



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

TEMA:

**Implicaciones de *Fusarium* spp., en la etiología de la pudrición del fuste de
Gmelina arborea Roxb (melina) en el Trópico Húmedo Ecuatoriano**

Autor:

Morán Vásquez María Estefanía

Director:

Ing. For. Carlos Eulogio Belezaca Pinargote, PhD

Quevedo – Los Ríos – Ecuador

2020

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Morán Vásquez María Estefanía**, 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.

Morán Vásquez María Estefanía

CC. 0804389203

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 estudiante **Morán Vásquez María Estefanía**, realizo el Proyecto de Investigación de grado titulado “**Implicaciones de *Fusarium* spp., en la etiología de la pudrición del fuste de *Gmelina arborea* Roxb (melina) 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.

Dr. Carlos Eulogio Belezaca Pinargote

DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

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



Document Information

Analyzed document	Proyecto María Moran para URKUND.docx (D76445888)
Submitted	7/16/2020 8:04:00 PM
Submitted by	Carlos Belezaca Pinargote
Submitter email	cbelezaca@uteq.edu.ec
Similarity	8%
Analysis address	cbelezaca.uteq@analysis.orkund.com

[VOLVER A LA VISTA GENERAL DEL ANÁLISIS](#) [REFRESCAR](#) [BAJAR](#) [AYUDA](#) [CONFIGURACIÓN](#)

REPENTE
Carlos Belezaca Pinargote

ARCHIVO
Proyecto María Moran para URKUND.docx

SIMILITUD
8 %

COINCIDENCIAS

FUENTES

DOCUMENTO COMPLETO

MOSTRAR EN EL TEXTO

Citas ☒

Paréntesis ☒

Diferencias detalladas de texto ☒

Implicaciones de *Fusarium spp.* en la etiología de la pudrición del fuste de *Gmelina arborea* Roxb (melina) en el Trópico Húmedo Ecuatoriano

Morán Vásquez María Estefanía



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

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

“Implicaciones de *Fusarium* spp., en la etiología de la pudrición del fuste de *Gmelina arborea* Roxb (melina) en el Trópico Húmedo Ecuatoriano”

Aprobado por:

Ing. For. Pedro Suatunce C. *M Sc.*
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. For. Héctor Gomezcoello Z. *M Sc.*
INTEGRANTE DEL TRIBUNAL

Ing. For. Rolando López T. *M Sc.*
INTEGRANTE DEL TRIBUNAL

Quevedo – Los Ríos – Ecuador

2020

AGRADECIMIENTOS

A Dios primeramente por haberme dado las fuerzas necesarias cada día para cumplir esta meta.

A la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Ciencias Ambientales, Carrera de Ingeniería Forestal por todas sus enseñanzas.

Al Dr. Carlos Belezaca, director del proyecto de investigación, por su confianza y apoyo en su labor de docente, a quien admiro y estimo mucho.

Al Ing. Rolando López Tobar, coordinador de la carrera de Ingeniería Forestal, por su buena amistad y su ayuda prestada en toda mi carrera estudiantil.

Al Ing. Pedro Suatunce, Ing. Elías Cuásquer, Ing. Héctor Gomezcoello, por todos sus sabios consejos.

A los docentes de la Facultad Ciencias Ambientales, por sus enseñanzas, conocimientos y valores inculcados en toda mi formación profesional.

A mis amigas incondicionales, Tania Ch., Erika C. y Yuliza A. por su amistad y apoyo incondicional.

A todos mis compañeros de clase por la ayuda brindada a lo largo de toda mi carrera estudiantil.

DEDICATORIA

El presente estudio se lo dedico:

A los seis hombres de mi vida (mi padre Graviel, mi esposo Carlos, mi hijo Dylan, mi hermano Junior y mis sobrinos Jordan y Max), por siempre estar presentes en mi vida en cada uno de los buenos y malos momentos, por darme su amor incondicional.

