



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

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

Título:

Determinación del agente causal de la enfermedad de marchitez vascular y pudrición del
fuste de *Gmelina arborea* Roxb. en el Trópico Húmedo Ecuatoriano

Autora:

Mariela Lorena Macías Moncayo

Director:

Dr. Carlos Eulogio Belezaca Pinargote

Quevedo - Los Ríos – Ecuador

2019

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Mariela Lorena Macías Moncayo**, declaro que la investigación aquí descrita es de mi autoría; que 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 a este documento, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente.

f. _____

Mariela Lorena Macías Moncayo

C.C. # 0919286781

CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

El suscrito, **Dr. Carlos Eulogio Belezaca Pinargote**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que la estudiante **Mariela Lorena Macías Moncayo**, realizó el Proyecto de Investigación de grado titulado “**Determinación del agente causal de la enfermedad de marchitez vascular y pudrición del fuste de *Gmelina arborea* Roxb. en el Trópico Húmedo Ecuatoriano**”, previo a la obtención del título de **Ingeniera Forestal**, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

f. _____

Dr. Carlos Eulogio Belezaca Pinargote

DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN



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

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:

Título:

“Determinación del agente causal de la enfermedad de marchitez vascular y pudrición del fuste de *Gmelina arborea* Roxb. en el Trópico Ecuatoriano”

Presentado al Consejo Directivo como requisito previo a la obtención del Título de Ingeniera Forestal:

Aprobado:

Ing. Elías Cuásquer Fuel
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Dr. Rommel Crespo Gutiérrez
INTEGRANTE DEL TRIBUNAL

Dr. Jaime Morante Carriel
INTEGRANTE DEL TRIBUNAL

Quevedo - Los Ríos - Ecuador

2019

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mi DIOS todopoderoso por brindarme la vida y la oportunidad de finalizar mis estudios.

A la UTEQ, a la Facultad de Ciencias Ambientales y al Laboratorio de Microbiología Ambiental y Vegetal UTEQ, por abrir sus puertas y darme la oportunidad de formarme como profesional.

Al Dr. Carlos Belezaca Pinargote, Director del Proyecto de Investigación, por su gran colaboración y apoyo incondicional en la presente investigación.

Al proyecto FOCICYT PFOC 6 – 45 – 2018, titulado “Etiología de la pudrición del fuste en árboles de *Gmelina arborea* Roxb. (melina) en la zona central del Trópico Húmedo Ecuatoriano”

A mis amigos y a todas las personas que, durante este periodo de estudio, esfuerzo y sacrificio, de una u otra manera y de forma desinteresada, ayudaron para que unas de mis metas se cumplan.

DEDICATORIA

A mi abuela Sra. Alejandra Rojas, a mis padres Sr. José Macías Moreno y Sra. Rosaura Moncayo Rojas, a mis hermanos Ing. Pamela Macías y Sgto. Marvin Macías a mis dos hijos: Pablo Ezequiel y Jacob Misael, por todo el apoyo brindado durante todas las etapas de mi vida, por los buenos y malos momentos juntos, por la ayuda sincera y desinteresada, por la motivación diaria, por todo esto y mucho más les agradezco de corazón y con mucho cariño les dedico este trabajo.

“Gracias padres, por todo lo que me han dado en mi vida”

Mariela Macías M.

RESUMEN EJECUTIVO

La presente investigación tuvo como objetivo determinar el agente causal de la enfermedad de marchitez vascular y muerte regresiva de *Gmelina arborea* Roxb. en el Trópico Húmedo Ecuatoriano (THE), en condiciones de invernadero. Para ello se estableció un Diseño Completamente al Azar (DCA), con cuatro tratamientos. Los tratamientos estuvieron constituidos por la inoculación de segmentos de colonias de 0.5 cm de diámetro de los siguientes fitopatógenos: **T1** = *Ceratocystis fimbriata*, **T2** = *Fusarium* sp., **T3** = *C. fimbriata* + *Fusarium* sp., y **T4** = agar agua (Control). Cada tratamiento estuvo constituido por 35 repeticiones (35 plantas de tres meses de edad por tratamiento). Después de 45 días de incubación las plantas se diseccionaron mediante cortes longitudinales y transversales, a partir de lo cual se estimó el volumen aparente de necrosis (cm) y la longitud total de necrosis (cm). Los volúmenes aparentes de necrosis (0.31 cm^3 y 0.19 cm^3) y longitudes totales de necrosis (6.76 cm y 5.79 cm) generados por las inoculaciones de *C. fimbriata*, y *C. fimbriata* + *Fusarium* sp., y su superioridad estadística frente a los generados por *Fusarium* sp. (0.038 cm^3 y 1.74 cm respectivamente), quien pese a mostrar valores menores, tuvo un comportamiento diferenciado con relación al tratamiento control, lo cual permiten sugerir que el patógeno causante de la enfermedad de marchitez vascular y pudrición del fuste probablemente sea *C. fimbriata*. La sintomatología observada en las plantas de melina inoculadas con los tratamientos *C. fimbriata*, y *C. fimbriata* + *Fusarium* sp., es similar a la detectada a nivel de campo en árboles jóvenes y adultos enfermos en plantaciones puras o en linderos del Trópico Húmedo Ecuatoriano. Esta investigación constituye el primer reporte técnico científico del ataque de *C. fimbriata* a árboles de melina en el Trópico Húmedo Ecuatoriano.

Palabras claves: Fitopatógenos, Inoculación, Pruebas de patogenicidad, Etiología.

ABSTRACT

The objective of the present investigation was to determine the causative agent of the vascular wilt disease and regressive death of *Gmelina arborea* Roxb. in the Ecuadorian Humid Tropic (THE), under greenhouse conditions. For this, a Completely Random Design (DCA) was established, with four treatments. The treatments were constituted by the inoculation of segments of colonies of 0.5 cm in diameter of the following phytopathogens: T1 = *Ceratocystis fimbriata*, T2 = *Fusarium* sp., T3 = *C. fimbriata* + *Fusarium* sp., T4 = water agar (Control). Each treatment was constituted by 35 repetitions (35 plants of three months of age per treatment). After 45 days of incubation the plants were dissected by longitudinal and transverse cuts, from which the apparent volume of necrosis (cm) and the total length of necrosis (cm) were estimated. The apparent volumes of necrosis (0.31 cm³ and 0.19 cm³) and total lengths of necrosis (6.76 cm and 5.79 cm) generated by the inoculations of *C. fimbriata*, and *C. fimbriata* + *Fusarium* sp., and their statistical superiority over those generated by *Fusarium* sp. (0.038 cm³ and 1.74 cm respectively), who despite showing lower values, had a differentiated behavior in relation to the control treatment, which suggest that the causative pathogen of vascular wilt disease and stem rot is probably *C. fimbriata*. The symptomatology observed in the melina plants inoculated with the treatments *C. fimbriata*, and *C. fimbriata* + *Fusarium* sp., is similar to that detected at the field level in young trees and sick adults in pure plantations or on the borders of the Ecuadorian Humid Tropic. This research constitutes the first scientific technical report of attack of *C. fimbriata* attacks melina trees in the Ecuadorian Humid Tropic

Key words: Etiology, Inoculation, Phytopathogens, Pathogenicity tests.

TABLA DE CONTENIDO

Pág.

PORTADA.....	i
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS.....	ii
CERTIFICACION DE CULMINACION DEL PROYECTO DE INVESTIGACION.....	iii
CERTIFICADO DE APROBACION POR TRIBUNAL DE SUSTENTACION.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
DEDICATORIA.....	vi
RESUMEN JECUTIVO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
TABLA DE CONTENIDO.....	ix
ÍNDICE DE TABLA.....	xii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiv
CÓDIGO DUBLÍN	xv
INTRODUCCION.....	1
CAPÍTULO I.....	3
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	3
1.1. Problematización de la investigación.	4
1.1.1. Planteamiento del problema	4
1.1.2. Diagnóstico del problema.....	4
1.1.3. Formulación del problema.....	4
1.1.4. Sistematización del problema	5
1.2. Objetivos	5
1.2.1. General	5
1.2.2. Específicos.....	5
1.3. Justificación	6
CAPÍTULO II.....	7
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN	7
2.1. Marco conceptual	8
2.1.1. Melina (<i>Gmelina arborea</i> Roxb.).....	8

2.1.2.	Patogenicidad	12
2.1.3.	Marchitez vascular	13
2.1.4.	Hongos	13
2.1.5.	<i>Ceratocystis fimbriata</i>	13
2.1.6.	<i>Fusarium</i> sp.....	15
2.1.7.	Problemas fitopatológicos en especies forestales en Ecuador	16
2.2.	Marco referencial	20
CAPÍTULO III		23
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....		23
3.1.	Localización	24
3.2.	Materiales y Equipos	24
3.2.1.	Materiales de laboratorio	24
3.2.2.	Equipos de oficina.....	25
3.3.	Diseño de la investigación	25
3.3.1.	Características del campo experimental	25
3.3.2.	Preparación del inóculo	26
3.3.3.	Inoculación.....	26
3.3.4.	Descripción de síntomas	27
3.3.5.	Tratamientos y Diseño Experimental	27
CAPÍTULO IV		28
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		28
4.1.	Resultados	29
4.1.1.	Volumen aparente de necrosis (cm ³) generado por fitopatógenos inoculados en plantas de melina.	29
4.1.2.	Longitud total de necrosis (cm) generada por fitopatógenos inoculados en plantas de melina.	30

4.1.3. Longitud ascendente y descendente de necrosis (cm) generada por fitopatógenos inoculados en plantas de melina.	31
4.1.4. Descripción de la sintomatología	32
4.1.5. Reaislamiento de los microorganismos inoculados	33
4.2. Discusión	34
CAPÍTULO V.....	36
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	36
5.1. Conclusiones	37
5.2. Recomendaciones.....	38
CAPÍTULO VI	39
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	39
6.1. Referencias Bibliográficas.....	40
CAPÍTULO VII.....	45
ANEXOS.....	45
7.1. Anexos	46

INDICE DE TABLAS

Pág.

