



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA FORESTAL

Proyecto de investigación previo a la
obtención del título de Ingeniera
Forestal.

TITULO DEL PROYECTO DE INVESTIGACION

Identificación y patogenicidad de agentes fungosos asociados al
decaimiento de árboles de *Schizolobium parahybum* (Vell.) S.F.Blake
(pachaco) en el Trópico Húmedo Ecuatoriano

AUTORA:

Cinthya Katherine Morales Escobar

DIRECTOR:

Dr. Carlos Eulogio Belezaca Pinargote

Quevedo - Los Ríos – Ecuador

2021

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Cintha Katherine Morales Escobar**, declaro bajo juramento que la investigación aquí descrita es de mi autoría; no ha sido previamente presentada para ningún grado o calificación profesional y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes este documento, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su reglamento y por la normativa vigente.

Cintha Katherine Morales Escobar

CC. 1207431287

CERTIFICADO DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

El suscrito, **Dr. Carlos Eulogio Belezaca Pinargote**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que la Señorita estudiante **Cinthya Katherine Morales Escobar**, realizo el Proyecto de Investigación de grado titulado “**Identificación y patogenicidad de agentes fungosos asociados al decaimiento de árboles de *Schizolobium parahybum* (Vell.) S.F.Blake (pachaco) en el Trópico Húmedo Ecuatoriano**”, previo a la obtención del título de Ingeniera Forestal, bajo mi dirección, habiendo cumplido con todas las disposiciones establecidas para el efecto.



Firmado electrónicamente por:
**CARLOS EULOGIO
BELEZACA
PINARGOTE**

Dr. Carlos Eulogio Belezaca Pinargote

DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO

Cordialmente informo que he revisado y subido a la plataforma URKUND el Proyecto Investigación titulado “**Identificación y patogenicidad de agentes fungosos asociados al decaimiento de árboles de *Schizolobium parahybum* (Vell.) S.F.Blake (pachaco) en el Trópico Húmedo Ecuatoriano**”, perteneciente a la Srta. **CINTHYA KATHERINE MORALES ESCOBAR**, y según el análisis realizado y posterior informe enviado por la plataforma URKUND, el Proyecto Investigación antes mencionado presenta un 95% de originalidad y un 5% de similitud con otros trabajos publicados.

Atte.,



Firmado electrónicamente por:
**CARLOS EULOGIO
BELEZACA
PINARGOTE**

Dr. Carlos Belezaca Pinargote

DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

The screenshot displays the URKUND report interface. At the top, there is a navigation bar with a back arrow, the text "VOLVER A LA VISTA GENERAL DEL ANÁLISIS", and icons for refresh, download, and help. On the right is a "CONFIGURACIÓN" button with a dropdown arrow. Below this, the user information "REMITENTE: Carlos Belezaca Pinargote" and the document name "ARCHIVO: Proyecto Srta. Cinthya Morales para URKUND.docx" are shown, along with the "SIMILITUD: 5%".

The main section has three tabs: "COINCIDENCIAS" (selected), "FUENTES", and "DOCUMENTO COMPLETO". Under "COINCIDENCIAS", there are filters for "TIPO" (set to "MOSTRAR EN EL TEXTO") and "Citas" (checked). There are also toggle switches for "Paréntesis" (unchecked) and "Diferencias detalladas de texto" (checked).

Below the filters, there is a section for "DOCUMENTO ENVIADO" with a toggle for "INCLUIR EN EL ANÁLISIS" (unchecked). To the right, a box shows "77% SIMILITUD DE TEXTO". Below this, a comparison of text is shown, with the original text on the left and the detected text on the right, highlighting differences in yellow.



**UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA FORESTAL**

**CERTIFICADO DE APROBACIÓN POR TRIBUNAL DE
SUSTENTACIÓN**

Título:

“Identificación y patogenicidad de agentes fungosos asociados al decaimiento de árboles de *Schizolobium parahybum* (Vell.) S.F.Blake (pachaco) en el Trópico Húmedo Ecuatoriano”

Presentado a la comisión académica como requisito a la obtención del título de ingeniero forestal.

Aprobado por:

Ing. Jaime Morante Carriel, PhD.

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



Firmado electrónicamente por:
**NICOLAS
JAVIER CRUZ
ROSERO**

Ing. Nicolás Cruz Rosero, PhD.

INTEGRANTE DEL TRIBUNAL

Ing. Edwin Jiménez Romero, M. Sc.

INTEGRANTE DEL TRIBUNAL

QUEVEDO – LOS RÍOS – ECUADOR

2021

DEDICATORIA

El presente trabajo investigativo está dedicado principalmente a Dios, por ser el inspirador y darme fuerzas para continuar con mis metas trazadas, sin desfallecer en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados.

A mi hermana Sophie Morales, a quien tengo como pilar fundamental en mi vida, y estar siempre presente acompañándome, por su apoyo moral y cariño brindado a lo largo de esta etapa de mi vida. A toda mi familia que con sus oraciones, consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona y de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas. También quiero exaltar la labor de todos mis amigos y compañeros de aula que estuvieron presentes durante toda o la mayor parte de mis estudios universitarios, de manera muy especial a Dany Calero, Evelin Vélez, Adelaida Villamar, quienes fueron de gran apoyo y complemento cuando más los necesité, por extenderme su mano en momentos difíciles y por el amor brindado cada día.

Con todo mi corazón para ustedes

C!=T#Y@.....

AGRADECIMIENTO

Nunca es tarea sencilla dar las gracias a tantas personas que han contribuido en mi beneficio. Aunque se han escrito muchas palabras de gratitud, en ocasiones el papel no puede plasmar a la perfección tanto afecto y admiración como siento en el término de tan fructífero estudio.

Agradezco a Dios por guiarme en mi camino y por permitirme concluir con mi objetivo.

A mi tutor, el Dr. Carlos Belezaca Pinargote quien con su experiencia, conocimiento y motivación me orientó, no solo en la elaboración de este trabajo de titulación, sino a lo largo de mi carrera universitaria y haberme brindado el apoyo para desarrollarme profesionalmente y seguir cultivando mis valores.

Mi gratitud a todos los Docentes quienes supieron impartir sus conocimientos con mucho esfuerzo, al personal administrativo por la paciencia y comprensión brindada.

Al proyecto de Investigación FOCICYT – séptima convocatoria: “Etiología de la enfermedad de decaimiento y muerte descendente en plantaciones de *Schizolobium parahybum* (Vell.) S.F. Blake (pachaco) en el Trópico Húmedo Ecuatoriano”, dentro del cual realicé mi investigación.

A la Empresa PLANTABAL S.A. por permitir realizar esta investigación en sus plantaciones de pachaco, y hacer uso de laboratorios e invernaderos, mi agradecimiento.

A mi querida Universidad Técnica Estatal de Quevedo, institución que me abrió sus puertas, y permitió concluir exitosamente una etapa de mi vida, formándome profesionalmente y desde ahora formar parte de ese grupo de Ingenieros Forestales brillantes del Ecuador.

Gracias.....

RESUMEN

Plantaciones experimentales de *Schizolobium parahybum* (pachaco) en el Trópico Húmedo Ecuatoriano están siendo afectadas por una enfermedad de “decaimiento”, con sintomatología distinta a la de “marchitez vascular y pudrición de fuste”, sin que se hasta el momento se conozca su etiología. En la presente investigación se planteó conocer la incidencia, severidad, y describir la sintomatología de la enfermedad e identificar los morfológicamente hongos fitopatógenos asociados a árboles enfermos, y probar su patogenicidad en plántulas jóvenes de pachaco en vivero. Para el efecto se estudió una plantación de *S. parahybum* en la provincia de Los Ríos, donde se establecieron tres parcelas rectangulares de 500 m². Se evaluó la incidencia, severidad y describió los síntomas de la enfermedad empleando una escala de 5 categorías (siendo 1=árbol aparentemente sano y 5=árbol con más del 50% de tejidos muertos). Por cada parcela se diseccionaron 3 árboles, cuyos tejidos se llevaron al laboratorio, donde se emplearon 3 estrategias metodológicas (cámara húmeda, sándwiches de zanahoria y medio cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) para estimular la expresión de los fitopatógenos. Para las pruebas de patogenicidad se empleó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con cinco tratamientos: T1 = *Fusarium* sp. 1, T2 = *Fusarium* sp. 2, T3 = *Botryodiplodia* sp. y T5 = Control. Cada tratamiento estuvo constituido por 20 plantas (repeticiones). Después de 120 días de incubación las plantas, se diseccionaron mediante cortes longitudinales y transversales, se estimó el volumen aparente de necrosis (cm³) y la longitud de necrosis (cm). Se aislaron e identificaron los hongos *Fusarium* sp. 1, *Fusarium* sp. 2, y *Botryodiplodia* sp. En árboles enfermos se detectó pérdida de turgencia, palidez y amarillamiento de los folíolos, especialmente en hojas jóvenes. Las hojas jóvenes muestran un tamaño reducido en comparación a las de árboles sanos, de color amarillo y mal formadas. En el tercio superior del fuste son claramente observables zonas longitudinales de necrosis. La incidencia de la enfermedad fue baja, con solo 1,7%. Los árboles enfermos se encontraron en la escala 2, lo que indica que se encuentran en un estado de progreso inicial de la enfermedad. Los tratamientos *Fusarium* sp. 1, y *Fusarium* sp. 1 + *Fusarium* sp. 2 + y *Botryodiplodia* sp. generaron los mayores volúmenes de necrosis, con 0,51 cm³ en ambos casos. Sin embargo, pese que los daños generados por *Fusarium* sp 1. indicaron su implicación en el proceso de la enfermedad de *S. parahybum*, los resultados no son concluyentes.

Palabras claves: *Botryodiplodia* sp., *Fusarium* sp., incidencia, necrosis, severidad.

ABSTRACT

Experimental plantations of *Schizolobium parahybum* (pachaco) in the Ecuadorian Humid Tropics are being affected by a disease of "decay", with symptoms other than that of "vascular wilting and stem rot", without its etiology being known so far. In the present investigation, it was proposed to know the incidence, severity, and describe the symptoms of the disease and identify the morphologically phytopathogenic fungi associated with diseased trees, and test their pathogenicity in young pachaco seedlings in a nursery. For this purpose, a *S. parahybum* plantation in the province of Los Ríos was studied, where three rectangular plots of 500 m² were established. The incidence, severity and symptoms of the disease were evaluated using a scale of 5 categories (1 = apparently healthy tree and 5 = tree with more than 50% of dead tissues). For each plot, 3 trees were dissected, whose tissues were taken to the laboratory, where 3 methodological strategies were used (humid chamber, carrot sandwiches and potato-destrose-agar culture medium (PDA) to stimulate the expression of phytopathogens. For the pathogenicity tests, a Completely Random Design (DCA) was used with five treatments: T1 = *Fusarium* sp. 1, T2 = *Fusarium* sp. 2, T3 = *Botryodiplodia* sp. and T5 = Control. Each treatment consisted of 20 plants (repetitions) After 120 days of incubation, the plants were dissected through longitudinal and transverse sections, the apparent volume of necrosis (cm³) and the length of necrosis (cm) were estimated. The fungi *Fusarium* sp. 1, *Fusarium* sp. 2, and *Botryodiplodia* sp. Loss of turgor, paleness and yellowing of the leaflets were detected in diseased trees, especially in young leaves. Young leaves show a reduced size compared to the healthy trees, yellow and malformed. Longitudinal areas of necrosis are clearly visible in the upper third of the stem. The incidence of the disease was low, with only 1.7%. The diseased trees were found on scale 2, which indicates that they are in an initial stage of disease progress. The treatments *Fusarium* sp. 1, and *Fusarium* sp. 1 + *Fusarium* sp. 2+ and *Botryodiplodia* sp. generated the largest volumes of necrosis, with 0.51 cm³ in both cases. However, although the damage generated by *Fusarium* sp 1. indicated their involvement in the disease process of *S. parahybum*, the results are not conclusive.

Keywords: *Botryodiplodia* sp., *Fusarium* sp., incidence, necrosis, severity.

ÍNDICE

PORTADA

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS	i
CERTIFICADO DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	ii
CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN.....	iii
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTO	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
ÍNDICE.....	ix
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiv
ÍNDICE DE FIGURAS	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS	xv
CÓDIGO DUBLÍN.....	xvi
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO I. CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1.	Problema de la investigación.....	4
1.1.1.	Planteamiento del problema.....	4
1.1.1.1.	Diagnostico.....	5
1.1.1.2.	Pronóstico.....	5
1.1.2.	Formulación del problema.....	5
1.1.3.	Sistematización del problema.....	5
1.2.	Objetivos.....	6
1.2.1.	General.....	6
1.2.2.	Específicos.....	6

1.3.	Justificación.....	7
------	--------------------	---

CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1.	Marco conceptual.....	9
2.2.	Marco referencial.....	12
2.2.1.	<i>Schizolobium parahybum</i> (Vell.) S.F. Blake (pachaco).....	12
2.2.1.1.	Origen.....	12
2.2.1.2.	Taxonomía.....	12
2.2.1.3.	Descripción botánica.....	13
2.2.1.3.1.	Árbol.....	13
2.2.1.3.2.	Hojas.....	13
2.2.1.3.3.	Flores.....	13
2.2.1.3.4.	Frutos.....	14
2.2.1.3.5.	Semillas.....	14
2.2.1.3.6.	Usos.....	14
2.2.1.4.	Condiciones de desarrollo.....	14
2.2.1.4.1.	Temperatura.....	14
2.2.1.4.2.	Precipitación.....	15
2.2.1.4.3.	Suelos y nutrición.....	15
2.2.2.	Problemas fitopatológicos de especies forestales en Ecuador.....	15
2.2.2.1.	<i>Schizolobium parahybum</i> Vell Blake (pachaco).....	15
2.2.2.2.	<i>Ochroma pyramidale</i> (Cav. Ex Lam.) Urb. (balsa).....	16
2.2.2.3.	<i>Acrocarpus fraxinifolius</i> Wight. & Arn. (cedro rosado).....	17
2.2.2.4.	<i>Tectona grandis</i> L. f. (teca).....	17
2.2.2.5.	<i>Gmelina arborea</i> Roxb (melina).....	18

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1.	Localización.....	21
3.2.	Tipo de investigación.....	21
3.3.	Método de investigación.....	21
3.3.	Diseño de la investigación.....	21
3.4.	Fuentes de recopilación de información.....	21
3.4.1.	Fuentes primarias.....	21
3.4.2.	Fuentes secundarias.....	22
3.5.	Diseño de la investigación.....	22
3.5.1.	Delimitación de parcelas y diagnóstico de la enfermedad.....	22
3.5.1.1.	Incidencia de la enfermedad.....	22
3.5.1.2.	Severidad de la enfermedad.....	22
3.5.1.3.	Evaluación de variables dasométricas.....	23
3.5.1.4.	Muestreo y recolección de tejidos de árboles enfermos.....	23
3.5.1.4.1.	Cámara húmeda.....	24
3.5.1.4.2.	Siembra en sandwiches de zanahoria.....	24
3.5.1.4.3.	Siembras directas en medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA).....	24
3.5.1.5.	Crecimiento de hongos en medio de cultivo PDA bajo dos temperaturas..	25
3.5.1.6.	Descripción de síntomas a nivel de campo.....	25
3.5.2.	Pruebas de patogenicidad.....	25
3.5.2.1.	Características de las plantas a inocular.....	25
3.5.2.2.	Preparación del inóculo.....	26
3.5.2.3.	Inoculación.....	26
3.6.	Instrumentos de Investigación.....	27
3.6.1.	Formato de registro de campo.....	27

3.6.2.	Muestreo de árboles enfermos.....	27
3.6.3.	Plantas a inocular.....	27
3.7.	Tratamiento de los datos.....	27
3.8.	Recursos humanos y materiales.....	28
3.8.1.	Materiales de laboratorio, oficina y reactivos.....	28

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.	Resultados.....	30
4.1.1.	Incidencia y severidad de la enfermedad.....	30
4.1.2.	Aislamiento e identificación de hongos fitopatógenos.....	30
4.1.2.1.	Cámara Húmeda.....	30
4.1.2.2.	Sanduches de zanahoria.....	31
4.1.2.3.	Hongos aislados en medio de cultivo PDA a partir de muestras de madera necrosada.....	32
4.1.2.4.	Crecimiento de hongos fitopatógenos en dos condiciones de temperatura.....	33
4.1.3.	Descripción de sintomatología de la enfermedad de “decaimiento”.....	34
4.1.4.	Pruebas de patogenicidad (postulados de Koch).....	34
4.1.4.1.	Volumen aparente de necrosis (cm ³) generada por fitopatógenos inoculados en plantas de <i>schizolobium parahybum</i>	34
4.1.4.2.	Longitud de necrosis (cm).....	35
4.1.4.3.	Longitud ascendente y descendente de necrosis (cm).....	36
4.2.	Discusión.....	37

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOENDACIONES

5.1.	Conclusiones.....	41
------	-------------------	----

5.2.	Recomendaciones.....	43
------	----------------------	----

CAPÍTULO VI. BIBLIOGRAFÍA.....