RESUMEN Y PALABRAS CLAVES

El presente estudio se realizó en plantaciones de *Gmelina arborea* Roxb (melina) de diferentes edades (4,5; 2,3 y 2 años), pertenecientes a los cantones Santo Domingo de los Colorados y Buena Fé, donde se establecieron tres parcelas de 500 m² en cada plantación, a partir de las cuales se extrajeron y analizaron muestras de árboles enfermos. Se realizó una descripción sintomatológica de los árboles a nivel de campo y analizó la incidencia y severidad de la enfermedad empleando una escala de 5 categorías, además se extrajo pequeñas secciones de madera, tres en cada parcela, para luego ser analizadas en laboratorio. Se emplearon tres estrategias metodológicas (cámara húmeda, sándwiches de zanahoria y medio cultivo papa-destrosa-agar (PDA)) para estimular el crecimiento de fitopatógenos. Se aisló e identificó cepas de *Fusarium* spp., para luego ser inoculadas en plantas de melina de 6 meses de edad. La incidencia de la enfermedad fue 0%; 12,7% y 11,3% para las plantaciones de 4,5; 2,3 y 2 años respectivamente. Los árboles enfermos en las plantaciones de 2,3 y 2 años se encontraron en la escalas de 2 a 5, mientras que en la plantación de 4,5 años no se observó severidad de enfermedad. Para las pruebas de patogenicidad (postulados de Koch) se establecieron los siguientes tratamientos T1 = *Fusarium* sp. 1, T2 = *Fusarium* sp. 2, T3 = *Fusarium* sp. 3, T4 = *Fusarium* sp. 4, T5 = *Ceratocystis fimbriata*, T6 = hongo negro picnidial, y T7 = plantas control (testigo). Cada tratamiento estuvo constituido por 17 plantas (repeticiones). Después de 155 días de incubación las plantas, se diseccionaron mediante cortes longitudinales y transversales, se estimó el volumen aparente de necrosis (cm³) y la longitud total de necrosis (cm). Los volúmenes aparentes de necrosis en *Fusarium* sp. 1, *Fusarium* sp. 2, y *Fusarium* sp. 4, (2,31 cm³; 2,43 cm³ y 1,71 cm³) fueron similares entre si y diferentes a *Fusarium* sp. 3, *C. fimbriata*, y hongo negro picnidial. La mayor longitud total de necrosis la generaron los tratamientos *Fusarium* sp. 1, *Fusarium* sp. 2, *Fusarium* sp. 4 y el hongo negro picnidial con 10,95 cm; 12,91 cm; 9,71 cm; 8,67 cm y 12,25 cm respectivamente, siendo estadísticamente similares entre sí, pero diferentes a los tratamientos *Fusarium* sp. 3 y a las plantas control que alcanzaron longitudes menores de 3,76 cm y 1,53 cm, respectivamente.

Palabras claves: Etiología, fitopatógenos, incidencia, inoculación, necrosis, severidad.

ABSTRACT

The present study was carried out in *Gmelina arborea* Roxb (melina) plantations of different ages (4,5; 2,3 and 2 years), belonging to the Santo Domingo de los Colorados and Buena Fé cantons, where three plots of 500 m² in each plantation, from which samples of diseased trees were extracted and analyzed. A symptomatological description of the trees was made at the field level and the incidence and severity of the disease was analyzed using a scale of 5 categories, in addition, small sections of wood were extracted, three in each plot, to later be analyzed in the laboratory. Three methodological strategies (humid chamber, carrot sandwiches and potato-destrose-agar (PDA) culture medium) were used to stimulate the growth of phytopathogens. Strains of *Fusarium* spp. were isolated and identified, to later be inoculated into 6-month-old melina plants. The incidence of the disease was 0%; 12,7% and 11,3% for plantations of 4,5; 2,3 and 2 years respectively. Diseased trees in the 2,3 and 2-year-old plantations were found on the scales of 2 to 5, while in the 4,5-year-old plantation no severity of disease was observed. For the pathogenicity tests (Koch's postulates) the following treatments were established T1 = *Fusarium* sp. 1, T2 = *Fusarium* sp. 2, T3 = *Fusarium* sp. 3, T4 = *Fusarium* sp. 4, T5 = *Ceratocystis fimbriata*, T6 = pycnidial black fungus, and T7 = control plants (control). Each treatment consisted of 17 plants (repetitions). After 155 days of incubation, the plants were dissected by longitudinal and transverse sections, the apparent volume of necrosis (cm³) and the total length of necrosis (cm) were estimated. The apparent volumes of necrosis in *Fusarium* sp. 1, *Fusarium* sp. 2, and *Fusarium* sp. 4, (2,31 cm³; 2,43 cm³ and 1,71 cm³) were similar to each other and different from *Fusarium* sp. 3, *C. fimbriata*, and pycnidial black fungus. The greatest total length of necrosis was generated by the treatments *Fusarium* sp. 1, *Fusarium* sp. 2, *Fusarium* sp. 4 and the pycnidial black fungus, 10,95 cm; 12,91 cm; 9,71 cm; 8,67 cm and 12,25 cm respectively, being statistically similar to each other, but different from the treatments *Fusarium* sp. 3 and the control plants that reached lengths less than 3,76 cm and 1,53 cm, respectively.

Key words: Etiology, incidence, inoculation, necrosis, phytopathogens, severity.