Tabla 1.	Longitud ascendente y descendente de necrosis (cm) generada por la inoculación de hongos fitopatógenos (tratamientos) en plantas de <i>Gmelina arborea</i> (melina) de 3 meses de edad, a los 45 días de inoculación a nivel de invernadero.	31
-----------------	--	----

	INDICE DE FIGURAS	Pág.
Figura 1.	Volumen aparente de necrosis (cm ³) generado por hongos fitopatógenos (tratamientos) inoculados en plantas de <i>Gmelina arborea</i> (melina) de 3 meses de edad, 45 días después de inoculados a nivel de invernadero.	29
Figura 2.	Longitud total de necrosis (cm) generada por hongos fitopatógenos (tratamientos) inoculados en plantas de <i>Gmelina arborea</i> (melina) de 3 meses de edad, 45 días después de inoculados a nivel de invernadero.	30
Figura 3.	Sintomatología progresiva generada por la inoculación de microorganismos fungosos en plantas de melina a nivel de invernadero. Tratamientos: <i>C. fimbrita</i> , y <i>C. fimbrita</i> + <i>Fusarium</i> sp. A = Planta recién inoculada (sana), B = Sistema foliar con inicios de clorosis, C = Sistema foliar con pérdida de turgencia y emisión de brotes epicórmicos bajo el punto de inoculación, D = Sistema foliar fuertemente afectado por la marchitez vascular, E = Sistema foliar muerto, totalmente defoliado, brotes epicórmicos bajo el punto de inoculación.	32
Figura 4.	Plantas de melina inoculadas con (A) <i>Fusarium</i> sp. a los 45 días de incubación, sin presencia visible de síntomas de enfermedad, con aspecto similar a (B) las plantas control (sin inoculación de fitopatógenos).	33

	INDICE DE ANEXOS	Pág.
Anexo 1	Evidencias fotográficas sobre la investigación	46
Anexo 2	Tratamiento de <i>Ceratosystis fimbriata</i> + <i>Fusarium</i> sp.	47

CÓDIGO DUBLÍN

Título:	Determinación del agente causal de la enfermedad de marchitez vascular y pudrición del fuste de <i>Gmelina arborea</i> Roxb. en el Trópico Húmedo Ecuatoriano.				
Autora:	Macías Moncayo Mariela Lorena				
Palabras claves:	Inoculación	Marchitez vascular	Etiología	Pruebas de patogenicidad	Fitopatógenos
Fecha de publicación:					
Editorial:	FCAMB; Carrera de Ingeniería Forestal; Macías, M.				
Resumen:	La presente investigación tuvo como objetivo determinar el agente causal de la enfermedad de marchitez vascular y muerte regresiva de <i>Gmelina arborea</i> Roxb. en el Trópico Húmedo Ecuatoriano (THE), en condiciones de invernadero. Para ello se estableció un Diseño Completamente al Azar (DCA), con cuatro tratamientos. Los tratamientos estuvieron constituidos por la inoculación de segmentos de colonias de 0.5 cm de diámetro de los siguientes fitopatógenos: T1 = <i>Ceratocystis fimbriata</i>, T2 = <i>Fusarium</i> sp., T3 = <i>C. fimbriata</i> + <i>Fusarium</i> sp., y T4 = agar agua (Control). Cada tratamiento estuvo constituido por 35 repeticiones (35 plantas de tres meses de edad por tratamiento). Después de 45 días de incubación las plantas se diseccionaron mediante cortes longitudinales y transversales, a partir de lo cual se estimó el volumen aparente de necrosis (cm) y la longitud total de necrosis (cm). Los volúmenes aparentes de necrosis (0.31 cm³ y 0.19 cm³) y longitudes totales de necrosis (6.76 cm y 5.79 cm) generados por las inoculaciones de <i>C. fimbriata</i>, y <i>C. fimbriata</i> + <i>Fusarium</i> sp., y su superioridad estadística frente a los generados por <i>Fusarium</i> sp. (0.038 cm³ y 1.74 cm respectivamente), quien pese a mostrar valores menores, tuvo un comportamiento diferenciado con relación al tratamiento control, lo cual permiten sugerir que el patógeno causante de la enfermedad de marchitez vascular y pudrición del fuste probablemente sea <i>C. fimbriata</i>. La sintomatología observada en las plantas de melina inoculadas con los tratamientos <i>C. fimbriata</i>, y <i>C. fimbriata</i> + <i>Fusarium</i> sp., es similar a la detectada a nivel de campo en árboles jóvenes y adultos enfermos en plantaciones puras o en linderos del Trópico Húmedo Ecuatoriano. Esta investigación constituye el primer reporte técnico científico del ataque de <i>C. fimbriata</i> a árboles de melina en el Trópico Húmedo Ecuatoriano.				
Descripción:	47 Hojas: dimensiones, 29 x 21 cm + CD-ROM				
URI:					

INTRODUCCIÓN

La especie forestal Melina (*Gmelina arborea* Roxb.) pertenece a la familia Verbenaceae, originaria del sureste de Asia, específicamente de la India. Se distribuye en los países tropicales a nivel mundial, en un rango altitudinal entre los 0 a 1.000 msnm. Árbol deciduo que alcanza hasta los 30 m de altura y hasta los 120 cm de diámetro. En el Ecuador existen las condiciones climáticas y edafológicas necesarias para el buen desarrollo de la especie, la cual es exótica y muy importante para el desarrollo económico (Tafur, 2017).

Desde la introducción de *G. arborea* al Ecuador, se ha convertido en un rubro importante para la economía del país, con una significativa superficie plantada, donde hasta el año 2015 existían 11.458 hectáreas que representaban el 21,9% de las 52.395 hectáreas plantadas con otras especies forestales de importancia económica (teca, balsa, pino, otras) registradas en el país, aportando aproximadamente con igual porcentaje de empleos directos e indirectos, frente a los 462.596 reportados para el mismo año y en las especies forestales mencionadas anteriormente, principalmente estimuladas por el Programa de Incentivos Forestales que regentaba el MAGAP durante el gobierno anterior (MAGAP, 2016).

No obstante, los árboles de melina, como cualquier otra especie vegetal, son susceptibles de ataque de organismos fitopatógenos que pueden llegar a comprometer seriamente su sobrevivencia. Visto desde un punto de vista económico, pueden causar un detrimento importante en la productividad y valor de los productos que se espera obtener de la especie. En este sentido, la extensión y distribución de plantaciones puras de melina en el Trópico Húmedo Ecuatoriano (THE) son un medio propicio para el desarrollo epidémico de problemas fitosanitarios, principalmente si durante su establecimiento y desarrollo no se toman las medidas preventivas apropiadas, brindando las condiciones favorables para que algunos patógenos puedan colonizar y ocasionar patogénesis en árboles susceptibles (Simbaña, 2016).

A partir de los últimos cinco años, una compleja y agresiva enfermedad está afectando las plantaciones comerciales de melina en el THE, manifestándose con un detrimento prematuro y gradual del vigor en los árboles, acompañada de decoloración del sistema

foliar (clorosis) y decaimiento en la curva normal de crecimiento. La problemática fitosanitaria detectada últimamente en melina parece estar asociada a microorganismos fungosos, debido a las características propias de la enfermedad y a la presencia de signos a nivel de campo. En los actuales momentos es notoria la preocupación en el sector maderero, por el riesgo de perder las inversiones realizadas, y ha frenado el interés por el establecimiento de nuevas plantaciones.

Por tal motivo, en esta investigación se pretende estudiar los agentes microbianos fungosos asociados a árboles enfermos de melina en plantaciones de la zona central del THE, y dilucidar 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. Problematización de la investigación.

1.1.1. Planteamiento del problema

Desconocimiento del o los agentes biológicos causales de la enfermedad de marchitez vascular y pudrición del fuste en árboles de ***G. arborea* Roxb.** (melina) en plantaciones del Trópico Húmedo Ecuatoriano.

1.1.2. Diagnóstico del problema

De acuerdo al MAGAP (2016), la superficie plantada con especies forestales tropicales de gran demanda comercial con fines de exportación, se han 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 ***G. arborea*** no es la excepción que se produzcan focos infecciosos de enfermedades que ataquen a este cultivo. Durante casi tres décadas se ha plantado esta especie en el THE con extraordinarios resultados, sin que fitopatógenos ocasionen problemas serios, no obstante, durante los últimos tres o cuatro años se ha detectado el detrimento de plantaciones enteras, cuyos árboles presentan características de enfermedades, una de ellas la conocida como marchitez vascular y pudrición del fuste, que ocasiona la muerte de los árboles.

En los actuales momentos, la presencia de la enfermedad 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 la enfermedad y peor aún mecanismos de prevención, manejo o control de la enfermedad.

1.1.3. Formulación del problema

Considerando la presencia de *Ceratocystis fimbriata* y *Fusarium* sp., en tejidos del 100% de árboles enfermos estudiados, ¿Es este hongo fitopatógeno el agente biológico

causante de la compleja enfermedad de marchitez vascular y pudrición del fuste en ***G. arborea***?