6.1.	Bibliografía.....	45
------	-------------------	----

CAPÍTULO VII. ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Escala arbitraria empleada para la determinación de severidad de la enfermedad de “decaimiento” en <i>S. parahybum</i>	23
Tabla 2.	Esquema de análisis de Varianza (ADEVA) a aplicarse en el estudio.....	28
Tabla 3.	Densidad, incidencia y severidad de la enfermedad de “decaimiento” en árboles de una plantación de <i>S. parahybum</i> en el Trópico Húmedo Ecuatoriano.....	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Estrategia metodológica y microorganismos identificados: A) Segmentos de madera de <i>S. parahybum</i> en cámara húmeda, B) Micro y macro conidias de <i>Fusarium</i> spp., C) Picnidio lisado liberando una masa de conidias juveniles y maduras de <i>Botryodiplodia</i> sp.....	31
Figura 2.	Colonias de hongos asilados de árboles enfermos de <i>S. parahybum</i> en medio de cultivo PDA. A) <i>Botryodiplodia</i> sp., B) <i>Fusarium</i> sp. 1, C) <i>Fusarium</i> sp. 2.....	32
Figura 3.	Cinética de crecimiento de hongos fitoparásitos aislados a partir de árboles enfermos de <i>S. parahybum</i> e incubados a 24 °C. Valores corresponden al promedio de cinco placas de Petri, con su respectiva desviación estándar y error estándar.....	33
Figura 4.	Cinética de crecimiento de hongos fitoparásitos aislados a partir de árboles enfermos de <i>S. parahybum</i> e incubados a 30 °C. Valores corresponden al promedio de cinco placas de Petri, con su respectiva desviación estándar y error estándar.....	33
Figura 5.	Volumen aparente de necrosis (cm ³) generado por hongos fitopatógenos (tratamientos) inoculados en plantas de <i>S. parahybum</i> (pachaco) de cuatro meses de edad, 120 días después de inoculadas a nivel de vivero. Valores corresponden al volumen aparente de necrosis promedio de 20 plantas de pachaco, con su respectivo Error estándar.....	35

Figura 6.	Longitud de necrosis (cm) generada por hongos fitopatógenos (tratamientos) inoculados en plantas de <i>S. parahybum</i> (pachaco) de cuatro meses de edad, 120 días después de inoculadas a nivel de vivero. Valores corresponden a la longitud promedio de necrosis de 20 plantas de pachaco, con su respectivo Error estándar.....	36
Figura 7.	Longitud ascendente y descendente de necrosis (cm) generada por la inoculación de hongos fitopatógenos (tratamientos) en plantas de <i>S. parahybum</i> (pachaco) de cuatro meses de edad, a los 120 días de inoculación a nivel de vivero. Valores corresponden longitudes ascendentes y descendentes de necrosis promedio de 20 plantas de pachaco, con su respectiva desviación estándar y error estándar.....	37

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.	Hoja de campo de evaluación de variables dasométricas, incidencia y severidad de la enfermedad de “decaimiento” en <i>S. parahybum</i>	52
Anexo 2.	Evaluación de variables dasométricas, incidencia y severidad de la enfermedad de “decaimiento” en <i>S. parahybum</i> a nivel de plantación.....	53
Anexo 3.	Preparación de plántulas de <i>S. parahybum</i> a nivel de vivero.....	53
Anexo 4.	Limpieza y mantenimiento del vivero de plántulas de <i>S. parahybum</i> mientras se desarrolla antes de las inoculaciones.....	54
Anexo 5.	Proceso de inoculación de los hongos fitopatógenos en plantas de <i>S. parahybum</i> a nivel de vivero.....	54

CÓDIGO DUBLÍN

Título:	Identificación y patogenicidad de agentes fungosos asociados al decaimiento de árboles de <i>Schizolobium parahybum</i> (Vell.) S.F. Blake (pachaco) en el Trópico Húmedo Ecuatoriano.				
Autora:	Macías Moncayo Mariela Lorena				
Palabras claves:	<i>Botryodiplodia</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	incidencia	necrosis	severidad
Fecha de publicación:					
Editorial:	FCAGROP; Carrera de Ingeniería Forestal; Morales-Escobar, C.				
Resumen:	Plantaciones experimentales de <i>Schizolobium parahybum</i> (pachaco) en el Trópico Húmedo Ecuatoriano están siendo afectadas por una enfermedad de “decaimiento”, con sintomatología distinta a la de “marchitez vascular y pudrición de fuste”, sin que se hasta el momento se conozca su etiología. En la presente investigación se planteó conocer la incidencia, severidad, y describir la sintomatología de la enfermedad e identificar los morfológicamente hongos fitopatógenos asociados a árboles enfermos, y probar su patogenicidad en plántulas jóvenes de pachaco en vivero. Para el efecto se estudió una plantación de <i>S. parahybum</i> en la provincia de Los Ríos, dentro de la cual se establecieron tres parcelas rectangulares de 500 m². Se evaluó la incidencia, severidad y describió los síntomas de la enfermedad empleando una escala de 5 categorías (siendo 1=árbol aparentemente sano y 5=árbol con más del 50% de tejidos muertos). Por cada parcela se diseccionaron 3 árboles, cuyos tejidos se llevaron al laboratorio, donde se emplearon 3 estrategias metodológicas (cámara húmeda, sándwiches de zanahoria y medio cultivo papa-destrosa-agar (PDA) para estimular la expresión de los fitopatógenos. Para las pruebas de patogenicidad se empleó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con cinco tratamientos: T1 = <i>Fusarium</i> sp. 1, T2 = <i>Fusarium</i> sp. 2, T3 = <i>Botryodiplodia</i> sp. y T5 = Control. Cada tratamiento estuvo constituido por 20 plantas (repeticiones). Después de 120 días de incubación las plantas, se diseccionaron mediante cortes longitudinales y transversales, se estimó el volumen aparente de necrosis (cm³) y la longitud de necrosis (cm). Se aislaron e identificaron los hongos <i>Fusarium</i> sp. 1, <i>Fusarium</i> sp. 2, y <i>Botryodiplodia</i> sp. En árboles enfermos se detectó pérdida de turgencia, palidez y amarillamiento de los folíolos, especialmente en hojas jóvenes. Las hojas jóvenes muestran un tamaño reducido en comparación a las de árboles sanos, de color amarillo y mal formado. En el tercio superior del fuste son claramente observables zonas longitudinales de necrosis. La incidencia de la enfermedad fue baja, con solo 1,7%. Los árboles enfermos se encontraron en la escala 2, lo que indica que se encuentran en un estado de progreso inicial de la enfermedad. Los tratamientos <i>Fusarium</i> sp. 1, y <i>Fusarium</i> sp. 1 + <i>Fusarium</i> sp. 2 + y <i>Botryodiplodia</i> sp. Generaron los mayores volúmenes de necrosis, con 0,51 cm³ en ambos casos. Sin embargo, pese que los daños generados por <i>Fusarium</i> sp 1. Indicarían su implicación en el proceso de la enfermedad de <i>S. parahybum</i>, los resultados no son concluyentes.				
Descripción:	69 Hojas: dimensiones, 29 x 21 cm + CD-ROM				
URI:					

INTRODUCCIÓN

La especie forestal *Schizolobium parahybum* (Vell.) S.F. Blake (pachaco), nativa de las selvas tropicales de Centroamérica y Suramérica fue introducida a los sistemas de producción del Trópico Húmedo Ecuatoriano (THE) en las décadas de los años 1960 y 1970, convirtiéndose en una de las especies promisorias para proyectos de forestación y reforestación en Ecuador. Sin embargo, (Belezaca-Pinargote, 2002; Belezaca-Pinargote *et al.*, 2011; Belezaca-Pinargote *et al.*, 2012a) a partir de 1980 apareció una compleja enfermedad que ocasiona marchitez vascular y pudrición del fuste en árboles de *S. parahybum* de diferentes edades, provocando la muerte de miles de ellos y la desaparición casi total de la especie en los sistemas de producción de la región.

En Patología Forestal se conoce la existencia de condiciones que generan daños directos e indirectos y en ciertos casos no perceptibles a simple vista, (Garbelotto y Gonthier, 2018) los mismos que se resumen en un debilitamiento fisiológico de los árboles, como producto de la presencia de plagas que pueden generar patologías consideradas como oportunistas y desconocidas, que declinan grandes extensiones forestales, cuando no se aplican las debidas medidas de prevención y control.

Estudios realizados en *S. parahybum* por Ramírez (1990) y posteriormente por Belezaca-Pinargote (2002), Belezaca-Pinargote y Suárez-Capello (2003), Belezaca-Pinargote *et al.* (2011), y Belezaca-Pinargote *et al.* (2012a) permitieron establecer que la sintomatología asociada a la enfermedad era provocada por especies fúngicas fitopatógenas del género *Ceratocystis* (*C. paradoxa*, *C. moniliformis*, y *C. fimbriata*).

Actualmente *S. parahybum* ha vuelto a despertar el interés de la industria maderera, por lo que se han establecido plantaciones en superficies pequeñas (≤ 15 ha) con el propósito de conocer el comportamiento de la especie frente a la enfermedad que décadas pasadas diezmo plantaciones en el THE. No obstante, recientes observaciones a nivel de campo dan cuenta que varios árboles jóvenes de *S. parahybum* se encuentran afectados por una enfermedad cuya sintomatología se caracteriza por el decaimiento y generación de zonas de necrosis en el ápice o tercio medio de los árboles, hasta que mueren de forma descendente. Esta sintomatología difiere de la reportada previamente por Ramírez (1990), Belezaca-Pinargote

y Suárez-Capello (2001), Belezaca-Pinargote y Suárez-Capello (2003), Belezaca-Pinargote *et al.* (2011) y Belezaca-Pinargote *et al.*, (2012a), haciendo sospechar que los agentes causantes de la misma no son los previamente conocidos.

La presente investigación da a conocer los microorganismos fungosos asociados a árboles enfermos de pachaco en plantaciones puras de zona central del THE, y brinda conocimiento sobre su papel patogénico en el desarrollo de la misma, como un aporte fundamental al desarrollo forestal del país y la región

CAPÍTULO I

CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Problema de investigación

1.1.1. Planteamiento del problema

Desconocimiento del o los agentes biológicos causales de la enfermedad de decaimiento en árboles jóvenes de *S. parahybum* (pachaco) en plantaciones del Trópico Húmedo Ecuatoriano.

De acuerdo al MAGAP (2016), la superficie plantada con especies forestales tropicales de gran demanda comercial con fines de exportación, se ha incrementado significativamente en la región Costa del Ecuador durante la última década, especialmente en el THE. Sin embargo, es bien conocido en Patología Forestal que al masificarse una especie mediante plantaciones puras, la aparición de problemas fitosanitarios es cuestión de tiempo, y para el caso de *S. parahybum* (pachaco) no es la excepción que se produzcan focos infecciosos de enfermedades. Esta especie forestal se la ha plantado en el THE desde aproximadamente seis décadas con buenos resultados, no obstante a partir de la década de 1990 se detectaron problemas fitosanitarios serios que llevaron al detrimento de plantaciones enteras, cuyos árboles presentaron características de la enfermedad conocida como marchitez vascular y pudrición del fuste, que ocasiona la muerte de los árboles de la especie *S. parahybum* (pachaco).

A pesar que estudios realizados en la especie *S. parahybum* (pachaco) por Ramírez (1990) y posteriormente por Belezaca-Pinargote (2002), Belezaca-Pinargote y Suárez-Capello (2003) y Belezaca-Pinargote *et al.* (2011) permitieron establecer que la sintomatología asociada a la enfermedad de *S. parahybum* era provocada por especies fúngicas fitopatógenas del género *Ceratocystis* (*C. paradoxa*, *C. moniliformis*, y *C. fimbriata*), recientes observaciones a nivel de campo dan cuenta que varios árboles de dicha especies jóvenes de pachaco se encuentran afectados por una enfermedad cuya sintomatología se caracteriza por el decaimiento y generación de zonas de necrosis en el ápice o tercio medio de los árboles de pachaco hasta que mueren de forma descendente. Esta sintomatología difiere de la reportada previamente por Ramírez (1990), Belezaca-Pinargote y Suárez-Capello (2003), Belezaca-Pinargote *et al.* (2011) y Belezaca-Pinargote *et al.*, (2012a), haciendo sospechar que los agentes causantes de la misma no son los previamente conocidos.

1.1.1.1. Diagnóstico

En los actuales momentos, la presencia de una enfermedad aparentemente nueva, caracterizada por el decaimiento de árboles de *S. parahybum* en plantaciones monoespecíficas jóvenes, mantiene preocupados a los inversionistas dedicados a este rubro, a tal punto que el establecimiento de nuevas plantaciones ha disminuido significativamente. Hasta el momento se desconocen el o los agentes causales de esta nueva enfermedad y peor aún los mecanismos de prevención, manejo o control de la misma.

1.1.1.2. Pronóstico

El conocimiento de los agentes causales de la enfermedad de decaimiento en plantaciones de *S. parahybum*, permitirá en el futuro plantear estrategias de prevención, manejo y control de la enfermedad.

1.1.2. Formulación del problema.

¿Son hongos fitopatógenos el o los agentes biológicos causantes de la enfermedad de decaimiento en árboles de *S. parahybum*?

1.1.3. Sistematización del problema

- ¿Cuál es el agente biológico causal de la enfermedad de decaimiento en árboles de *S. parahybum*?
- ¿Uno o más hongos fitopatógenos asociados a árboles enfermos de *S. parahybum* serán capaces de ocasionar patogénesis y sintomatología de decaimiento en plántulas de pachaco a nivel de vivero, similar a la observada en plantaciones establecidas?

1.2. Objetivos

1.2.1. General

Analizar la patogenicidad de agentes fungosos asociados al decaimiento de árboles de *Schizolobium parahybum* (Vell.) S.F. Blake (pachaco) en el Trópico Húmedo Ecuatoriano.

1.2.2. Específicos

- Determinar la incidencia y severidad de la enfermedad de decaimiento y muerte descendente en plantaciones de *S. parahybum* en el Trópico Húmedo Ecuatoriano.
- Aislar e identificar el o los agentes microbianos fungosos asociados a árboles de *S. parahybum* con síntomas de decaimiento y muerte descendente.
- Describir la sintomatología de árboles de *S. parahybum* con presencia de la enfermedad de decaimiento y muerte descendente en la zona central del Trópico Húmedo Ecuatoriano.
- Establecer a nivel de vivero la patogenicidad de los hongos aislados desde árboles de pachaco enfermos (Postulados de Koch).

