afectación interna llegaba hasta la zona de transición entre albura y duramen.

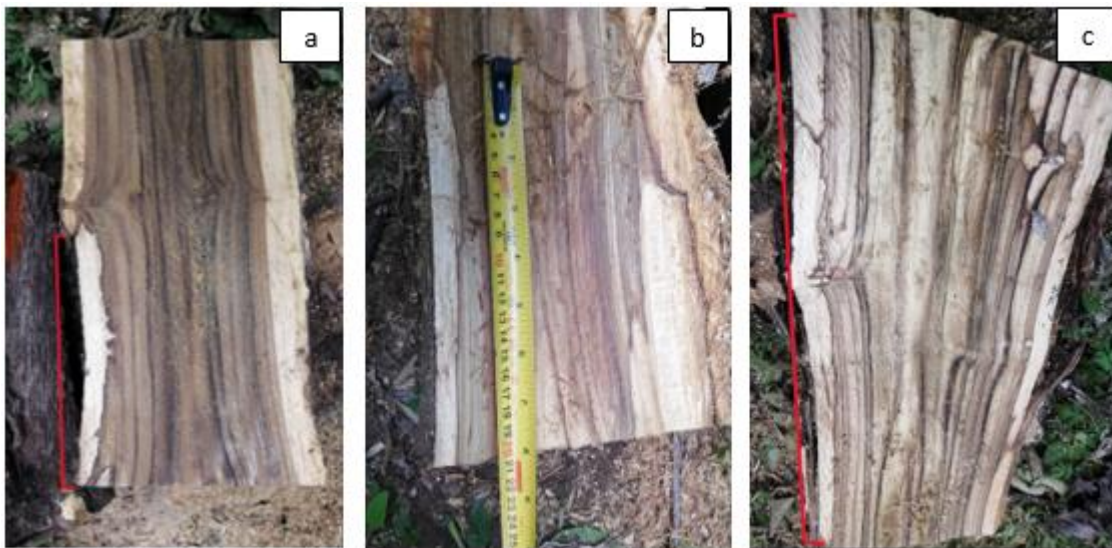


Figura 3. Síntomas en madera de *T. grandis* a diferentes alturas (corchetes rojos). a) Afectación hasta los 10 cm de altura. b) Afectación hasta los 20 cm. c) Afectación hasta los 70 cm.

En algunos individuos enfermos se presentó una disminución en el crecimiento de las hojas (figura 4), los resultados mostraron que las hojas sanas presentaban en promedio un área foliar de $907,97 \text{ cm}^2$ y las hojas provenientes de árboles enfermos un área de $400,13 \text{ cm}^2$, esto representa una disminución del 55,93% del área foliar.



Figura 4. Hojas de un árbol sano de *T. grandis* (izq) y hojas de un árbol enfermo de *T. grandis* (der).

Evaluación de la Incidencia y severidad

Los lotes con incidencia se presentan en el cuadro 3, en el lote más afectado por la enfermedad, llamado Bolsón 2, se encontraron 55 árboles enfermos dando como resultado una incidencia del 21% con respecto al total de árboles reportados en ese lote, otros lotes como Canelo 1, Almendro y Picapica tienen 9%, 3% y 2% de incidencia respectivamente, en general la incidencia para el conjunto de lotes fue del 7%.

Cuadro 3. Incidencia de la enfermedad en los lotes de la finca con mayor número de individuos enfermos.

Lote	Número total de árboles por lote (2023)	Número árboles enfermos	Incidencia (%)
Picapica	493	12	2
Almendro	314	10	3
Canelo 1	290	25	9
Bolsón 2	265	55	21
Total	1362	102	7

A continuación, se muestra la escala diagramática ajustada y específica para la enfermedad (cuadro 4) la cual se utilizó para evaluar el índice promedio de severidad.

Cuadro 4. Escala diagramática para evaluar la severidad de la enfermedad causada por hongos patógenos en una plantación de *T. grandis* en Guanacaste, Costa Rica.

Categoría de severidad	Síntomas y signos
A	De 1% a 25% de la base del árbol con algún síntoma, daño o afectación. Base del tronco: Pequeño resquebrajamiento de la corteza, abultamiento mínimo en la base. Pudrición interna va de 0,5-10 cm de altura medido desde la base. Follaje: Se reduce de tamaño, y se observan algunas hojas de color amarillento en la base de la copa, algunos árboles pueden ser asintomáticos y no presentar afectaciones en el follaje en los primeros estadios de la enfermedad.  
B	De 26% a 50% de la base del árbol con algún síntoma, daño o afectación. Base del tronco: Abultamiento visible debido a las primeras obstrucciones de las hifas del hongo en el xilema del árbol. Puede haber exudaciones, y un color oscuro sobre la corteza. Pudrición interna va de 11-39 cm de altura medido desde la base. Follaje: Amarillento, puede haber individuos asintomáticos ya que aún hay movimiento de agua y nutrientes a través del xilema hasta las hojas sanas.  

- C De 51% a 75% de la base del árbol con algún síntoma, daño o afectación.
Base del tronco: Corteza desprendible, abultamiento visible de consistencia acuosa y color negro, puede haber cuerpos fructíferos del patógeno, estos son una costra grisácea cuando está joven u oscura estando madura. Se puede observar anillamiento parcial o total sobre la base del árbol. Pudrición interna va de 40-70 cm de altura medido desde la base.
Follaje: Amarillento en más del 50% o sin hojas.



- D De 76% a 100% de la base del árbol con algún síntoma, daño o afectación.
Base del tronco: Mayormente podrido, madera de color negro. En época lluviosa es más probable encontrar el cuerpo fructífero del hongo patógeno.
Follaje: Generalmente sin follaje.



La figura 5 muestra la distribución por categoría de severidad en los lotes se puede observar que el comportamiento para el lote Canelo 1 muestra que la mayor cantidad de árboles afectados están en la categoría B y C con 7 árboles. El lote Bolsón 2 presenta cantidades similares en todos los estadios de la enfermedad, pero con 15 individuos muy afectados o muertos en la categoría D. El lote Picapica tiene la mayor cantidad de árboles en la categoría A con 5, mientras que el lote Almendro tiene 4 individuos en la categoría B. En general la distribución de los estados de la

enfermedad se concentra en las categorías B y C en donde la enfermedad ya está avanzada y se podrían perder individuos sin aprovechar.

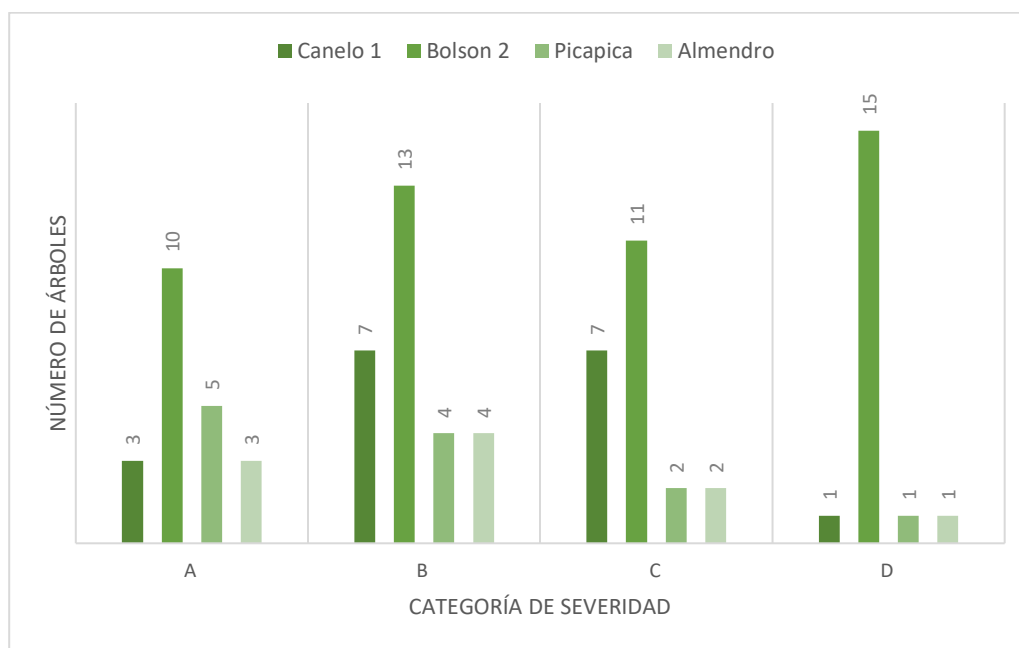


Figura 5. Distribución por categoría de severidad de árboles enfermos de *T. grandis*.

La distribución espacial de los árboles según su categoría de severidad se muestra en la figura 6, en campo se evidenció que la mayoría de los lotes presentaban pendientes de moderadas a pronunciadas, además de encontrar a algunos árboles enfermos agrupados. Respecto al índice promedio de severidad (IPS) los lotes Canelo 1 y Bolsón 2 presentaron valores de 45,83 y 53,32 respectivamente, mientras que los lotes con menor valor de este índice fueron picapica con 35,42 y Almendro con 40,00. Estos valores indican que en promedio para estos lotes la severidad en la base de los árboles enfermos estaba en el rango de 35% a 53%.

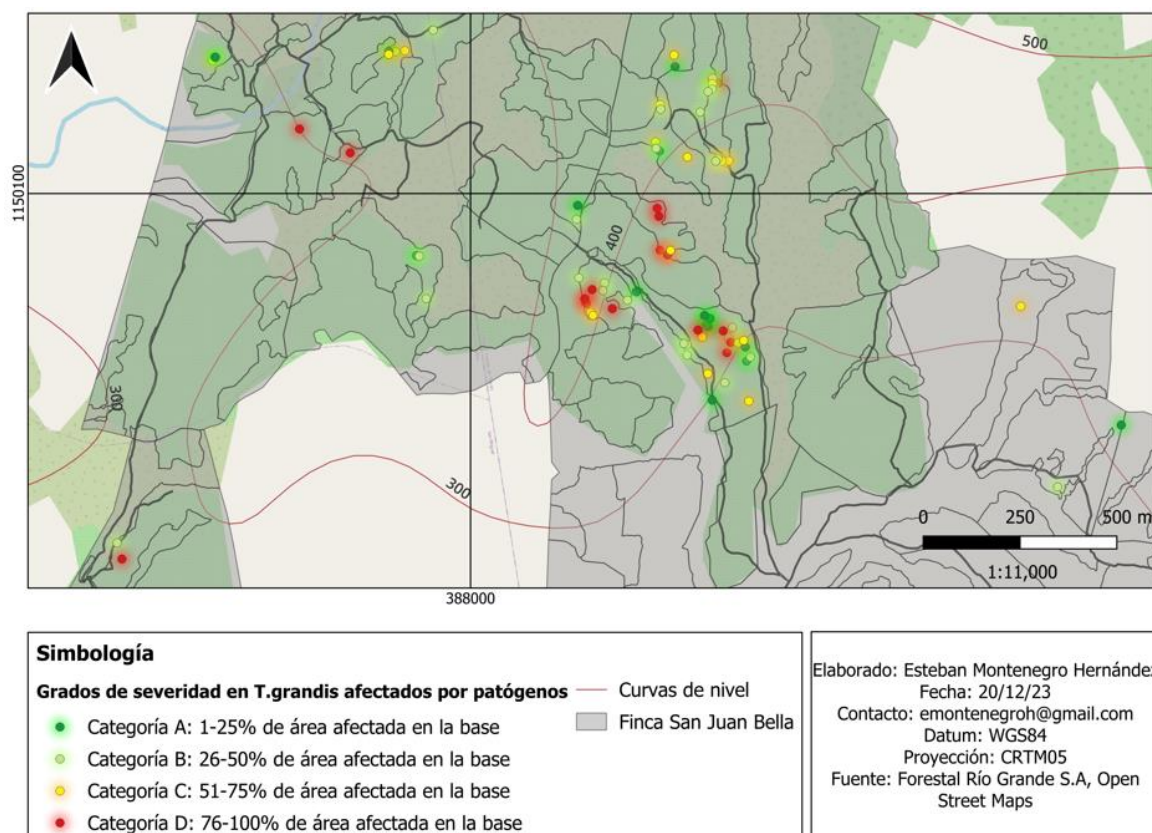


Figura 6. Mapa de categorización de la severidad y distribución de la enfermedad de pudrición de base y raíz de *T. grandis*.

Identificación de los patógenos y pruebas de patogenicidad

Al realizar el aislamiento en laboratorio, se obtuvieron dos especies morfológicamente distintas, la primera creció en siete días con micelio de color blanco alrededor y gris oscuro en la parte central de la colonia (figura 7a). Las características del micelio y la frecuencia con que apareció este primer patógeno resultó en una similitud con lo encontrado en campo ya que los cuerpos fructíferos o estromas generalmente eran de color gris claro y de borde blanco creciendo de forma irregular de hasta 10 cm de longitud (figura 7b). Por otra parte, examinando microscópicamente en los estromas recolectados se observaron conidias de $(30,0 \pm 2,6) \times (9,8 \pm 1,1) \mu\text{m}$ de color café oscuro casi negras, elipsoides, extremos estrechos y línea germinal recta casi del largo de la espora (figuras 7c y 7d).

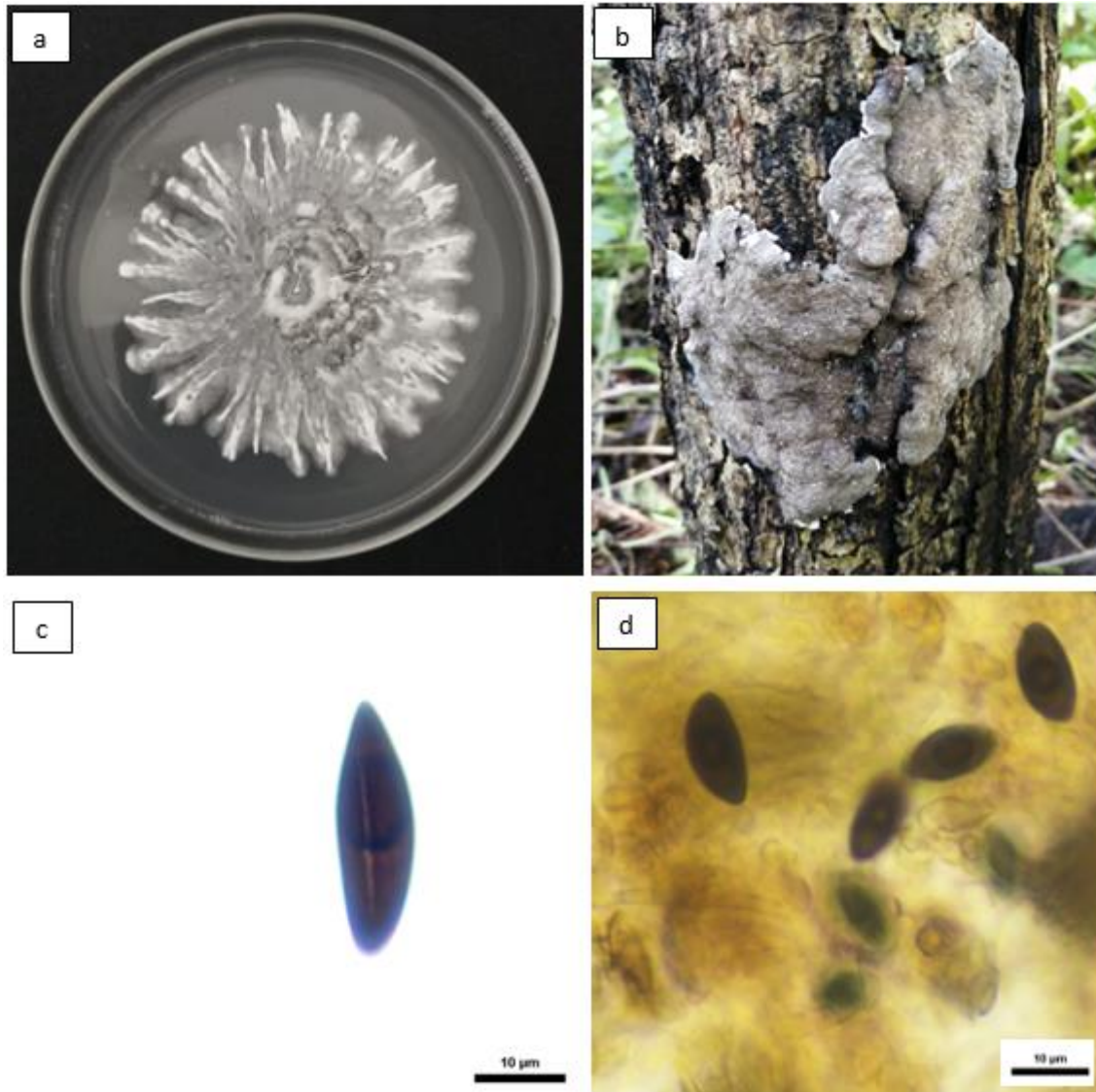


Figura 7. Estructuras morfológicas. a) Cultivo axénico del patógeno. b) Estromas del hongo en árboles de *T. grandis*. c, d) Conidias del patógeno principal.