1.1.4. Sistematización del problema

- ¿Cuál es el agente biológico causal de la enfermedad de marchitez vascular y pudrición del fuste en *G. arborea*?
- ¿*Ceratocystis fimbriata* y *Fusarium* sp., serán capaz de ocasionar patogénesis y sintomatología de marchitez vascular y pudrición del fuste en plántulas de melina a nivel de vivero, similar a la observada en plantaciones establecidas?

1.2. Objetivos

1.2.1. General

- Determinar el agente causal de la enfermedad de marchitez vascular y pudrición del fuste de ***Gmelina arborea* Roxb.** en el Trópico Húmedo Ecuatoriano.

1.2.2. Específicos

- Describir la sintomatología desarrollada en plantas de ***G. arborea* Roxb.** inoculadas con *Ceratocystis fimbriata* y *Fusarium* sp., a nivel de vivero.
- Determinar la patogenicidad de los hongos *Ceratocystis fimbriata* y *Fusarium* sp., en plantas de ***G. arborea* Roxb.** a nivel de vivero (Postulados de Koch).

1.3. Justificación

En el Ecuador el sector forestal está adquiriendo significativa importancia, ya que los rubros aportados al PIB son muy relevantes. A nivel del trópico, a excepción del eucalipto y balsa, la melina es una de las especies con mayor potencial de crecimiento, en ciertos sitios puede crecer 5.8 cm/año, a los 31 meses de edad, es decir que podemos tener turnos de aprovechamiento de 9 a 12 años (Jiménez, 2016). En la actualidad la madera de melina se está utilizando para pallet, tableros, pasta de papel, entre otros usos. Gracias a esto se ha creado una gran industria forestal en base a este cultivo, orientadas a la comercialización de productos forestales a nivel nacional como internacional.

Los cultivadores de melina se encuentran preocupados por las inversiones realizadas, e incluso han suspendido el inicio de otras plantaciones, debido a la compleja enfermedad de marchitez vascular y pudrición del fuste que ha reducido notablemente la salud, y por ende la 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. En este sentido, mediante el presente proyecto de investigación se pretende conocer el agente biológico que está ocasionado 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 realizaron en plántulas de melina a nivel de invernadero.

Se espera que los resultados de la presente investigación brinden nuevos conocimientos sobre la etiología de la enfermedad, permitiendo establecer estrategias para prevenir y enfrentar la epidemia. 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

2.1.1. Melina (*Gmelina arborea* Roxb.)

2.1.1.1. Origen

Originario del Asia, en especial de la India en el Sub Himalaya, esporádicamente encontrándose en el Oeste y Sur de la India, se ha difundido a países del cinturón tropical, es un árbol razonablemente fuerte para su peso. Se cultiva en zonas de vida de bosque húmedo y muy húmedo de la región tropical; como también en bosque húmedo montano bajo de la región subtropical (Jiménez, 2016). Siendo nativa de la india, fue introducida como especie exótica en el Ecuador y en nuestro país encontró condiciones edafológicas y climáticas para su desarrollo, con un índice de crecimiento rápido. La melina es una especie forestal acogida por países en desarrollo para suministros futuros de madera procedente de plantaciones forestales (FAO, 2000).

La melina en Ecuador ha demostrado una excelente adaptación, alcanzando alturas en su desarrollo que sobrepasan los 30 metros y producciones de 375 m³/ha en 25 años de cultivo (FAO, 2000).

2.1.1.2. Taxonomía

La melina presenta la siguiente clasificación taxonómica de acuerdo a Rojas *et al.*, (2004:

Reino	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Dicotyledonae
Subclase	:	Magnoliophyta
Orden	:	Lamiales
Familia	:	Verbenaceae
Género	:	<i>Gmelina</i>
Especie	:	<i>arborea</i>
Nombre Científico	:	<i>Gmelina arborea</i> Roxb.
Nombre Vulgar	:	Melina
Origen	:	Sureste de Asia

2.1.1.3. Descripción botánica

2.1.1.3.1. Árbol

Árbol caducifolio de tamaño medio, por lo general es de 15 a 20 m de altura, aunque llegan a alcanzar más de 30 m. Especie con fuste recto y abundante ramificación, las ramas de las copas son lisas, de color marrón, pálido a gris; en los árboles maduros, son de color café amarillento a café claro con manchas blanquecinas su forma en general varía de acuerdo a las condiciones en que se desarrolla (Patiño *et al.*, 1982).

2.1.1.3.2. Hojas

Hojas grandes (10-20 cm de largo), simples, opuestas, enteras, dentadas, usualmente más o menos acorazonadas, de 10-25 cm de largo y 5-18 cm de ancho, decoloradas, el haz verde y glabra, el envés verde pálido y aterciopelado, nerviación reticulada, con nervios secundarios entre 3 y 6 pares y estípulas ausentes. Usualmente la especie se defolia durante los meses de enero o febrero en casi todas las regiones donde se cultiva. Las hojas nuevas se producen en marzo o a principios de abril (Jiménez, 2016).

2.1.1.3.3. Flores

Numerosas flores de color amarillo-anaranjadas, en racimos, monoicas perfectas, cuya inflorescencia es un racimo o panícula cimosa terminal, cáliz tubular, corola con 4-5 sépalos soldados a la base del ovario, de color amarillo brillante, cáliz de 2,5 cm de largo y 4 estambres (Jiménez, 2016).

2.1.1.3.4. Frutos

El fruto es una drupa ovoide u oblonga, de 3 a 5 mm de largo, el pericarpio es brillante succulento de color amarillo cuando está madura con pulpa de sabor dulce y pericarpio coriáceo; el endocarpo es un cuesco de textura dura. El número de semillas por fruto varía dependiendo del origen de la fuente semillera (Rojas, 2004).

2.1.1.3.5. Semillas

Posee una forma ovoide membranosa muy delgada, color café, lisa, opaca, con un tamaño mediano, más o menos de largo alrededor de 2 a 3 cm y ancho de 1 a 1,5 cm,

con una dispersión barocónica producción de 700 a 1400 semillas por kilogramo, presenta dos cotiledones y el embrión es recto, capacidad germinativa de un 70% a 90% (Rojas, 2004).

2.1.1.3.6. Raíces

Presenta tejido protector (súber), con presencia a nivel del suelo, pero su sistema radical es profundo, apareciendo sus raíces en suelos que tienen capas endurecidas u otros limitantes de profundidad (Jiménez, 2016).

2.1.1.3.7. Usos

El desconocimiento en cuanto a los usos que brinda esta especie, hace que la producción de melina en el país aún sea débil, pero sin desmerecer poco a poco está entrando en el mercado ecuatoriano. En nuestro país por el desconocimiento total de la importancia en cuanto a las características de la madera se la usa en la elaboración de pallets, tarimas, en poca cantidad en mueblería, sin descartar que en el futuro será una madera que sustituya a varias maderas de la región, para convertirse en una madera pionera para la mueblería entre otros usos y beneficios (Jiménez, 2016).

Los principales usos de la madera de melina son los que se presentan a continuación (Jiménez, 2016):

- La elaboración de chapas decorativas, tableros contrachapados (plywood), tableros listonados (blockboard) aglomerados o de partículas.
- Como madera de aserrío, es apta para construcción estructural (artesonos, vigas, madera en cuadro y reglas) y de obra liviana, de fácil trabajabilidad.
- En la edificación de barcos, cubiertas y en la fabricación de estribos, como también para el revestimiento de interiores de casas y edificios.
- Por su capacidad de resistencia al fuego se emplea para la decoración interior de casas y edificios, y en estructuras internas de edificaciones.

- En carpintería básica se usa para elaborar muebles rústicos y piezas para muebles, ebanistería, gabinetes, paneles y entrepaños, partes laterales y posteriores de gavetas, armarios, muebles de cocina, archivadores y molduras, pisos livianos, tarimas, instrumentos musicales de resonancia, escultura, juguetes, palillos para fósforos, artículos deportivos, mangos de herramientas, canoas, puertas, ventanas, lápices, cajas para frutas, licores y chocolates, entre otros usos.

2.1.1.4. Condiciones de desarrollo

2.1.1.4.1. Temperatura

La melina originaria del sureste de Asia, crece a temperaturas de entre 18-38 °C, siendo la media 24 °C. Su óptimo desarrollo se logra a 25 °C, con un rango de 24-30 °C (Chavarría y Valero, 1993).

2.1.1.4.2. Precipitación

La melina se adapta a condiciones pluviométricas que van desde los 1200 a 2300 mm anuales, teniendo una época seca de 3 a 4 meses, con extremos de 1000 a 4000 mm al año (Jiménez, 2016).

El rango altitudinal es amplio, y en muchos de los casos recomendando plantar la melina a 1200 msnm, pero siempre hay que tomar en cuenta la altura óptima que es de 600 msnm para lograr buenos resultados. Un parámetro importante a considerar al momento de adquirir la semilla es la altitud, exigir la ficha técnica para determinar el rango de plantación. Por lo general, a la altitud registrada en la ficha técnica, considerar máximo +/- 200 msnm, por lo general se gana o se pierde 1 grado de temperatura por cada 200 metros de altitud, y esto es determinante para la producción de madera (Jiménez, 2016).

2.1.1.4.3. Suelo

No crece bien en suelos arcillosos, en pendientes superiores a 30% con problemas de baja fertilidad, bajo contenido de materia orgánica, poca profundidad del suelo, inundados, erosionados, compactados y secos. El crecimiento también se ve afectado en suelos superficiales, con capas endurecidas, impermeables y pedregosas, así como en

suelos ácidos muy lixiviados o arenas secas. El viento es otro factor limitante para su normal crecimiento, por lo que es primordial evitar estos sitios de plantación y perfilarse por sitios con buenas características y por lo general, de topografía plana (Chavarría y Valero, 1993).