TABLA DE CONTENIDOS

TEMAS	Pág.
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS.....	i
CERTIFICADO DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN....	ii
CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	v
DEDICATORIA.....	vi
RESUMEN Y PALABRAS CLAVES.....	vii
ABSTRACT.....	viii
TABLA DE CONTENIDO.....	ix
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xv
INTRODUCCIÓN.....	1
 CAPÍTULO I. MARCO CONCEPTUAL DE LA INVESTIGACIÓN.....	 3
1.1. Diagnóstico.....	4
1.2. Pronóstico.....	4
1.3. Formulación del problema.....	4
1.4. Sistematización.....	4
1.5. Objetivos.....	5
1.5.1. General.....	5
1.5.2. Específicos.....	5

1.6.	Justificación.....	6
CAPÍTULO II	FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN.....	7
2.1.	Marco Conceptual.....	8
2.1.1.	<i>Gmelina arborea</i> Roxb (melina).....	8
2.1.1.1.	Taxonomía.....	8
2.1.1.2.	Descripción botánica.....	9
2.1.1.3.	Hojas.....	9
2.1.1.4.	Flores.....	9
2.1.1.5.	Frutos.....	9
2.1.1.6.	Semillas.....	10
2.1.1.7.	Raíces.....	10
2.1.1.8	Usos.....	10
2.1.1.9	Distribución geográfica en Ecuador.....	10
2.1.2.	Patogenicidad.....	11
2.1.3	Hongos.....	12
2.1.3.1.	Características Generales.....	12
2.1.3.2.	<i>Fusarium</i> spp.....	12
2.1.3.2.1.	Taxonomía.....	12
2.1.3.2.2.	Síntomas.....	14
2.1.3.2.3.	Patogénesis.....	14
2.2.	Marco Referencial.....	14

CAPÍTULO III	METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	16
3.1.	Localización del área de estudio.....	17
3.2.	Materiales.	18
3.2.1.	Materiales de campo	18
3.2.2.	Materiales de oficina.....	18
3.2.3.	Materiales de laboratorio.....	19
3.3.	Tipo de investigación.....	19
3.4.	Métodos de investigación.....	20
3.5.	Diseño de la investigación.....	20
3.5.1.	Determinación de la incidencia de la enfermedad.....	20
3.5.2.	Determinación de la severidad de la enfermedad.....	20
3.5.3.	Evaluación de las variables dasométricas.....	21
3.5.4.	Aislamiento e inoculación de cepas de <i>Fusarium</i> spp., en plantas sanas de melina.....	21
3.5.4.1.	Preparación e inoculación.....	23
3.5.4.2.	Tratamientos y Diseño Experimental.....	24
CAPÍTULO IV	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
4.1.	Incidencia de la enfermedad en plantaciones de <i>G. arborea</i> en el Trópico Húmedo Ecuatoriano.....	27
4.1.1.	Severidad de la enfermedad en plantaciones de <i>G. arborea</i> en el Trópico Húmedo Ecuatoriano.....	28
4.1.2.	Variables dasométricas de las plantaciones de <i>G. arborea</i>	29
4.1.3.	Aislamiento e inoculación de cepas de <i>Fusarium</i> spp., en plantas de <i>G. arborea</i> a nivel de vivero (Postulados de Koch).....	30

4.1.3.1.	Aislamiento de microorganismos fungosos en tejidos leñosos de árboles enfermos.....	30
4.1.3.2.	Volumen aparente de necrosis (cm ³) generado por fitopatógenos inoculados en plantas de melina.....	31
4.1.3.3.	Longitud total de necrosis (cm) generada por fitopatógenos inoculados en plantas de melina.....	32
4.1.3.4.	Longitud ascendente y descendente de necrosis (cm) generada por fitopatógenos inoculados en plantas de melina.....	32
4.1.4.	Descripción de sintomatología de plantaciones de <i>G. arborea</i> Roxb. a nivel de campo.....	33
4.1.5.	Descripción de sintomatología de plantas de <i>G. arborea</i> Roxb. a nivel de vivero.....	35
4.1.6.	Reaislamiento de los microorganismos inoculados.....	37
4.2.	Discusión.....	37
CAPÍTULO V	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	39
5.1.	Conclusiones.....	40
5.2.	Recomendaciones.....	41
CAPÍTULO VI	BIBLIOGRAFÍA.....	42
6.1.	Bibliografía.....	43
CAPÍTULO VII	ANEXOS.....	47

ÍNDICE DE TABLAS

		Pág.
Tabla 1.	Escala arbitraria empleada para evaluar la severidad de la enfermedad de pudrición del fuste en <i>G. arborea</i>	20
Tabla 2.	Tratamientos aplicados en plantas de <i>G. arborea</i> a nivel de invernadero.....	24
Tabla 3.	Incidencia de la enfermedad de pudrición del fuste en las tres plantaciones de <i>G. arborea</i> en el Trópico Húmedo Ecuatoriano.....	26
Tabla 4.	Severidad de la enfermedad de pudrición del fuste en las tres plantaciones de <i>G. arborea</i> en el Trópico Húmedo Ecuatoriano...	27
Tabla 5.	Variables dasométricas, analizadas en la plantación del Sr. Jaime Noroña, ubicada en el cantón Buena Fé.....	28
Tabla 6.	Variables dasométricas, analizadas en la plantación de la Sra. Maritza Verduga, ubicada en el cantón Santo Domingo.....	28
Tabla 7.	Variables dasométricas, analizadas en la plantación del Sr. Hipólito Yánez, ubicada en el cantón Santo Domingo.....	29
Tabla 8.	Longitud ascendente y descendente de necrosis (cm) generada por la inoculación de hongos fitopatógenos (tratamientos) en plantas de <i>G. arborea</i> (melina) de 6 meses de edad, a los 155 días de inoculación a nivel de invernadero.....	32

ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1.	Ubicación geográfica de las tres plantaciones de <i>G. arborea</i> estudiadas en el Trópico Húmedo Ecuatoriano.....	17
Figura 2.	Distribución de los tratamientos dentro del invernadero.....	24
Figura 3.	Colonias de <i>Fusarium</i> spp., y = hongo negro (picnidial), obtenidas a partir de árboles enfermos de <i>G. arborea</i> , creciendo en medio de cultivo PDA...	29
Figura 4.	Volumen aparente de necrosis, generado por hongos fitopatógenos (tratamientos) inoculados en plantas de <i>G. arborea</i> (melina) de 6 meses de edad, 155 días después de inoculados a nivel de invernadero. Valores corresponden al volumen aparente de necrosis promedio de 17 plantas de melina, con su respectivo error estándar.....	30
Figura 5.	Longitud total de necrosis, generada por hongos fitopatógenos (tratamientos) inoculados en plantas de <i>G. arborea</i> (melina) de 6 meses de edad, 155 días después de inoculados a nivel de invernadero. Valores corresponden al volumen aparente de necrosis promedio de 17 plantas de melina, con su respectivo error estándar.....	31
Figura 6.	Evolución de la enfermedad de pudrición del fuste en árboles de melina: A = Primeros síntomas caracterizados por clorosis en las hojas. B = Generación de múltiples brotes epicórmicos en el fuste. C = Muerte del sistema foliar. D = Pérdida de las hojas.....	33
Figura 7.	Cortes transversales en la base de árboles enfermos de melina: A = 2,3 años de edad. B = Árbol de 4,5 años de edad. C = 2 años de edad.....	33
Figura 8.	Cortes transversales y longitudinales de árboles enfermos de melina mostrando lo daños internos generados por los fitopatógenos.....	34
Figura 9.	Sintomatología generada por la inoculación de microorganismos fungosos en plantas de melina a nivel de vivero. A = Plantas recién inoculadas. B = Sistema foliar con inicios de clorosis. C= Emisión de brotes epicórmicos bajo el punto de inoculación. D = Sistema foliar afectado por la marchitez vascular, brote epicórmico bajo el punto de inoculación.....	35
Figura 10.	Plantas de melina inoculadas. A = Plantas con <i>Fusarium</i> sp., B = Plantas control.....	35
Figura 11.	Plantas con su corte respectivo A = Plantas con <i>Fusarium</i> spp., B = Plantas control.....	36

ÍNDICE DE ANEXOS

		Pág.
Anexo 1.	Ficha forestal de la plantación del Sr. Jaime Noroña.....	47
Anexo 2.	Ficha forestal de la plantación de la Sra. Maritza Verduga.....	48
Anexo 3.	Ficha forestal de la plantación del Sr. Hipólito Yáñez.....	49
Anexo 4.	Inoculación y disección de las plantas de melina.....	50
Anexo 5.	Fotografías de plantas de melina diseccionadas.....	50