De acuerdo con los resultados de la secuenciación del primer patógeno para un total de 610 bases analizadas, 608 corresponden a un 99% de similitud con muestras de *Kretzschmaria zonata*. Resultado que coincide con la descripción morfológica del hongo. Como se observa en la figura 8, la secuencia del patógeno (*K. zonata_CR*) se agrupa con *K. zonata* de otras regiones, con altos valores de Bootstrap.

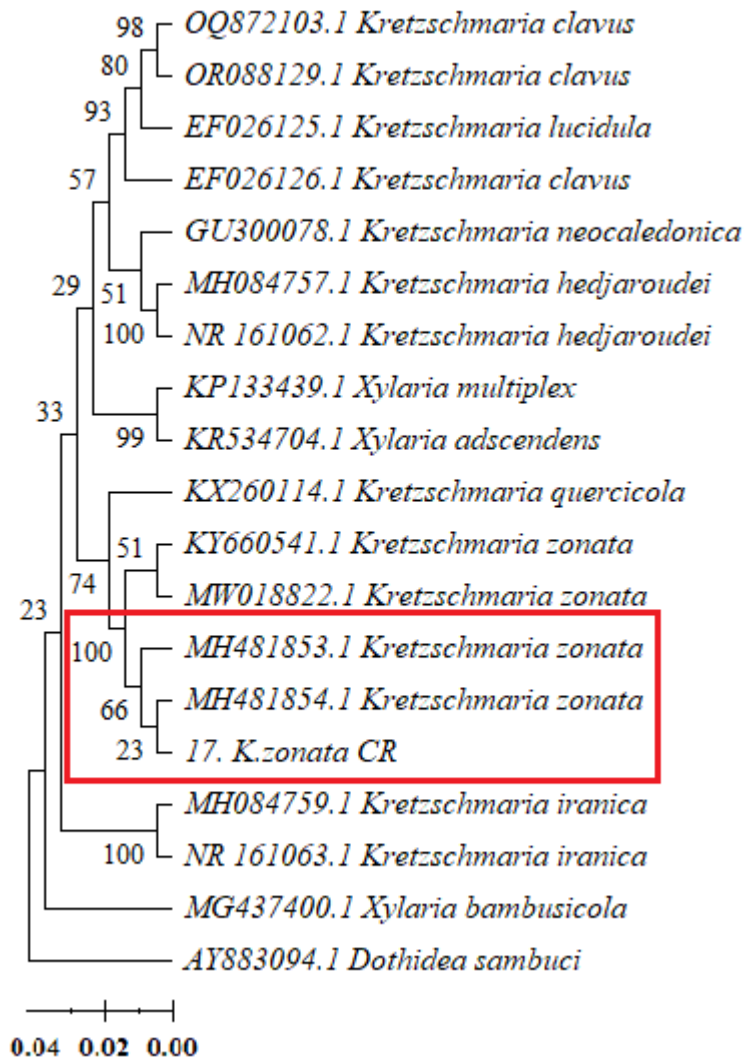


Figura 8. Árbol filogenético basado en secuencias de ADN ITS de aislados representativos de *K. zonata* y otras especies de Xylariaceae. El árbol se enraizó con el aislado de *Dothidea sambuci*. El patógeno aislado *K. zonata* CR está resaltada en el árbol.

Con relación a las pruebas de patogenicidad para el primer ensayo realizado con el hongo *K. zonata* (n=10) después de 30 días de la inoculación (figura 9), las plántulas mostraron una media de 2,10 cm de herida en el tallo mientras que con el control la herida o cicatriz fue de 0,51 cm por lo que el análisis de varianza mostró que existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos e indicando la patogenicidad de este hongo *K. zonata* en plántulas de *T. grandis*.

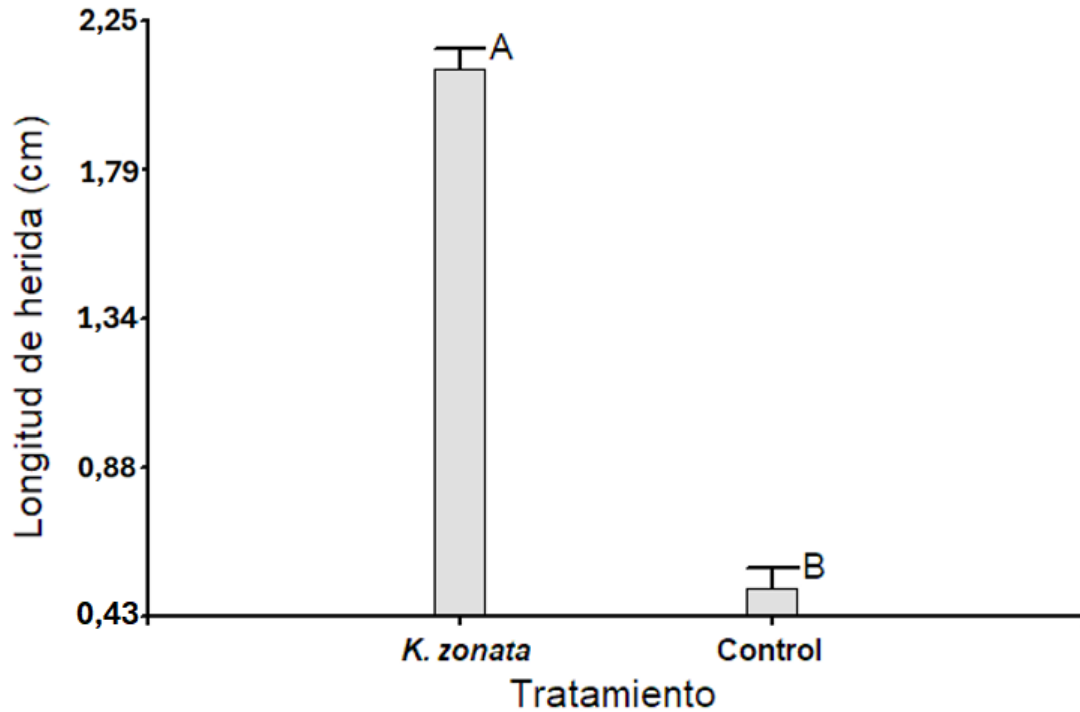


Figura 9. Longitud de las heridas provocadas por *K. zonata* en plántulas de *T. grandis*.

Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

El segundo morfotipo (figura 10a) presentaba un micelio de rápido crecimiento (10 cm de diámetro en cinco días) aéreo, algodonoso y color gris claro que con el tiempo se iba oscureciendo más hasta mostrar un color gris oscuro. La descripción morfológica de las conidias se definió como hialinas cuando están inmaduras, de forma elipsoidal, con paredes gruesas, además cuando están maduras poseen una división en la mitad y líneas longitudinales generalmente son de color marrón oscuro. Las dimensiones de las conidias (figura 10b) de esta segunda especie en promedio fueron de $(25,1 \pm 2,2) \times (13,0 \pm 1,2) \mu\text{m}$.



Figura 10. Crecimiento micelial y estructuras del segundo patógeno. a) Micelio gris claro. b) Conidias maduras e inmaduras.

Con el segundo patógeno para un total de 538 bases analizadas, 538 corresponden a un 100% de similitud con muestras de *Lasiodiplodia pseudotheobromae*. Como se observa en la figura 11, la secuencia del patógeno (*L. pseudotheobromae* CR) se agrupa con *L. pseudotheobromae* de otras regiones como la accesión NR111264.

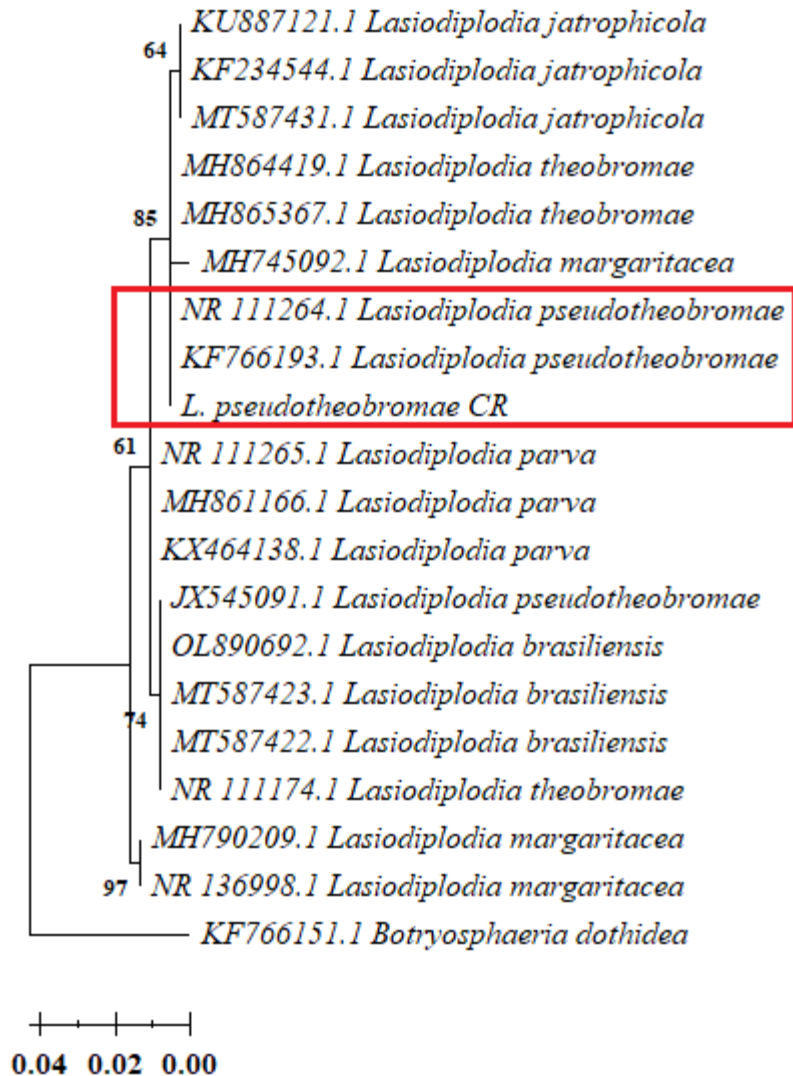


Figura 11. Árbol filogenético basado en secuencias de ADN región ITS de aislados representativos de *L. pseudotheobromae* y otras especies de Botryosphaeriaceae. El árbol se enraizó con el aislado de *Botryosphaeria dothidea*, La secuencia del patógeno *L. pseudotheobromae*_CR está resaltada en el árbol.

En el segundo ensayo realizado (figura 12), los resultados muestran que en el tratamiento con el hongo *L. pseudotheobromae* fue más efectivo para generar la herida (2,42 cm) y afectación en las plántulas de *T. grandis* siendo estas significativamente mayores ($p < 0,05$) a las plantas control que sólo generaron en promedio heridas de 0,94 cm.

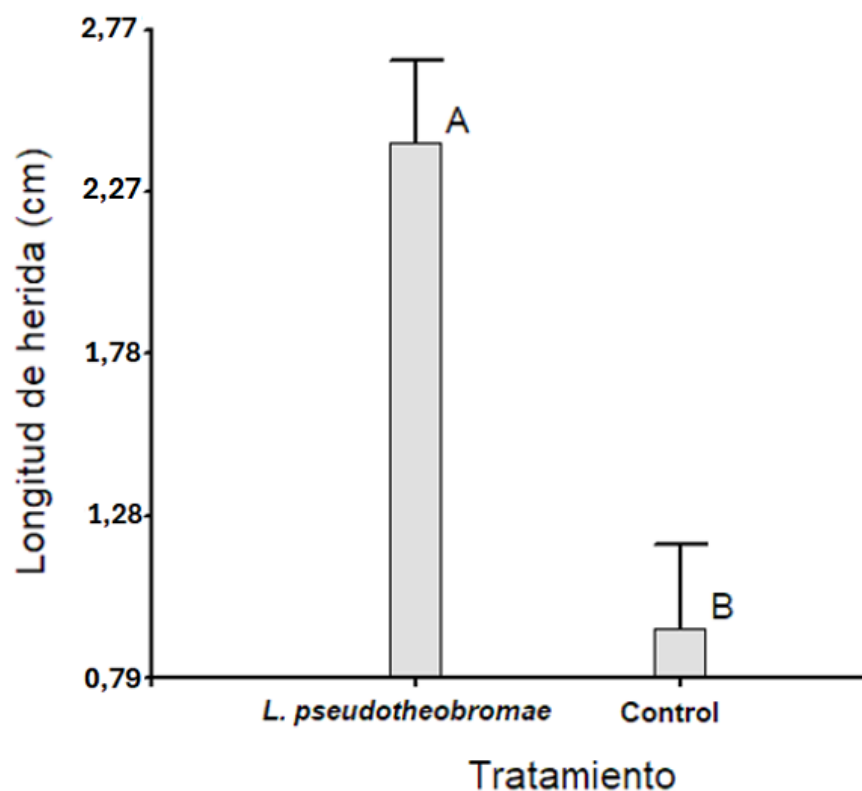


Figura 12. Longitud de las heridas provocadas por *L. pseudotheobromae* en plántulas de *T. grandis*.

Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Las pruebas realizadas de manera conjunta con los patógenos de estudio (figura 13) indican que entre el control y las plántulas con *K. zonata* no se presentaron diferencias significativas, la longitud de herida promedio después de 30 días de haber realizado la inoculación en estos dos tratamientos fue de 0,80 cm y 1,20 cm respectivamente. Por otra parte, los individuos inoculados con *L. pseudotheobromae* y la combinación de ambos hongos (Kz+Lp) es decir realizando dos puntos de inoculación sobre el mismo individuo, si resultaron ser estadísticamente diferentes entre sí y en comparación con los otros tratamientos. La lesión generada por la combinación de ambos patógenos en promedio fue de 5,18 cm, mientras que con *L. pseudotheobromae* fue de 2,82 cm.