En cuanto a la topografía, los mejores sitios son los planos u ondulados con una pendiente no mayor al 30%, sin pedregosidad, con una profundidad efectiva mínima de 60 cm y una óptima mayor a 100 cm, de poca pendiente y baja humedad (Jiménez, 2016).

2.1.2. Patogenicidad

La patogenicidad ha sido definida como la capacidad relativa que tiene un microorganismo fitopatógeno para producir una enfermedad (Agrios, 2005).

Cuando se piensa que un microorganismo puede ser la causa de una enfermedad cualesquiera y no existen estudios previos que los comprueben, por lo tanto, hay que seguir la metodología de los postulados de Koch para verificar o no la hipótesis que el o los microorganismos son la causa para que se produzca la enfermedad (Hernández, 2010). Dichos postulados se los puede resumir así (Hernández, 2010):

1. 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.
2. Se debe aislar y obtener un cultivo axénico del microorganismo en estudio y anotar sus características (morfológicas, culturales, bioquímicas entre otras).
3. 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.
4. El microorganismo fitopatógeno debe ser reaislado otra vez en cultivos axénicos y sus características deberán ser exactamente igual a las del paso dos.

2.1.3. 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).

2.1.4. Hongos

2.1.4.1. Características generales de los hongos

Los hongos son pequeños microorganismos, generalmente microscópicos que carecen de tejidos conductores y clorofila, y por lo tanto deben obtener sus nutrimentos ya elaborados. 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 hongos 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).

2.1.5. *Ceratocystis fimbriata*

Según Agrios (2005) a las especies del género *Ceratocystis* se las clasifica taxonómicamente de la siguiente manera:

Clase	:	Ascomycetes
Subclase	:	Euascomycetidae
Serie	:	Plectomycetes
Orden	:	Microascales

Familia : Ophiostomataceae
Género : *Ceratocystis*

2.1.5.1. Descripción

Muchas especies de *Ceratocystis* son de importancia económica, algunas causan enfermedades de la copa en plantas, tal es el caso de la patata dulce (camote), caucho, café, mango, caña de azúcar y piña; mientras que las otras causan la mancha de la sabia y otros productos del bosque (Upadhyay, 1993).

En el Ecuador se reportó por primera vez *Ceratocystis fimbriata* en el año 1918, ocasionando en el cacao la enfermedad conocida como el Mal de machete, que provocó la muerte de miles de árboles de cacao de tipo Nacional. Posteriormente ha aparecido en otros países de Centro y Sur América (Suarez *et al.*, 1993).

2.1.5.2. Síntomas

- Árboles muertos o con ramas muertas y con hojas secas adheridas. En una etapa temprana se observa la pérdida de turgencia de las hojas y posteriormente el secado de las mismas sin producirse su caída.
- Cambio de color de la corteza, con hundimiento de tejido (cancro). Por debajo de esta se observa decoloración marrón oscura o verdosa y/o bolsas de quino producidas por el árbol como reacción al ataque de hongo.
- En cortes transversales se observa una decoloración radial del xilema (característico de *Ceratocystis fimbriata*), la cual se puede extender longitudinalmente por varios metros en el fuste. Dicha decoloración es mayor en las proximidades del sitio de infección y disminuye gradualmente hacia el ápice del árbol. En etapas más avanzadas se puede observar un avance hacia la base del fuste.

- El secado del árbol o de las ramas ocurre por encima del sitio de infección, pudiéndose observar brotes epicórmicos en el fuste por debajo del punto de ingreso del patógeno.
- En plantas de vivero pueden observarse lesiones longitudinales de color negro en tallos y en algunos casos con borde rojizo. Si se realiza un corte transversal del tallo se observa decoloración (Reyna y Pérez, 2014).

2.1.6. *Fusarium* sp.

Según Arias y Jerez (2008), a la especie del género *Fusarium* sp., se la clasifica taxonómicamente de la siguiente manera:

Súper Reino	:	Eucaryonta
Reino	:	Mycetae
División	:	Eumycota
Sub División	:	Deuteromycotina
Clase	:	Hyphomycetes
Orden	:	Moniliales
Familia	:	Tuberculariceae
Género	:	<i>Fusarium</i>

2.1.6.1. Descripción

Hongo Deuteromicete (imperfecto), patógeno, causante del marchitamiento vascular principalmente en vegetales y flores; además recientemente se ha visto que es responsable de micosis en animales y humanos. Presenta especies fitopatógenos como, *fusarium solani*, *fusarium moniliforme*, *fusarium roseum*, *fusarium lateritium* y *fusarium oxysporum*. La mayoría de los casos del marchitamiento vascular debidos a este género, son producidos por especies de *fusarium oxysporum*; diferentes huéspedes son atacados por diferentes formas especiales y/o especies de este hongo. *Fusarium oxysporum* f. sp., *dianthi* es el agente etiológico que produce la enfermedad conocida como marchitamiento del clavel (Agrios, 2005).

2.1.6.2. Patogénesis y síntomas

Fusarium sp., penetra la epidermis de las raíces, la corteza, finalmente entra a los vasos del xilema, colonizando el sistema vascular, en el cual el fitopatógeno produce compuestos complejos que interfieren con la capacidad de la planta al traslocar la toma de agua y nutrientes; ocasionando la degradación de tejidos y la muerte (Ochoa, 1996).

Las hifas del hongo penetran directamente o a través de heridas hechas en forma mecánica o por nematodos, insectos o miriápodos, la epidermis de las raíces, pasa a la corteza y a los endodermos y entran a los vasos del xilema invadiéndolos cuando están maduros. El patógeno coloniza el xilema de las plantas por crecimiento del micelio o por medio del transporte pasivo de las microconidias, lo cual contribuye a la colonización no uniforme, generalmente un lado de la planta. El hongo deteriora los tejidos por medio de enzimas que degradan la pared celular como xilanasas entre otras y se comienzan a formar cavidades en las hojas y paredes lignificadas del tallo (Ochoa, 1996).

Los síntomas de la enfermedad aparecen de forma unilateral; se acompaña de un amarillamiento parcial de las hojas, a veces se observa una mitad clorótica y la otra verde normal y el doblamiento de los brotes hacia el lado de la planta enferma. A su vez se observa enanismo de estos y disminución en el crecimiento de la planta, los síntomas avanzan lentamente por la planta hacia arriba, hasta causar un marchitamiento generalizado y la muerte (Arbeláez, 2000).

2.1.7. Problemas fitopatológicos en especies forestales en Ecuador

2.1.7.1. Pachaco (*Schizolobium parahybum* Vell Blake.)

Es atacada por plagas como la hormiga arriera (*Atta* sp.), que se controla con una aplicación directa de Atta-kill, que es un cebo que se coloca en el hormiguero; y la broca de la madera (*Acanthoderes jaspidea*), combatiéndola con insecticidas sistémicos y de contacto. Además, existe la pudrición del fuste, causado por el hongo *Ceratocytis* sp. (mal del machete), esta infección fungosa no tiene control, solo prevención (MAGAP, 2016).

La enfermedad de muerte regresiva y pudrición del fuste de pachaco 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 Autónomo de Investigaciones Agropecuarias del Ecuador (INIAP) (Cannon, 1990).

Poco tiempo después de su detección, se dirigieron esfuerzos para determinar la etiología de la enfermedad, siendo entonces que Cannon y Ramírez, 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 (Cannon, 1990; Ramírez, 1990).

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 (Belezaca *et al.*, 2011).

De 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 *et al.*, 2011).

2.1.7.2. Balsa (*Ocrhoma pyramidale* (Cav. Ex Lam.) Urb.)

Le atacan plagas como las arrieras, chinches, gusanos 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).

2.1.7.3. Cedro rosado (*Acrocarpus fraxinifolius* Wight. & Arn.)

En Ecuador el cedro rosado se ve afectado por la muerte regresiva. El rápido crecimiento y las buenas características de la madera han hecho que se la considere como una especie promisorio en la reforestación de la región, cautivando la atención de productores madereros y pequeños agricultores para que establezcan plantaciones puras o incorporen la especie en sus sistemas agroforestales (Belezaca, 2005).

Sin embargo, actualmente está presentando una extraña, compleja y mortal enfermedad que mata a los árboles de forma descendente (muerte regresiva), provocando el desánimo de quienes invirtieron en esta especie forestal. La enfermedad fue detectada por primera vez en septiembre del 2005 en una pequeña plantación de aproximadamente 2 ha 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), Ecuador. Los árboles poseían una edad de 1,5 años, dispuestos en un arreglo espacial de 4 x 3,20 m aproximadamente (Belezaca, 2005).

En el momento de evaluar la incidencia de la enfermedad en el campo se contaron 1159 árboles, de los cuales 37,75% estaban muertos en pie, 9,92% mostraban síntomas de enfermedad y los demás 52,33% aparentemente estaban sanos. Estudios fitopatológicos efectuados en el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), mediante el aislamiento de cultivos puros de microorganismos aislados a partir de tejidos afectados de siete árboles enfermos, permitieron determinar la presencia de tres hongos fitopatógenos asociados a la letal enfermedad: *Ceratocystis fimbriata*, *Macrophoma* sp., y *Fusarium* sp. Los microorganismos antes mencionados se aislaron en todos los árboles analizados en el laboratorio (Belezaca, 2005).