CÓDIGO DUBLÍN

Titulo	Implicaciones de <i>Fusarium</i> spp., en la etiología de la pudrición del fuste de <i>Gmelina arborea</i> Roxb (melina) en el Trópico Húmedo Ecuatoriano
Autora:	Morán Vásquez María Estefanía
Palabras claves:	Etiología, fitopatógenos, incidencia, inoculación, necrosis, severidad.
Editorial:	FCAMB, Carrera de Ingeniería Forestal, Morán, M.
Resumen: (hasta 300 palabras)	El presente estudio se realizó en plantaciones de <i>Gmelina arborea</i> Roxb (melina) de diferentes edades (4,5; 2,3 y 2 años), pertenecientes a los cantones Santo Domingo de los Colorados y Buena Fé, donde se establecieron tres parcelas de 500 m² en cada plantación, a partir de las cuales se extrajeron y analizaron muestras de árboles enfermos. Se realizó una descripción sintomatológica de los árboles a nivel de campo y analizó la incidencia y severidad de la enfermedad empleando una escala de 5 categorías, además se extrajo pequeñas secciones de madera, tres en cada parcela, para luego ser analizadas en laboratorio. Se emplearon tres estrategias metodológicas (cámara húmeda, sándwiches de zanahoria y medio cultivo papa-destrosa-agar (PDA)) para estimular el crecimiento de fitopatógenos. Se aisló e identificó cepas de <i>Fusarium</i> sp., para luego ser inoculadas en plantas de melina de 6 meses de edad. La incidencia de la enfermedad fue 0%; 12,7% y 11,3% para las plantaciones de 4,5; 2,3 y 2 años respectivamente. Los árboles enfermos en las plantaciones de 2,3 y 2 años se encontraron en la escalas de 2 a 5, mientras que en la plantación de 4,5 años no se observó severidad de enfermedad. Para las pruebas de patogenicidad (postulados de Koch) se establecieron los siguientes tratamientos T1 = <i>Fusarium</i> sp. 1, T2 = <i>Fusarium</i> sp. 2, T3 = <i>Fusarium</i> sp. 3, T4 = <i>Fusarium</i> sp. 4, T5 = <i>Ceratocystis fimbriata</i>, T6 = hongo negro picnidial, y T7 = plantas control (testigo). Cada tratamiento estuvo constituido por 17 plantas (repeticiones). Después de 155 días de incubación las plantas se diseccionaron mediante cortes longitudinales y transversales, se estimó el volumen aparente de necrosis (cm³) y la longitud total de necrosis (cm). Los volúmenes aparentes de necrosis en <i>Fusarium</i> sp. 1, <i>Fusarium</i> sp. 2, y <i>Fusarium</i> sp. 4, (2,31 cm³; 2,43 cm³ y 1,71 cm³) fueron similares entre si y diferentes a <i>Fusarium</i> sp. 3, <i>C. fimbriata</i>, y hongo negro picnidial. La mayor longitud total de necrosis la generaron los tratamientos <i>Fusarium</i> sp. 1, <i>Fusarium</i> sp. 2, <i>Fusarium</i> sp. 4 y el hongo negro picnidial, con 10,95 cm; 12,91 cm; 9,71 cm; 8,67 cm y 12,25 cm respectivamente, siendo estadísticamente similares entre sí, pero diferentes a los tratamientos <i>Fusarium</i> sp. 3 y a las plantas control que alcanzaron longitudes menores de 3,76 cm y 1,53 cm, respectivamente.
Descripción:	Hojas dimensiones, 29 x 21 cm + CD-ROMresuktad
URL:	

INTRODUCCIÓN

Gmelina arborea Roxb. (melina), perteneciente a la familia Lamiaceae, originaria del suroeste de Asia, es una especie de rápido crecimiento distribuida ampliamente en el THE. Es considerado un árbol maderable cotizado en la industria internacional para la producción de pulpa de papel, además presenta excelentes características para la fabricación de muebles y productos terciarios (papeles y vigas) (Moya, 2004).

Según MAGAP (2016) 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 11458 hectáreas que representaban el 21,9% de las 52395 Ha., 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 462596 reportados para el mismo año y en las especies forestales mencionadas anteriormente, principalmente estimadas para el Programa de Incentivos Forestales que regentaba el MAGAP durante el gobierno anterior.

Según Saltos (2019), en los últimos cinco años, una compleja y agresiva enfermedad está afectando las plantaciones comerciales de melina en el Trópico Húmedo Ecuatoriano (THE), manifestándose con un detrimento prematuro y gradual del vigor en los árboles, acompañada de decoloración del sistema foliar (clorosis) y retraso en el crecimiento. Es observable en algunos árboles que desde el fuste excretan exudados de color café oscuro, con fuerte olor a materia en descomposición, que indica una pudrición interna del fuste. La problemática fitosanitaria detectada últimamente en melina parece estar asociada a microorganismos fungosos, debido a las características propia de la enfermedad y a la presencia de signos a nivel de campo (Macías, 2019).

En este sentido, Macías (2019), mediante pruebas de patogenicidad demostró que el hongo ascomicete *Ceratocystis fimbriata* era el causante de la enfermedad. No obstante, recorridos periódicos por plantaciones del THE dan cuenta de árboles enfermos con una sintomatología diferente a la descrita por Macías (2019), haciendo sospechar que en los

bosques de *G. arborea* se están presentado dos enfermedades al mismo tiempo y probablemente ocasionadas por fitopatógenos diferentes. Esta enfermedad distintiva se manifiesta con la pudrición del fuste, y la consecuente muerte de los árboles en pie. Esta pudrición genera áreas circulares, ovaladas o alargadas en la corteza, adquiriendo un aspecto resquebrajiso de color café oscuro a negro, con una tipología de cancro, cuya área necrótica puede abarcar la circunferencia del árbol. La sintomatología inicia con el marchitamiento de las hojas y posterior secamiento, hasta que finalmente caen al piso del bosque. Reportes de la literatura científica informan este tipo de sintomatología asociada a árboles de *G. arborea* en Costa Rica, donde se ha asociado al hongo Deuteromicete *Fusarium* sp., con su fase sexual (ascomicete) *Nectria* sp., como causal(es) del problema (Arguedas, 2004; Murillo-Gamboa *et al.*, 2016).