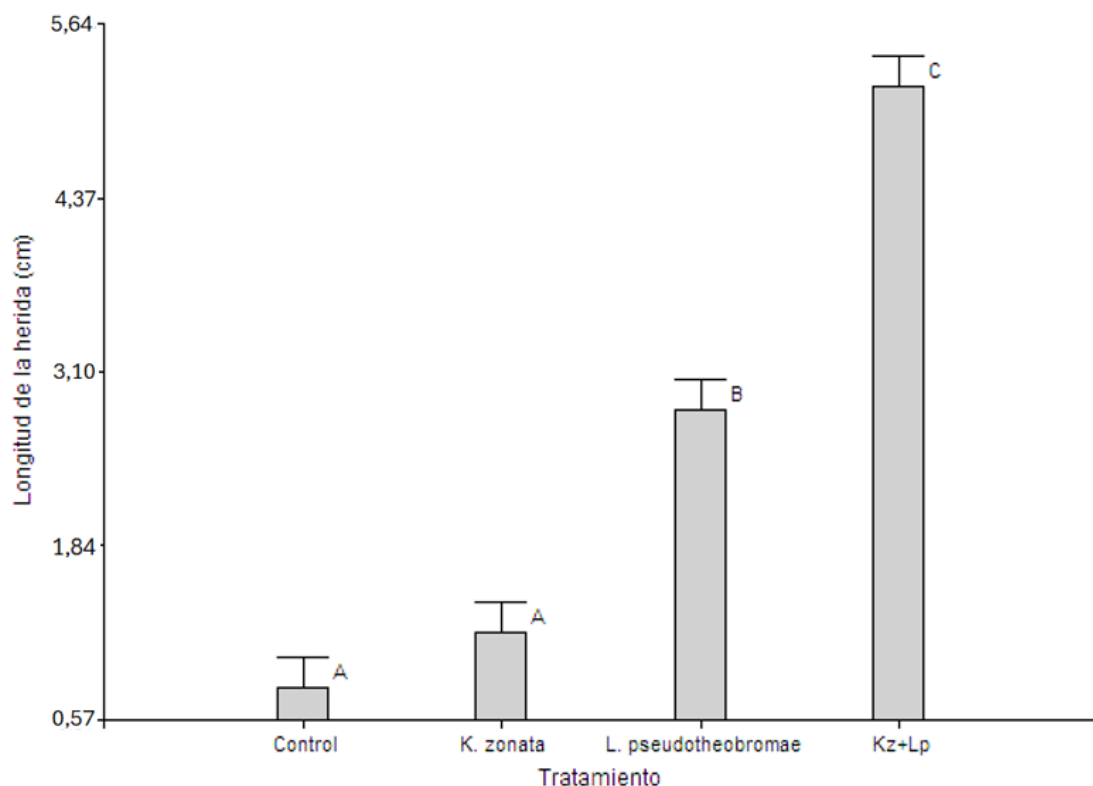


Figura 13. Longitud de las heridas provocadas por *K. zonata* y *L. pseudotheobromae* y su combinación (Kz+Lp) en plántulas de *T. grandis*.

Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Después de realizadas las pruebas de patogenicidad se recolectó material para aislar nuevamente, para el hongo *K. zonata* se obtuvo un 75% de recuperación, mientras que de *L. pseudotheobromae* se recuperó el 100%, con lo cual, se cumplen los postulados de Koch.

Medidas de prevención y control

Mediante entrevistas realizadas a los administradores, encargados y trabajadores de las fincas se determinó que se realizan algunas medidas de control de la enfermedad como la eliminación de árboles enfermos cuando se ejecutan raleos. Además, se recomiendan otras medidas preventivas y de control (cuadro 5) para que se implementen en las actividades silviculturales, de cosecha y monitoreo en la plantación.

Cuadro 5. Medidas preventivas y protocolo de control contra la enfermedad causante de la pudrición de base y raíz en *T. grandis*.

Medidas preventivas	
1	Selección adecuada de las plantas de vivero: proveniente de semilla certificada, buen estado nutricional, sin malformaciones.
2	Aplicación de métodos de control biológico con organismos antagonistas: en etapa de vivero inocular el sustrato con cepas del hongo <i>Trichoderma</i> ya que este puede evitar el crecimiento de hongos patógenos dañinos para las plantas.
3	Realizar trabajos silviculturales que minimicen las causas de estrés en los árboles: evitar altas densidades, control de malezas, podas en época seca.
4	Ingreso limitado a zonas afectadas: los trabajadores deben lavar las herramientas y botas al ingresar y salir de las fincas con el fin de disminuir la propagación de los patógenos. En caso de movilizarse con caballos dejarlos sobre el camino principal. Se sugiere desinfectar con alcohol, hipoclorito de sodio al 10% o amonio cuaternario al 4% (Vera <i>et al.</i> , 2019).
Protocolo de control	
Categoría de severidad de daño	Acciones
Categoría A y B de la escala: 1% a 50% de la base del árbol dañado	Identificar los árboles que presentan primeros síntomas de abultamiento en la base del tronco y marcarlos con pintura.
	Eliminar exceso de malezas alrededor del árbol que puedan mantener humedad favorable a los hongos patógenos.
	En caso de podas se deben tener las herramientas desinfectadas (se recomienda Sanivir) en todo momento.
Categoría C y D de la escala: 51% a 100% de la base del árbol dañado	Al momento de hacer raleos preferiblemente seleccionar todos estos árboles con indicios de enfermedad para sacarlos de la plantación, aprovechar la madera sana y eliminar la infectada; al tocón remanente aplicar herbicida y fungicida.
	Eliminar los árboles en esta categoría lo más rápido posible.
	Si hay trozas comerciales estas se extraen y los residuos infectados se colocan en un sitio específico para posteriormente quemar o aplicar fungicida con bomba de espalda.

De ser posible también aplicar fungicida a los árboles cercanos al árbol eliminado.

En la figura 14 (izquierda) se muestran los árboles enfermos identificados en el periodo 2022-2023 que no se les aplicó ningún fungicida, además se utilizó la escala diagramática para evaluar su categoría de severidad, asimismo se realizó la comparación con otros árboles a los que se le había aplicado fungicida en 2020 y se les evaluó la categoría de severidad para esta investigación (2022-2023) (figura 14 derecha). Se puede observar que la aplicación de los fungicidas generó que la enfermedad no avanzara en su afectación a los árboles ya que un 39% se encontraban en categoría A y únicamente un 11% en categoría D. Por el contrario, en los otros árboles que no se les aplicó fungicida la mayor cantidad de árboles se encontraban en las categorías B y C (33% Y 28%).

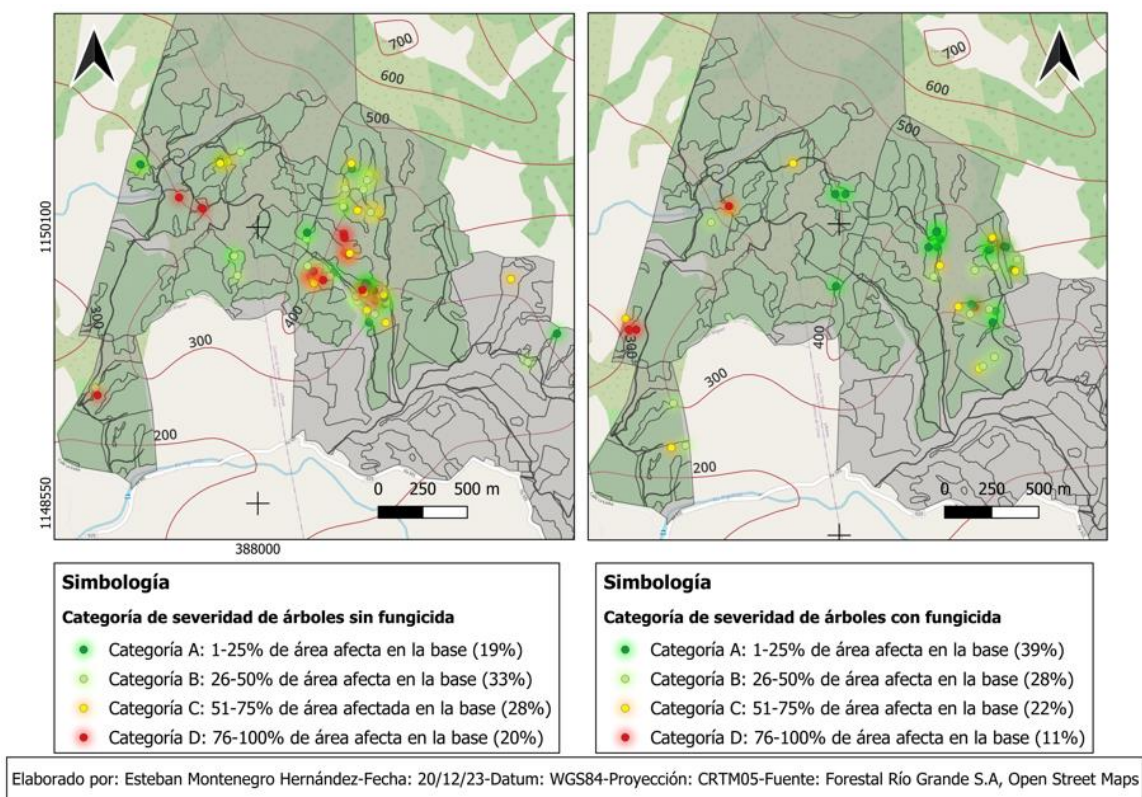


Figura 14. Comparación de árboles enfermos identificados entre 2022-2023 sin fungicida (izq.) y árboles enfermos identificados en 2020 tratados con fungicida (der.), según su categoría de severidad.

Discusión

Los síntomas y signos encontrados en campo son en su mayoría coincidentes con los descritos por Cibrián *et al.* (2014) para el hongo *K. zonata* donde menciona que en la base del tronco se forma un punto de constricción que impide el paso de agua y nutrientes formando un tejido calloso, sin embargo, la lesión necrótica que se produce a lo interno es parcial y no destruye totalmente el sistema conductor del hospedante por lo que los individuos lucen asintomáticos en las primeras fases de la enfermedad (Quijano *et al.*, 2018). En el punto de constricción la corteza cambia de aspecto a un color oscuro y después se forma el estroma conidial del patógeno (Cibrián *et al.*, 2014) similar al encontrado en este estudio: gris con borde blanco de aspecto carbonoso. Alfenas *et al.* (2021) reporta en plantaciones en Brasil que los árboles de teca enfermos presentan hojas de menor tamaño, amarillentas y con marchitez esto debido a la escasa llegada de nutrientes por el bloqueo causado por las estructuras del hongo en el xilema del árbol; además, en la base del tronco la corteza se desprende con facilidad y los cuerpos fructíferos son de color gris a blanco y están adheridos al árbol.

El uso de escalas diagramáticas es de gran importancia debido a que permiten entender mejor los diferentes estados de una enfermedad y guía a las personas en campo a identificar con más facilidad la enfermedad en sus estados iniciales y actuar a tiempo para su manejo integral. Es por esto que varios estudios han implementado el uso de escalas como Carvajal-Ruiz *et al.* (2021) donde determinó una escala de tres grados de severidad del daño para determinar el nivel de susceptibilidad de la pudrición del tallo en nueve genotipos de *Gmelina arborea*, por otra parte, en Panamá Ballesteros (2024) utilizó también este tipo de escala con cinco categorías para evaluar en campo el daño de pudrición generada por *Lasiodiplodia* sp. en árboles de 2 a 5 años en plantaciones comerciales de *T. grandis*; en este caso, se reportaron valores de incidencia de 24,20% a 28,76% e índices de severidad entre 8,42 a 13,37.

En otro estudio realizado por Meza-Picado *et al.* (2020) en Costa Rica, donde se evaluó la incidencia y severidad de la pudrición del tronco en plantaciones de melina, se utilizó como base una escala de cinco categorías propuesta por Salas-Rodríguez *et al.* (2016) sin embargo para facilitar la evaluación en campo y que existieran menores diferencias entre criterios de los evaluadores se realizó finalmente una escala de tres categorías de daño. Los resultados en el estudio de Meza-Picado *et al.* (2020) mostraron que de 1096 árboles evaluados el 65,9% estaban dentro de la categoría A, el 29,7% en la categoría B y el 4,8% en la categoría C. Cuando se encuentra este

comportamiento en cualquier enfermedad, al igual que la presente investigación, se debe actuar con prontitud para realizar acciones de control y prevención de la enfermedad ya que la mayoría de los individuos aún se encuentra en estados iniciales.

Cibrían *et al.* (2014) reportó que la enfermedad causante de la pudrición del cuello y la raíz de teca en Campeche, México; ocasionó la muerte del 2% en árboles jóvenes de 4-8 años en una plantación de 4000 hectáreas. Esta es la misma enfermedad encontrada en esta investigación y como se observó en los resultados los mayores porcentajes de incidencia fueron 21%, 9%, 3% y 2% respectivamente.

En la identificación morfológica las mediciones y descripciones realizadas de las estructuras del patógeno fueron comparadas con lo publicado por otros autores (cuadro 6). Es así como se determinó que las dimensiones de las ascosporas del hongo estaban dentro de las dimensiones máximas y mínimas reportadas por los autores, así como las características principales como el color de las estructuras, forma y la línea germinal que pasa a lo largo de las estructuras de *K. zonata*. Asimismo, la identificación molecular corrobora la presencia de *K. zonata* en árboles de teca en Costa Rica, ya que se agrupó con las secuencias reportadas en Brasil (Alfenas *et al.*, 2021).

Cuadro 6. Dimensiones de las ascosporas para la especie *K. zonata* y reportes de referencia.

L (μm)	a (μm)	Descripción	Referencia
25-29	8-12	Color casi negro elipsoides, inequilaterales a crescénticas con extremos estrechos, con línea germinal recta casi a todo el largo del propágulo.	San Martín y Lavin (1997)
21-34	8,5-12	Color marrón oscuro a marrón negruzco, con línea germinal igual a la longitud de la espora o cercana.	Rogers y Ju (1998)
25-37	9-12	Unicelulares, café oscuro, fusiformes, elipsoides, inequilaterales con extremos agudos.	Recio y Maldonado. (2014)
24-32	8-10,5	Color café oscuro a casi negro elipsoides inequilaterales con extremos ligeramente agudos. Con línea germinal recta, casi a lo largo de la espora.	Cibrían <i>et al.</i> (2014)

25-30	10-12	--	Marmolejo-Moncivais <i>et al.</i> (2015)
Aseptadas, café oscuro, de fusiformes a elipsoides.			
20-37	8-15	Con una línea germinal recta ligeramente inferior a la longitud de la ascospora.	Alfenas <i>et al.</i> (2021)

En relación con las pruebas de patogenicidad, Alfenas *et al.* (2021) reporta que cuarenta días después de la inoculación con *K. zonata*, los síntomas como marchitez y pudrición en la zona de la herida se observaron en las plantas inoculadas de *T. grandis*, mientras que las plantas control solo mostraron cicatrices en el punto de inoculación. En Irán, Pourmoghaddan *et al.* (2018) realizó inoculaciones en plantas de teca de 8 meses de edad, estos se mantuvieron asintomáticos mientras se realizaron las pruebas durante 6 meses y sólo hasta después de los 8 meses se mostraron síntomas como marchitamiento y reducción del crecimiento. Esto puede dar una explicación del porqué las plántulas de *T. grandis* inoculadas con *K. zonata* no fueron diferentes desde el punto de vista estadístico en los resultados en comparación con *L. pseudotheobromae* y la combinación de los patógenos (figura 13), que actuaban de forma más rápida, indicando así que las plántulas con *K. zonata* posiblemente requerían de mayor tiempo para mostrar síntomas.