1.3. Justificación

El sector forestal ecuatoriano está alcanzando importancia significativa, ya que los rubros aportados al PIB son muy relevantes. *S. parahybum* es una especie forestal de madera semidura, cuyas características son apropiadas para la industria en la fabricación de tableros de plywood (Torres, 1995), por lo que en el pasado se la consideró como una especie promisorio para los planes nacionales de forestación y reforestación (Estrada 1997; Belezaca-Pinargote y Suárez-Capello, 2001; Belezaca-Pinargote *et al.*, 2011; Belezaca-Pinargote *et al.*, 2012b). En la actualidad la madera de pachaco se continúa utilizando para la fabricación de contrachapados, aunque cada vez se acentúa la escasez de bosques o árboles de esta especie forestal disponibles para la industria.

Los inversionistas madereros se encuentran preocupados por las inversiones realizadas, e incluso han suspendido el inicio de otras plantaciones debido a la enfermedad de decaimiento en los árboles de *S. parahybum* que han reducido notablemente la salud y productividad de las plantaciones e incluso han muerto árboles en pie, poniendo en riesgo la estabilidad de la especie en la región.

Hasta el momento se desconocen el o los agentes biológicos causantes de la enfermedad, y las estrategias de prevención, manejo y control de la misma. Mediante la presente investigación se pretende conocer el agente biológico que está ocasionando la compleja enfermedad. Para el efecto, y considerando la logística que demanda un trabajo de investigación de este tipo, los experimentos de inoculación (Postulados de Koch) se realizarán en plántulas de *S. parahybum* a nivel de invernadero.

Se espera que los resultados obtenidos brinden nuevos conocimientos sobre la etiología de la enfermedad y así establecer estrategias para prevenir y enfrentar la problemática. Estos conocimientos podrán ser empleados por estudiantes, Ingenieros Forestales, científicos, inversionistas madereros, organismos gubernamentales y no gubernamentales, etc., vinculados al sector forestal en el país.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Marco conceptual

Desinfección. Proceso químico que elimina o erradica los microorganismos (hongos, bacterias, virus, protozoos, nematodos, etc.) sin discriminación alguna, impidiendo su crecimiento (CMI, 1983).

Diagnostico. Proceso en el que se identifica una enfermedad, afección o lesión por sus signos y síntomas (Agrios, 2005).

Enfermedad. Alteración o desviación del estado fisiológico en una o varias partes de un organismo vivo, por causas en general conocidas, manifestada por síntomas y signos característicos, y cuya evolución es más o menos previsible (Garbelotto y Gonthier, 2018).

Fitopatogenicidad. De acuerdo a Agrios (2005), la patogenicidad ha sido definida como la capacidad relativa que tiene un microorganismo fitopatógeno para producir una enfermedad. Cuando se sospecha que un microorganismo puede ser la causa de una enfermedad y no existen estudios previos que los comprueben, hay que seguir la metodología de los postulados de Koch para verificar o no la hipótesis que el o los microorganismos son la causa de una la enfermedad (Hernández, 2010)

Hongos. Son pequeños microorganismos pertenecientes al reino Fungi, provistos de un talo generalmente filamentoso y ramificado, mayormente son microscópicos que carecen de tejidos conductores y clorofila, y por lo tanto deben obtener sus nutrimentos ya elaborados mediante el proceso de absorción de elementos orgánicos del medio. Son de tamaño variado y reproducción preferentemente asexual (por esporas), aunque bajo ciertas condiciones se reproducen sexualmente (Manoharachary *et al.*, 2016). La mayoría de las 100000 especies de hongos conocidos son estrictamente saprofitas y viven sobre la materia orgánica muerta. Sin embargo, más de 8000 especies de ellos producen enfermedades en las plantas. Todas las plantas son atacadas por algún tipo de hongo y cada uno de los parásitos ataca a uno o más tipos de plantas (Agrios, 2005).

Incidencia. Es el número de individuos afectados por una enfermedad determinada en una población vegetal o animal, en un periodo determinado (Garbelotto y Gonthier, 2018).

Inoculación. Desde el punto de vista biológico el proceso de inoculación consiste en introducir algo que crecerá y se reproducirá en el organismo en el que se inocula. Ejemplo de ello es la aplicación una vacuna o una sustancia experimental dentro del cuerpo de un humano o de un animal, o la aplicación inducida de cualquier microorganismo en tejidos vegetales (Garbelotto y Gonthier, 2018).

Marchitez vascular. Los marchitamientos vasculares son enfermedades destructivas producidas por diversos agentes etiológicos y se encuentran ampliamente distribuidos en poblaciones y cultivos de un sin número de especies de plantas (Agrios, 2005).

Independientemente del agente etiológico que lo genere o de la planta afectada, los marchitamientos presentan un grupo común de síntomas, en principio, las hojas pierden turgencia, se debilitan y adquieren una tonalidad que va desde verde claro a amarillo verdoso, decaen y finalmente se marchitan, tomando una coloración amarillenta, luego se necrosan y mueren; estas hojas pueden enrollarse o permanecer extendidas (Estupiñan y Ossa, 2007).

Necrosis. Es el deterioro estructural o funcional de los tejidos por la muerte de sus células (Rivera y Wright, 2020).

Plantación Forestal. Son agroecosistemas uniformes que substituyen a los ecosistemas naturales y su biodiversidad, tanto a los bosques nativos como a las praderas. Consiste en el establecimiento de árboles que conforman una masa boscosa y que tiene un diseño, tamaño y especies definidas para cumplir objetivos específicos como plantación productiva, fuente energética, protección de zonas agrícolas, protección de espejos de agua, corrección de problemas de erosión, plantaciones silvopastoriles, entre otras (Rojas, 2005).

Postulados de Koch. Son una lista de requerimientos muy estrictos para poder validar la existencia de un microorganismo causante de una enfermedad. Esos postulados fueron formulados en 1884 por Robert Koch, para establecer la etiología (causa) de la tuberculosis, y luego fueron redefinidos y publicados por el autor en 1890. Contemplan cuatro enunciados, que acompañados de la experimentación ayudan a esclarecer la causa de las enfermedades. En primer lugar, plantean la necesidad de la asociación constante de un agente biótico con el hospedero enfermo, para proceder luego a su aislamiento, caracterización y cultivo *in vitro*

en ausencia de otros microorganismos. Posteriormente bajo condiciones axénicas, se realiza la inoculación de un hospedero sano con los propágulos de este microorganismo (células, esporas, etc.) y esto debe reproducir y desencadenar el mismo cuadro patológico inicial, con su típica sintomatología y alteraciones en el hospedero. Finalmente, los dos aislamientos del patógeno (inoculado y reaislado) deben ser los mismos (Agrios, 2005).

Los postulados se detallan a continuación:

- Hay una relación muy estrecha entre la enfermedad con el microorganismo fitopatógeno, es decir el fitopatógeno debe estar asociado con la enfermedad en todas las plantas enfermas que se examinen.
- Se debe aislar y obtener un cultivo axénico del microorganismo en estudio y anotar sus características (morfológicas, culturales, bioquímicas, entre otras).
- El microorganismo en estudio y desarrollado en cultivo axénico debe ser inoculado en plantas sanas de la misma especie de donde se aisló. Las plantas inoculadas deben reproducir los mismos síntomas de la enfermedad.
- El microorganismo fitopatógeno debe ser reaislado otra vez en cultivos axénicos y sus características deberán ser exactamente igual a las del paso dos.

Severidad. Es el porcentaje de área o superficie de un individuo u órgano enfermo, ya sea de hojas, tallos, raíces o frutos afectado por la enfermedad, y varía entre 0 y 100. Se utiliza para dejar constancia del nivel de gravedad que tiene una enfermedad o una situación clínica concreta (Garbelotto y Gonthier, 2018).

Signo. Presencia visible del agente(s) causal(es) de la enfermedad (una o varias estructuras), (micelio, cuerpos fructíferos, esporas, etc.), (Agrios, 2005).

Síntoma. Es la manifestación externa de una enfermedad (marchitez, pérdida de turgencia, clorosis, exudación de fluidos, pérdida de vigor, etc.), (Agrios, 2005).

Tejidos vasculares. Es el conjunto de células que orquestan el paso de diversas sustancias, como agua, nutrientes, etc., entre las estructuras de la planta, desde las raíces a todo el

vegetal. Existen dos tejidos vasculares, compuestos por distintas células especializadas en el transporte: xilema y floema (Robinson *et al.*, 2001).

2.2. Marco Referencial

2.2.1. *Schizolobium parahybum* (Vell.) S.F. Blake (pachaco)

2.2.1.1. Origen

Es un árbol nativo de Mesoamérica y Suramérica, se distribuye desde México hasta el sur de Brasil. Es común encontrarlo en las selvas amazónicas de varios países como Ecuador, Bolivia, Colombia, Perú, en las riberas del río Amazonas y en la franja boscosa atlántica del río Paraná (Ospina *et al.*, 2003). *S. parahybum* en Ecuador ha demostrado una excelente adaptación, alcanzando alturas en su desarrollo que sobrepasan los 30 metros y producciones que pueden llegar a superar los 450 m³/ha en 20 años de la plantación (Ramírez, 1990).

2.2.1.2. Taxonomía

S. parahybum presenta la siguiente clasificación taxonómica de acuerdo a Ospina *et al.*, (2006):

Reino	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Subclase	:	Rosidae
Orden	:	Fabales
Familia	:	Fabaceae
Género	:	<i>Schizolobium</i>
Especie	:	<i>parahybum</i>
Nombre Científico	:	<i>Schizolobium parahybum</i> (Vell.) S.F. Blake
Nombre Vulgar	:	Pachaco
Origen	:	Mesoamérica y Suramérica tropical

2.2.1.3. Descripción botánica

2.2.1.3.1. Árbol

Árbol de gran tamaño que alcanza entre 30 a 35 m de altura y de 60 a 100 cm de diámetro. Posee tronco recto, cilíndrico, desprovisto de ramas, con aletones incipientes a bien desarrollados. Corteza externa liza a muy finamente fisurada, de color verde en estados juveniles y gris clara cuando llegan a ser adultos, con abundantes lenticelas dispuestas en hileras longitudinales. En las cortezas y ramas de individuos jóvenes se observan cicatrices transversales producidas por la abscisión de hojas. Estas cicatrices son de color verde – grisáceo a pardo oscuras, de forma ovalada y posteriormente estrechas, comprimidas transversalmente, y están distribuidas longitudinalmente en el tronco. Es una especie caducifolia, por lo que pierde completamente el follaje durante la época seca, antes de la floración dando a los árboles una tonalidad verde clara (Belezaca-Pinargote, 2002; Ospina *et al.*, 2003).

2.2.1.3.2. Hojas

Son bipinnadas (doblemente compuestas) de tamaño variable, según su estado de madurez. Cuando son jóvenes llegan a medir hasta 1,5 m de longitud, pero en árboles adultos estas se reducen, llegando a tener entre 30 a 50 cm. Cada hoja está compuesta por 7 a 11 pares de pinnas primarias opuestas. Cada pinna conformada por 7 a 20 pares de folíolos secundarios de margen entero, ápice y base redondeada, de color verde grisáceo o verde amarillento, raquis de la hoja lampiño y raquis de folíolos pubescentes. Por lo general las hojas se concentran al final del tronco, dándole cierta apariencia de helecho arborescente (Ospina *et al.*, 2003).

2.2.1.3.3. Flores

Están reunidas formando panículas subterminales o terminales, de 20 a 30 cm de longitud, con pedicelos pubescentes de 4 a 6 mm de largo. Tienen brácteas pequeñas, de 2 a 2,5 cm de largo, cáliz verde con 5 lóbulos unidos subiguales e imbricados, corola de 5 pétalos, amarillos de 2 cm de largo oblanceolados o elípticos, 10 estambres libres, desiguales,

alcanzando los más largos 1,5 cm de longitud. Las flores emiten un perfume dulce (Ruiz de Centurión, 1993).

2.2.1.3.4. Frutos

Son legumbres samariodes, valvadas, tardíamente dehiscentes, de 8 a 15 cm de largo por 2,5 a 6 cm de ancho. La legumbre está conformada por dos valvas oblanceoladas y espatuladas, fuertemente reticuladas por dentro y casi lisas por fuera. Tiene cáliz persistente de color verde oscuro a pardo, con una conspicua nerviación reticulada y prominente. El endocarpo es pardo amarillento, claro, de consistencia papirácea, el cual se desprende del resto del fruto. Incluye una semilla única (Ruiz de Centurión, 1993).

2.2.1.3.5. Semillas

Son grandes, de 2 a 3 cm de largo por 1,3 a 2 cm de ancho, y de consistencia dura, son aplanadas, ovaladas, con ápice redondeado, base atenuada, de color café claro con el borde más oscuro. El embrión axial es recto, ocupa toda la semilla. Poseen cotiledones expandidos, de color verde manzana, carnosos y lisos (Ospina *et al.*, 2003).

2.2.1.3.6. Usos

La madera de *S. parahybum* es blanda, de color blanco-amarillento y fibrosa. Su peso específico básico oscila entre 0,25 a 0,40 g⁻¹ cm³. Se emplea en la fabricación de cajas, canoas, palillos para fósforo, pulpa de papel y contrachapados debido a la facilidad de su desenrollado. El duramen es de mayor resistencia por lo que se lo utiliza en la elaboración de parquet, puertas e instrumentos musicales. De la corteza se extraen taninos (Ospina *et al.*, 2003).

2.2.1.4. Condiciones de desarrollo

2.2.1.4.1. Temperatura

S. parahybum crece de forma óptima a temperaturas de entre 22 – 27 °C, aunque puede crecer por encima de los 30 °C (CORMADERA-OIMT, 1997).

2.2.1.4.2. Precipitación

El pachaco se adapta a condiciones pluviométricas que van desde los 1200 a 2500 mm anuales, teniendo una época seca de 3 a 4 meses, con precipitaciones que pueden ser menores o mayores a los rangos anteriormente mencionados (INEFAN-ITTO, 1995).

2.2.1.4.3. Suelos y nutrición

Prefiere suelos arcillosos a franco arcillosos, con un rango de valores de pH de 5,5 a 7,0. Pese que se conoce muy poco sobre su nutrición, se suele recomendar que al momento de la siembra se aplique un abono completo del tipo 17-6-18-2 (N-P-K-Mg), o una fertilización completa con fosfato di-amónico (DAP), cloruro de potasio (KCl), y bórax (48%). Algunos análisis foliares de laboratorio demuestran una remoción importante de nitrógeno, calcio y manganeso desde el suelo, aunque no se ha identificado la deficiencia de ningún elemento (Ospina *et al.*, 2003).

En cuanto a la topografía, los mejores sitios para el establecimiento de esta especie son los planos u ondulados con una pendiente no mayor al 30%, de preferencia sin pedregosidad y una profundidad efectiva mínima de 60 cm y una óptima mayor a 100 cm (INEFAN-ITTO, 1995; CORMADERA-OIMT, 1997) .

2.2.2. Problemas fitopatológicos de especies forestales en Ecuador

2.2.2.1. *S. parahybum*

Es atacada por plagas como la hormiga arriera (*Atta sp.*), que se controla con una aplicación directa de Atta-kill, un cebo que se coloca en el hormiguero. La broca de la madera (*Acanthoderes jaspidea*), es otro agente causal de detrimento, que se puede combatir con insecticidas sistémicos y de contacto. Además, existe la pudrición del fuste, causada por el complejo de hongos del género *Ceratocystis* spp. (mal del machete), esta infección fungosa no tiene control, solo prevención (Belezaca-Pinargote y Suárez-Capello, 2001; Belezaca-Pinargote *et al.*, 2011; Belezaca-Pinargote *et al.*, 2012a; Belezaca-Pinargote *et al.*, 2012b; MAGAP, 2016).