Concomitante a esta información, Saltos (2019), Macías (2019) y Belezaca-Pinargote (datos en proceso de publicación) en sus trabajos de investigación contantemente aislaron cepas de *Fusarium* spp., desde tejidos necróticos de árboles enfermos de melina, por lo que su participación en la patología de la especie forestal debe ser dilucidada. Por tanto, mediante esta investigación y empleando cepas de *Fusarium* spp., previamente aisladas de árboles de melina enfermos que reposan en la colección de hongos de la UTEQ, se buscó determinar si este fitopatógeno era capaz de causar enfermedad en plántulas mediante los postulados de Koch, y generar sintomatología similar a la observada a nivel de campo.

CAPÍTULO I
MARCO CONCEPTUAL DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 Diagnóstico.

Las plantaciones de *G. melina arborea* se encuentran ampliamente distribuidas en el Trópico Húmedo Ecuatoriano, con excelentes resultados al momento de su aprovechamiento, sin embargo durante la última década se han visto afectadas plantaciones enteras por la enfermedad “de marchitez vascular y pudrición del fuste”, ocasionando la muerte de miles de árboles. Hasta el momento se ha demostrado científicamente que el hongo *C. fimbriata* es el causante de la enfermedad, sin embargo, observaciones de campo dan cuenta que la patogenicidad y mecanismo de acción de este microorganismo no explica la sintomatología reflejada por todos los árboles enfermos, haciendo reflexionar la posibilidad que existan dos enfermedades distintas ocasionadas por patógenos diferentes. Los constantes aislamientos de *Fusarium* spp., desde árboles enfermos de melina podrían indicar que este microorganismo esté generando algún tipo de patología diferente al ya descrito anteriormente por Saltos (2019) y Macías (2019). Por tanto existe la imperiosa necesidad de dilucidar el papel fitopatológico que realiza *Fusarium* spp., en las enfermedad de *G. arborea*.

1.2 Pronóstico.

Desconocimiento de la etiología de una aparente nueva enfermedad de pudrición del fuste en *G. arborea*.

1.3 Formulación del problema.

¿El *Fusarium* spp., es el agente biológico causante de una segunda enfermedad de la pudrición del fuste en *G. arborea*?

1.4 Sistematización.

¿Cuál será el estado actual de las plantaciones de *G. arborea*, en el Trópico Húmedo Ecuatoriano?

¿Cuál es el agente biológico asociado a una nueva enfermedad que afecta el fuste de *G. arborea*?

¿*Fusarium* spp., será capaz de ocasionar la pudrición del fuste y muerte en plantas de *G. arborea* a nivel de vivero, similar a la observada en plantaciones ya establecidas?

1.5 Objetivos.

1.5.1 General.

Conocer si *Fusarium* spp., está relacionado en la etiología de la pudrición del fuste de *Gmelina arborea* Roxb. (melina) en el Trópico Húmedo Ecuatoriano.

1.5.2 Específicos.

- Determinar la incidencia y severidad de la enfermedad de pudrición del fuste en plantaciones de *G. arborea* en el Trópico Húmedo Ecuatoriano.
- Aislar e inocular cepas de *Fusarium* spp., en plantas de *G. arborea* a nivel de vivero (Postulados de Koch).
- Describir la sintomatología desarrollada por plantas de *G. arborea* Roxb. inoculadas con *Fusarium* spp. a nivel de vivero.

1.6 Justificación.

Hasta el momento se conoce que uno de los problemas fitosanitarios que está teniendo *G. arborea* (melina), es causado por *C. fimbriata*, quien está matando miles de árboles en nuestro país (Macías, 2019). Sin embargo la sintomatología que se encuentra asociada en árboles a nivel de plantación, no obedece a la presencia única de este fitopatógeno, sino que probablemente existan otros fitopatógenos asociados a la enfermedad, o en su defecto debido a la diferencia de sintomatología, otra enfermedad estaría presente en las plantaciones, desconociéndose aún su etiología.

En estudios realizados en Costa Rica asociaron al hongo *Fusarium* sp., (anamorfo) y su fase sexual *Nectria* sp., (telomorfo) como causantes de la enfermedad de pudrición del fuste en *G. arborea*. Mientras que en Ecuador varios trabajos fitopatológicos realizados a raíz de reportarse problemas fitosanitarios en plantaciones comerciales de melina, a más de aislarse *C. fimbriata*, constante, repetida, y frecuentemente se aislaron cepas de *Fusarium* spp., sin que hasta el momento se lo asocie a una u otra enfermedad (Saltos, 2019; Macías, 2019; Belezaca-Pinargote – datos en proceso de publicación).