Para el caso de *L. pseudotheobromae* perteneciente a la familia Botryosphaeriaceae es conocido que algunas especies de esta familia pueden ser endófitos en tejidos sanos de los árboles (Dissanayake *et al.*, 2018, Jayawardena *et al.*, 2018) y convertirse en patógenos cuando el huésped está estresado (Dong *et al.*, 2020). En este mismo sentido Yan *et al.* (2018) menciona que las altas temperaturas son favorables para la infecciones oportunistas de organismos de la familia Botryosphaeriaceae. Sin embargo, los síntomas y signos vistos en campo son de *K. zonata* por lo que se cree que primero ingresó este hongo a los individuos susceptibles y posteriormente ingresó *L. pseudotheobromae* dadas las características y comportamiento mencionado por los autores.

En la identificación morfológica, las mediciones y descripciones realizadas de las estructuras de *L. pseudotheobromae* fueron comparadas con lo publicado por otros autores (cuadro 7). De esta manera la información de las conidias del hongo coincide con el rango de las dimensiones de largo y ancho reportado por los autores, así como las características principales de la forma elipsoidal, pared gruesa y color marrón oscuro en el caso de *L. pseudotheobromae*. Asimismo, con la

identificación molecular se demuestra la presencia del patógeno *L. pseudotheobromae* al agruparse con la accesión NR 111264.1 y alejarse de la accesión NR 111174.1 (*L. theobromae*) las cuáles son especies utilizadas como referencia para identificar otros patógenos del mismo género (Schoch *et al.*, 2014).

Cuadro 7. Dimensiones de las conidias para la especie *L. pseudotheobromae* y reportes de referencia.

L (µm)	a (µm)	Descripción	Referencia
26,0-31,0	11,0-16,0	Los conidios elipsoidales, inicialmente hialinos, unicelulares se volvían marrón oscuro y desarrollaban una pared gruesa, un tabique central y estrías longitudinales con la edad.	Castro-Medina <i>et al.</i> (2014)
27,0-28,5	13,0-15,0	Inicialmente hialinas y aseptadas, se vuelven septadas en el centro, marrón oscuro, de paredes gruesas, elipsoides a obovoides, ápice ampliamente redondeado, base truncada o redondeada, con estrías longitudinales del ápice a la base.	Doilom <i>et al.</i> (2015)
24,0-27,0	13,0-16,0	Inicialmente hialinas y aseptadas, de forma subglobosa a elipsoide, y con contenido granular; se volvieron marrones poco después de la formación.	Jin-Hyeuk Kwon <i>et al.</i> (2017)
23,4	14,3	Elipsoidales, ápice y base redondeada, con dos septos color marrón oscuro.	Saucedo-Picazo <i>et al.</i> (2022)

En prueba de patogenicidad, en una especie similar a *L. pseudotheobromae*, Borges *et al.* (2015) reporta para teca la afectación por *L. theobromae* en Brasil y menciona que de los tres clones utilizados todos mostraron síntomas de cancro idénticos a los observados en infecciones naturales en campo 90 días después de las inoculaciones. Además, Méndez-Álvarez *et al.* (2019) realiza un primer reporte de *L. theobromae* asociada a la muerte descendente de *T. grandis* en Costa Rica. Este patógeno llega a producir daños de mancha en la madera y hasta la pudrición de los árboles de teca, lo que convierte en una amenaza de importancia económica para los productores. En *L.*

pseudotheobromae Dong *et al.* (2020) realizó pruebas de patogenicidad en ramitas de *T. grandis* y después de siete días se desarrollaron lesiones de 8-10 cm de longitud con decoloraciones, necrosis de la corteza y los tejidos del cambium. En las pruebas de patogenicidad realizadas en este estudio se evidenció de igual forma la rapidez con que *L. pseudotheobromae* generaba las lesiones de entre 2,82 cm y 5,18 cm en los tallos de las plantas en un lapso de 30 días.

Estas investigaciones realizadas en la misma especie de estudio concuerdan con los resultados obtenidos en el presente trabajo donde *K. zonata* y *L. pseudotheobromae* provocaron lesiones y síntomas en las plántulas inoculadas.

Conclusiones

Los agentes causales de la pudrición de la base y raíz en *T. grandis* en Guanacaste, Costa Rica son *Kretzschmaria zonata* con base en sus signos encontrados en campo, identificación morfológica y molecular y *Lasiodiplodia pseudotheobromae* debido a su identificación morfológica, molecular y su patogenicidad en plantas de *T. grandis*.

A través de la implementación de un diagnóstico integral sobre el comportamiento de los patógenos, se creó una escala diagramática que permitió identificar los síntomas y signos de la enfermedad, así como evaluar su categoría de severidad. Esto resultó en el desarrollo de una herramienta útil para la toma de decisiones informadas para los productores de *T. grandis*, en caso de que se enfrenten a esta enfermedad.

Referencias

- Arauz, F. 1998. Fitopatología: un análisis agroecológico. San José, CR, EUCR. 469 p.
- Alfenas, R., Arenhart, M., Alexandre, F y Maitan Alfenas, G. (2021). Root Collar Rot, a New Lethal Disease on *Tectona grandis* Caused by *Kretzschmaria zonata* in Brazil. Diseases Caused by Fungi Like Organisms. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PDIS-03-20-0641-PDN>
- Arguedas, M., Cannon, P., Wingfield, M., y Montenegro, F. (2013). Principales riesgos fitosanitarios en plantaciones de teca. In De Camino, R.; Morales J.P. (eds) Las plantaciones de teca en América Latina: mitos y realidades; Memoria de la reunión técnica realizada en Turrialba, Costa Rica. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Serie Técnica, Informe Técnico No. 397. pp 134-155

- Badilla, Y. y Murillo, O. (2016). Impacto de los programas de mejoramiento genético de teca (*Tectona grandis* Roxb.) en Costa Rica y América Latina En: XIV CONAFA, 25-27 de octubre, Belén, Costa Rica.
- Badilla, Y. y Murillo, O. (2022). Selección clonal de *Tectona grandis* L. f. para el Pacífico seco de Costa Rica. Revista UNICIENCIA Vol. 36, N°. 1, 1-15. https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S221534702022000100304&script=sci_abstract&tlng=es
- Ballesteros, A. (2024). Identificación del agente causal de la pudrición de la albura de la teca (*Tectona grandis* L. f.), en la provincia de Darién, República de Panamá. Revista Investigaciones Agropecuarias. Nota Científica. ISSN L 2644-3856. Vol. 6(2): pp.122-132. DOI <https://doi.org/10.48204/j.ia.v6n2.a5177>
- Borges RCF., Santos MDM., Macedo MA., Martins I., Nascimento AG., Café-Filho AC., Boiteux LS., Fonseca MEN., Inácio CA., y Mello SCM. (2015). A trunk canker disease of *Tectona grandis* induced by *Lasiodiplodia theobromae* in Brazil. New Disease Reports 31, 26. <http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2015.031.026>
- Carvajal-Ruiz, A., Ávila-Arias, C., Murillo-Cruz, R., y Chaverri-Echandi, P. (2021). Severidad de la “Pudrición del tallo” en vivero sobre una colección genética de *Gmelina arborea* Roxb. Revista Forestal Mesoamericana Kurú, 18(42), 37-45. <https://dx.doi.org/10.18845/rfmk.v16i42.5544>
- Castañón-Zapata, J., de Hernández y Ramos, N. (1993). Efecto de la luz negra sobre la esporulación de *Stenocarpella maydis* (Berk) Sutton y *S. macrospora* (Earle) Sutton. Departamento de Protección Vegetal. Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano. Honduras. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/b1061814-a446-40b7-ad6c-e3479cff6f91/content>
- Castro-Medina, F., Mohali, S. R., Úrbez-Torres, J. R., y Gubler, W. D. (2014). First Report of *Lasiodiplodia pseudotheobromae* Causing Trunk Cankers in *Acacia mangium* in Venezuela. Plant disease, 98(5), 686. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-13-0160-PDN>
- Cibrián, D. (2013). Manual para la identificación y manejo de plagas en plantaciones forestales comerciales. Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). Universidad Autónoma de Chapingo. México. http://www.conafor.gob.mx/biblioteca/Manuales-Tecnicos/Manual_para_la_identificacion_y_manejo_de_plagas_en_plantaciones_forestales.pdf

- Cibrián, D., Pérez, O., García, S., Ortiz, R y Cibrián, J. (2014). *Kretzschmaria zonata* (Lév.) P.M.D. Martin, causante de la pudrición del cuello y la raíz de teca. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*. 5:110. <https://www.scielo.org.mx/pdf/remcf/v5n25/v5n25a9.pdf>
- Comisión Nacional Forestal. (2020). Diagnóstico Fitosanitario del Estado de Puebla. <http://sivicoff.cnf.gob.mx/ContenidoPublico/02%20Informes%20de%20acciones%20operativas/DiagnosticosEstatales/2020/Puebla.pdf>
- Couto, A., Alves, F., Gonçalves, R., Coelho, R. (2007). Isolamiento de Fungus Fitopatoênicos. In Couto, A; Gonçalves, R. (eds.). *Métodos em Fitopatologia*. Viçosa, Brasil. Universidade de Viçosa. p. 53-91.
- Dissanayake AJ., Purahong W., Wubet T., Hyde KD., Zhang W., Xu HY., Zhang GJ., Fu CY., Liu M y Xing QK. (2018). Direct comparison of culture-dependent and culture-independent molecular approaches reveal the diversity of fungal endophytic communities in stems of grapevine (*Vitis vinifera*). *Fungal Diversity* 90, 85–107.
- Doilom, M., Shuttleworth, L., Chukeatirote, E y Hyde, K. (2015). Botryosphaeriaceae associated with *Tectona grandis* (teak) in Northern Thailand. *Phytotaxa* vol. 233. pp 1-26. DOI: 10.11646/PHYTOTAXA.233.1.1
- Dong, W., Doilom, M., Hyde, K.D., Phillips, A., Yan, K, To-anun, C., Xu, JC., Zhang, H y Nalumpang, S. (2020). Pathogenicity of five Botryosphaeriaceae species isolated from *Tectona grandis* (teak): the pathogenic potential of Lasiodiplodia species. *Asian Journal of Mycology*. 3. 399-407. 10.5943/ajom/3/1/12.
- De Camino, R., y Pierre, J. (2013). Las plantaciones de teca en América Latina: mitos y realidades. Turrialba. C.R: CATIE. 392 p. Serie técnica. Informe técnico/ CATIE; no. 397.
- Fonseca G, W. (2004). Manual para productores de teca (*Tectona grandis* L.f.) en Costa Rica. Heredia, Costa Rica: FONAFIFO.
- Instituto Meteorológico Nacional (IMN). (2009). Atlas climatológico de Costa Rica. <https://www.imn.ac.cr/atlas-climatologico>
- Jayawardena RS., Purahong W., Zhang W., Wubet T., Li XH., Liu M., Zhao WS., Hyde KD., Liu JH y Yan JY. (2018). Biodiversity of fungi on *Vitis vinifera* L. revealed by traditional and high-resolution culture-independent approaches. *Fungal Diversity* 90, 1–84.
- Jin-Hyeuk K., Okhee C., Byeongsam K., Yeyeong., Jiyeong P., Dong Wan K., Inyoung, H y Jinwoo, K. (2017). Identification of *Lasiodiplodia*

- pseudotheobromae* causing mango dieback in Korea, Canadian Journal of Plant Pathology, 39:2, 241-245, DOI: 10.1080/07060661.2017.1329231
- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. Journal of Molecular Evolution. 16:111-120.
- Marmolejo-Moncivais, J., Moreno-Rico, O y Cantú-Ayala, M. (2015). Nuevos Registros y Hospederos de *Kretzschmaria zonata* en Nuevo León, México. Suplemento de la Revista Mexicana de Fitopatología.
- <https://rmf.smf.org.mx/suplemento/docs/Volumen332015/ResumenesPosters.pdf>
- Méndez-Álvarez, D; Rodríguez, A; Badilla-Valverde, Y; y Murillo-Gamboa, O. (2019). First report of *Lasiodiplodia theobromae* and *Fusarium proliferatum* causing teak die back in Costa Rica. Forest Pathology. <https://doi.org/10.1111/efp.12504>
- Meza-Picado, V., Alfaro-Jiménez, K., Bedoya-Arrieta, R., Romero-Mora, M., Montenegro-Salas, P., Valerio-Madrigal, A y Sánchez-Alpizar, J. (2020). Incidencia y Severidad de la Pudrición del Tronco en plantaciones de *Gmelina arborea* (Melina), Costa Rica: Región Huetar Norte, Huetar Atlántica y Chorotega. Heredia, Costa Rica: INISEFOR/UNA.
- Oficina Nacional Forestal (ONF). (2022). Usos y aportes de la madera en Costa Rica, Estadísticas 2021 y Precios 2022. Oficina Nacional Forestal. San José, Costa Rica. 48 p. <https://onfcr.org/usuarios-y-aportes-de-la-madera-en-costa-rica>
- Pérez, C. A., Wingfield, M. J., Slippers, B., Altier, N. A., y Blanchette, R. A. (2010). Endophytic and canker-associated Botryosphaeriaceae occurring on non-native Eucalyptus and native Myrtaceae trees in Uruguay. Fungal Diversity, 41(1), 53-69.
- Phillips, AJL., Alves, A., Abdollahzadeh, J., Slippers, B., Wingfield, MJ., Groenewald, JZ y Crous, PW. (2013). The Botryosphaeriaceae: genera and species known from culture. Studies in mycology, 76, 51-167
- Pourmoghaddam MJ, Khodaparast SA, Krisai-Greilhuber I, Voglmayr H, Stadler M. (2018). Two new species and one new record of *Kretzschmaria* (Ascomycota, Xylariales) from Iran. Mycosphere 9(6), 1197–1208, Doi 10.5943/mycosphere/9/6/9
- Quijano, A; Martín, R; Nexticapan, Á; Pérez, D y Cortés, A. (2018). Guía para la identificación de los primeros síntomas visibles de la pudrición de cuello y raíz en teca "*Tectona grandis*" causada por *Kretzschmaria zonata*. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

- Recio Herrera, G y Maldonado González, S. (2014). A revision of the genus *Kretzschmaria* (Ascomycota, Xylariaceae) in Cuba. *Willdenowia* 44: 57-64. ISSN 1868-6397. DOI: <http://dx.doi.org/10.3372/wi.44.44109>
- Rodríguez, M. (2019). Rol como patógenos de especies de Botryosphaeriaceae y Diaporthaceae asociadas a mortalidad en plantaciones de *Pinus radiata* y sus efectos en *Eucalyptus* spp. y *Nothofagus* spp. (Tesis para optar al grado de Magister en Ciencias Forestales). Universidad de Concepción, Chile.
- Rogers, J. D. and Y-M. Ju. (1998). The genus *Kretzschmaria*. *Mycotaxon* 68: 345-393.
- Salas-Rodríguez, A., Murillo-Gamboa, O., Murillo-Cruz, R., Ávila-Arias, C., y Mata-Granados, X. (2016). Evaluación de la severidad de la pudrición del tronco en Gmelina arborea Roxb. *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, 13(32), pág. 01-10. <https://doi.org/10.18845/rfmk.v0i0.2547>.
- San Martín, F. E. y P. A. Lavin. (1997). Datos sobre los géneros *Entonaema* y *Ustulina* (Pyrenomycetes, Xylariaceae). *Acta Botánica Mexicana* 40: 25-35.
- Saucedo-Picazo, L. E., Hernández-Montiel, L. G., Flores-Estévez, N., Gerez-Fernández, P., Argüello-Ortiz, A. F y Noa-Carrazana, J. C. (2022). Coinfección e interacción in vitro de *Lasiodiplodia pseudotheobromae* y *Pestalotiopsis mangiferae* asociados a la muerte descendente en ramas de mango (*Mangifera indica*) variedad Manila, en Veracruz, México. *Revista mexicana de fitopatología*, 40(3), 308-329. Epub 14 de noviembre de 2022. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2203-4>
- Schoch, C. L., Robbertse, B., Robert, V., Vu, D., Cardinali, G., Irinyi, L., ... y Federhen, S. (2014). Finding needles in haystacks: linking scientific names, reference specimens and molecular data for Fungi. Database, 2014, bau061.
- Tamura K., Stecher G., y Kumar S. (2021). MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution* <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>.
- Tecnológico de Costa Rica. (2024). Campus Tecnológico Local San Carlos. <https://www.tec.ac.cr/campus-tecnologico-local-san-carlos>
- Ugalde, L. (2013). Teak: Trends in Silviculture, Commercialization and Wood Utilization. *International Forestry and Agroforestry*. Cartago, Costa Rica. 552p.
- Yan J., Zhao W., Chen Z., Xing Q., Zhang W., Chethana K., Xue M., Xu J., Phillips A., Wang Y., Liu J., Liu M., Zhou Y., Jayawardena R., Manawasinghe I., Huang J., Qiao G., Fu C., Guo F., Dissanayake A., Peng Y., Hyde K y Li X. (2018). Comparative genome and transcriptome

analyses reveal adaptations to opportunistic infections in woody plant degrading pathogens of Botryosphaeriaceae. DNA Research 25, 87–102.