La enfermedad de muerte regresiva y pudrición del fuste en *S. parahybum* fue observada por

primera vez en el año de 1988, cuando los árboles de un rodal de 10 años de edad estaban muriendo en la Estación Experimental Tropical Pichilingue (EETP) del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) del Ecuador (Cannon, 1990). Después de su detección, se dirigieron esfuerzos para determinar la etiología de la enfermedad, siendo entonces que Cannon (1990) y Ramírez (1990), investigando separadamente, confirmaron la presencia de un hongo ascomicete perteneciente al género *Ceratocystis* como el agente etiológico. Sin embargo, reportaron que la sintomatología asociada a dicha pudrición era muy compleja y hacía sospechar que habría otros organismos involucrados en dicho proceso.

La enfermedad presenta una sintomatología muy compleja, empieza con una marchitez vascular, acompañada de la pérdida de coloración verde oscura de las hojas hasta tornarse cloróticas. Las yemas terminales de las ramas empiezan a secarse ocasionando la muerte descendente de las mismas, haciendo que se caigan o queden suspendidas hacia abajo. En el fuste se presenta una pudrición circular que afecta la corteza y el xilema de los árboles. Inicialmente, la madera de la zona afectada adquiere una coloración café claro o café oscuro. Desde la lesión emana constantemente exudaciones de color amarillo claro o café oscuro, con un fuerte olor a materia orgánica en descomposición. En algunas heridas recientemente hechas, aunque no en todas, suelen observarse peritecios de *Ceratocystis* spp. En los árboles fuertemente atacados por la enfermedad, el daño alcanza algunos centímetros de profundidad, destruyendo el tejido vascular del área circular del fuste, el xilema cambia de color blanco (árbol sano) a pardo oscuro. Cuando la sintomatología empieza en árboles jóvenes, estos tratan de defenderse emitiendo brotes epicórmicos. Sin embargo, a medida que la enfermedad avanza, se secan y quedan adheridos al fuste. Los árboles continúan emitiendo los brotes epicórmicos hasta que el árbol muere completamente (Belezaca-Pinargote y Suárez-Capello, 2001; Belezaca-Pinargote, 2002; Belezaca-Pinargote y Suárez-Capello, 2003; Belezaca-Pinargote *et al.*, 2011).

2.2.2.2. *Ocrhoma pyramidale* (Cav. Ex Lam.) Urb. (balsa)

Le atacan plagas como las hormigas defoliadoras, chinches, insectos defoliadores, gallina ciega, pero los más perjudiciales son la polilla, el picudo, el buprestide y el coleóptero del género *Coptoborus*, este último es un vector del hongo *Lasiodiplodia theobromae*, que produce la muerte regresiva del árbol (MAGAP, 2016).

2.2.2.3. *Acrocarpus fraxinifolius* Wight. & Arn. (cedro rosado)

El rápido crecimiento y las buenas características de la madera hicieron que se la considere como una especie promisorio en planes de forestación y reforestación de la región, cautivando la atención de productores madereros y pequeños agricultores que establecieron plantaciones puras o incorporaron la especie en sus sistemas agroforestales. No obstante entre los años 2004 y 2005 fue blanco de una compleja y mortal enfermedad caracterizada por el marchitamiento súbito de su sistema foliar debido al taponamiento de los tejidos vasculares (Belezaca-Pinargote *et al.*, 2005).

La enfermedad fue detectada por primera vez en septiembre del año 2005 por Belezaca *et al.* (2005), en una plantación de 2 hectáreas y 1,5 años de edad de la hacienda “Agrícola Surabaya”, ubicada en el km 34 de la vía Santo Domingo de Los Colorados – Quevedo (00°29'12''S y 79°20'42''O). La incidencia de la enfermedad fue del 48%. Estudios fitopatológicos a partir de tejidos afectados permitieron determinar la presencia de tres hongos fitopatógenos asociados a la letal enfermedad: *C. fimbriata*, *Macrophoma* sp., y *Fusarium* sp. (Belezaca-Pinargote *et al.*, 2005).

2.2.2.4. *Tectona grandis* L. f. (teca)

Le atacan plagas como la hormiga arriera (*Atta* sp.) a la que se la controla con una aplicación directa de Atta-kill, un cebo que se coloca en el hormiguero, e insectos defoliadores que no causa mayor impacto en el desarrollo del árbol (MAGAP, 2016).

De acuerdo a Flores *et al.* (2010), Quienes realizaron investigaciones en plantaciones de *T. grandis* del cantón Balzar, provincia del Guayas en las haciendas “Las Piedras”, “Alianza”, Cerro de Hojas” y “Hacha”, de la empresa Tropibosques S.A, encontraron la presencia de pulgones *Hyadaphis erysimi* (Homóptera, Aphydidae) los mismos que no produjeron daños considerables en el follaje, al igual que la *Hortensia similis* (Homóptera, Cicadellidae), no así, *Phyllophaga spp.* (Coleóptera, Scarabaeidae) la cual si produjo daños considerables en las hojas de los árboles. Por otra parte se identificaron insectos perforadores de la corteza, tales como: orugas defoliadoras *Hemileuca maia* Drury (Lepidóptera, Saturniidae), hormiga arriera *Atta* sp. (Hymenoptera, Formicidae), y escolitidos *Scolytus* sp. (Coleóptera, Scolytidae).

También se identificaron diversos agentes patógenos especialmente hongos, causantes de enfermedades, entre los que se destacan *Colletotrichum* sp., mientras que en árboles asentados en suelos anegados se evidenció la intervención del hongo *Phytophthora* spp. Causante de la pudrición de raíces, especialmente de tipo secundarias; además también se notó el ataque de *Ceratocystis* sp. en árboles de diversas edades, provocando un marchitamiento del árbol a partir del brote terminal. También se detectó la influencia del hongo *Pestalotia palmarum*, *Nigrospora* sp., *Aspergillus niger* y *Rizophus estolonifer*. El hongo *Botryodiplodia* sp. Es el causante de exudaciones de color oscuro en el fuste con presencia de aberturas longitudinales, a través de las cuales se observó la presencia de una coloración oscura con contornos café en el duramen. Se presencié la muerte de ápices, ramas y hasta árboles por la influencia del hongo *Botryodiplodia theobromae* (Flores *et al.*, 2010).

Posteriormente investigaciones realizadas por Ávila-Loor (2016) y Belezaca-Pinargote *et al.* (2018), detectaron y describieron una compleja enfermedad caracterizada por la presencia de marchitez vascular que ocasiona la muerte fulminante en miles de árboles de *T. grandis* del Ecuador. Siendo a partir de los árboles enfermos desde donde aislaron e identificaron los hongos *Fusarium* sp. y *C. fimbriata*, asociándolos a la etiología de la enfermedad. Más tarde, Córdor-Jiménez (2017), y Belezaca-Pinargote *et al.* (2020) dilucidaron la etiología del problema, luego de realizar pruebas de patogenicidad inoculando los microorganismos anteriormente mencionados en plántulas de *T. grandis* a nivel de invernadero. Los resultados fueron concluyentes, determinándose que el agente causal de la enfermedad de marchitez vascular en *T. grandis* es *C. fimbriata*.

2.2.2.5. *Gmelina arborea* Roxb. (Melina)

Independientemente del sistema de producción, los principales problemas de *G. arborea* en vivero son las hormigas del género *Atta*. Además, la podredumbre de la raíz, (mal del talluelo) causado por el complejo de hongos de Damping off, para lo cual es necesario un estricto control de la humedad, tanto de riego como de lluvia (Muñoz y Vera, 2012).

A nivel de plantación existe la presencia de hormigas defoliadoras *Atta* sp., que es una amenaza en la fase de establecimiento y en los primeros años de vida de la plantación. Las obreras de las colonias cortan hojas en trozos más o menos circulares, que transportan hasta sus nidos, donde los trituran y usan como sustrato para cultivar al hongo *Rozites*

gongylophora Moeller que constituye su alimento principal. Los nidos son subterráneos y presentan túneles extensos, provistos con respiraderos, externamente parecen montículos de tierra en los puntos de ingreso al nido. Estos nidos son generalmente grandes, pueden medir de 10 a 15 m de diámetro y hasta 4 metros de profundidad (CORMADERA, 2001).

Otros insectos como *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) ocasiona daños en cogollos y hojas nuevas. Insectos de la familia Acrididae (Orthoptera) producen defoliaciones severas, si las poblaciones del insecto son muy altas (CORMADERA, 2001).

A partir del año 2010 se observaron problemas fitosanitarios aparentemente de origen fungoso en plantaciones de *G. arborea* del Trópico Húmedo Ecuatoriano, caracterizados por la presencia de una marchitez vascular y pudrición del fuste. Saltos-Sampedro (2019), realizó una investigación tendiente a describir la sintomatología de la enfermedad e identificar los fitopatógenos asociados a árboles enfermos. Este autor describió que en estadíos iniciales de la enfermedad se observa una clorosis y pérdida de turgencia en hojas de ramas superiores, con características de marchitamiento. El bloqueo vascular y avance gradual de la enfermedad provoca que los ápices de crecimiento y ramas mueran completamente. El vigor de los árboles enfermos disminuye significativamente, debido principalmente a la marchitez del área fotosintética. Los árboles enfermos como mecanismo de supervivencia emiten numerosos brotes epicormicos en el fuste, generados por la necesidad de realizar fotosíntesis. Como el taponamiento vascular continúa impidiendo el flujo de sustancias nutricionales, finalmente el árbol muere. En árboles enfermos existe la presencia de fluidos malolientes, liberados desde heridas de origen antropogénico o naturales. Desde tejidos de árboles se aislaron e identificaron los hongos *Fusarium* spp. y *C. fimbriata* (Saltos-Sampedro, 2019; Belezaca-Pinargote *et al.*, 2021a).

Pruebas de patogenicidad posteriormente realizadas por Macías-Moncayo (2019) y Belezaca-Pinargote *et al.*, (2021a), permitieron identificar que el agente causal de la enfermedad de “marchitez vascular y pudrición del fuste” en *G. arborea* es *C. fimbriata*.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización

Las investigaciones a nivel de campo y laboratorio se llevó a cabo en las plantaciones e instalaciones (laboratorio e invernadero) de la empresa PLANTABAL S.A., institución que además suministró las plántulas de *S. parahybum* para las pruebas de patogenicidad (Postulados de Koch). Las instalaciones de PLANTABAL S.A. están localizadas en el km 3,5 de la vía Quevedo – Valencia.

3.2. Tipo de Investigación

El estudio fue de tipo “diagnostica”, ya que consistió en la descripción de la sintomatología, aislamiento e identificación morfológica de los microorganismos fungosos presentes en árboles de *S. parahybum* enfermos, y los posteriores estudios de patogenicidad, donde se contrastó el potencial patogénico de los hongos previamente aislados e identificados.

3.3. Método de Investigación

Se empleó el método Inductivo-Deductivo, ya que para el efecto primero se realizó una descripción de los síntomas asociados a la enfermedad de *S. parahybum*, luego desde tejidos necrosados de árboles enfermos se aisló e identificó morfológicamente los hongos presentes. Finalmente, después de las inoculaciones se determinó mediante evaluaciones morfométricas cual o cuales son los microorganismos causantes del problema fitosanitario en pachaco.

3.4. Fuentes de recopilación de información

3.4.1. Fuentes primarias

Se realizaron visitas a nivel de campo para seleccionar la plantación a estudiar, donde se evaluó la incidencia y severidad de la enfermedad de “decaimiento” en la plantación de *S. parahybum* a nivel de campo. Para el efecto se emplearon formatos impresos en hojas de papel conteniendo una escala de evaluación. Además, muestras de tejidos necrosados de

árboles enfermos se recolectaron y condujeron al laboratorio para su respectivo análisis fitopatológico.

3.4.2. Fuentes secundarias

Se investigó la literatura científica basada en revistas, libros, etc., conteniendo información adecuada que permitió conocer el estado del arte respecto de la temática planteada en este proyecto de investigación. Además, se seleccionó literatura relevante para realizar la discusión.

3.5. Diseño de la investigación

3.5.1. Delimitación de parcelas y diagnóstico de la enfermedad

Se investigó una plantación de *S. parahybum* perteneciente a la empresa PLANTABAL S.A., ubicada en la zona central del Trópico Húmedo Ecuatoriano, a fin de identificar la presencia o no de la enfermedad de muerte regresiva en la especie forestal. Para el efecto se delimitaron tres parcelas rectangulares de 500 m².

3.5.1.1. Incidencia de la enfermedad

En cada parcela se realizó un censo árbol por árbol, con el propósito de establecer el número total de árboles presentes, la cantidad de árboles con síntomas de enfermedad, árboles muertos y aparentemente sanos (Belezaca-Pinargote *et al.*, 2018; Belezaca-Pinargote *et al.*, 2021a), [Ecuación 1].

$$\text{Incidencia (\%)} = \frac{\text{Nº de árboles enfermos}}{\text{Total de árboles}} * 100 \quad [\text{Ecuación 1}]$$

3.5.1.2. Severidad de la enfermedad

Mediante una ficha de recolección de información, y el empleo de una escala arbitraria de cinco categorías, se registró la severidad de la enfermedad en función a las diferencias morfológicas visibles de las ramas, hojas y fuste, para posteriormente ser comparados con

los árboles sanos (Belezaca-Pinargote *et al.*, 2021b), (Tabla 1). Además, se realizó una descripción detallada de la sintomatología de la enfermedad.

Tabla 1. Escala arbitraria empleada para la determinación de severidad de la enfermedad de “decaimiento” en *S. parahybum*.

Escala	Criterio
1	Árbol aparentemente sano, no hay evidencia de síntomas visibles.
2	Amarillamiento inicial de la copa, el fuste puede tener pequeñas heridas necrosadas y con exudación negra en sitios diferentes o donde hubo poda natural; puede iniciar la aparición de rebrotes. No todos los síntomas se expresan.
3	El árbol está visiblemente enfermo. Hay lesiones tipo cancro en la corteza con indicios de pudrición, presencia de exudación; pérdida de más de un 50% del área foliar en un patrón progresivo; rebrotes desarrollados.
4	Afectación total del individuo; ausencia total de follaje; hay pérdida y desprendimiento evidente de ramas; aún se observan rebrotes en algunos sectores del tronco; pudrición y exudación en la zona cancerosa (cancro) se manifiesta con claridad.
5	Árbol completamente muerto, la madera ya perdió completamente su valor comercial.

3.5.1.3. Evaluación de variables dasométricas

Dentro de las parcelas de cada plantación estudiada, a los árboles presentes sanos o enfermos se les registró las siguientes variables: número de árboles ha⁻¹ (densidad), edad, diámetro a la altura del pecho (DAP; 1,30 m sobre el nivel del suelo), altura, número de brotes epicórmicos.

3.5.1.4. Muestreo y recolección de tejidos de árboles enfermos

Dentro de cada parcela se muestreó 3 árboles (7±0,5%) con síntomas de enfermedad, los mismos que fueron apeados (cortados) al nivel del suelo con la ayuda de una motosierra. Posteriormente se realizaron cortes transversales en el fuste cada 70 cm, con el propósito de determinar el sitio de ingreso del o los patógenos y la diseminación de los mismos dentro de los tejidos. La observación de síntomas internos (necrosis de tejidos) se empleó para la descripción sintomatológica de la enfermedad.