2.1.7.4. Teca (*Tectona grandis* L. f.)

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

2.1.7.5. Melina (*Gmelina arborea* Roxb.)

Independientemente del sistema de producción, los principales problemas de melina en vivero son las hormigas, y la heterogeneidad de su crecimiento, para lo cual se recomienda el empleo de gasolina en forma de roció en los caminos y nidos de los hormigueros, las mismas que atacan y defolian severamente los brotes y reducen la vitalidad de las plantas, ya que al disminuir el área foliar, se ve afectada la eficiencia fotosintética y la nutrición de la especie, y como consecuencia su desarrollo. Presenta ataques del insecto barrenador *Calopepla leayana* y el hongo *Poria rhizomorpha* (Muñoz y Vera, 2012).

La podredumbre de la raíz (mal del talluelo), causado por el damping off, para lo cual es necesario un estricto control de la humedad, tanto de riego como de lluvia (evitando exceso y déficit) y la separación de la semilla por tamaño (Muñoz y Vera, 2012).

En nuestro país aún no se han reportado problemas mayores en cuanto a plagas y enfermedades se refiere. No obstante, como en cualquier otra plantación forestal en el trópico, existe la presencia de la hormiga arriera del género *Atta sp.*, que es una amenaza en la fase de establecimiento y en los primeros años de vida de la plantación. Los obreros 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 un hongo (*Rozites gongylophora* Moeller) que constituye su alimento principal (Cormadera, 2001).

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 m de profundidad. También se reportan daños por termites, los cuales barrenan el tallo y las

ramas. Los gusanos tierreros *Spodoptera frugiperda* (Lep: 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).

Es muy importante tomar en cuenta cuando se ingresa ganado a las plantaciones, en vista de que, si no hay suficiente pasto para su alimentación, estos dañan la corteza de los árboles, plantaciones jóvenes han sido destruidas por el ramoneo. Hay empresas forestales en el trópico, en las que el objetivo central es la producción de madera, por lo que no se permite el ingreso de ganado. Pero no hay que descartar que hay pequeños propietarios que tienen poca superficie de tierra, por lo que los sitios de plantación forestal son utilizados para doble propósito, madera y ganado. Esta diversificación necesita del conocimiento profundo en el manejo de plantaciones con animales, esto es con la finalidad de que el crecimiento no se vea afectado, entre otros problemas que pueden repercutir en las plantaciones (Cormadera, 2001).

Las plantas de *Gmelina arborea* son muy susceptibles al ataque del hongo *Ceratocystis* sp. Las enfermedades de mayor peligro potencial es el “mal del machete” (*Ceratocystis fimbriata*), que puede ser muy severa en climas húmedos, cerca de cacaotales hospedantes. Las hojas se tornan de un color amarillo y tienden a secarse rápidamente (permaneciendo en el árbol aún después de muerto). El tronco presenta manchas de color gris azulado y exuda un líquido parecido al vino tinto a través de la corteza, y puede ser transmitida por las herramientas (Cormadera, 2001).

2.2. Marco referencial

Según Murillo *et al.* (2014), uno de los principales problemas que vienen enfrentado las plantaciones de *G. arborea* en el Trópico en los cinco últimos años, es la marchitez vascular y muerte regresiva. Se tiene registros de la enfermedad desde los 7 meses de edad, que causan la pudrición total del tronco en pocas semanas. Su actividad ha sido tan virulenta que se ha convertido ya en una alarma nacional en esta especie, que es la de mayor cultivo anual en el país.

No obstante, existen otros problemas fitosanitarios que aquejan a esta especie forestal en Ecuador. Según Rodríguez *et al.* (2016) en una investigación relacionada con plagas

y enfermedades en las plantaciones de melina, se evaluó la severidad del daño causado por la pudrición del tronco en melina que se manifiesta desde los primeros meses de vida del árbol. El estudio fue realizado en siete ensayos clonales de *Gmelina arborea*, establecidos en el Pacífico Sur de Costa Rica. En los ensayos se evaluaron genotipos seleccionados en la Zona Norte y Sur del país. Con base en un análisis de la expresión de la sintomatología, se propuso una escala diagramática de la severidad de la pudrición del tronco de *G. arborea*, basada en cinco grados de avance del daño. La escala se validó al utilizarla en otras plantaciones afectadas y localizadas en el Pacífico Sur del país.

Los síntomas incipientes se manifiestan con una marchitez foliar generalizada, que luego ocasiona pérdida foliar, y continúa avanzando hasta observarse la aparición de exudaciones y formación de cancro en la parte baja del tronco. La patología avanza rápidamente hasta lograr la pérdida completa del follaje y luego la muerte del individuo. Como última categoría de severidad se designó al árbol que ha muerto y se ha iniciado un proceso final de pudrición, que inhabilita la utilización de su madera. Con base en la calificación individual de la severidad en los árboles, se propuso el uso de un índice de severidad de la enfermedad en la plantación, que permite obtener una evaluación numérica del grado de daño o de avance de la enfermedad en una escala de 1 a 100. La metodología mostró su robustez y facilidad de aplicación en campo, que permitirá la toma de decisiones oportunas en el manejo de la pudrición del tronco de la *G. arborea*.

García *et al.* (2011) indagaron acerca de *Haematonectria haematococca* y *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. asociados a muerte descendente de teca y melina en los estados de Campeche y Tabasco, México. A efectos de dicha investigación se consideraron 10 árboles de teca y melina que evidenciaron síntomas de canchales y muerte de puntas, de los cuales se procedió a tomar muestras de la parte apical de las ramas y la corteza del fuste con evidencia de cuerpos reproductivos y agrietamientos. A las muestras recolectadas se las aisló mediante segmentación en trozos de 5 mm de longitud y su desinfección con agua destilada e hipoclorito de sodio, para posteriormente ser sembradas en un medio de cultivo de tipo PDA (Papa Dextrosa Agar) y en EMA (Extracto de Malta Agar); seguidamente se identificó la morfología y caracterización molecular, mediante la realización de montajes permanentes utilizando glicerina deshidratada y azul de metileno; como último procedimiento se efectuó la extracción del

ADN mediante el método AP. Los resultados muestran que los árboles de teca y melina evidenciaron muerte descendente de copa a largo plazo, producida por los hongos *Haematonectria haematococca* y *Fusarium solani*, los canchros producidos tienen su origen con el arribo de ascosporas y conidios hasta áreas de los árboles lesionados (heridas producidas por la poda, picaduras, barrenación de insectos, entre otras). Adicionalmente se identificó que los patógenos se trasladan hasta otras áreas por la incidencia de factores edáficos y medioambientales.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización

La investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Microbiología Ambiental y Vegetal-UTEQ, donde reposa la colección de cepas de los hongos *Ceratocystis fimbriata* y *Fusarium* sp., colectadas desde árboles enfermos de melina. Las pruebas de patogenicidad se realizaron en el invernadero del Laboratorio de Biotecnología-UTEQ, localizados en el Campus Ing. Manuel Haz Álvarez, km 1.5 vía a Santo Domingo de los Tsáchilas, Quevedo, Ecuador.

Las plantas de melina fueron adquiridas en un vivero particular, ubicado en km 7 de la vía Quevedo – El Empalme.

3.2. Materiales y Equipos

Para la ejecución del presente proyecto de investigación se utilizaron los siguientes materiales.

3.2.1. Materiales de laboratorio

- Caja Petri de vidrio
- Tubos de ensayo
- Microscopio
- Bisturís
- Cinta de parafilm
- Algodón
- Agua destilada
- Sacabocado
- Asa
- Cuchillo
- Cinta métrica o pie de metro
- Cinta para etiquetar

3.2.2. Equipos de oficina

- Internet
- Cámara fotográfica
- Cuaderno
- Lápiz
- Pendrive
- Papel bond formato A-4
- Computador
- Impresora

3.3. Diseño de la investigación

3.3.1. Características del campo experimental

Para las pruebas de patogenicidad se utilizarán plantas de melina de tres meses de edad, con un diámetro del tallo a nivel del suelo de aproximadamente 1.5 cm, en buen estado sanitario, procedente del vivero particular, ubicado en km 7 de la vía Quevedo – El Empalme.

Las plantas fueron sembradas en vasos plásticos transparentes de 8 cm de diámetro y 12 cm de altura que contenían un sustrato constituido por abono prodeuteq 25% (cáscara de maní, aserrín de balsa, tamo de arroz, hojarasca, lechugín de río y bacteria plus 1) y tierra negra (de sembrado) 75%. Las plantas se mantuvieron en invernadero mientras duró el experimento.

Las plantas seleccionadas para la inoculación debieron presentar las siguientes características: vigor, aparentemente sanas, con diámetro de 0.5 cm y con una altura de 30 cm, y fueron trasladadas con cuidado para que no sufran estrés y contaminación hacia el invernadero.

3.3.2. Preparación del inóculo

A partir de las cepas de hongos aislados desde árboles enfermos de melina en el laboratorio de Microbiología Ambiental y Vegetal de la UTEQ, se sembraron en placas de Petri de 9 cm de diámetro, conteniendo aproximadamente 10 ml de medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA), y se 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 realizará cortes circulares en las colonias del fitopatógeno, con el propósito de obtener áreas uniformes con las que se realizaron las inoculaciones.

3.3.3. Inoculación

La inoculación se realizó en el tallo de plantas de melina de tres meses de edad, a 5 cm sobre el nivel del suelo. Para el efecto, previamente se desinfectó el sitio a realizar el corte, empleando algodón humedecido 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 conteniendo al hongo dentro, se cubrió con cinta de parafilm. Como control se inoculó plantas de melina 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 60 días, tiempo en el cual se realizaron observaciones semanales sobre el estado sanitario de las plantas, con el propósito de detectar la aparición de síntomas de la enfermedad de marchitez vascular y muerte regresiva, asociados al fitopatógeno inoculado, y se registró detalladamente el desarrollo de la sintomatología en las plantas de melina. A los 60 días después de las inoculaciones las plantas se diseccionaron mediante cortes longitudinales y transversales para determinar y 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 fueron medidas en tres dimensiones (alto, ancho y profundidad) con el propósito de estimar el área aparente de necrosis, expresada en cm^3 .