Vera, D., Cañarte, E., Navarrete, B., Solís, K., Muñoz, X., Cevallos V., y Borja, E. (2019). Muestreo de enfermedades vasculares e insectos barrenadores asociados a teca (*Tectona grandis* L.f.) y alternativas para su manejo. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Ecuador. 1ra. Ed. Octubre, 2019.

CAPÍTULO 2

Propiedades mecánicas, químicas y resistencia a la degradación de la madera de *Tectona grandis* L.f frente a la pudrición causada por *Kretzschmaria zonata* y *Lasiodiplodia pseudotheobromae*

Resumen

La madera de *Tectona grandis* posee características anatómicas y estructurales que la hacen tener gran durabilidad y versatilidad de usos. A pesar de esta cualidad, organismos como los hongos pueden llegar a afectar a los árboles de teca en plantaciones forestales. Por lo tanto, se desarrolló esta investigación con el objetivo de evaluar el efecto en las propiedades mecánicas, químicas y de resistencia a la degradación de la madera de *T. grandis* frente al ataque de hongos patógenos. Los resultados indicaron para las pruebas mecánicas que los valores del módulo de ruptura (MOR) y elasticidad (MOE) eran estadísticamente menores en muestras de teca infectadas por los hongos patógenos *Kretzschmaria zonata* y *Lasiodiplodia pseudotheobromae* en comparación con muestras sanas. Los ensayos de resistencia a la degradación mostraron que la madera de teca es clasificada como altamente resistente al ataque de los hongos *K. zonata* y *L. pseudotheobromae*. Por otra parte, la composición química fue evaluada a través de la determinación de la proporción de celulosa y lignina y únicamente la madera afectada, traída de campo con el hongo *K. zonata*, tuvo diferencias estadísticas con el porcentaje de celulosa remanente en la madera en comparación con muestras sanas e infectadas en laboratorio. Se concluye que producto de la afectación de los hongos *K. zonata* y *L. pseudotheobromae* sobre la madera de *T. grandis*, se ven reducidas las propiedades mecánicas y químicas evaluadas.

Palabras clave: celulosa, hongos, lignina, módulo de ruptura, módulo de elasticidad, teca

Abstract

The wood of *Tectona grandis* has anatomical and structural characteristics that make it highly durable and versatile in its uses. Despite this quality, organisms such as fungi can affect teak trees in forest plantations. Therefore, this research was developed with the objective of evaluating the effect on the mechanical, chemical and decay resistance properties of *T. grandis* wood against attack by pathogenic fungi. The results indicated for the mechanical tests that the values of the modulus of rupture (MOR) and elasticity (MOE) were statistically lower in teak samples infected by the pathogenic fungi *Kretzschmaria zonata* and *Lasiodiplodia pseudotheobromae* compared to healthy samples. Decay resistance tests showed that teak wood is classified as highly resistant to attack by *K. zonata* and *L. pseudotheobromae* fungi. On the other hand, the chemical composition was evaluated through the determination of proportion of cellulose and lignin and only the affected wood brought from the field with the fungus *K. zonata* had statistical differences with the percentage of cellulose remaining in the wood in comparison with healthy and infected samples in the laboratory. It is concluded that because of the affectation of the fungi *K. zonata* and *L. pseudotheobromae* on the wood of *T. grandis*, the mechanical and chemical properties evaluated are affected.

Keywords: cellulose, fungi, lignin, modulus of rupture, modulus of elasticity, teak

Introducción

La madera de teca posee un alto valor comercial dadas sus propiedades físico-mecánicas, durabilidad y versatilidad de usos (Rodríguez Anda *et al.*, 2014). Esta especie se utiliza principalmente para construcción, fabricación de muebles, ventanas, puertas, tableros, componentes de pisos y tarimas (ONF, 2022). La madera como biomaterial es susceptible al ataque de agentes bióticos como los hongos, estos pueden llegar a deteriorar o degradar gravemente su estructura. Mientras se den las condiciones de humedad, temperatura y un hospedero susceptible, los hongos atacarán y los árboles podrán sufrir daños estando en bosques, plantaciones puras o en sistemas agroforestales (Flores *et al.*, 2010).

El ataque producido por hongos de pudrición causa cambios morfológicos y químicos, estos organismos penetran la madera mediante sus hifas y permanecen ocultos en ella, lo que hace muy difícil reconocerla hasta que ya sea tarde, cuando ya se han manifestado síntomas visibles (Berrocal, 2007). Dependiendo de las enzimas que produzcan, los hongos de pudrición pueden descomponer varios componentes de la pared celular de la madera (hemicelulosas, celulosa y lignina) en carbohidratos simples, que luego se absorben y metabolizan (Schmidt, 2006; Cristini *et al.*, 2022).

Si la degradación enzimática se dirige a la celulosa y hemicelulosa se le conoce como pudrición café, marrón o parda; si el componente degradado por el hongo es la lignina se le conoce como pudrición blanca que da un aspecto blanquecino a la madera residual (Equihua, 2018), un tercer tipo son los hongos de pudrición blanda donde generalmente atacan la madera con mayor humedad y menor contenido de lignina y pueden crear cavidades únicas en la pared celular de la madera (Goodell *et al.*, 2008). El grado de degradación de la madera causado por los hongos que la descomponen a menudo se describe por la pérdida de peso (Witomski *et al.*, 2016) y se dice que en estados avanzados de la pudrición en madera se estima que una pérdida de peso del 4% representa una disminución en la resistencia físico-mecánica de un 28% (Berrocal, 2007).

El empleo de métodos acelerados de laboratorio para evaluar la resistencia al deterioro que la madera tiene en forma natural es importante, ya que, se pueden obtener resultados en corto tiempo, mediante índices o valores como la pérdida de peso de las muestras a causa de la interacción con los hongos, este valor además proporciona un criterio para clasificar las maderas de acuerdo con su durabilidad natural (Leandro *et al.*, 2004).

En plantaciones comerciales de teca en Guanacaste, Costa Rica, se presenta una enfermedad de pudrición blanda en la base y raíz provocada por hongos patógenos, entre ellos *Kretzschmaria zonata* y *Lasiodiplodia pseudotheobromae*. Dado que no se conoce con certeza la agresividad de estos hongos en este estudio se plantea el objetivo de evaluar el efecto en las propiedades mecánicas, químicas y de resistencia a la degradación de la madera de *T. grandis* frente al ataque de hongos patógenos.

Metodología

La madera utilizada para este estudio pertenece a la especie *Tectona grandis* y procede de plantaciones comerciales de 15 años en la provincia de Guanacaste, Costa Rica (10° 12' 55" N y 84° 57' 31" O). Los ensayos y pruebas se realizaron en el Centro de Investigación e Innovación Forestal del Instituto Tecnológico de Costa Rica.

Las muestras para la evaluación de las propiedades mecánicas se cortaron según el tipo de corte establecido en la norma D-5536-94 (ASTM, 2003), en el cual fueron cortadas piezas de 2,5 x 2,5 x 50 cm, se extrajeron siete piezas sanas y siete con los patógenos de la base de siete árboles cortados en la zona de estudio, después se colocaron en una cámara de secado durante siete días hasta alcanzar un contenido de humedad aproximado al 12%.

Las propiedades mecánicas determinadas fueron el módulo de ruptura (MOR) y el módulo de elasticidad (MOE), los procedimientos se realizaron usando como referencia la norma ASTM D143-94 (ASTM, 1997).

Para calcular el módulo de ruptura y elasticidad se utilizaron las ecuaciones 3 y 4:

$$MOR = \left[\frac{1,5 * L * P_r}{b * h^2} \right] \text{ (Montero, 2010)}$$

[Ecuación 3]

Donde:

MOR = Módulo de ruptura (kg/cm²)

L = Luz de ensayo (cm)

Pr = carga de ruptura (kg)

b = ancho de la probeta (cm)

h = altura de la probeta (cm)

$$MOE = \left[\frac{L^3 * m}{48 * I} \right] \text{ (Montero, 2010)}$$

[Ecuación 4]

Donde:

MOE = Módulo de elasticidad (kg/cm²)

L = Luz de ensayo (cm)

m = Coeficiente angular de la recta carga-deformación (kg/cm)

I = momento de inercia (cm⁴)

Tres muestras de 30 g de material infectado en campo por los hongos patógenos y muestras de madera sana se enviaron al Centro de Investigaciones Agronómicas (CIA) de la Universidad de Costa Rica donde se realizó un análisis químico de elementos y se determinó si existían diferencias en los macro y microelementos de la madera de teca.

La resistencia a la degradación de la madera de *T. grandis* contra la pudrición causada por hongos patógenos se realizó siguiendo la norma D2017-81 (American National Standard (ASTM), 1994). Se estableció un ensayo con un diseño completamente aleatorio de 35 repeticiones y 15 para las muestras control. Los tratamientos consistieron en exponer bloques de madera (albura y duramen) de 2 x 2 x 2 cm, frente a los hongos en estudio *Kretzschmaria zonata* y *Lasiodiplodia pseudotheobromae*, y dos hongos siguiendo la norma, el hongo de pudrición blanca *Trametes versicolor* y el hongo de pudrición café *Gloeofilum trabeum*.

Las bloques de teca (1 de albura y 1 de duramen) se colocaron en cámaras de degradación (frascos de vidrio) que contenían suelo húmedo y una tablita alimentadora de *G. arborea* previamente inoculada con cada uno de los hongos de este estudio. Las cámaras se colocaron en una incubadora a 26°C, 80% de humedad relativa durante 16 semanas. Las muestras se pesaron antes y después de la exposición a los hongos, asegurando que el contenido de humedad fuese de 0% colocándolas en un horno durante 24 horas a 105°C. La determinación de la pérdida de peso se calculó con la ecuación 5.

$$\text{Pérdida de peso (\%)} = \left[\frac{P_1 - P_2}{P_1} \right] \times 100 \quad [\text{Ecuación 5}]$$

Donde:

P₁: Peso acondicionado del bloque antes de la exposición con el hongo

P₂: Peso acondicionado del bloque después de la exposición con el hongo

Según el valor obtenido del porcentaje de pérdida de peso de las muestras se clasificó su resistencia según el siguiente cuadro:

Cuadro 8. Tipos de resistencia de la madera contra un hongo según pérdida de peso en porcentaje.

Promedio pérdida de peso (%)	Tipo de resistencia al hongo
0-10	Altamente resistente
11-24	Resistente
25-44	Moderadamente resistente
>45	Baja resistencia / No resistente

“ASTM D-2017: Standard method of accelerated laboratory test of natural decay resistance of woods”, American National Standard, 1994. West Conshohocken: American Society for Testing and Materials.

Para las pruebas químicas se utilizó madera de teca sana y afectada por los patógenos recolectados de la zona de estudio, este procedimiento también se realizó para las muestras de albura resultantes de los ensayos de resistencia a la degradación y se comparó los resultados de material infectado en campo con el material infectado en laboratorio. Las muestras se pasaron por un molino y después un tamiz número 40 para definir el tamaño de las partículas para realizar el lavado de extraíbles para material lignocelulósico según la norma ASTM D1105-96.

La determinación de la cantidad de celulosa se realizó de acuerdo con la norma T-17 wd-70 (Tappi standard, 1997). Las muestras sanas e infectadas se pesaron con contenido de humedad 0% posteriormente se les realizó un lavado con una solución compuesta de etanol al 95% y ácido nítrico al 65%. Para obtener el contenido de lignina se utilizó como referencia la norma T-222 om-98 (Tappi standard, 1998) y en este caso el lavado se realizó con ácido sulfúrico al 72%.

Después del lavado, las muestras se secaron y se pesaron nuevamente, se utilizó la ecuación 6 para determinar el porcentaje de celulosa y lignina.

$$\text{Porcentaje de celulosa o lignina} = \left[\frac{Pm_2}{Pm_1} \right] \times 100$$

[Ecuación 6]

Donde:

Pm_1 : Peso de la muestra inicial (gramos)

Pm_2 : Peso de la muestra después del procedimiento (gramos)

De las muestras de albura utilizadas en los ensayos de resistencia a la degradación también se utilizaron para determinar el pH y analizar de igual forma si había diferencias entre los tratamientos. El material estaba en forma de aserrín por lo que el procedimiento consistió únicamente en pesar 1 g de aserrín, colocarlo en un vaso de precipitado de 50 ml y agregarle 5 ml de agua destilada estéril. Después de 5 minutos de reposo se utilizó un medidor de pH para determinar el valor en cada una de las muestras.

En el Laboratorio Institucional de Microscopía del Instituto Tecnológico de Costa Rica, se realizó un análisis de las muestras provenientes de los ensayos de degradación con microscopía electrónica de barrido (SEM) con el objetivo de observar la degradación en las paredes celulares y componentes de la madera de *T. grandis*.

Análisis estadístico

Por medio del programa Infostat versión 2020, se probaron los supuestos de independencia, normalidad y homocedasticidad (Prueba de Shapiro-Wilks modificada). Se ejecutó el ANDEVA (Análisis de Varianza) y la prueba de comparación de medias múltiples Tukey con un nivel de

confianza del 95%, esto, para determinar si había diferencias significativas en cada uno de los tratamientos aplicados.

Resultados

Evaluación de las propiedades mecánicas mediante ensayos de flexión estática

A partir de las muestras de teca recolectadas en campo y afectadas por los hongos *K. zonata* y *L. pseudotheobromae* los resultados obtenidos de los ensayos de flexión estática para el módulo de ruptura (MOR) (figura 15) indican que las probetas sanas de *T. grandis* (n=7) tuvieron un valor promedio de 63,73 Mpa esto mostró diferencias estadísticamente significativas (p-value <0,05) con las probetas que ya habían sido afectadas por los hongos patógenos y cuyo valor del módulo de ruptura fue de 42,94 Mpa, lo que corresponde a una disminución de 32,62% de este parámetro.