Secciones de madera con evidencia de necrosis se seleccionaron, guardaron en bolsas plásticas, rotularon (fecha de recolección, procedencia, número de árbol, edad de la plantación, etc.) y trasladaron al laboratorio de la empresa PLANTABAL S.A. para su

posterior análisis microbiológico. Una vez en el laboratorio, las muestras de tejidos necrosados se acondicionaron bajo tres estrategias metodológicas que se detallan a continuación:

3.5.1.4.1. Cámara húmeda

Con el propósito de brindar condiciones de alta humedad relativa y temperatura constante (22 ± 2 °C) a nivel de laboratorio, muestras de madera con tejidos necrosados se introdujeron en bolsas plásticas conteniendo papel humedecido, e incubaron durante 96 horas. Pasado este tiempo y con la asistencia de un estereomicroscopio, las muestras se analizaron con el propósito de detectar el desarrollo de signos (micelio, cuerpos fructíferos, etc.) presente sobre los tejidos necrosados (CMI, 1983). Cuando se detectaron signos de microorganismos creciendo sobre la madera, estos fueron trasladados a medios de cultivo sintéticos, bajo condiciones de asepsia.

3.5.1.4.2. Siembra en sandwiches de zanahoria

Con el propósito de estimular la manifestación, crecimiento y desarrollo de microorganismos fungosos de difícil crecimiento inicial en medios de cultivo sintético, se realizaron siembras con segmentos de tejidos necrosados de aproximadamente 2 x 2 x 0,5 cm (largo, ancho y espesor) entre dos rodajas de zanahoria, apretados con cinta de papel, formando una especie de sandwich (Li *et al.*, 2014; Piveta *et al.*, 2016). Por cada árbol se formaron 10 sandwiches que se introdujeron en recipientes plásticos estériles (tarrinas plásticas), taparon e incubaron durante 120 horas (5 días). Pasado el tiempo de incubación y con la ayuda de un estereomicroscopio, los sandwiches se analizaron con el propósito de detectar el desarrollo de signos (micelio, cuerpos fructíferos, etc.) presentes, creciendo sobre la zanahoria, y cuando estuvieren presentes se trasladaron a medios de cultivo sintéticos, bajo condiciones de asepsia.

3.5.1.4.3. Siembras directas en medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA)

Por cada árbol seleccionado, muestras frescas de madera con tejidos necrosados se diseccionaron en el laboratorio, mediante cortes limpios con la ayuda de un machete. Posteriormente, en un espacio aséptico y con un cuchillo bien afilado se cortaron pedacitos

de madera de aproximadamente 0,5 x 0,5 cm y depositaron en una placa de Petri estéril, a partir de la cual y sin previa desinfección con ningún antiséptico, cuatro pedacitos de madera necrótica se sembraron en cinco placas de Petri conteniendo 10 mL de medio de cultivo PDA + 0,2 mL de una mezcla de antibióticos (50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de penicilina y 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de estreptomina), (Parkinson, 1994), y se dejaron incubar durante 96 horas a temperatura de laboratorio (22 ± 2 °C). Pasado este tiempo se identificaron los hongos que crecieron en el medio de cultivo a partir de los pedacitos de madera necrosada. La identificación se realizó con la ayuda de claves taxonómicas (Von Arx, 1981; Barnett y Hunter, 1987; Hanlin, 1992).

3.5.1.5. Crecimiento de hongos en medio de cultivo PDA bajo dos temperaturas

Se preparó un experimento donde cada hongo fitopatógeno aislado (tratamientos) se sembró en cinco placas de Petri (repeticiones) conteniendo el medio de cultivo PDA (papa-dextrosa-agar) e incubaron por seis días (144 horas) bajo dos temperaturas de forma separada (24 °C y 30 °C). Se registró el crecimiento radial (cm) de cada hongo en las placas de Petri a las 24, 48, 72, 96, 120, y 144 horas después de las siembras.

3.5.1.6. Descripción de síntomas a nivel de campo

Dentro de la plantación se realizó una descripción detallada de la sintomatología de la enfermedad, considerando diferencias morfológicas externas visibles (ramas, hojas, fuste) e internas (necrosis, lesiones) entre árboles enfermos y sanos (Belezaca-Pinargote *et al.*, 2021)

3.5.2. Pruebas de patogenicidad

3.5.2.1. Características de las plantas a inocular

Para las pruebas de patogenicidad se emplearon plantas de *S. parahybum* de cuatro meses de edad, con un diámetro del tallo a nivel del suelo de aproximadamente 1,5 cm, en buen estado sanitario, procedente del vivero de la empresa PLANTABAL S.A. Las plantas estaban sembradas en macetas plásticas de 1 L de volumen, en sustrato constituido por una mezcla de componentes proporcionados por la empresa. Las plantas se mantuvieron bajo condiciones de vivero.

3.5.2.2. Preparación del inóculo

Las cepas de hongos aislados desde árboles enfermos de *S. parahybum* se sembraron en placas de Petri de 8,5 cm de diámetro conteniendo aproximadamente 10 ml de medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA), e incubaron durante 8 días a temperatura de laboratorio (22 ± 2 °C). Después de la incubación, con la asistencia de un sacabocado de vidrio estéril de 0,5 cm de diámetro se realizaron cortes circulares en las colonias de los fitopatógenos, con el propósito de obtener áreas uniformes con las que se realizó las inoculaciones.

3.5.2.3. Inoculación

Considerando que las lesiones necróticas observadas en los árboles a nivel de campo se concentran a partir del tercio superior del fuste hacia arriba (tejidos suculentos con menor lignificación), las inoculaciones a nivel de vivero simulaban lo observado en el campo, y por lo tanto se realizaron en la mitad del tercio superior del tallo de las plantas de *S. parahybum*, donde los tejidos aún no están muy lignificados. Para el efecto, previamente se desinfectó el sitio a realizar el corte con alcohol, y mediante un bisturí estéril se realizó un corte inclinado que comprometió la corteza y el xilema de la planta. Dentro de la herida se aplicó un segmento de colonia del fitopatógeno seleccionado (0,5 cm de diámetro), previamente cortado en la placa de Petri con un sacabocado y la herida se cubrió con cinta de parafilm. Como control se inocularon plantas de *S. parahybum* bajo las mismas condiciones anteriores, con la diferencia que en lugar de inocular el patógeno, se aplicó dentro de la herida un segmento de agar-agar (inocuo, sin nutrientes), y se cerró la herida con cinta de parafilm.

Las plantas periódicamente fueron regadas con agua en función a las necesidades de las mismas. El experimento se estableció durante 120 días, tiempo en el cual se realizaron observaciones periódicas sobre el estado sanitario de las plantas, con el propósito de detectar la aparición de síntomas de la enfermedad de “decaimiento” asociados a los fitopatógenos inoculados. A los 120 días después de las inoculaciones las plantas fueron diseccionadas mediante cortes longitudinales y transversales para medir (cm) daños o lesiones necróticas en tejidos, tanto en sentido ascendente y descendente, tomando como punto de referencia la parte central de la herida efectuada para la inoculación. Las áreas de necrosis se midieron en tres dimensiones (alto, ancho y profundidad) con el propósito de estimar el área aparente de necrosis, expresada en cm^3 .

3.6. Instrumentos de Investigación

3.6.1. Formato de registro de campo

Consistió en una hoja de papel impresa conteniendo la lista de variables a evaluar a cada árbol dentro de las parcelas diseñadas dentro de la plantación a nivel de campo. Además se consideró la escala arbitraria de evaluación de incidencia y severidad de la enfermedad ya incluida en el apartado 3.5.1.2.

3.6.2. Muestreo de árboles enfermos

En cada parcela se recolectaron tejidos de tres árboles con síntomas de la enfermedad, mismos que fueron apeados (cortados) con una motosierra y enviados bajo refrigeración al laboratorio para el análisis fitopatológico.

3.6.3. Plantas a inocular

Se emplearon plantas de *S. parahybun* de cuatro meses de edad en buen estado sanitario. Estas plantas se inocularon con los hongos aislados desde los árboles enfermos.

3.7. Tratamiento de los datos

El número de tratamientos se conformó en función al número de género de hongos aislados a partir de árboles enfermos de *S. parahybun*. Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), constituido por 5 tratamientos, 3 repeticiones, cada repetición estuvo constituida por 20 unidades de observación. Cada hongo más la combinación de todos los hongos aislados, correspondieron a los tratamientos, y finalmente el control que consistió en la inoculación únicamente de agar-agar.

Los datos cuantitativos obtenidos a nivel de invernadero se analizaron empleando herramientas de estadística descriptiva: media, desviación estándar, error estándar, coeficiente de variación, etc. Para establecer la existencia o no de diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, los datos se analizaron bajo el esquema del análisis de varianza (ADEVA), (Tabla 2) con un nivel de significancia de 95% ($P < 0.05$), previa

comprobación de los supuestos de normalidad y homocedasticidad de varianzas. Posteriormente se aplicó la prueba LSD (mínima diferencia significativa), con un nivel de significancia del 95% ($P < 0.05$). Para el efecto se empleó el paquete estadístico SYSTAT 11 versión para Windows.

Tabla 2. Esquema de análisis de Varianza (ADEVA) a aplicarse en el estudio.

Fuente de Variación	Grados de Libertad
Tratamientos	$t-1 = 4$
Error	$t*(r-1) = 95$
Total	$(t*r)-1 = 99$

3.8. Recursos humanos y materiales.

3.8.1. Materiales de laboratorio, oficina y reactivos.

A continuación se enlistan los materiales de laboratorio, oficina y reactivos a emplearse en la investigación:

<u>Materiales de laboratorio</u>	<u>Materiales de oficina</u>	<u>Reactivos</u>
• Placas de Petri	• Computadora	• Agua destilada
• Tubos de ensayo	• Cámara fotográfica	• Alcohol antiséptico
• Matraces	• Impresora	• Hipoclorito de Sodio
• Cuchillos	• Pendrive	• Alcohol para quemar
• Bisturís	• Lapiceros y lápiz	• Medio de cultivo PDA
• Estereomicroscopio	• Apoyadores de mano	• Estreptomicina
• Microscopio	• Cuaderno de campo	• Cloranfenicol
• Bisturís	• Papel para impresión	• Detergente
• Cinta de parafilm	• Literatura científica	• Fertilizante YaraMila
• Algodón	• Grapadora	
• Sacabocado	• Perforadora	
• Asa micológica	• Clips	
• Cinta métrica	• Carpetas de cartón	
• Cinta diamétrica		
• Pie de metro		
• Marcador permanente		
• Spray de colores		

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

4.1.1. Incidencia y severidad de la enfermedad

En la tabla 3 se muestra la densidad de plantación inicial y al momento de la evaluación, las variables dasométricas, el número árboles enfermos y la incidencia de la enfermedad en cada una de las tres parcelas evaluadas. En promedio se detectaron 13 árboles enfermos ha⁻¹, lo que permitió inferir que la incidencia de la enfermedad fue 1,7%. En las parcelas 1 y 2 se detectaron 20 árboles enfermos ha⁻¹ en escala 2 del progreso de la enfermedad, mientras que en la parcela 3 no se encontraron árboles enfermos (Tabla 3).

Tabla 3. Densidad, incidencia y severidad de la enfermedad de “decaimiento” en árboles de una plantación de *S. parahybum* en el Trópico Húmedo Ecuatoriano.

N o	* DI (árboles ha ⁻¹) *	** DME (árboles ha ⁻¹)	Altura Total (m)	Altura comercial (m)	DAP (m)	Volumen (m ³)	Inciden cia (%)	Severidad (No. de árboles ha ⁻¹ de acuerdo a escala)				
								1	2	3	4	5
1	840	800	9,5 ± 2,8	7,4 ± 2,6	0,11 ± 0,02	0,06 ± 0,04	2,5	780	20	0	0	0
2	840	780	11,7 ± 1,5	10,1 ± 1,7	0,13 ± 0,02	0,11 ± 0,04	2,5	760	20	0	0	0
3	840	820	12,6 ± 2,7	11,3 ± 2,5	0,15 ± 0,03	0,16 ± 0,07	0,0	820	0	0	0	0
$\bar{x}$	840	800	11,3 ± 2,3	9,6 ± 2,3	0,13 ± 0,02	0,11 ± 0,05	1,7	787	13	0	0	0

* DI = Densidad inicial, ** DME = Densidad al momento de la evaluación

4.1.2. Aislamiento e identificación de hongos fitopatógenos

4.1.2.1. Cámara Húmeda

Luego de analizar bajo un estereomicroscopio los tejidos de madera necrosada de árboles enfermos de *S. parahybum*, se determinó que en el 100% de las muestras de todas las parcelas estudiadas existía la presencia de dos tipos de micelio algodonoso, uno de tonalidad blanquecina y otro de color oscuro con formación de picnidios. Las observaciones de los signos al microscopio permitieron identificar al primero como *Fusarium* spp. y al segundo como *Botryodiplodia* sp. (Figura 1).

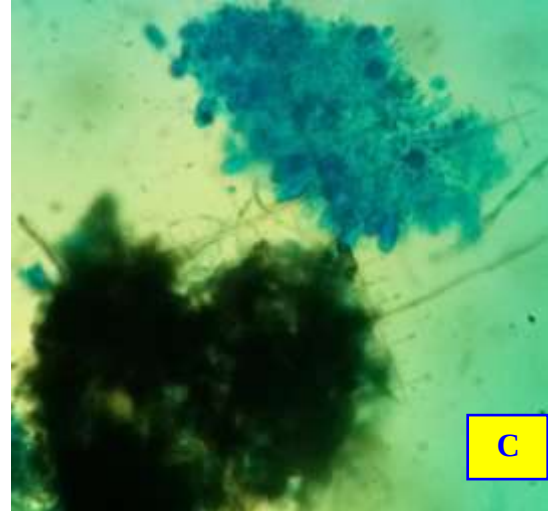
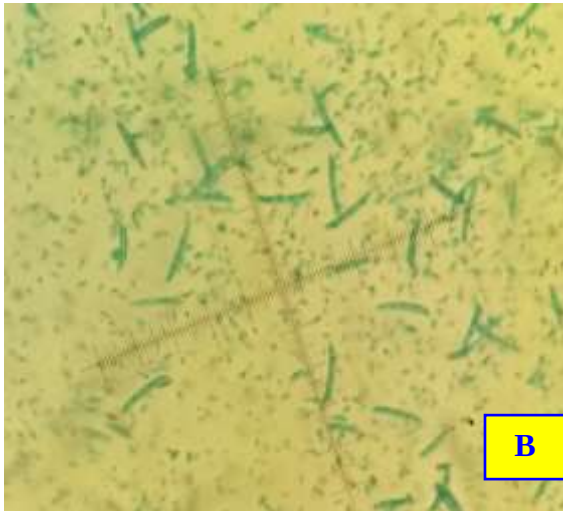


Figura 1. Estrategia metodológica y microorganismos identificados: A) Segmentos de madera de *S.parahybum* (pachaco) en cámara húmeda, B) Micro y macro conidias de *Fusarium* spp., C) Picnidio lisado liberando una masa de conidias juveniles y maduras de *Botryodiplodia* sp

4.1.2.2. Sandwiches de zanahoria

Las rodajas de zanahoria conteniendo muestras de madera necrosada de árboles enfermos de pachaco (sanduches) mostraron crecimiento de micelio algodonoso de color blanco con presencia de conidióforos hialinos, y micelio color negro con estructuras globosas duras llamadas picnidios. Las observaciones al microscopio permitieron identificar a los hongos como *Fusarium* spp. y *Botryodiplodia* sp. (Figura 1).

4.1.2.3. Hongos aislados en medio de cultivo PDA a partir de muestras de madera necrosada.

En el 100% de los árboles enfermos de *S. parahybum* muestreados en las parcelas estudiadas, y luego de las 96 horas de incubación, se observó que a partir de los pedacitos de madera sembrados en PDA, crecían dos tipos de colonias fungosas, unas de color negro y otras de color blanco algodonoso. Observaciones al microscopio permitieron identificar que en las colonias de color negro existía la presencia de picnidios globosos con un ostiolo en la parte superior, donde se acumulaban grupos de conidias de color blanco hialino. Estas características permitieron identificar al hongo como *Botryodiplodia* sp., mientras que las colonias de color blanco correspondieron a dos especies del hongo *Fusarium* sp. (Figura 2).