No obstante, la sintomatología observada en árboles enfermos de varias plantaciones del THE hace sospechar la probabilidad que en estos ecosistemas estén convergiendo dos enfermedades diferentes, ocasionadas por patógenos diferentes. Esta teoría toma más relevancia debido al hecho que en varios trabajos de investigación de forma recurrente se han aislado sepas de *Fusarium* spp., desde tejidos necrosados de árboles enfermos. Esta información resulta relevante desde el punto de vista fitopatológico, ya que la constante presencia de este fitopatógeno sería un indicador de algún tipo de patología diferente al ya descrito anteriormente por Saltos (2019) y Macías (2019). En tal virtud, es necesario aclarar cuál es la función de *Fusarium* spp., en el desarrollo de la enfermedad(es) de *G. arborea* en plantaciones monoespecíficas.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1 Marco Conceptual.

2.1.1 *Gmelina arborea* Roxb (melina).

Originaria 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 (Jiménez, 2016). Esta especie presenta características relevantes para el sector forestal, se la considera especie pionera debido a su capacidad de colonización de nichos ecológicos de forma eficiente, propiedad que es muy apreciada en proyectos de reforestación debido a que presenta una de las mayores tasas de crecimiento en especies maderables (Quisobony, 2011). 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).

2.1.1.1 Taxonomía.

Según (Puente y Puente, 2017), la melina presenta la siguiente clasificación taxonómica:

Reino	:	Plantae
División	:	Angiospermae
Clase	:	Eudicotyledoneae
Subclase	:	Asterid I
Orden	:	Lamiales
Familia	:	Lamiaceae
Género	:	Gmelina
Especie	:	arborea
Nombre Científico	:	<i>Gmelina arborea</i> Roxb.

2.1.1.2 Descripción botánica.

Árbol caducifolio, que alcanza hasta los 30 m de altura y hasta 80 cm de diámetro. El tronco no presenta defectos, casi rectilíneo, tiene copa en forma de cúpula. La gama de colores de la madera va desde blanco grisáceo a marrón amarillento. La madera del duramen y albura apenas se diferencia entre sí en cuanto al color (Puente y Puente, 2017).

2.1.1.3 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 es verde y liso, mientras que el envés es verde pálido y aterciopelado, nerviación reticulada, con nervios secundarios entre 3 y 6 pares y estípulas ausentes (Rojas y Murillo, 2004).

2.1.1.4 Flores.

Generalmente numerosas, 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).

2.1.1.5 Frutos.

Es un fruto carnosos tipo drupa, de forma ovoide u oblonga, carnosos suculentos, con pericarpo coriáceo y endocarpo óseo, de color verde lustroso, tornándose amarillo brillante al madurar, momento en el que caen al suelo, lo que facilita su recolección (Rojas y Murillo, 2004).

2.1.1.6 Semillas.

Se encuentran formando parte del endocarpio del fruto, son de forma elipsoidales, comprimidas, de 7-9 mm de largo; testa color café, lisa, opaca, membranosa, muy delgada; el embrión es recto, comprimido, de color amarillo-crema y ocupa toda la cavidad de la semilla; los cotiledones son dos, grandes, planos, carnosos y elipsoidales (Jiménez, 2016).

2.1.1.7 Raíces.

Presenta un sistema radical profundo, aunque puede ser superficial en suelos con capas endurecidas u otros limitantes de profundidad (Rojas y Murillo, 2004).

2.1.1.8 Usos.

La madera es utilizada para aserrío, construcciones rurales y construcción en general, tarimas, leña, muebles, artesanía, cajonería, pulpa para papel, contrachapados, embalajes, postes, tableros, carpintería, tableros y aglomerados (Rojas y Murillo, 2004).

2.1.1.9 Distribución geográfica en Ecuador.

En Ecuador se encuentra distribuida en las zonas tropicales del país, establecida en las Provincias de Esmeraldas, Santo Domingo de los Tsáchilas, Noroccidente de Pichincha, Los Ríos, parte de las provincias del Guayas, el Oro, y ciertas provincias amazónicas, concentrándose en ellas la mayor cantidad de superficie plantada con esta especie (Jiménez, 2016).

2.1.2 Patogenicidad.

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

Cuando se piensa que un microorganismo puede ser la causa de una enfermedad y no existen estudios previos que los comprueben, hay que seguir una metodología conocida como postulados de Koch o también llamados pruebas de Patogenicidad, para verificar la hipótesis que el o los microorganismos son la causa o no de la enfermedad (Garbelotto y Gonthier, 2018). Según este mismo autor, los postulados de Koch se los puede resumir de la siguiente manera:

1. Hay una relación muy estrecha entre la enfermedad con el microorganismo fitopatógeno, es decir, el fitopatógeno debe estar asociados 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 estudios 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.

2.1.2 Hongos.

2.1.2.1 Características Generales.

Los hongos son pequeños microorganismos, generalmente microscópicos que carecen de tejidos conductores y clorofila, 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).

2.2.2 *Fusarium* spp.