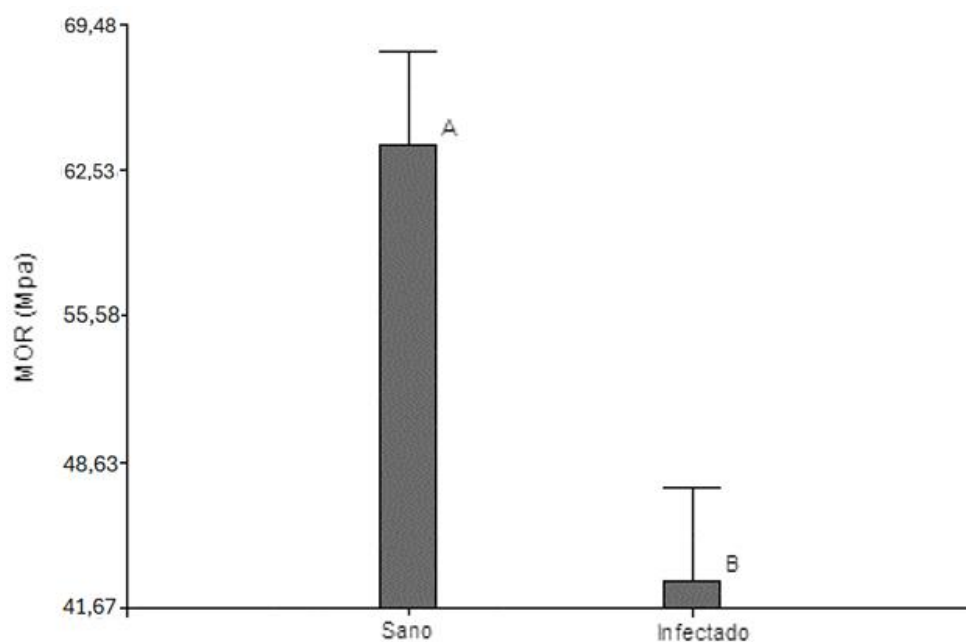


Figura 15. Módulo de ruptura (MOR) evaluado en probetas infectadas y sanas de *T. grandis*.

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas con alfa=0,05.

Con relación al MOE (figura 16), las probetas sanas de *T. grandis* (n=7) tuvieron un valor promedio de 30375,13 Mpa esto resultó en diferencias estadísticas significativas (p-value <0,05) con las probetas que ya habían sido afectadas por los hongos y cuyo valor promedio del módulo de elasticidad fue de 17411,14 Mpa. Lo que representa un 42,68% de disminución comparado con las

muestras sanas. La disminución del módulo de ruptura y elasticidad en piezas de madera afectadas por hongos patógenos es resultado de la degradación de la pared celular lo que a su vez coincide con el deterioro de las hemicelulosas uno de los compuestos de la madera.

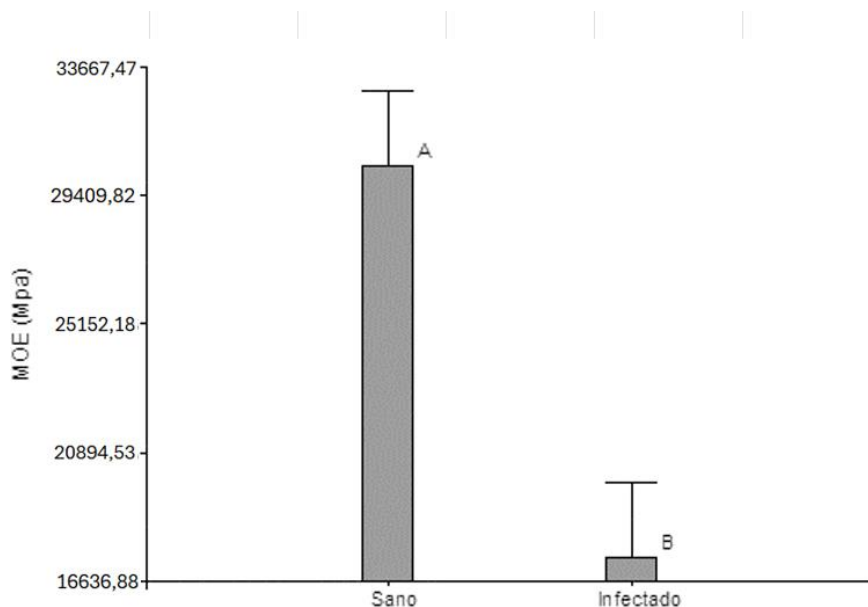


Figura 16. Módulo de elasticidad (MOE) en probetas infectadas y sanas de *T. grandis*.

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas con $\alpha=0,05$.

Análisis de la composición elemental en madera de *T. grandis*

Los resultados del análisis de composición elemental mostrados en el cuadro 9 indican que para los macroelementos en las muestras sanas sin hongos los valores más altos encontrados fueron nitrógeno (N) con 0,21% y potasio (K) con 0,23%; en menor cantidad azufre (S) con 0,01%. Por otra parte, en cuanto a los microelementos, el hierro (Fe) obtuvo un valor de 1449 mg/kg y el cobre (Cu) un valor de 221 mg/kg siendo los elementos con mayor concentración en estas muestras analizadas.

Al realizar el análisis estadístico para comparar las muestras, únicamente en dos macroelementos las concentraciones resultan ser significativamente diferentes, estos son el calcio (Ca) con 0,21% en la muestra con hongos y 0,12% en la muestra sana, y el magnesio (Mg) con 0,15% en la muestra con hongos y 0,11% en la muestra sana. Aunque se encontraron estas diferencias, no se encontraron referencias analizando la relación de estos valores con la presencia de hongos en la madera.

Cuadro 9. Análisis elemental en muestras de madera de *T. grandis* sanas y con los hongos *K. zonata* y *L. pseudotheobromae*.

ANÁLISIS DE COMPOSICIÓN ELEMENTAL											
% masa							mg/kg				
ID USUARIO	N	P	Ca	Mg	K	S	Fe	Cu	Zn	Mn	B
TECA SIN HONGO	0,21 (0,08) a	0,09 (0,01) a	0,21 (0,02) a	0,11 (0,01) a	0,23 (0,02) a	0,01 (0,01) a	1449,00 (482,88) a	221,00 (50,24) a	15,33 (3,51) a	10,00 (4,00) a	4,00 (1,00) a
TECA CON HONGO	0,44 (0,14) a	0,09 (0,02) a	0,12 (0,04) b	0,15 (0,02) b	0,22 (0,02) a	0,02 (0,00) a	981,33 (679,50) a	386,67 (191,36) a	18,67 (5,86) a	10,33 (5,51) a	5,00 (1,00) a

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas con alfa=0,05.

Ensayo de resistencia a la degradación con el método suelo-bloque

Según la clasificación definida en la metodología por la norma ASTM D-2017 el promedio de la pérdida de peso en términos porcentuales fue menor al 10% en todos los tratamientos aplicados (cuadro 10) por lo que su resistencia fue clasificada como alta, independientemente si era albura o duramen. Los valores más altos de pérdida de peso fueron los tratamientos de *K. zonata* en madera de albura con 9,17% y *G. trabeum* también en albura con 6,84%.

Cuadro 10. Resultados de pérdida de peso (%) promedio para albura y duramen en muestras de *T. grandis* expuestas a cuatro hongos de pudrición durante 16 semanas.

Hongo	Tipo de madera	Pérdida de peso (%)	Resistencia
<i>K. zonata</i>	Albura	9,17	Altamente resistente
	Duramen	1,84	Altamente resistente
<i>L. pseudotheobromae</i>	Albura	4,17	Altamente resistente
	Duramen	1,21	Altamente resistente
<i>G. trabeum</i>	Albura	6,84	Altamente resistente
	Duramen	1,13	Altamente resistente
<i>T. versicolor</i>	Albura	4,79	Altamente resistente
	Duramen	1,73	Altamente resistente

Al realizar el análisis estadístico (figura 17) se encontraron diferencias entre los tratamientos aplicados, donde de manera general se observa que los tratamientos *K. zonata* duramen (KD), *L.*

pseudotheobromae duramen (LD), *T. versicolor* duramen (TD) y *G. trabeum* duramen (GD) fueron diferentes de los tratamientos compuestos por madera de albura ya que únicamente perdió entre el 1%-2% de su peso seco original. Al analizar los tratamientos albura (KA, GA, TA, LA) el hongo más agresivo fue *K. zonata* que afectó a las muestras de teca reduciendo su peso en promedio 9%, mientras que los hongos de pudrición café (*G. trabeum*) y pudrición blanca (*T. versicolor*) no tuvieron diferencias entre sí y causaron pérdidas de peso entre 4%-6%. *L. pseudotheobromae* en albura (LA) ocasionó pérdidas de peso del 4% siendo de las menores afectaciones tras 16 semanas de exposición.

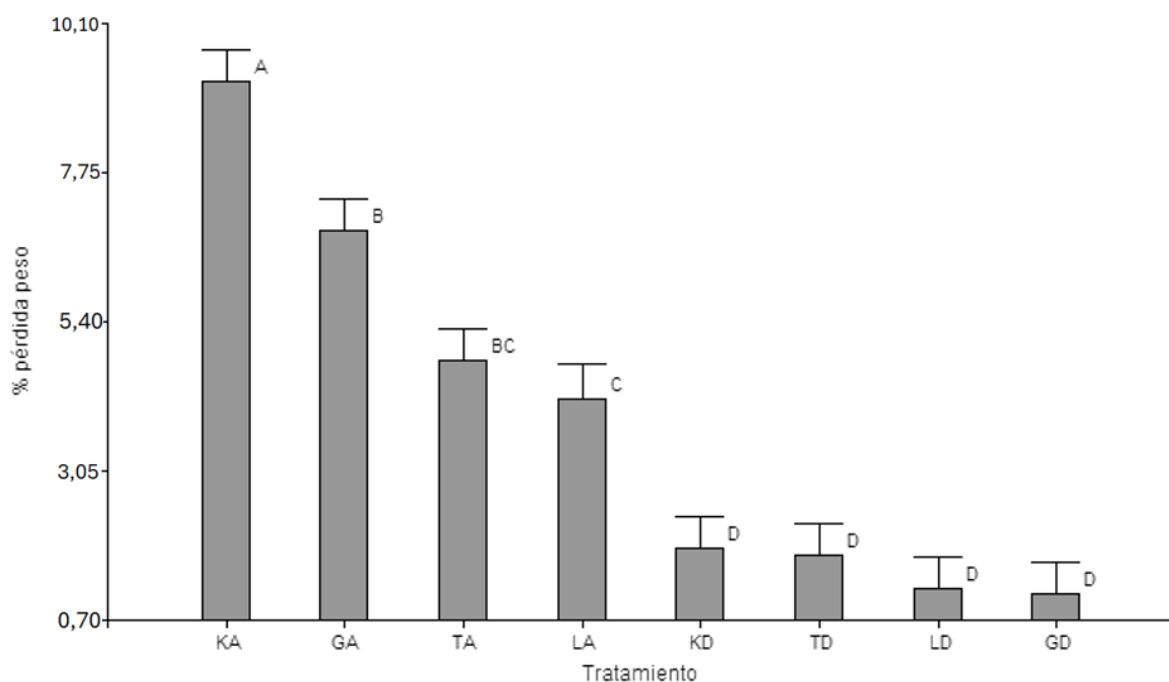


Figura 17. Valores de pérdida de peso promedio en muestras de albura y duramen de *T. grandis* expuestos a cuatro diferentes hongos durante 16 semanas.

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas con $\alpha=0,05$.

KA: *Kretzschmaria albura* / GA: *Gloeofilum albura* / TA: *Trametes albura* / LA: *Lasiodiplodia albura* /

KD: *Kretzschmaria duramen* / GD: *Gloeofilum duramen* / TD: *Trametes duramen* / LD: *Lasiodiplodia duramen*

Evaluación de la composición química de las muestras de T. grandis

En el cuadro 11 se muestran los resultados de la evaluación de lignina y celulosa para la muestras de *T. grandis* traídas de la zona de estudio en Guanacaste, el promedio del porcentaje de celulosa para cinco muestras sanas tuvo un valor de 56,36%, este fue estadísticamente diferente de las muestras con el hongo patógeno que mostraron un valor de 51,94%. Para la determinación de la lignina se obtuvo un valor de 30,38% en promedio para las muestras sanas de la madera de teca y un 28,48% para las muestras afectadas por el hongo, esta diferencia según el análisis de varianza realizado no es significativo, indicando también que el organismo patógeno degradó muy levemente la lignina.

Cuadro 11. Resultados de la determinación de celulosa y lignina en muestras de *T. grandis*.

Compuesto	Tratamiento	
	Sano	Infectado
Celulosa (%)	56,36 (1,33) a	51,94 (0,88) b
Lignina (%)	30,38 (1,82) a	28,48 (0,74) a

Nota: Los valores en paréntesis corresponden a la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Los resultados de la determinación de celulosa y lignina de la madera de albura utilizada en los ensayos de resistencia a la degradación se muestran en el cuadro 12, el tratamiento H1 que contenía al hongo *K. zonata* presentó el valor más bajo en cantidad de celulosa con 53,51% en comparación con el control y los demás tratamientos H2 (*L. pseudotheobromae*), H3 (*G. trabeum*) y H4 (*T. versicolor*). Sin embargo, a pesar de esta diferencia después de realizar el análisis de varianza no se encontraron diferencias significativas.

Por otra parte, al realizar la comparación del valor obtenido con el mismo hongo (*K. zonata*), pero de madera recolectada en campo sus valores fueron cercanos 51,94% (cuadro 11) y 53,51% (cuadro 12) y resultaron ser siempre los valores más bajos en cantidad de celulosa en sus respectivas pruebas.

El porcentaje de lignina en las muestras de madera fue similar en el control y demás tratamientos con valores en el rango de 32,65% a 33,26%, estos valores tampoco presentaron diferencias estadísticamente significativas.

Cuadro 12. Resultados de la determinación de celulosa y lignina en muestras de *T. grandis* provenientes de los ensayos de resistencia a la degradación por hongos.

Compuesto	Tratamiento				
	C	H1	H2	H3	H4
Celulosa (%)	57,23 (2,08) a	53,51 (3,31) a	61,90 (5,70) a	57,41 (0,93) a	57,46 (1,75) a
Lignina (%)	33,05 (0,85) a	32,65 (0,66) a	33,26 (0,23) a	32,83 (1,45) a	32,90 (0,49) a

Nota: Los valores en paréntesis corresponden a la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

C: control / H1: *K. zonata* / H2: *L. pseudotheobromae* / H3: *G. trabeum* / H4: *T. versicolor*

Discusión

Evaluación de las propiedades mecánicas mediante ensayos de flexión estática

Diversos estudios (cuadro 13) han sido realizados en muestras provenientes de plantaciones de *T. grandis* para determinar sus propiedades mecánicas. Al comparar los resultados de la presente investigación se aprecia que los valores de MOR para las muestras sanas de 15 años fueron de 63,73 Mpa y 30375,14 Mpa en el MOE, las referencias más afines son los estudios de Blanco-Flórez *et al.* (2014); Santos-Souza. (2019) y Rodríguez-Anda *et al.* (2014). Las diferencias con los valores de esta investigación se deben a diferentes factores como en el caso de Rodríguez-Anda *et al.* (2014) donde utilizó la norma DIN 52-186, el sitio de crecimiento de la especie, la relación albura/duramen o de las condiciones de las probetas al realizar los ensayos como el contenido de humedad ya que por ejemplo Blanco-Flórez *et al.* (2014) utilizó las probetas a un contenido de humedad del 65% contrario al 12% utilizado en el presente estudio. Esta diferencia del contenido de humedad afecta estas propiedades mecánicas de la madera tal como lo reporta Moya *et al.* (2010) donde para madera verde de *T. grandis* el valor de MOR fue 53,45 MPa y madera seca 93,26 MPa, mientras que en el MOE para madera verde 11375,71 MPa y madera seca 12846,71 MPa indicando que la madera seca posee mayores valores de estos parámetros.