3.3.4. Descripción de síntomas

A partir de las 24 horas posteriores a las inoculaciones, diariamente se realizaron observaciones, registrando y documentando detalladamente los síntomas desarrollados por las plantas inoculadas con los microorganismos, para compararlos con las plantas control.

3.3.5. Tratamientos y Diseño Experimental

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), constituido por cuatro tratamientos: T1 = plantas de melina inoculadas con el fitopatógeno *Ceratocystis fimbriata*, T2 = plantas de melina inoculadas con el fitopatógeno *Fusarium* sp., T3 = plantas de melina inoculadas con la mezcla de los fitopatógenos *Ceratocystis fimbriata* + *Fusarium* sp. T4 = plantas de melina inoculadas únicamente con agar-agar (tratamiento control). Cada tratamiento estuvo constituido por 35 repeticiones (35 plantas).

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 (ANOVA) 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.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

4.1.1. Volumen aparente de necrosis (cm³) generado por fitopatógenos inoculados en plantas de melina.

Se detectaron diferencias estadísticas significativas ($F=30.56$; $P=0.000$) entre los volúmenes aparentes de necrosis generados por los fitopatógenos inoculados (tratamientos) en las plantas de melina. Los tratamientos *C. fimbriata*, y *C. fimbriata* + *Fusarium* sp., generaron los mayores volúmenes aparentes de necrosis, con 0.31 cm³ y 0.18 cm³, respectivamente, siendo estadísticamente diferentes entre sí, y diferentes a los tratamientos *Fusarium* sp., y el Control, que alcanzaron volúmenes más bajos, de 0.038 cm³ y 0.014 cm³ respectivamente, que estadísticamente tuvieron un comportamiento similar (Figura 1).

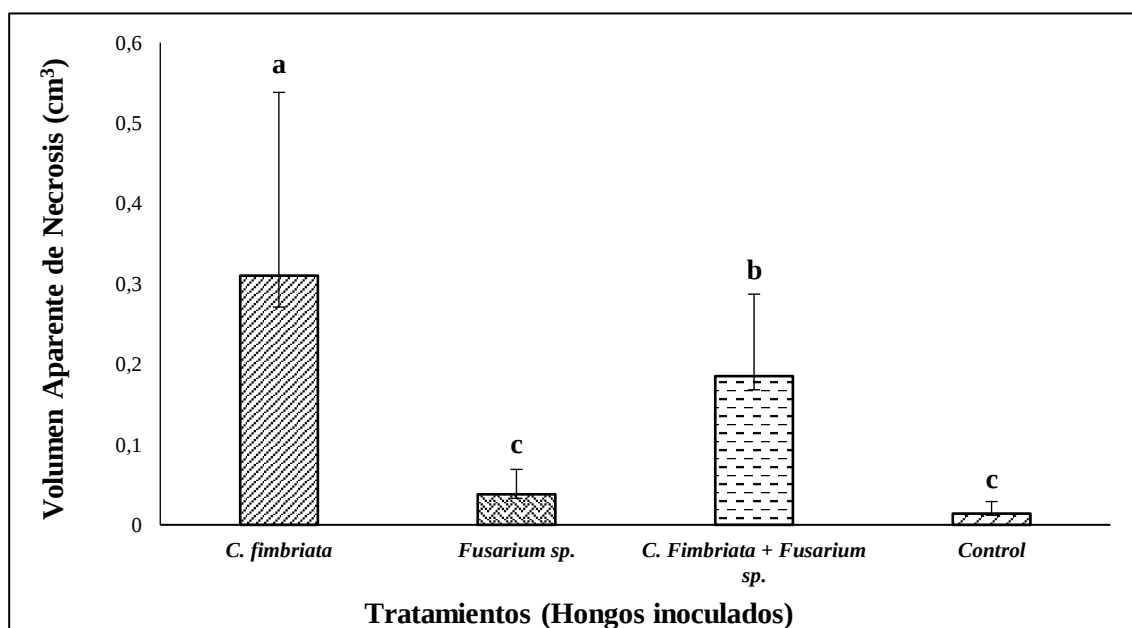


Figura 1. Volumen aparente de necrosis (cm³) generado por hongos fitopatógenos (tratamientos) inoculados en plantas de *Gmelina arborea* (melina) de 3 meses de edad, 45 días después de inoculados a nivel de invernadero. Valores corresponden al volumen aparente de necrosis promedio de 35 plantas de melina, con su respectiva Desviación estándar y Error estándar.

4.1.2. Longitud total de necrosis (cm) generada por fitopatógenos inoculados en plantas de melina.

En la figura 2 se muestra la longitud total de necrosis ocasionada por hongos fitopatógenos inoculados en plantas de teca, donde se detectaron diferencias estadísticas significativas ($F=87.98$; $P=0.000$) entre las longitudes de necrosis generadas por los hongos. Los tratamientos *C. fimbriata*, y *C. fimbriata*+ *Fusarium* sp., produjeron las mayores longitudes de necrosis, con 6.76 cm y 5.79 cm, respectivamente, siendo estadísticamente diferentes entre sí, y diferentes a los tratamientos *Fusarium* sp., y el Control que alcanzaron longitudes menores, de 1.74 cm y 0.68 cm, respectivamente, y manteniendo un comportamiento estadístico diferenciado entre ellos.

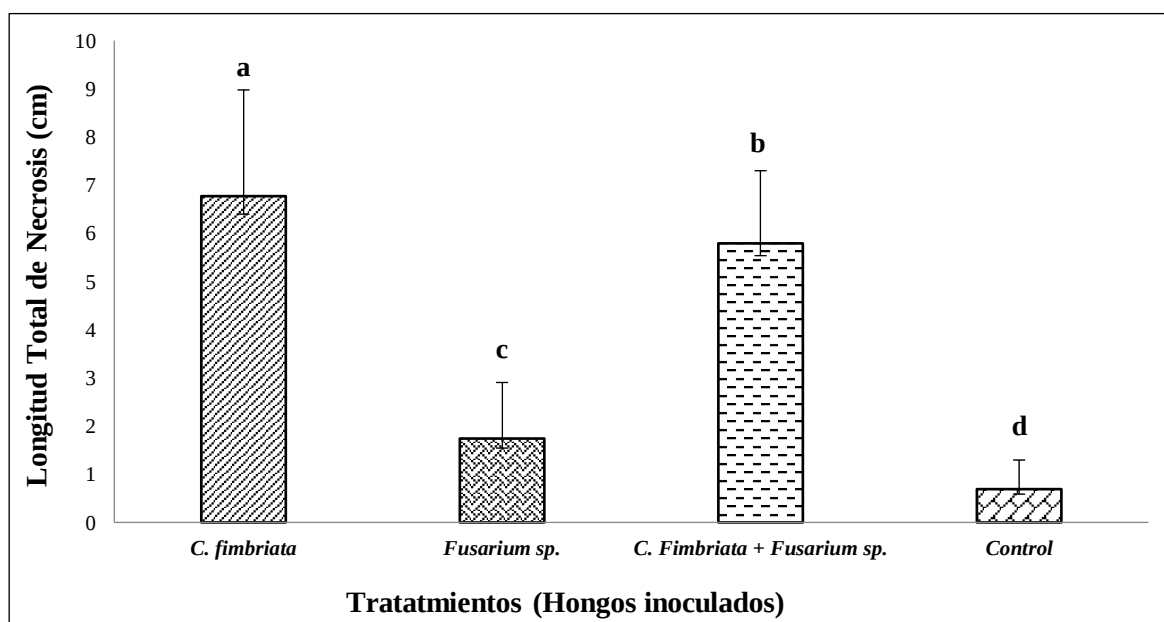


Figura 2. Longitud total de necrosis (cm) generada por hongos fitopatógenos (tratamientos) inoculados en plantas de *Gmelina arborea* (melina) de 3 meses de edad, 45 días después de inoculados a nivel de invernadero. Valores corresponden al volumen aparente de necrosis promedio de 35 plantas de melina, con su respectiva Desviación estándar y Error estándar.

4.1.3. Longitud ascendente y descendente de necrosis (cm) generada por fitopatógenos inoculados en plantas de melina.

Se detectaron diferencias estadísticas significativas entre las longitudes de necrosis ascendentes ($F=42.86$; $P=0,000$) y descendente ($F=130.65$; $P=0,000$), causadas por los fitopatógenos inoculados (tratamientos) en plantas de melina. Los tratamientos *C. fimbriata*, y *C. fimbriata* + *Fusarium* sp., generaron las mayores longitudes ascendentes de necrosis, con 4.16 cm y 3.48 cm, respectivamente, y mantuvieron la misma tendencia, aunque con valores menores para la longitud descendente, con 2.60 cm y 2.19 cm respectivamente, siendo en el primer caso estadísticamente similares entre sí, pero diferente para el segundo. Los tratamientos *Fusarium* sp., y el Control que alcanzaron menores longitudes ascendentes de 1.14 cm y 0.43 cm, y longitudes descendentes de 0.59 cm y 0.25 cm, respectivamente, con un comportamiento estadístico similar entre ellos (Tabla 1).

Tabla 1. Longitud ascendente y descendente de necrosis (cm) generada por la inoculación de hongos fitopatógenos (tratamientos) en plantas de *Gmelina arborea* (melina) de 3 meses de edad, a los 45 días de inoculación a nivel de invernadero. Valores corresponden longitudes ascendentes y descendentes de necrosis promedio de 35 plantas de melina, con su respectivo error estándar.