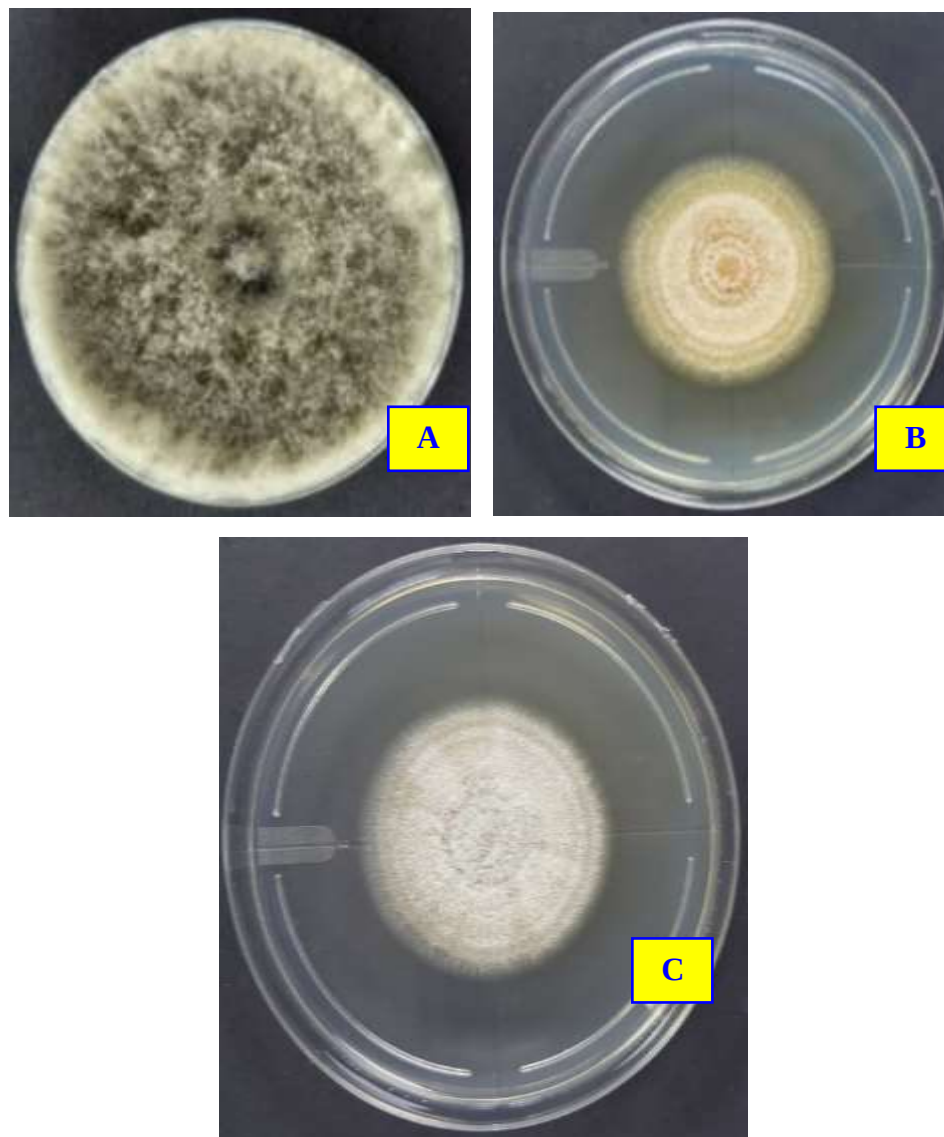


Figura 2. Colonias de hongos aislados de árboles enfermos de *S. parahybum* en medio de cultivo PDA. A) *Botryodiplodia* sp., B) *Fusarium* sp. 1, C) *Fusarium* sp. 2.

4.1.2.4. Crecimiento de hongos fitopatógenos en dos condiciones de temperatura

Se detectaron diferencias estadísticas significativas entre la velocidad de crecimiento de los tres hongos estudiados en todos los periodos de tiempo evaluados, tanto a 24 °C ($F=3,05$; $P=0,001$) y 30 °C ($F=2,95$; $P=0,001$). En ambos casos *Botryodiplodia* sp. Cubrió la totalidad de la placa de Petri en 72 horas después de la siembra, mientras que *Fusarium* sp. 1 y *Fusarium* sp. 2 crecieron de forma mucho más lenta y gradual, alcanzando aproximadamente los 4 cm de diámetro a las 144 horas después de la siembra (figuras 3 y 4).

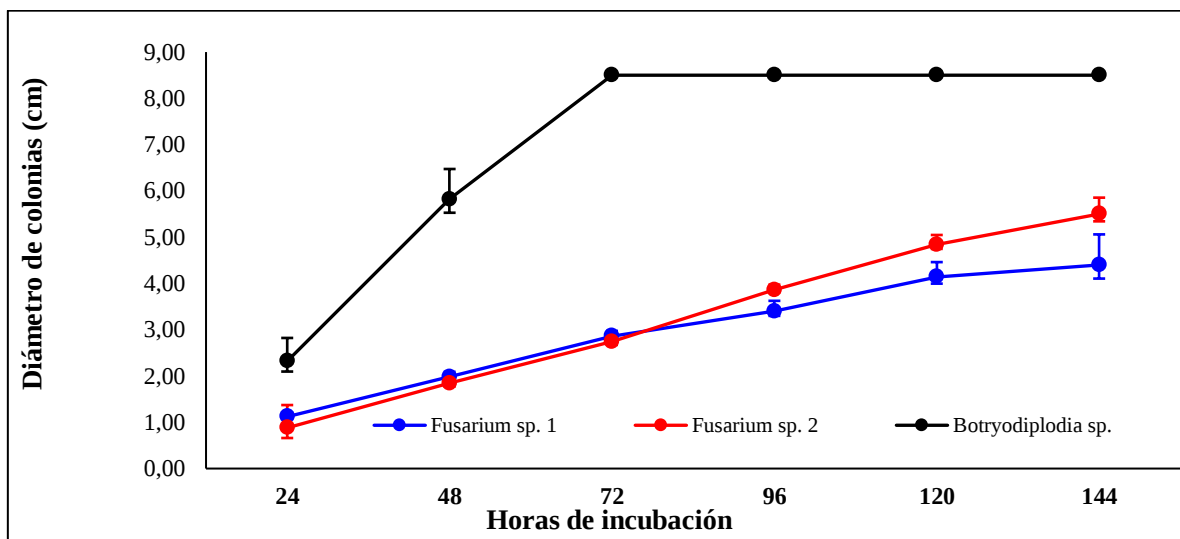


Figura 3. Cinética de crecimiento de hongos fitoparásitos aislados a partir de árboles enfermos de *S. parahybum* e incubados a 24 °C. Valores corresponden al promedio de cinco placas de Petri, con su respectiva desviación estándar y error estándar.

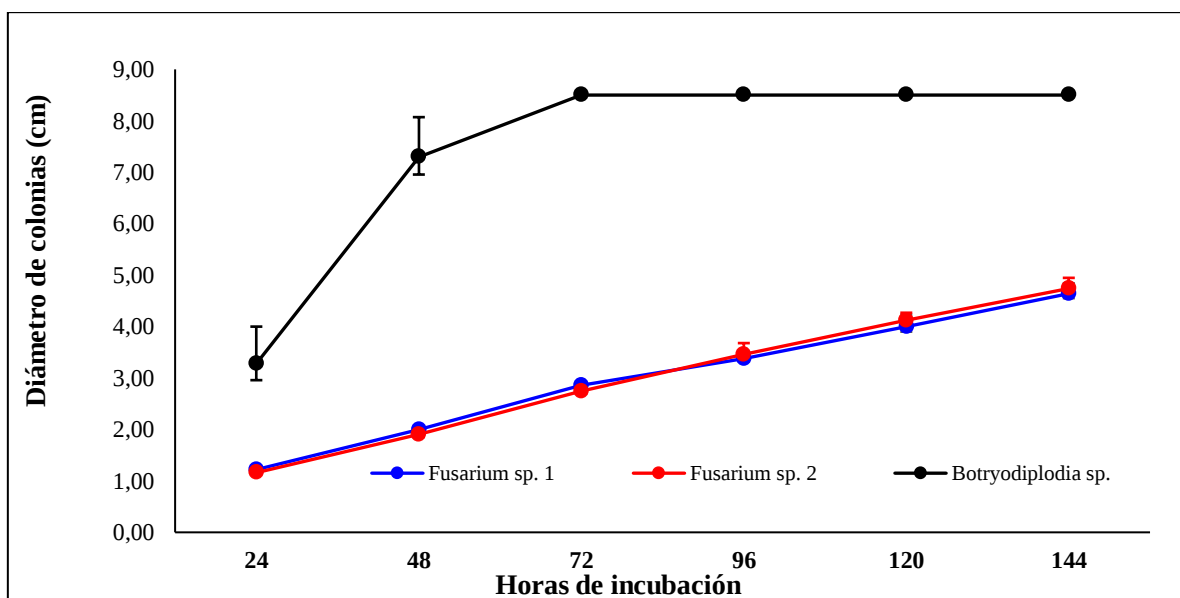


Figura 4. Cinética de crecimiento de hongos fitoparásitos aislados a partir de árboles enfermos de *S. parahybum* e incubados a 30 °C. Valores corresponden al promedio de cinco placas de Petri, con su respectiva desviación estándar y error estándar.

4.1.3. Descripción de sintomatología de la enfermedad de “decaimiento”

Los síntomas iniciales que son evidenciables en árboles de *S. parahybum* enfermos, son la pérdida de turgencia acompañada de palidez y amarillamiento de los folíolos, especialmente en hojas jóvenes de ramas superiores. En muchos casos se observan hojas jóvenes de tamaño pequeño en comparación a las de árboles sanos, muy amarillas y acurrujadas (encogidas y mal formadas). En árboles fuertemente atacados son claramente observables zonas longitudinales de necrosis, ubicadas principalmente en el tercio superior del fuste de los árboles, lugar donde los tejidos son suculentos y aún no están totalmente lignificados. Estas zonas de necrosis tienen apariencia de manchas de color café oscuro, y cuando la infección es más acentuada la necrosis envuelve al fuste en todo su contorno impidiendo (bloqueando) el flujo y reflujo de sustancias minerales y orgánicas a todos los tejidos del árbol, hasta alcanzar una coloración negra. Cuando la infección se ha generalizado, los árboles enfermos pierden todas sus hojas y las zonas de crecimiento se necrosan (mueren) totalmente, obteniendo los árboles un aspecto de cigarro apagado. Cuando la parte superior de los árboles mueren, estos emiten brotes epicórmicos con el propósito de generar nuevas áreas fotosintéticas, sin embargo, la muerte total del árbol en pie es solo cuestión de tiempo.

4.1.4. Pruebas de patogenicidad (postulados de Koch)

4.1.4.1. Volumen aparente de necrosis (cm³) generada por fitopatógenos inoculados en plantas de *schizolobium parahybum* (pachaco)

Se detectaron diferencias estadísticas significativas ($F=9,67$; $P=0,000$) entre los volúmenes aparentes de necrosis generados por los fitopatógenos inoculados (tratamientos) en las plantas de *S. parahybum*. Los tratamientos *Fusarium* sp. 1, y *Fusarium* sp. 1 + *Fusarium* sp. 2 + *Botryodiplodia* sp., generaron los mayores volúmenes aparentes de necrosis, que para ambos casos fue de 0,50 cm³, siendo estadísticamente similares entre sí, pero distintos a los tratamientos *Fusarium* sp. 2, y *Botryodiplodia* sp., quienes no mostraron diferencias estadísticas significativas entre sí, con valores de 0,35 cm³ y 0,31 cm³ respectivamente. El tratamiento Control alcanzó el volumen más bajo con 0,16 cm³, mostrando diferencias estadísticas significativas a los demás tratamientos (Figura 5).

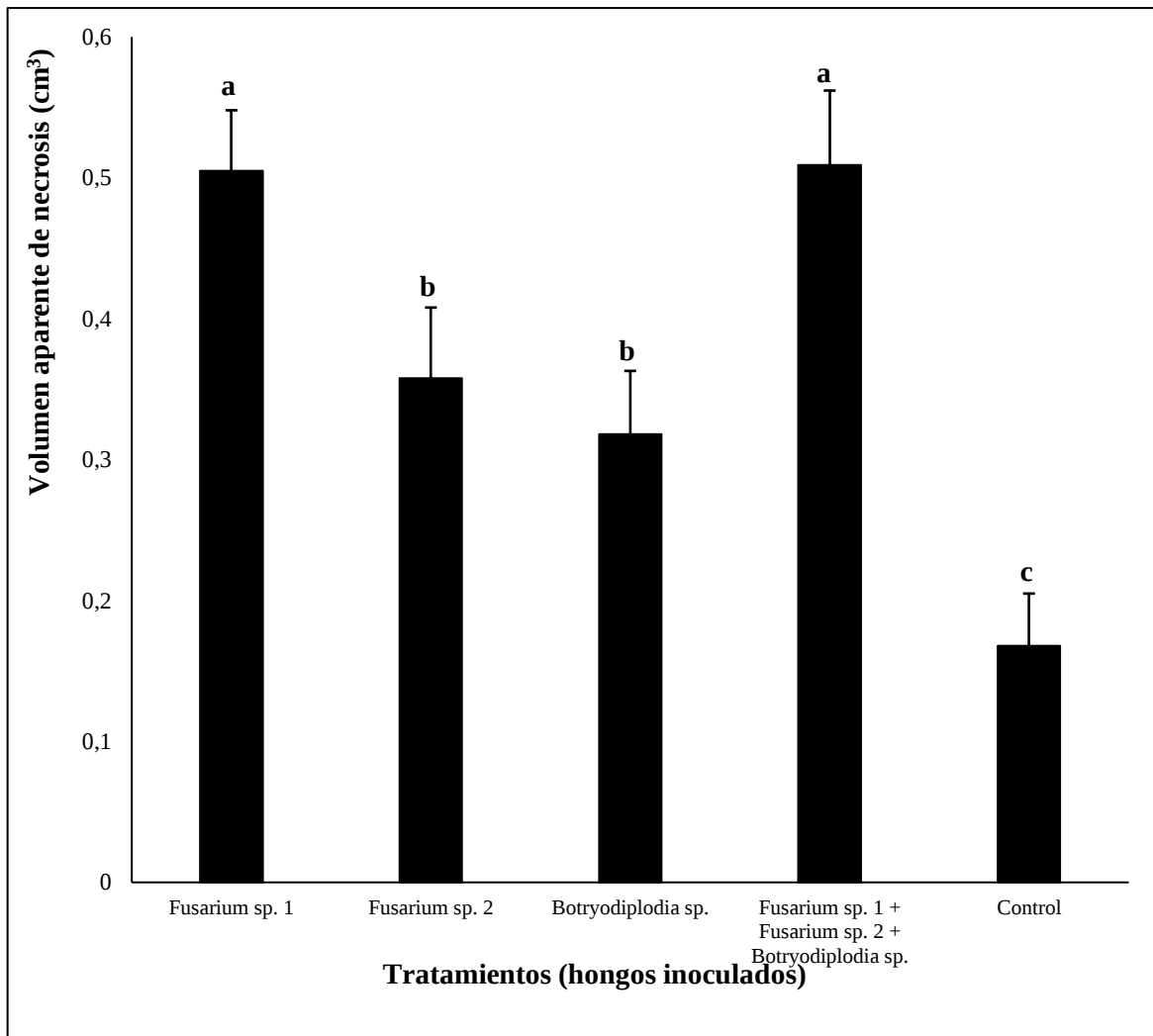


Figura 5. Volumen aparente de necrosis (cm³) generado por hongos fitopatógenos (tratamientos) inoculados en plantas de *S. parahybum* (pachaco) de cuatro meses de edad, 120 días después de inoculadas a nivel de vivero. Valores corresponden al volumen aparente de necrosis promedio de 20 plantas de pachaco, con su respectivo error estándar.