Cuadro 13. Valores de MOR y MOE reportados en la literatura para la especie *T. grandis*.

Lugar de procedencia	Edad (años)	MOE (Mpa)	MOR (Mpa)	Autor
Cochabamba, Bolivia	8	10327	95	Rivero Moreno y Moya Roque (2006)
Brasil	13	13046	92	Blanco-Flórez <i>et al.</i> (2014)
Alta Floresta, Brasil	14	10756	99	Santos Souza (2019)
Livramento, Brasil	14	10773	102	
Cáceres, Brasil	14	12091	110	
Campeche, México	15	9286	108	Rodríguez Anda <i>et al.</i> (2014)
Tabasco, México	15	9479	107	
Abangares, Costa Rica	17	9767	75	Castro y Raigosa (2000)
Balzar, Ecuador	18	9164	74	Crespo Gutiérrez <i>et al.</i> (2008)

Nota. Adaptado de Análisis sobre las propiedades físicas y mecánicas de la madera Teca (*Tectona grandis*), Castro y Paternina, 2020, p.32.

En relación con la determinación del módulo de elasticidad y ruptura en probetas infectadas con hongos patógenos, en un estudio realizado por Murace *et al.* (2010) en la evaluación del efecto de la pudrición café causada por *Gloeophyllum sepiarium* sobre las propiedades mecánicas de Acacia blanca (*Robinia pseudoacacia* L.) y Acacia negra (*Gleditsia triacanthos* L.) se observó que los valores del módulo de ruptura (MOR) fueron significativamente menores en el material expuesto a biodeterioro. El material testigo fue altamente resistente y el material expuesto a degradación presentó baja resistencia a dicho esfuerzo.

De manera similar Chica Urgiles y Maldonado Noboa (2023) tomaron muestras de *Pinus radiata* con presencia de pudrición café y muestras de control (completamente sanas), donde se realizaron ensayos de flexión estática y se determinó que las muestras con el hongo evidenciaron valores de MOR y MOE significativamente menores a las probetas control que estaban sanas. Mismo comportamiento encontrado en este estudio donde para el módulo de ruptura y módulo de elasticidad hubo una disminución del 32,62% y 42,68% respectivamente en relación con las probetas sanas de *T. grandis*.

Análisis de la composición elemental en madera de T. grandis

Los autores Kumar *et al.* (2009), mencionan que la distribución de los elementos nutricionales en árboles de teca es de un 57% para las partes de las hojas, ramas y partes reproductivas y un 43% en el tronco y la corteza. Así mismo, el orden de abundancia de estos depende de muchos factores como la edad de la plantación, el tipo de suelo y el propio manejo silvicultural durante su crecimiento (Murillo *et al.*, 2015).

Comúnmente se han realizado más investigaciones sobre el contenido elemental en las hojas, sin embargo, existen diversos estudios que han investigado la concentración de estos elementos en otras partes aéreas de los árboles como el tronco. Por ejemplo, en Panamá el orden de concentración de macroelementos en plantaciones de 3,5 años fue K>Ca>Mg>P (Mollinedo, 2003; Mollinedo *et al.*, 2005), mientras que, en Nicoya, Costa Rica, Portuguez (2012) determinó la concentración en la biomasa aérea de plantaciones de teca de 1 hasta 17 años, y específicamente en el tronco el orden de concentración de estos elementos fue N>K>Ca>P>Mg>S. Al comparar los resultados con los del presente estudio en las muestras sanas (K>N>Ca>Mg>P>S) se dan algunas coincidencias como en los elementos más abundantes que fueron K, N y Ca.

Al referirse a la concentración de microelementos en los componentes aéreos de la biomasa de *T. grandis* la cantidad de información es más limitada, quizá sea porque representan menos del 2% de la concentración total de nutrientes (Murillo, 2012). No obstante, Portuguez (2012), encontró un orden en la concentración de los microelementos Fe>Zn>B>Mn>Cu el cual difiere de las muestras sanas de la presente investigación cuyo orden fue Fe>Cu>Zn>Mn>B, como se mencionó anteriormente estas diferencias se deben a diversos factores, condiciones del sitio, ambiente y crecimiento de los árboles.

Ensayo de resistencia a la degradación con el método suelo-bloque

En teca se han realizado diferentes estudios como el de Serrano *et al.* (2006) donde en muestras de diferentes edades y procedencias de Costa Rica, se registraron pérdidas de peso en albura entre el 15% y el 31% con exposición al hongo *T. versicolor* durante 16 semanas. De igual manera para teca, Moya *et al.* (2010) reporta valores cercanos al 30% de pérdida de peso para muestras de albura de 15 años y cercanos a 1% para madera de duramen, esto con el hongo *T.*

versicolor. Por otra parte, Kokutse *et al.* (2006) reportó pérdidas de peso entre 0%-1% para esta misma especie con el hongo *G. trabeum*.

Se han realizado algunos estudios sobre el género *Kretzschmaria* sobre su capacidad de biodeterioro en ensayos acelerados, Schwarze (2007) menciona que *K. deusta* provocó pérdidas de peso en muestras de madera de *Acer pseudoplatanus* y *Fagus sylvatica* de 10% y 7% respectivamente tras 12 semanas de exposición al hongo. Cristini *et al.* (2022) evaluó el efecto de *K. deusta* sobre madera de *Fagus sylvatica* cuyos resultados mostraron que después de 12 semanas de incubación la pérdida de peso promedio fue de 4,5%, siendo este hongo poco agresivo y dañino en su efecto de degradación.

Existen pocos estudios enfocados en la afectación de la madera por *L. pseudotheobromae*, debido en parte a la confusión taxonómica previa, ya que esta especie se mencionaba anteriormente bajo otras clasificaciones relacionadas como *Lasiodiplodia theobromae*, además de que este patógeno ha sido reportado principalmente causando pudrición en frutos, hojas y ramas, más que en madera (EFSA Panel on Plant Health *et al.* (2023); Slippers y Wingfield., (2007)).

Recientemente EFSA Panel on Plant Health *et al.* (2023) menciona que el hongo *L. pseudotheobromae* posee la capacidad de producir enzimas hidrolíticas que le permiten descomponer componentes estructurales de la madera, como la lignina y la celulosa. Estas enzimas contribuyen a su acción patógena sobre tejidos leñosos, facilitando la degradación de estructuras vegetales y afectando diversas plantas leñosas.

En general la variabilidad de la resistencia al biodeterioro causado por hongos en madera puede deberse a factores como la edad de la plantación, sitio y la procedencia (Kokutse *et al.*, 2006), ya que como se pudo observar los valores de pérdida de peso del presente estudio son diferentes con respecto a otros estudios realizados.

Evaluación de la composición química de las muestras de T. grandis

La pérdida en la cantidad de celulosa en los procedimientos realizados en esta investigación es consistente con el tipo de pudrición reportada por los autores Schwarze. (2007); Cibrián *et al.* (2014) para los hongos del género *Kretzschmaria* ya que estos causan la pudrición blanda de la madera donde se consume principalmente la celulosa de la capa S2 de la pared celular secundaria y dejando mayoritariamente la lamela media compuesta de lignina.

Por otra parte, la madera degradada por la pudrición blanda es más similar a la de los hongos de pudrición café, con una mayor degradación de la celulosa y las hemicelulosas. Con respecto a la lignina, la degradación es generalmente menor y más limitada en comparación con los hongos de pudrición blanca (Gao *et al.*, 2018).

En un estudio realizado en Nayarit, México en plantaciones de teca de 6 años se determinaron valores similares a los de este estudio con valores de 43,3% a 44,7% de contenido de celulosa y de 32,0% a 33,0% de lignina, todos estos valores para madera sana (Ruiz-Blandón *et al.*, 2019). Asimismo, otros autores como (Pettersen, 1984; Windeisen *et al.*, 2003; Moya *et al.*, 2010; Moya y Tenorio, 2013) mencionan valores de la distribución lignocelulósica en teca sin patógenos entre 33% a 47% de celulosa y de 13% a 35% de lignina.

Otras propiedades y procedimientos realizados en las muestras de T. grandis

De las muestras de teca utilizadas de los ensayos de resistencia a la degradación también se midió el pH en la madera, el valor para la muestra sana de *T. grandis* fue de 7,04, similares a los valores para las muestras de *T. grandis* con *L. pseudotheobromae* (7,45), *G. trabeum* (7,21) y *T. versicolor* (7,17), mientras que con el hongo *K. zonata* el valor fue de 6,25. Moya *et al.* (2010) evaluó esta característica en madera de *T. grandis* proveniente de plantaciones y su valor fue de 6,41. La relación de los valores de pH de las muestras de madera con los hongos radica en que algunos de estos organismos prefieren crecer en ambientes ligeramente ácidos (4,5-5,5) esto propicia el crecimiento de micelio y esporas lo que permite la descomposición de la celulosa y/o lignina en la madera (Zaid, 2004). La anterior afirmación explicaría porque no se dio una degradación significativa de la madera con los hongos patógenos utilizados en los ensayos de resistencia a la degradación.

Finalmente, de un análisis mediante la técnica de microscopía electrónica de barrido, se observa en la figura 18a la madera de *T. grandis* sana sin ninguna afectación en la sección de los radios, en la figura 18b el crecimiento hifal del hongo *K. zonata* ha cubierto o penetrado las paredes celulares dejando algunas completamente destruidas. Diferentes autores (Schmidt 2006; Schwarze *et al.*, 1995, 2004) han descrito este tipo de degradación en la pared celular, la capa S2 de la pared celular muestra un adelgazamiento significativo, posteriormente cuando la degradación es mayor la única sección intacta es la lámina media compuesta principalmente por lignina.

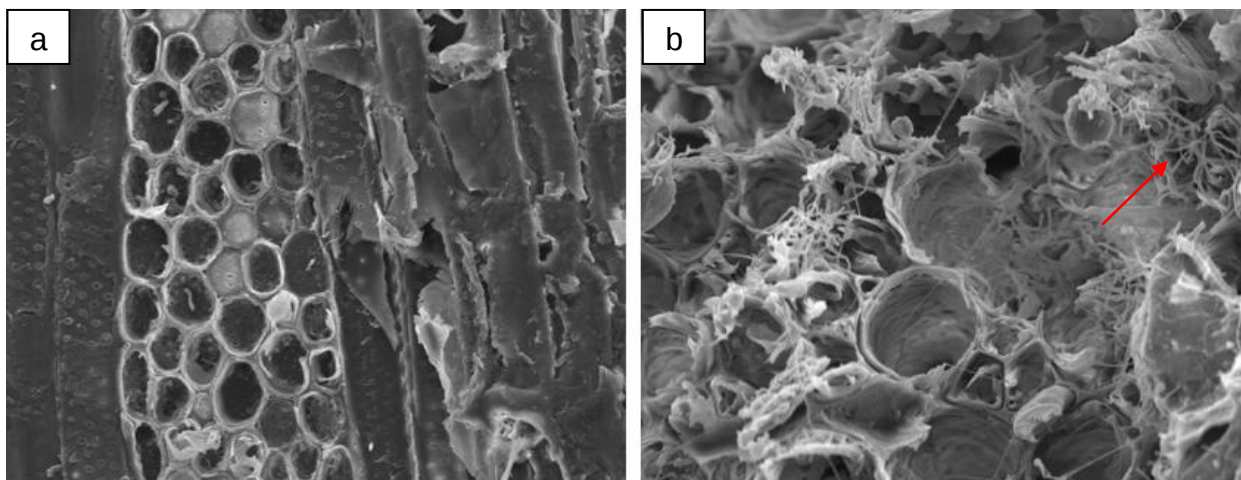


Figura 18. Estructuras anatómicas de madera de *T. grandis* (corte transversal). a) Madera sana en la sección de los radios. b) Hifas de *K. zonata* (flecha roja) generando degradación de la celulosa de las paredes celulares.

Se analizaron también las muestras de madera utilizados en los ensayos de resistencia a la degradación con los hongos *L. pseudotheobromae* (figura 19a), *T. versicolor* (figura 19b) y *G. trabeum* (figura 19c), se observaron en el plano longitudinal los vasos de la madera, sin embargo, no se encontraron daños ni presencia de crecimiento micelial en estas estructuras anatómicas. Este comportamiento se puede deber a diferentes factores como la temperatura, humedad o tiempo de exposición del hongo con la madera en los ensayos. Asimismo, desde el punto de vista químico (Schwarze *et al.*, 2004) menciona que la producción de enzimas por parte de los hongos xilófagos es fundamental para la degradación de la madera, por lo que las enzimas producidas por estos organismos pueden no funcionar para todas las especies como *T. grandis*.

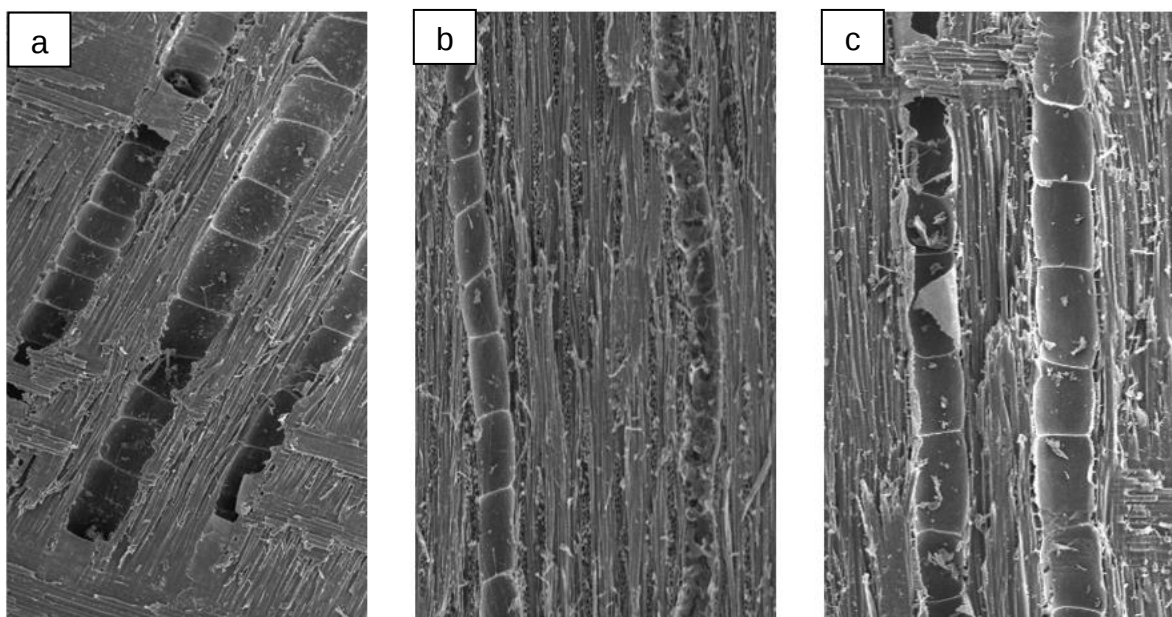


Figura 19. Vista de los vasos sin afectación por organismos fúngicos, madera expuesta: a) *L. pseudotheobromae* b) *T. versicolor* c) *G. trabeum*.