Tratamientos	Longitud ascendente	Error estándar	Longitud descendente	Error estándar
<i>Ceratocystis fimbriata</i>	4.16 a	0.31	2.60 a	0.11
<i>Fusarium</i> sp	1.14 c	0.16	0.59 c	0.06
<i>Ceratocystis fimbriata</i> + <i>Fusarium</i> sp	3.48 b	0.23	2.19 b	0.09
Control	0.43 d	0.08	0.25 d	0.03

4.1.4. Descripción de la sintomatología

La sintomatología presentada por las plantas de melina en los tratamientos *C. fimbriata*, y *C. fimbriata* + *Fusarium* sp. fueron similares, y para ambos casos entre los 15 y 20 días después de la inoculación se detectaron plantas con pérdida de coloración (amarillamiento) y turgencia en su sistema foliar. Además, fue notorio que, en las mismas plantas e igual periodo de tiempo, aparecieron brotes epicórmicos a aproximadamente 2 cm bajo el punto de inoculación. A los 22 días posterior a la inoculación, los tejidos ubicados por encima del lugar de inoculación en 2 plantas del tratamiento T1 (*C. fimbriata*), y 10 plantas del tratamiento T3 (*C. fimbriata* + *Fusarium* sp.) con síntomas de enfermedad, murieron, quedando defoliadas totalmente. Al momento de la evaluación (45 días) los brotes epicórmicos emitidos bajo el lugar de inoculación aún estaban vivos. Hasta el momento de la evaluación del presente proyecto de investigación (45 días de incubación) las demás plantas aún no presentaban síntomas visibles de la enfermedad (Figura 3).

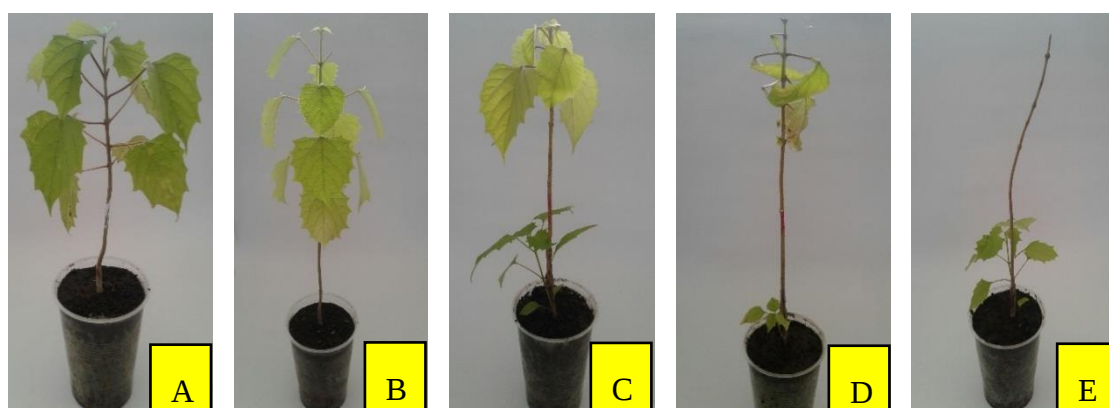


Figura 3. Sintomatología progresiva generada por la inoculación de microorganismos fungosos en plantas de melina a nivel de invernadero. Tratamientos: *C. fimbriata*, y *C. fimbriata* + *Fusarium* sp. A = Planta recién inoculada (sana), B = Sistema foliar con inicios de clorosis, C = Sistema foliar con pérdida de turgencia y emisión de brotes epicórmicos bajo el punto de inoculación, D = Sistema foliar fuertemente afectado por la marchitez vascular, E = Sistema foliar muerto, totalmente defoliado, brotes epicórmicos bajo el punto de inoculación.

Las plantas inoculadas con *Fusarium* sp. al momento de la evaluación (45 días de incubación) no presentaron sintomatología visible de enfermedad. Se observó ausencia de decoloración, marchitez, pérdida de turgencia, etc., presentaron aspecto de plantas sanas, similares a las plantas control (Figura 4).

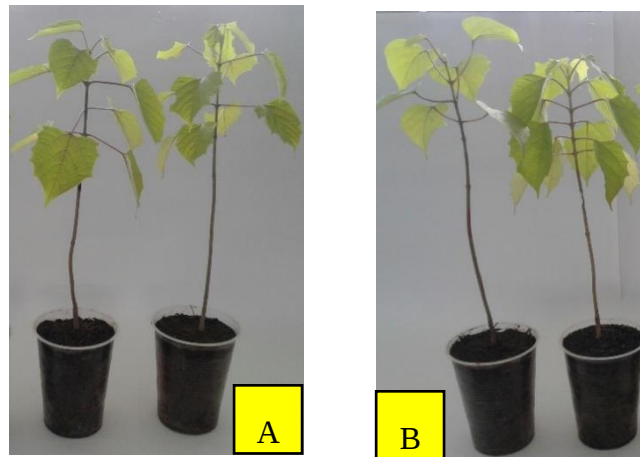


Figura 4. Plantas de melina inoculadas con (A) *Fusarium* sp. a los 45 días de incubación, sin presencia visible de síntomas de enfermedad, con aspecto similar a (B) las plantas control (sin inoculación de fitopatógenos).

4.1.5. Reaislamiento de los microorganismos inoculados

Después de las evaluaciones, y dando cumplimiento a los postulados de Koch, a partir de tejidos necrosados se realizó la recuperación de los microorganismos inoculados en las plantas de melina. *C. fimbriata* fue recuperado mediante la técnica de sandwiches de zanahoria, y *Fusarium* sp. en medio de cultivo PDA.

4.2. Discusión

Las plantaciones forestales exóticas puras brindan condiciones ideales para la aparición de problemas fitosanitarios provocados por patógenos nativos de la zona, que reaccionan de forma agresiva al no tener las condiciones del ecosistema original (Belezaca *et al.*, 2018).

En este sentido, *G. arbórea*, originaria del sureste asiático, ha mostrado adaptarse satisfactoriamente a las condiciones del trópico húmedo ecuatoriano, donde se ha convertido en un rubro importante para la economía ecuatoriana. Sin embargo, debido a ser una especie forestal introducida, actualmente está siendo afectada por una compleja enfermedad con características de marchitez vascular y pudrición del fuste, donde a partir de árboles enfermos se ha detectado los fitopatógenos *C. fimbriata* y *Fusarium* sp. (Saltos, 2019).

Las inoculaciones controladas efectuadas a nivel de invernadero en plantas de melina de 2 meses de edad con los fitopatógenos antes mencionados, mostraron resultados significativos que demuestran el agente fúngico causante de la enfermedad. Los volúmenes aparentes de necrosis (0.31 cm^3 y 0.19 cm^3) y longitudes totales de necrosis (6.76 cm y 5.79 cm) generados por las inoculaciones de *C. fimbriata*, y *C. fimbriata* + *Fusarium* sp., y su superioridad estadística frente a los generados por *Fusarium* sp. (0.038 cm^3 y 1.74 cm respectivamente), quien pese a mostrar valores menores, tuvo un comportamiento diferenciado con relación al tratamiento control, lo cual permite sugerir que el patógeno causante de la enfermedad de marchitez vascular y pudrición del fuste probablemente sea *C. fimbriata*.

La patogenicidad de *C. fimbriata* es reportada por la literatura científica como un patógeno altamente agresivo, con un amplio rango de hospederos, desde angiospermas hasta gimnospermas (Herrera-Isla *et al.*, 2015). Este patógeno reviste gran importancia para el sector forestal ecuatoriano, ya que se conoce que es patógeno de especies como *Gmelina arbórea* (melina) (Ferreira *et al.*, 2010), *Schizolobium parahybum* (pachaco) (Geldenhuis *et al.*, 2004), *Acrocarpus fraxinifolius* (cedro rosado) (Belezaca, 2005), *Eucaliptus* spp. (Alves-Ferreira *et al.*, 2006), *Carapa guianensis* (tangaré) (Halfeld-Vieira *et al.*, 2012), *Tectona grandis* (teca) (Belezaca *et al.*, 2018).

A pesar que el género *Fusarium* posee especies altamente patogénicas (Landeras, 2005), no generó una patogénesis significativa en los 45 días que duró la inoculación en plantas de melina. No obstante, esto no significa que el fitopatógeno no cumpliría ningún papel importante en el desarrollo de la enfermedad, donde probablemente un tiempo de duración mayor a 45 días de incubación podría demostrar lo contrario, sin descartar la teoría que la presencia de *Fusarium* sp. en árboles de melina enfermos, tendría un papel secundario, y el hecho que esté presente en árboles debilitados/afectados obedecería probablemente a una actividad saprofítica no patogénica.

Considerando que las plantas inoculadas con los tratamientos *C. fimbriata*, y *C. fimbriata* + *Fusarium* sp. generaron síntomas de enfermedad, a excepción de aquellas inoculadas con el tratamiento *Fusarium* sp. y las plantas Control (sin inocular con fitopatógenos), la sintomatología observada a nivel de invernadero empieza con una clorosis y posterior marchitamiento del sistema foliar de las plantas, que estimula la generación de brotes epicórmicos con el propósito de realizar fotosíntesis. Sin embargo, con el pasar de los días la planta muere completamente. Mediante disección (corte longitudinal y transversal) se puede comprobar las significativas áreas de necrosis en los tejidos vasculares de las plantas inoculadas. Esta descripción sintomatológica es similar a la detectada a nivel de campo en árboles jóvenes y adultos de melina, y otras especies forestales (Belezaca *et al.*, 2018; Saltos, 2019).