4.1.4.2. Longitud de necrosis (cm)

En la figura 6 se muestra la longitud total de necrosis ocasionada por hongos fitopatógenos inoculados en plantas de *S. parahybum*, donde se detectaron diferencias estadísticas significativas ($F=13,05$; $P=0,000$) entre las longitudes de necrosis generadas por los hongos. Los tratamientos *Fusarium* sp. 1, y *Fusarium* sp. 1 + *Fusarium* sp. 2 + *Botryodiplodia* sp., produjeron las mayores longitudes de necrosis, con 8,30 cm y 8,73 cm, respectivamente, siendo estadísticamente iguales, y diferentes a los tratamientos *Fusarium* sp. 2, y *Botryodiplodia* sp., pero similares entre sí con 6,95 cm y 6,56 cm. El Control alcanzó la menor longitud de necrosis con apenas 3,15 cm, mostrando un comportamiento estadístico diferenciado para con los demás tratamientos.

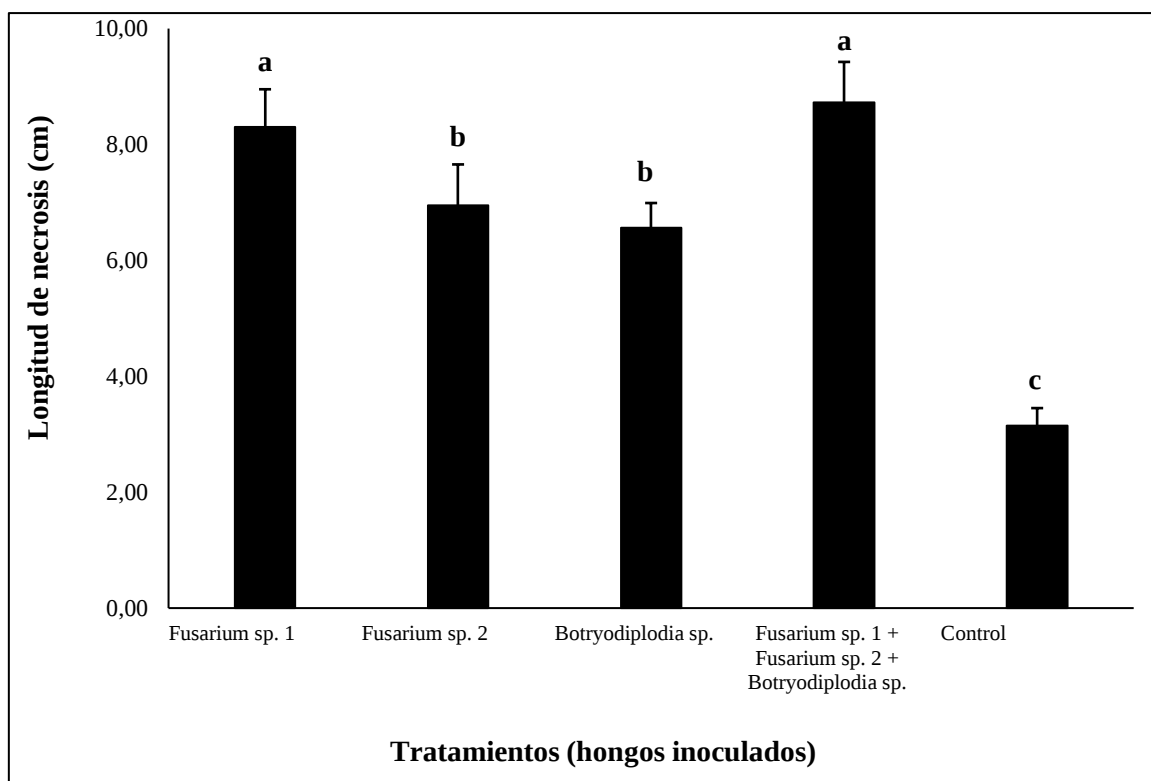


Figura 6. Longitud de necrosis (cm) generada por hongos fitopatógenos (tratamientos) inoculados en plantas de *S. parahybum* (pachaco) de cuatro meses de edad, 120 días después de inoculadas a nivel de vivero. Valores corresponden a la longitud promedio de necrosis de 20 plantas de pachaco, con su respectivo error estándar.

4.1.4.3. Longitud ascendente y descendente de necrosis (cm)

Se detectaron diferencias estadísticas significativas entre las longitudes de necrosis ascendente ($F=11,9$; $P=0,000$) y descendente ($F=8,3$; $P=0,000$), causadas por los fitopatógenos inoculados (tratamientos) en plantas de pachaco. Los tratamientos *Fusarium* sp. 1, y *Fusarium* sp. 1 + *Fusarium* sp. 2 + *Botryodiplodia* sp., generaron las mayores longitudes ascendentes de necrosis, con 4.25 cm y 4.52 cm, respectivamente, siendo similares estadísticamente pero distintos de los demás tratamientos. Los tratamientos *Fusarium* sp. 2, *Botryodiplodia* sp., y el Control mostraron un progreso ascendente menor de la necrosis, con 3.33 cm, 2.83 cm y 1.61 cm, respectivamente. Las longitudes descendentes de necrosis causadas por los microorganismos inoculados fueron estadísticamente similares, a excepción del tratamiento Control que mostró la menor longitud de necrosis con 1.54 cm. En la figura 7 se observa que *Fusarium* sp. 1, y la combinación de hongos *Fusarium* sp. 1 + *Fusarium* sp. 2 + *Botryodiplodia* sp., provocaron mayor necrosis en sentido ascendente, mientras que *Fusarium* sp. 2 y *Botryodiplodia* sp., tienden a desarrollar más necrosis en sentido descendente.

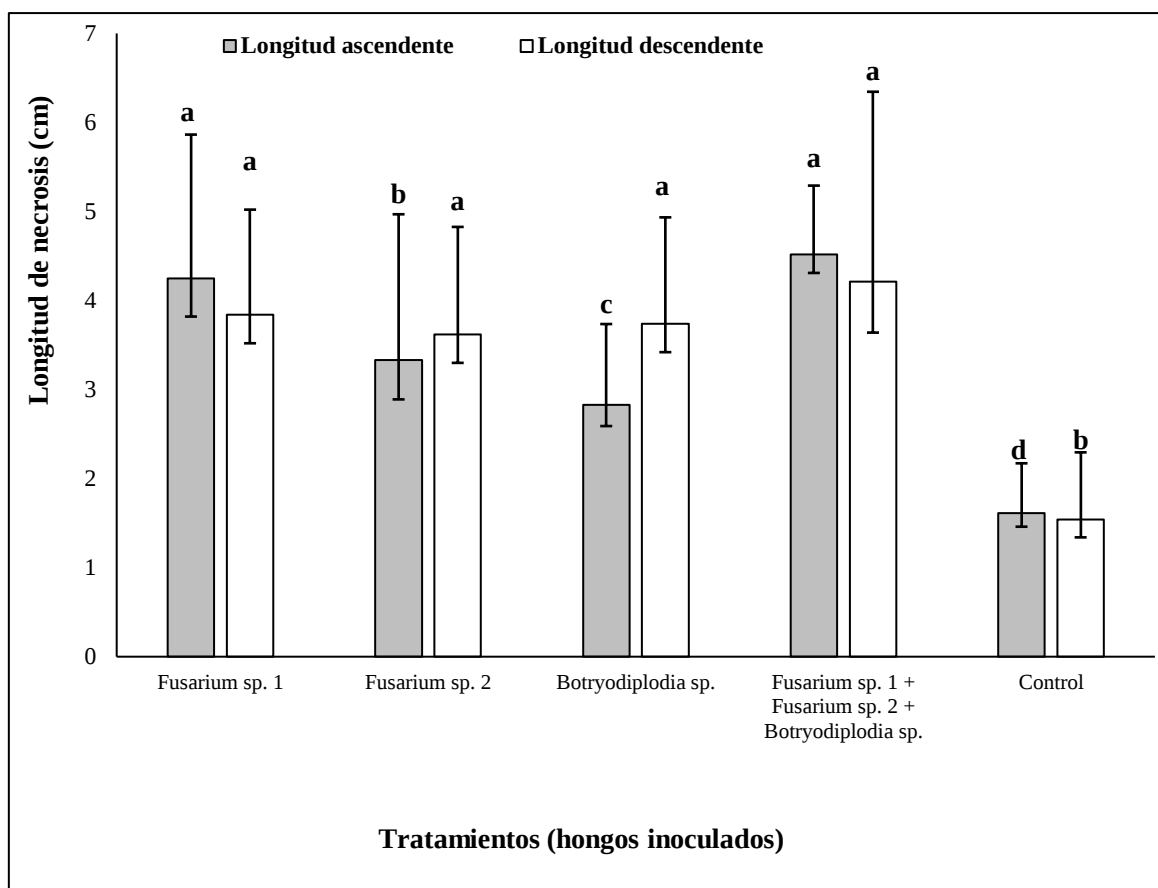


Figura 7. Longitud ascendente y descendente de necrosis (cm) generada por la inoculación de hongos fitopatógenos (tratamientos) en plantas de *S. parahybum* (pachaco) de cuatro meses de edad, a los 120 días de inoculación a nivel de vivero. Valores corresponden longitudes ascendentes y descendentes de necrosis promedio de 20 plantas de pachaco, con su respectiva desviación estándar y error estándar.

4.2. Discusión

Desde los inicios de la Patología Vegetal se sabe que la masificación de monocultivos, provoca pérdidas en la biodiversidad y desequilibrios ecológicos que pueden tener diversos impactos sobre los agroecosistemas (Iezzi *et al.*, 2018). Uno de los efectos del desequilibrio es el apareamiento de varias patologías (enfermedades) de origen biótico o abiótico. Esta situación se pone en evidencia en las plantaciones de *S. parahybum*, cuya superficie se incrementó entre las décadas de 1980 y 1990, periodos que coincidieron con el apareamiento de la enfermedad conocida como “marchitez vascular y pudrición del fuste” que mató miles de árboles en todo el Ecuador (Ramírez, 1990, Belezaca-Pinargote, 2002; Belezaca-Pinargote y Suárez-Capello, 2003). A partir de ese momento se perdió el interés por establecer nuevas plantaciones, situación que conllevó que la especie forestal casi desaparezca de los sistemas de producción, principalmente en el Trópico Húmedo Ecuatoriano (THE), (Belezaca-Pinargote *et al.*, 2011; Belezaca-Pinargote *et al.*, 2012a).

Sin embargo, las insuperables características de la madera de *S. parahybum* incentivaron en el último lustro establecer pequeñas plantaciones de carácter experimental, pero nuevamente se detectaron problemas fitosanitarios, cuyas características difieren de los ya conocidos en décadas pasadas, sin existir evidencias previas de las causas de la nueva problemática. No obstante, los estudios realizados en el presente trabajo de investigación, dan cuenta que la enfermedad de “decaimiento” del pachaco sería de origen biótico, ya que en los árboles enfermos se encontraron fitopatógenos fungos asociados a tejidos necrosados.

Los valores de incidencia (1,7%) y severidad (13 árboles enfermos en escala 2) de la enfermedad de “decaimiento” en la plantación evaluada de *S. parahybum*, si bien fueron bajos y aparentemente no representan un problema fitosanitario serio en los actuales momentos, sí pone de manifiesto la presencia de una nueva patogenia en esta especie forestal, por lo que es necesario evaluaciones periódicas de la evolución de la enfermedad a nivel de campo. Al comparar los valores de incidencia de la enfermedad de “marchitez vascular y pudrición del fuste” (36%) reportados por Belezaca-Pinargote *et al.*, 2011, con los de la enfermedad de “decaimiento” (1,7%), queda en evidencia la diferencia en agresividad que existe entre las dos enfermedades presentes en las plantaciones de *S. parahybum* del THE.

Desde tejidos necrosados de árboles enfermos de *S. parahybum* se detectaron, aislaron e identificaron tres hongos fitopatógenos, *Fusarium* sp. 1, *Fusarium* sp. 2, y *Botryodiplodia* sp., microorganismos reportados en la literatura científica como asociados a enfermedades vasculares y pudrición de tallos en especies agrícolas y forestales de importancia económica a nivel global (Sowmya *et al.*, 2018; Zhu *et al.*, 2020). En este sentido, Belezaca-Pinargote *et al.* (2021b) reportaron a *Fusarium* spp., asociado a árboles enfermos de *Gmelina arborea* (melina) en Ecuador, sin embargo su implicación directa en la patología de la especie forestal aún no es concluyente.

Fusarium sp. es un hongo imperfecto, cosmopólita, cuyo género está constituido por un amplio número de especies, vive generalmente en el suelo y algunas de sus especies son patógenas de vegetales. Aunque es común que en análisis microbiológicos de tejidos vegetales necrosados se aislen colonias de *Fusarium* sp. no necesariamente suelen ser

agentes causales de la patogénesis, debido a la conducta saprofítica que poseen la mayor parte de especies de este género fúngico (Hollyday, 1980; Salerno, 2000).

La sintomatología que presentan los árboles con la enfermedad de “decaimiento” poseen características distintas a las generadas por otras enfermedades en otras especies forestales tropicales, como *A. fraxinifolius* (Belezaca-Pinargote *et al.*, 2005), *T. grandis* (Belezaca-Pinargote *et al.*, 2021a), e incluso dentro del mismo *S. parahybum* (Belezaca-Pinargote *et al.*, 2011).

Es conocido que todo fitopatógeno necesita de una puerta de ingreso para infectar y diseminarse en los tejidos internos de vegetales (Agrios, 2005). No obstante, a pesar que en el presente estudio no se encontraron heridas naturales o de origen antropogénico que actuaran como punto de ingreso de microorganismos fitopatógenos, se detectó que los tejidos jóvenes, suculentos, poco lignificados del último tercio de los árboles de *S. parahybum* facilitan el ingreso de hongos patógenos hacia el xilema, evidencia de ello son las lesiones necróticas longitudinales observadas en esta parte de los árboles enfermos.

Las inoculaciones controladas realizadas a nivel de vivero en plantas de *S. parahybum* de cuatro meses de edad con los fitopatógenos aislados desde árboles enfermos de pachaco, mostraron que todos los hongos inoculados son patógenos de la especie forestal, sin embargo, también detectó la existencia de variabilidad en los niveles de fitopatogenicidad que genera cada microorganismo. Los resultados demuestran una mayor patogenicidad de *Fusarium* sp. 1 y de la combinación de todos los hongos *Fusarium* sp. 1 + *Fusarium* sp. 2 + *Botryodiplodia* sp., reflejados en un mayor volumen aparente de necrosis, frente a *Fusarium* sp. 2 y *Botryodiplodia* sp. que generaron menor necrosis cuando se inocularon de forma independiente.

Aunque *Fusarium* sp. 1, solo y en combinación con los demás hongos mostraron mayor patogenicidad hacia pachaco, los resultados no son concluyentes y no se podría asegurar que este fitopatógeno o la combinación de los mismos son el o los agentes causales de la enfermedad de “decaimiento” en *S. parahybum*, pero si se convierten en una alerta temprana de la problemática que puede agudizarse en el futuro, por lo que es necesario seguir investigando al respecto.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones.