Conclusiones

El módulo de ruptura (MOR) fue significativamente menor en las probetas afectadas con el hongo *K. zonata* y *L. pseudotheobromae* extraídas de la zona de estudio en comparación con probetas sanas de *T. grandis*, específicamente la disminución fue de un 32,62%. De igual manera el módulo de elasticidad (MOE) fue estadísticamente diferente e inferior (42,68%) en las probetas afectadas en relación con las probetas sanas.

El resultado del análisis de macro y microelementos indica diferencias significativas únicamente en los elementos Ca y Mg de las muestras sanas con respecto a las muestras infectadas con hongos.

En los ensayos acelerados de resistencia a la degradación todos los tratamientos fueron clasificados como altamente resistentes según la norma ASTM D-2017. Sin embargo, estadísticamente el tratamiento de albura degradada por *K. zonata* (KA) presentó diferencias significativas en el porcentaje de pérdida de peso en comparación con los otros tratamientos, con un valor promedio de 9,17%.

En la determinación de la proporción de celulosa y lignina, únicamente se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de celulosa de la madera infectada en

campo por hongos patógenos (51,94%) siendo esta inferior a la madera sana (56,36%). Para las muestras infectadas en laboratorio, a través de los ensayos acelerados de resistencia a la degradación, no se encontraron diferencias significativas en la cantidad de celulosa ni lignina.

A través de microscopía electrónica de barrido se observaron daños en las estructuras anatómicas de la madera provocadas por el hongo *K. zonata*.

Referencias

American Society for Testing and Materials (ASTM). (1994). Standard method of accelerated laboratory test of natural decay resistance of wood. ASTM D-2017. West Conshohocken: American Society for Testing and Materials.

American Society for Testing and Materials (ASTM). (1997). ASTM D143-94. Standards methods of testing small, clear specimens of timber. West Conshohocken.

American Society for Testing and Materials (ASTM). (2001). Standard Test Method for Preparation of Extractive-Free Wood. ASTM D1105-96. West Conshohocken.

American Society for Testing and Materials (ASTM). (2003). D5536-94 Standard practice for sampling forest trees for determination of clear wood Properties. (CD-ROM). In Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia, US, ASTM. Vol. Vol. 11.06. 9 p. (ASTM D 5536-94 Reproved 2004). 1 CD-ROM

Berrocal, A. (2007). Clasificación de daños producidos por agentes de biodeterioro en la madera. Kurú: Revista Forestal (Costa Rica) 4(10).

Blanco-Flórez, J., Fernando-Trugilho, P., Tarcisio-Lima, J., Gherardi-Hein, P. R., y Moreira da Silva, J. R. (2014). Caracterización de la madera joven de *Tectona grandis* L. f. plantada en Brasil. Madera y bosques, 11-20. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-04712014000100002#:~:text=La%20teca%20\(Tectona%20grandis%20L,\(20%20a%2025%20a%C3%B1os\).](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-04712014000100002#:~:text=La%20teca%20(Tectona%20grandis%20L,(20%20a%2025%20a%C3%B1os).)

Castro, J y Paternina, M. (2020). Análisis sobre las propiedades físicas y mecánicas de la madera Teca (*Tectona grandis*). Universidad de Córdoba. <https://repositorio.unicordoba.edu.co/server/api/core/bitstreams/94c5e57e-7e3b-43db-b4a9-9c171587b96c/content>

- Castro, F., y Raigosa, J. (2000). Crecimiento y propiedades Físico-mecánicas de la madera Teca (*Tectona grandis*) de 17 años de edad en San Joaquín de Abangares, Costa Rica.
- Cibrián, D., Pérez, O., García, S., Ortiz, R y Cibrián, J. (2014). *Kretzschmaria zonata* (Lév.) P.M.D. Martin, causante de la pudrición del cuello y la raíz de teca. Rev. Mex. Cien. For. 5:110. <https://www.scielo.org.mx/pdf/remcf/v5n25/v5n25a9.pdf>
- Chica Urgiles, D. I., y Maldonado Noboa, J. S. (2023). Variación de las propiedades físico mecánicas de elementos de madera *Pinus radiata* D. Don con presencia de pudrición castaña en la ciudad de Cuenca. Conciencia Digital, 6(4.1), 26-48. <https://doi.org/10.33262/concienciadigital.v6i4.1.2727>
- Crespo Gutiérrez, R., Jiménez Romero, E., Suatunce Cunuhay, P., Law Blanco, G., y Sánchez Fonseca, C. (2008). Análisis comparativo de las propiedades físico mecánicas de la madera Teca (*Tectona grandis* L.F.) de Quevedo y Balzar. Ciencia y tecnología 1, 55-63.
- Cristini, V., Tippner, J., Nop, P., Zlámál, J., Hassan Vand, M. y Šeda, V. (2022). Degradation of beech wood by *Kretzschmaria deusta*: its heterogeneity and influence on dynamic and static bending properties. Holzforschung, 76(9), 813-824. <https://doi.org/10.1515/hf-2022-0039>
- EFSA Panel on Plant Health (PLH), Bragard, C., Baptista, P., Chatzivassiliou, E., Di Serio, F., Gonthier, P., Jaques Miret, J. A., Justesen, A. F., MacLeod, A., Magnusson, C. S., Milonas, P., Navas-Cortes, J. A., Parnell, S., Potting, R., Stefani, E., Thulke, H. H., Van der Werf, W., Civera, A. V., Yuen, J., Zappalà, L., ... Reignault, P. L. (2023). Pest categorisation of *Lasiodiplodia pseudotheobromae*. EFSA journal. European Food Safety Authority, 21(1), e07737. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.7737>
- Equihua, M. (2018). Efecto de termotratamientos en las propiedades físico-mecánicas, químicas y resistencia a la pudrición de la madera de *Gmelina arborea*. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/bitstream/handle/DGB_UMICH/229/FIT-ECMA-M-2018-1986.pdf?sequence=3&isAllowed=y
- Flores, T., Crespo, R., y Cabezas, F. (2010). Plagas y Enfermedades en Plantaciones de Teca (*Tectona grandis* L.F) en la Zona de Balzar, Provincia del Guayas. Artículo Científico. Revista Ciencia y Tecnología. Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ). Quevedo, Ecuador. Pp. 15-22.

- Gao, J., Sik Kim, J., Terziev, N., Cuccui, I., y Daniel, G. (2018). Effect of thermal modification on the durability and decay patterns of hardwoods and softwoods exposed to soft rot fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*. Volume 127. Pages 35-45, ISSN 0964-8305. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.11.009>.
- Goodell, B; Yuhui Qian, y Jellison, J. (April 2, 2008). Fungal Decay of Wood: Soft Rot—Brown Rot—White Rot. *Development of Commercial Wood Preservatives*. Chapter 2. pp 9-31. <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bk-2008-0982.ch002>
- Kokutse, A; Stokes, A; Bailleres, H; Kokou, K y Baudasse, C. (2006). Decay resistance of Togolese teak (*Tectona grandis* L.f) heartwood and relationship with colour. *Trees* (2006) 20: 219–223. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s00468-005-0028-0.pdf>
- Kumar.I.N., Kumarr.R.N., Kumarr., y SAJISHP.R. (2009). Quantification of nutrient in the aboveground biomass of teak plantation in a tropical dry deciduous forest of Udaipur, India. *Journal of Forest Science* 55(6):251-256.
- Leandro, L; Canessa, E y Moya, R. (2004). Resistencia de la madera de Melina (*Gmelina arborea*) proveniente de plantaciones forestales ante el ataque de los hongos de pudrición blanca *Trametes versicolor* y *Pleurotus ostreatus* y las termitas de madera seca (*Cryptotermes brevis*). Centro de Investigación en Integración Bosque Industria, CIIBI. Instituto Tecnológico de Costa Rica.
- Mollinedo, M. (2003). Relación suelo-planta, factores de sitio y respuesta a la fertilización, en plantaciones jóvenes de teca (*Tectona grandis* L. f.), en la zona Oeste, Cuenca del Canal de Panamá. Tesis de maestría, CATIE, Costa Rica. 101 p.
- Mollinedo, M., Ugalde, L., Alvarado, A., Verjans, J.M., Rudy, L. (2005). Relación suelo-árbol y factores de sitio, en plantaciones jóvenes de teca (*Tectona grandis* L.f.), en la Zona oeste de la Cuenca del Canal de Panamá. *Agronomía Costarricense* 29(1):67-75.
- Moya, R. y Tenorio, M. (2013). Características de combustibilidad de diez especies de plantaciones de rápido crecimiento en Costa Rica. *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, 10(24), 26-33. <https://doi.org/10.18845/rfmk.v10i24.1321>
- Moya, R; Muñoz, F; Berrocal, A. (2010). Teca: *Tectona grandis* L.f. Verbenaceae. Ficha técnica 7. In *Tecnología de madera de plantaciones forestales: Fichas técnicas*. R. Moya R., [et al]. (en

- línea). Revista Forestal Mesoamericana Kurú 7(18-19):117-131. (Editorial Corporación Garro y Moya, (ISBN: 978-9968-9643-3-3).
- Murace, M.; Spavento, E.; Keil, G.; Saparrat, M. (2010). Pudrición castaña: efectos sobre las propiedades de resistencia mecánica de la madera Quebracho - Revista de Ciencias Forestales. vol. 18, núm. 1-2, pp. 37-46 Universidad Nacional de Santiago del Estero Santiago del Estero, Argentina. <https://www.redalyc.org/pdf/481/48118695004.pdf>
- Murillo, R. (2012). Contenido de nutrimentos en la biomasa aérea de árboles de Teca (*Tectona grandis* L.f) de 2 a 9 años, plantados en suelos ácidos en la cuenca del canal de Panamá. Universidad de Costa Rica. Sistema de Estudios de Posgrado.
- Murillo, R; Alvarado, A; y Verjans, J. M. (2015). Concentración y acumulación de nutrimentos en la biomasa aérea de plantaciones de teca de 3 a 18 años en la cuenca del Canal de Panamá. *Agronomía Costarricense*, 39 (Suppl. 1), 117-136. http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0377-94242015000300117&lng=en&tlng=es.
- ONF. (2022). Usos y aportes de la madera en Costa Rica, Estadísticas 2021 y Precios 2022. Oficina Nacional Forestal. San José, Costa Rica. 48 p. <https://onfcr.org/usos-y-aportes-de-la-madera-en-costa-rica>
- Pettersen, R. (1984). The chemical composition of wood. En R. M. Rowell (ed.), The chemistry of solid wood (pp. 57-126). Washington D.C.: ACS Advances in Chemistry Series No. 207, American Chemical Society.
- Portuguez, E. (2012). Estimación de la extracción de nutrimentos por parte aérea en plantaciones de teca (*Tectona grandis* Linn. f.) de las empresas Panamerican Woods C&M Investment Group Ltda. en la península de Nicoya, Guanacaste, Costa Rica. Universidad de Costa Rica. Facultad de Ciencias Agroalimentarias.
- Rivero Moreno, J., y Moya Roque, R. (2006). Propiedades físico-mecánicas de la madera de *Tectona grandis* Linn. F. (Teca) proveniente de una plantación de ocho años de edad de Cochabamba, Bolivia. Revista Forestal.
- Rodríguez Anda, R; Zamora Natera, J.F; Silva Guzmán, J.A; Salcedo Pérez, E; y Fuentes Talavera, F.J. (2014). Propiedades físico-mecánicas de madera de teca de plantaciones comerciales.

- Revista mexicana de ciencias forestales, 5(24), 12-25.
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11322014000400003&lng=es&tlng=es.
- Ruiz-Blandon, B.A., Hernández-Álvarez, E., Salcedo-Pérez, E., Rodríguez-Macías, R., Gallegos-Rodríguez, A., Valdés-Velarde, E. y Sánchez-Hernández, R. (2019). Almacenamiento de carbono y caracterización lignocelulósica de plantaciones comerciales de *Tectona grandis* L.f. en México. Colombia Forestal, 22(2), 15-29.
<http://www.scielo.org.co/pdf/cofo/v22n2/0120-0739-cofo-22-02-00015.pdf>
- Santos Souza, R. (2019). Propiedades tecnológicas de la *Tectona grandis* proveniente de sitios distintos. Brasília, Brasil. Tese de Doutorado em ciencias florestais departamento de Engenharia florestal.
https://repositorio.unb.br/bitstream/10482/35438/1/2019_RobertaSantosdeSouza.pdf
- Serrano, R; Córdoba, R; Canessa, E y Saénz, M. (2006). Proyecto: Melina (*Gmelina arborea*) y Teca (*Tectona grandis*) determinación de las propiedades de la madera para uso industrial. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Escuela de Ingeniera Forestal. Centro de Investigación en Integración Bosque Industria, CIIBI. ECOS S.A.
- Schmidt, O. (2006). Wood and tree fungi – biology, damage, protection and use. Springer, Berlin/Heidelberg.
- Schwarze, F.W.M.R. (2007). Wood decay under the microscope. Fungal Biology Reviews. doi:10.1016/j.fbr.2007.09.001
- Schwarze, F.W.M.R., Engels, J., y Mattheck, C. (2004). Fungal strategies of wood decay in trees. Springer, Berlin/Heidelberg.
- Schwarze, F.W.M.R., Lonsdale, D., y Mattheck, C. (1995). Detectability of wood decay caused by *Ustulina deusta* in comparison with other tree-decay fungi. *Eur. J. For. Pathol.* 25: 327–341, <https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.1995.tb01348.x>
- Slippers, B y Wingfield, M. (2007). Botryosphaeriaceae as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact. Fungal Biology Reviews. Volume 21, Issues 2–3. pp 90-106. ISSN 1749-4613. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2007.06.002>
- Tappi standard (1997) T 17. wd-97, Cellulose in wood.

Tappi standard (1998) T-222. om-98, Standard methods for acid-insoluble lignin in wood and pulp.

Witowski, P., Olek, W., and Bonarski, J.T. (2016). Changes in strength of Scots pine wood (*Pinus silvestris* L.) decayed by brown rot (*Coniophora puteana*) and white rot (*Trametes versicolor*). Construct. Build. Mater. 102: 162–166, <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2015.10.109>.

Windeisen, E., Klassen, A. y Wegener, G. (2003). On the chemical characterization of plantation teakwood from Panama. Holz als Roh- und Werkstoff, 61, 416-418.

Zaid, L. (2004). Estudio del biodeterioro en madera de *Eucalyptus globulus* Lab. por método gravimétrico. Universidad de Chile. Escuela de Ciencias Forestales. Santiago de Chile. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/105048>

RECOMENDACIONES

Se recomienda capacitar a los trabajadores de las plantaciones en el uso de la escala diagramática para la identificación temprana de la enfermedad. Asimismo, se insta a promover las medidas preventivas y acciones de control de la enfermedad para disminuir la propagación de esta.

Esta investigación deja un robusto análisis de la información sobre los agentes causales de la enfermedad, su comportamiento y afectación en las propiedades de la madera de *T. grandis*, este trabajo otorgará el conocimiento para continuar una serie de trabajos como determinar todos los posibles factores tanto bióticos como abióticos que propician la aparición de la enfermedad.

CONCLUSIONES GENERALES

Los patógenos causantes de la pudrición de la base y raíz de *Tectona grandis* L.f, en Guanacaste, Costa Rica son *Kretzschmaria zonata* y *Lasiodiplodia pseudotheobromae*.

Para la madera de teca afectada por los hongos *K. zonata* y *L. pseudotheobromae* se determinó una disminución de las propiedades mecánicas evaluadas, menor porcentaje de celulosa y una clasificación de alta resistencia a la degradación en condiciones de laboratorio.