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- Los volúmenes aparentes de necrosis (0.31 cm^3 y 0.19 cm^3) y longitudes totales de necrosis (6.76 cm y 5.79 cm) generados por las inoculaciones de los tratamientos *C. fimbriata*, y *C. fimbriata* + *Fusarium* sp., frente a los producidos por *Fusarium* sp. (0.038 cm^3 y 1.74 cm respectivamente), quien tuvo un comportamiento fitopatogénico bajo, permiten sugerir que el patógeno causante de la enfermedad de marchitez vascular y pudrición del fuste es *C. fimbriata*.
- La sintomatología observada en las plantas de melina inoculadas con los tratamientos *C. fimbriata*, y *C. fimbriata* + *Fusarium* sp. es similar a la detectada a nivel de campo en árboles jóvenes y adultos enfermos en plantaciones puras del Trópico Húmedo Ecuatoriano.
- Las plantas de melina inoculadas con el tratamiento *Fusarium* sp. no generaron ninguna sintomatología visible y presentaron una buena apariencia óptica de sanidad, similar a las plantas del tratamiento Control (sin inocular).

5.2. Recomendaciones

- Realizar nuevos experimentos a nivel de invernadero donde se amplíe el tiempo de incubación de las plantas inoculadas con los fitopatógenos por al menos tres meses (90 días), con el propósito de descartar o dilucidar el papel *Fusarium* sp. en el desarrollo de la enfermedad.
- Realizar inoculaciones con *C. fimbriata* en arboles jóvenes de *G. arborea* establecidos en plantaciones, con el propósito de estudiar la evolución de la enfermedad a nivel de campo.
- Realizar una identificación (caracterización) molecular a cepas de *C. fimbriata* aisladas desde árboles enfermos de melina del Trópico Húmedo Ecuatoriano.

CAPÍTULO VI
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

6.1. Referencias Bibliográficas

- Agrios, G. (2005). Plant Pathology. (5th ed.) Published Elsevier. United States of América. 948 p.
- Arbeláez, G. (2000). Investigación y desarrollo en el control de marchitamiento vascular del clavel en Colombia. Edición Harti Tecnic. 89-98 p.
- Arias, J. y Jerez, A. (2008). Elaboración de un atlas para la descripción macroscópica y microscópica de hongos fitopatógenos de interés en especies de flores de corte cultivadas en la Sabana de Bogotá. Trabajo de grado (Microbiólogas Industriales). Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Carrera de Microbiología Industrial. Bogotá, Colombia Pp. 31- 142
- Belezaca, C. (2005). Muerte regresiva en cedro rosado en Ecuador. *Plagas Forestales Neotropicales. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*, No. 76, 91 p.
- 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 (1): 22.
- Belezaca, C; Solano, E; López, R; Baque, R; Ávila, A; Cóndor, M; Bohórquez, T; Dueñas, 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.
- 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.
- Chavarría, M; y Valero, R. (1993). Guía preliminar de parámetros silviculturales para apoyar los proyectos de reforestación en Costa Rica. Dirección general forestal. Mirenem, Costa Rica. 202 p.

- Cormadera, D. (2001). Guías técnicas para el establecimiento y manejo de plantaciones forestales, productivas en el Litoral ecuatoriano. Quito. Ecuador. 16 p.
- Estupiñan, 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.
- FAO (2000). Perspectivas mundiales del suministro futuro de madera procedente de plantaciones. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/004/X8423S/X843S00.htm#TOC>: [recuperado el 02/12/2018]. 163p.
- Ferreira, E; Harrington, T; Thorpe, D; y Alfenas, A. (2010). Genetic diversity and interfertility among highly differentiated populations of *Ceratocystis fimbriata* in Brazil. *Plant Pathology*, 59(4):721-735.
- García, S; Cibrián, D; y Pérez, O. (2011). Haematonectria haematococca (Berk. & Broome) Samuels & Nirenberg y su anamorfo (*Fusarium solani* (Mart.) Sacc.) asociado a muerte descendente de teca y melina. CONAFOR, XVI Simposio Nacional de Parasitología Forestal. Cuernavaca, México.
- Geldenhuis, M; Roux, J; Montenegro, F; De Beer, Z; Wingfield, M; y Wingfield, B. 2004. Identification and pathogenicity of *Graphium* and *Pesotum* species from machete wounds on *Schizolobium parahybum* in Ecuador. *Fungal diversity* 15: 137-151.
- Halfeld-Vieira, B; Zilli, J; Nechet, K; Pereira, G; y Souza, G. 2012. First record of *Ceratocystis fimbriata* on *Carapa guianensis*. *New Disease Reports*, 26:13.
- Herrera-Isla, L; Grillo-Ravelo, H; Harrington, T; Díaz-Medina, A; y Álvarez-Puente, R. 2015. *Ceratocystis fimbriata* Ellis & Halst. f. sp. spathodense (nueva

- especialización): agente causal de la marchitez en *Spathodea campanulata* Beauv. en Cuba. *Revista de Protección Vegetal*, 30(1):40-45.
- Hernández, O. (2010). Detención 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. 63p.
- Jiménez, L. (2016). El Cultivo de la melina (*Gmelina arborea* Roxb) en el Trópico. Tesis de pregrado. Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE del Ecuador, Sangolquí, Ecuador. 124 p.
- Landeras, E; García, P; Fernández, Y; y Braña, M. 2005. Outbreak of Pitch Canker Caused by *Fusarium circinatum* on *Pinus* spp. in Northern Spain. *Plant Disease*, 89(9): 1015.
- MAGAP (Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca). (2016). Programa de incentivos para la reforestación con fines comerciales. Guayaquil, Ecuador. 71 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. Guaranda, Ecuador. 177 p.
- Murillo, O; Badilla, Y; Rojas, F; y Mata, X. (2014). Uso de biocontroladores y materiales tolerantes a los patógenos asociados al síndrome de la muerte descendente de la teca (*Tectona grandis*) y cancro nectria de la melina (*Gmelina arborea*). Cartago, Costa Rica: Instituto Tecnológico de Costa Rica. 51 p.
- Ochoa, J. (1996). Control biológico del marchitamiento vascular del clavel ocasionado por *Fusarium oxysporium* f. sp. dianthi. mediante el uso de los microorganismos potencialmente antagonistas *Pseudomonas fuorences*, *Streptomyces coelicolor* y *Trichoderma hamatum*. Trabajo de grado (biólogo). Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Carrera de biología. Bogotá, Colombia. Pp 32-142.

- Patiño, V; Cedeño, S; Juárez, G; y Bertoni, V. (1982). *Gmelina arborea* Robx. Una especie promisorio en el trópico mexicano. SARH, INIF, CIFTROH. Campeche, México. 138 p.
- 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 de pregrado. Universidad Nacional de Loja, Loja, Ecuador. 65 p.
- Reyna, R; y Pérez, C. (2014). Reconocimiento a campo de plagas y enfermedades forestales. Marchitamiento por *Ceratocystis*. Universidad de la República Uruguay. Facultad de Agronomía Cartilla N° 38. Pp 1-2.
- Rodríguez, O; Murillo, G; Murillo, R; Ávila, C; y Mata, X. (2016). Evaluación de la severidad de la pudrición del tronco en *Gmelina arborea* Roxb. Costa Rica, Revista Forestal Mesoamericana Kurú; Volumen especial. 10 p.
- Rojas, F; Arias, F; Moya, R; Meza, A; Murillo, O; y Arguedas, M. 2004. Manual para productores de melina *Gmelina arborea* en Costa Rica. Capítulo 5. Industrialización y Usos. San José, Costa Rica. 234 p.
- Salto, R. (2019). Identificación de microorganismos fungos asociados a la enfermedad de marchitez vascular y pudrición del fuste de *Gmelina arborea* Roxb. (melina) en la zona central del Trópico Húmedo Ecuatoriano. Proyecto de Investigación para obtener el grado académico de Ingeniero Forestal. Carrera de Ingeniería Forestal, Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador. 68 p.
- Simbaña, B. (2016). Evaluación de los Métodos de Propagación Sexual, Asexual y Comportamiento de Melina (*Gmelina Arborea* Roxb), en Plantación, en la hacienda Pitzar, cantón Pedro Vicente Maldonado, provincia de Pichincha. Tesis de pregrado. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. 64 p.

- Suarez, C; Moreira, M; y Vera, B. (1993). Manual del cultivo de cacao, INIAP, Quevedo, Ecuador. 10-16 p.
- Tafur, D. (2017). Estudio de diversidad genética de la colección de melina (*Gmelina arborea* Roxb) del INIAP, mediante el uso de marcadores moleculares ISSR (Inter Simple Séquence Repeats). Tesis de pregrado. Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE del Ecuador, Sangolquí, Ecuador. 85p.
- Upadhyay, H. (1993). Classification of the Ophiostomatoid fungi. In *Ceratocystis and Ophiostoma: Taxonomy, Ecology and Pathogenicity*. In: Wingfield, M; Seifert, K; y Webber, J. The American Phitopathological Society. St. Paul, Minnesota. Pp 7-13. 1993.

CAPÍTULO VII

ANEXOS

7.1. Anexos

Anexo 1. Evidencias fotográficas sobre la investigación

Fotografías 1 y 2: Acondicionamiento y trasplante de plántulas de melina



Fotografías 3 y 4: Inoculación en plantas de melina



Anexo 2. Tratamiento de *Ceratosystis fimbriata* + *Fusarium* sp.

Fotografías 5 – 7: Resultados obtenidos en el invernadero