- La incidencia de la enfermedad de “decaimiento” en la plantación de *S. parahybum* (Pachaco) estudiada fue baja (1,7%), donde la mayor parte de los árboles están aparentemente sanos. Los árboles enfermos se encontraron en la categoría 2 de la escala arbitraria usada, lo cual indica que la enfermedad se encuentra en un estado inicial.
- Se aislaron e identificaron los hongos *Fusarium* sp. 1, *Fusarium* sp. 2, y *Botryodiplodia* sp., desde tejidos necrosados del fuste de árboles enfermos de *S. parahybum*, (Pachaco) tanto en cámara húmeda, sandwiches de zanahoria, y en medio de cultivo PDA.
- La sintomatología de los árboles de *S. parahybum* (pachaco) enfermos, posee características diferentes a las generadas por otras enfermedades en otras especies forestales tropicales como *A. fraxinifolius*, (Cedro Roasdo) *T. grandis*, (Teca) e incluso el mismo *S. parahybum* (Pachaco).
- Las plantas de *S. parahybum* (pachaco) inoculadas no generaron síntomas visibles de la enfermedad y presentaron una apariencia óptica de sanidad similar a las plantas control, sin embargo una vez diseccionadas se pudo observar el avance notorio de los microorganismos.
- Si bien, las plantas de *S. parahybum* (Pachaco) inoculadas con los hongos no presentaron síntomas visibles de la enfermedad, y no murieron, los volúmenes aparentes de necrosis generados por *Fusarium* sp. 1 ($0,51\text{ cm}^3$), y *Fusarium* sp. 1 + *Fusarium* sp. 2 + *Botryodiplodia* sp. ($0,51\text{ cm}^3$) fueron superiores a los producidos por los otros hongos, lo cual indicaría su implicación en la enfermedad de pachaco, aunque los resultantes no son concluyentes.
- Las plantas de *S. parahybum* (pachaco) inoculadas no generaron sintomatología visible y presentaron una buena apariencia óptica de sanidad similar a las plantas

control, sin embargo una vez diseccionadas se pudo observar el avance notorio del hongo.

5.2. Recomendaciones

- Efectuar monitoreos permanentes en las plantaciones de *S. parahybum* del Trópico Humedo Ecuatoriano, con el propósito de detectar árboles enfermos y proceder a retirarlos para evitar la diseminación dela enfermedad.
- Inocular los fitopatógenos aislados de árboles enfermos en árboles jóvenes sanos de *S. parahybum* a nivel de plantación con el propósito de estudiar la evolución de la enfermedad en el campo.

CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍA

6.1. Bibliografía

Ávila-Loor, A.A. 2016. Identificación de microorganismos fungosos asociados a la enfermedad de muerte regresiva en plantaciones de *Tectona grandis* L.F. (teca) en la zona central del Trópico Húmedo Ecuatoriano. Proyecto de Investigación de Ingeniero Forestal. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Quevedo, Ecuador. 63 p.

Agrios, G. 2005. Plant Pathology. (5thed.) Published Elsevier. United States of America. 948 p.

Barnett, H. y Hunter, B. 1987. Illustrated genera of Imperfect fungi Macmillan Publishing Company. Fourth Edition. USA. 218 P.

Belezaca, C. y Suárez, C. 2001. Agentes Bióticos que causan la muerte de *Schizolobi um parahybum*. In: Memorias de XI Seminario Nacional de Sanidad Vegetal. Universidad Técnica de Baba hoyo. Babahoyo, Ecuador. pp. 212 – 221.

Belezaca, C. 2002. Etiología y Manejo de la Pudrición del fuste de *Schizolobium parahybum* (pachaco) en la zona Central del Litoral Ecuatoriano. Tesis de Ingeniero Forestal. Facultad de Ciencias Ambientales (FCA). Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ). Quevedo, Ecuador. 79 p.

Belezaca, C. y Suárez, C. 2003. Muerte regresiva de *Schizolobium parahybum* (pachaco) en el Trópico Ecuatoriano. In: Memories XII World Forestry Congress, Québec – Canada. 0294-B3.

Belezaca, C., Díaz, G., Ramos, L. y Ricachi, N. 2005. Agentes biológicos asociados a la muerte regresiva de *Acrocarpus fraxinifolius* Wight et Arn “cedro rosado” (Fabaceae: Leguminosae) en el Litoral ecuatoriano. In Memorias de la II Jornada Nacional de Investigación Forestal. Quevedo, Ecuador.

Belezaca, C., Suárez, C. y Vera, D. 2011. Hongos fitopatógenos asociados a la enfermedad de muerte regresiva y pudrición del fuste de pachaco (*Schizolobium parahybum*) en el Trópico Húmedo Ecuatoriano. *Boletín Micológico*, 26: 15 – 22.

Belezaca, C.; Mora, W.; Prieto, O.; Cedeño, P.; Moran, J. y Valenzuela, E. 2012a. Hongos asociados a problemas fitosanitarios emergente en especies forestales de importancia económica del Trópico Húmedo Ecuatoriano. *In* Libro de resúmenes del XXI Congreso de la Sociedad Chilena de Fitopatología. Puerto Varas, Chile. pp. 79.

Belezaca, C., Suárez, C., Cedeño, P., Mora, W., Díaz, G. y Garcés, F. 2012b. Propuesta de un método para evaluar resistencia genética en *Schizolobium parahybum* (vell.) Blake (pachaco) frente a *Ceratocystis* spp.: evidencias preliminares de resistencia en Ecuador. *Boletín Micológico*, 27: 8 – 27.

Belezaca-Pinargote, C., Solano-Apuntes, E., López-Tobar, R., Baque-Mite, R., Ávila-Loor, A., Cóndor-Jiménez, M., Bohórquez-Barros, T. y Dueñas-Alvarado, D. 2018. Hongos fitopatógenos asociados a la enfermedad de marchitez vascular y muerte regresiva en plantaciones de *Tectona grandis* L.f. (teca) en el Trópico Húmedo Ecuatoriano. *Boletín Micológico*, 33(2): 17-29.

Belezaca-Pinargote, C., Solano-Apuntes, E., López-Tobar, R., Cóndor-Jiménez, M., Beltrán-Castro, F. y Díaz-Navarrete, P. 2020. *Ceratocystis fimbriata* agente causal de la enfermedad de marchitez vascular de *Tectona grandis* L.f. (teca) en Ecuador. *Boletín Micológico*, 35(1): 17-25.

Belezaca-Pinargote, C., Solano-Apuntes, E., López-Tobar, R. y Macías-Moncayo, M. 2021a. Problemas forestales e incidencias en el ser humano: Experiencia de *Gmelina arborea* en Ecuador. *Revista de Ciencias Sociales*, XXVII (Número Especial 3), 309- 325.

Belezaca-Pinargote, C., Solano-Apuntes, E., López-Tobar, R., Morales-Escobar, C. y Díaz-Navarrete, P. 2021b. Presence of *Fusarium* spp. complex in diseased trees of *Gmelina arborea* Roxb (melina) in Ecuador. *Revista Científica Interdisciplinaria Investigación y Saberes*, 11(2): 78-94.

Cannon, P. 1990. Patología Forestal en el Ecuador. Unidad de Protección Forestal DINAF/MAG-USAID. Centro de Investigaciones y Capacitación Conocoto. Quito, Ecuador. 209 p.

CMI (Commonwealth Mycological Institute). 1983. Plant pathologist's Pocketbook. London, England. 267 p.

Cóndor-Jiménez, M. 2017. Determinación del agente causal de la enfermedad de marchitez vascular y muerte regresiva de *Tectona grandis* L.f. en el Trópico Húmedo Ecuatoriano. Proyecto de Investigación de Ingeniera Forestal. Facultad de Ciencias Ambientales. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador. 55 p.
<http://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/2015>

CORMADERA-OIMT. 1997. Manual para la producción de pachaco. Quito, Ecuador. 51 p.

CORMADERA. 2001. Guías técnicas para el establecimiento y manejo de plantaciones forestales, productivas en el Litoral ecuatoriano. Quito, Ecuador. 16 p.

Estrada, A. 1997. Manual para la producción de pachaco *Schizolobium parahybum* (Vell.) Blake. Corporación de Desarrollo Forestal y Maderero. Serie: Manual para la Producción – CORMADERA. Nro. 6. Quito, Ecuador. 51 p.

Estupiñán, H. y Ossa, J. 2007. Efecto del agente causal de la marchitez vascular de la Uchuva (*Physalis peruviana* L.) el hongo *Fusarium oxysporum* schlecht, sobre algunas Solanaceae y otras especies cultivadas afectadas por formas especiales del microorganismo (tesis de pregrado). Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá, Colombia. 89 p.

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. *Ciencia y Tecnología*, 3(1): 15-22.

Garbelotto, M. & P. Gonthier. 2018. Forest Pathology and Plant Health. MDPI Books. Editorial Office. Basel, Switzerland. 234 p.

Hanlin, R. 1992. Illustrated genera of Ascomycetes. APS. PRESS. *The American Phytopathological Society*. Saint. Paul, Minnesota. pp. 18 – 20; 48 – 49.

Hernández, O. 2010. Detección y caracterización del agente causal del tizón foliar en Teca (*Tectona grandis* L. F.) en Huimanguillo, Tabasco (tesis de pregrado). Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 63 p.

Hollyday, P. 1980. Fungus diseases of tropical crops. Cambridge University Press. Gran Bretaña. pp 253 -254.

Iezzi, M., Cruz, P., Varela, D., De Angelo, C. y Di Bitetti, M. 2018. Tree monocultures in a biodiversity hotspot: Impact of pine plantations on mammal and bird assemblages in the Atlantic Forest. *Forest Ecology and Management*, 424: 216-227.

INEFAN-ITTO. 1995. Autoecología de la especie pachaco. Cartilla No. 3 DINICE. Conocoto, Ecuador. 7 p.

Li, J.; Zhang, Y.; Xu, K.C.; Yang, J.Y.; Han, Y.H.; Sun, Y.X. y Huang, Q. 2014. First Report of Wilt of *Eucalyptus* Caused by *Ceratocystis fimbriata* in China. *Plant Disease*, 98(12): 1744.

MAGAP (Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca). 2016. Programa de incentivos para la reforestación con fines comerciales. Guayaquil, Ecuador. 71 p.

Macías-Moncayo, M. 2019. Determinación del agente causal de la enfermedad de marchitez vascular y pudrición del fuste de *Gmelina arborea* Roxb. en el Trópico Húmedo Ecuatoriano. Proyecto de Investigación de Ingeniera Forestal. Facultad de Ciencias Ambientales. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador. 47 p.
<http://biblioteca.uteq.edu.ec/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=16890>

Manoharachary, C., Tylan, K., Mallaiah, K. y Kunwar, I. 2016. Mycology and Microbiology. A textbook for UG and PG courses. Scientific Publisher. India. 606 p.

Muñoz, M. y Vera, W. 2012. Efectos de tres métodos pre-germinativos y tres sustratos en la propagación de melina (*Gmelina arborea* Roxb.) en el recinto Sabanetillas, Cantón Echeandía Provincia Bolívar. Tesis de pregrado. Universidad Estatal De Bolívar. Bolívar, Ecuador. 177 p.

Ospina, C.M., Posada, S.J., Gil, Z. y Castro, B. 2003. Especies forestales nativas: El tambor. Aspectos fitosanitarios en Colombia. Boletín Técnico No. 25. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. CENICAFE. Caldas, Colombia. 40 p.

Parkinson, D. 1994. Filamentous fungi. In Weaver, R., Angle, S., Bottomley, P., Bezdicek, D., Smith, S., Tabatabai, A., Wollum, A. (eds). Methods of Soil Analysis. Part 2, Microbiological and Biochemical Properties. Number 5 in Soil Science Society of America Book Series. *Soil Science Society of America. Inc., Madison, Wisconsin, United States*. 329 – 350 p.

Piveta, G., Ferreira, M., Muniz, M., Valdetaro, D., Valdebenito-Sanhueza, R., Harrington, T. y Alfenas, A. 2016. *Ceratocystis fimbriata* on kiwifruit (*Actinidia* spp.) in Brazil. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 44: 13-24.

Ramírez, W. 1990. Determinación e identificación de los agentes causales de la pudrición del fuste del Pachaco en la zona central del Litoral Ecuatoriano. Tesis Ingeniero Forestal. Universidad Nacional de Loja. Loja, Ecuador. 65 p.

Rivera, M. y Wright, E. 2020. Apuntes de patología vegetal. Fundamentos y prácticas para la salud de las plantas. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. 97 p.

Robinson, R., Evans, R., Mechaber, W. y Wallace, R. 2001. Plant Science. Macmillan Reference USA. Canadá. 257 p.

Rojas, F. 2005. Plantaciones Forestales. Editorial Universidad Estatal a Distancia. San José, Costa Rica. 229 p.

Ruiz de Centurión, C. 1993. Caesalpinaceae. A. p. de Candolle. In: Killeen, T.J., García, E., Beck, S.G. Guía de árboles de Bolivia. La Paz, Herbario Nacional de Bolivia – Missouri Botanical Garden. pp. 395-419.

Salerno, M., Gianinazzi, S. y Gianinazzi-Pearson, V. 2000. Effects on growth and comparison of root tissue colonization patterns of *Eucalyptus viminalis* by pathogenic and nonpathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. *New Phytologist*, 146(2): 317-324.

Salto-Sampedro, R. 2019. Identificación de microorganismos fungosos asociados a la enfermedad de marchitez vascular y pudrición del fuste de *Gmelina arborea* Roxb. (Melina) en la zona central del Trópico Húmedo Ecuatoriano. Tesis de Ingeniero Forestal. Facultad de Ciencias Ambientales. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Quevedo, Ecuador. 63 p. <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/3757/1/T-UTEQ-0087.pdf>

Sowmya, P., Nishitha, V., Sivaprasat, V. y Girih, V. 2018. Characterization and correlation of pathogenicity of *Botryodiplodia theobromae* isolates, the causal agent of black root rot of mulberry (*Morus* spp.). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 51(19-20): 1022-1038.

Torres, J. 1995. Determinación de áreas de aptitud forestal para el establecimiento de plantaciones en el Litoral Ecuatoriano. Ficha Nro. 5. INEFAN – ITTO. Ecuador. pp. 86–92.

Von Arx, J.A. 1981. The Genera of Fungi Sporulating in Pure Culture. Ed. Cramer J. Germany. 424 p.

Zhu, Y., Lujan, P., Wedegaertner, T., Nichols, R., Abdelraheem, A., Zhang, J. y Sanogo, S. 2020. First Report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* Race 4 Causing *Fusarium* Wilt of Cotton in New Mexico, U.S.A. *Plant Disease*, 104(2): 588-594.

CAPÍTULO VII

ANEXOS

Proyecto : Etiología de la enfermedad de decaimiento y muerte descendente en plantaciones de *Schizolobium parahybum* (Vell.) S.F. Blake (pachaco) en el Trópico Húmedo Ecuatoriano.

Finca/Hacienda	Fecha
Parcela	Superficie de Parcela
Coordenadas	Evaluar

[illegible]

1: Árbol aparentemente sano, no hay evidencia de síntomas visibles; 2: Amarrillamiento inicial de la copa, el fuste puede tener pequeñas heridas necrosadas y con exudación negra en sitios diferentes o donde hubo poca natural, puede iniciar la aparición de rebrotes. No todos los síntomas se expresan; 3: El árbol está visiblemente enfermo. Hay lesiones tipo cancro en la corteza con indicios de pudrición, presencia de exudación; pérdida de masa de un 50% del área foliar en un patrón progresivo; rebrotes desarrollados; 4: Afecación total del individuo; ausencia total de follaje; hay pérdida y desprendimiento evidente de ramas, aun se observan rebrotes en algunos sectores del tronco; pudrición y exudación en la zona cancerosa (cancro) se manifiesta con claridad; 5: Árbol completamente muerto, la madera ha perdido completamente su valor comercial.

52



Anexo 2. Evaluación de variables dasométricas, incidencia y severidad de la enfermedad de “decaimiento” en *S. parahybum* a nivel de plantación.



Anexo 3. Preparación de plántulas de *S. parahybum* a nivel de vivero.



Anexo 4. Limpieza y mantenimiento del vivero de plántulas de *S. parahybum* mientras se desarrolla antes de las inoculaciones.



Anexo 5. Proceso de inoculación de los hongos fitopatógenos en plantas de *S. parahybum* a nivel de vivero.