2.2.2.1 Taxonomía.

Según Arias y Jerez (2008) el género *Fusarium*, se clasifica de la siguiente manera:

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

2.2.2.2 Descripción.

El género *Fusarium* es un grupo de hongos filamentosos ampliamente distribuidos en el suelo y plantas. Debido a su capacidad de crecer a los 37°C, son considerados oportunistas. La taxonomía para este género es bastante compleja y ha sufrido diversos cambios desde la primeras descripciones hechas por Link en 1803 (Tapia y Amaro, 2014).

Una vez crecido produce un micelio algodonoso e incoloro al principio, pero conforme madura adquiere un color crema o amarillo pálido y bajo ciertas condiciones adquiere una tonalidad rosa pálido, roja o purpura. Este patógeno produce un micelio septado hialino que produce tres tipos diferentes de esporas asexuales. Las microconidias son producidos en el micelio aéreo solo o en cadenas, tiene de una a dos células y son las esporas que el hongo produce con mayor frecuencia y abundancia en todas las condiciones (Valencia, 2009).

Estas esporas son las que el hongo forma con más frecuencia en el interior de los vasos de las plantas infectadas. Las macroconidias son esporas típicas de *Fusarium*, están constituidas por 3 o 5 células, que se adelgazan gradualmente y se encorvan hacia ambos extremos. Aparecen con gran frecuencia sobre la superficie de plantas que han sido destruidas por el patógeno, estas macroconidias son producidas en una estructura especializada, el esporodoquio, una masa de monofiálides cortas que sostienen las macroconidias. Además pueden producirse en el micelio aéreo ya sea en monofiálides o polifiálides. El ultimo tipo de espora son las clamidosporas, que están constituidas por una o dos células, son esporas redondas de pared gruesa lisa o rugosa y contienen un material lipídico que le permite al hongo sobrevivir en situaciones adversas (Valencia, 2009).

2.2.2.3 Síntomas.

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).

2.2.2.4 Patogénesis.

Fusarium spp., 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).

2.2 Marco Referencial.

Salto (2019) investigó acerca de la identificación de microorganismos fungos asociados a la pudrición del fuste de *G. arborea* en el Trópico Húmedo Ecuatoriano. El muestreo lo realizó en plantaciones enfermas de melina con edades de 2; 3,5 y 5 años, para ello estableció tres parcelas de 500 m² en cada plantación con un total de nueve

parcelas, tomando muestras de partes del fuste que presentaban pudrición. Se emplearon tres estrategias metodológicas (cámara húmeda, sándwiches de zanahoria y medio cultivo PDA), para activar a los patógenos, luego ser aislados y posteriormente inoculados en plantas sanas de melina a nivel de invernadero. Obteniendo como resultados que las plantaciones de menor edad eran más susceptibles a esta enfermedad, y en medio de cultivo PDA y cámara húmeda aisló los hongos *Fusarium* spp., y *C. fimbriata*.

Coy (2017) indagó acerca de la identificación de hongos y bacterias asociadas al tejido vascular de fustes enfermos de melina (*Gmelina arborea* Roxb) en plantaciones del departamento de Tolima en Colombia. Se estudiaron plantaciones menores a 20 años de edad. Mediante los postulados de Koch se demostró que los hongos, *Lasiodiplodia theobromae* y *Coniothyrium geniculata*, causaban patogenicidad en plántulas de cuatro meses de edad, con una incidencia del 75% y 50% respectivamente y un crecimiento micelial y pudrición en el tejido vascular en tallos de plantas inoculadas.

Macías (2019) aisló los hongos *C. fimbriata* y *Fusarium* spp., provenientes de plantaciones de melina en Ecuador, para luego inocular plantas sanas con estos hongos, obteniendo como resultado que *C. fimbriata* es el patógeno causante de la enfermedad de marchitez vascular y pudrición del fuste, y que la sintomatología observada en plantas de melina, es similar a la detectada a nivel de campo en árboles jóvenes y adultos enfermos.

No obstante observaciones a nivel de campo dan cuenta que la sintomatología de árboles enfermos estaría asociada a más de un fitopatógeno, y el constante aislamiento de cepas de *Fusarium* spp, desde tejidos necrosados hace sospechar que este microorganismo estaría jugando un papel clave en la patogénesis de la especie.

CAPÍTULO III
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Localización del área de estudio.

El presente estudio se realizó en el laboratorio de Microbiología Ambiental y Vegetal de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), donde reposa la colección de cepas de *Fusarium* spp., colectadas desde árboles enfermos de melina. La investigación a nivel de campo se realizó en tres plantaciones de las parroquias San Jacinto de Buena Fe (Prov. de Los Ríos), Santa María de Toachi y Luz de América (Prov. Santo Domingo de los Tsáchilas). En la figura 1 se muestra la ubicación geográfica de las plantaciones estudiadas.

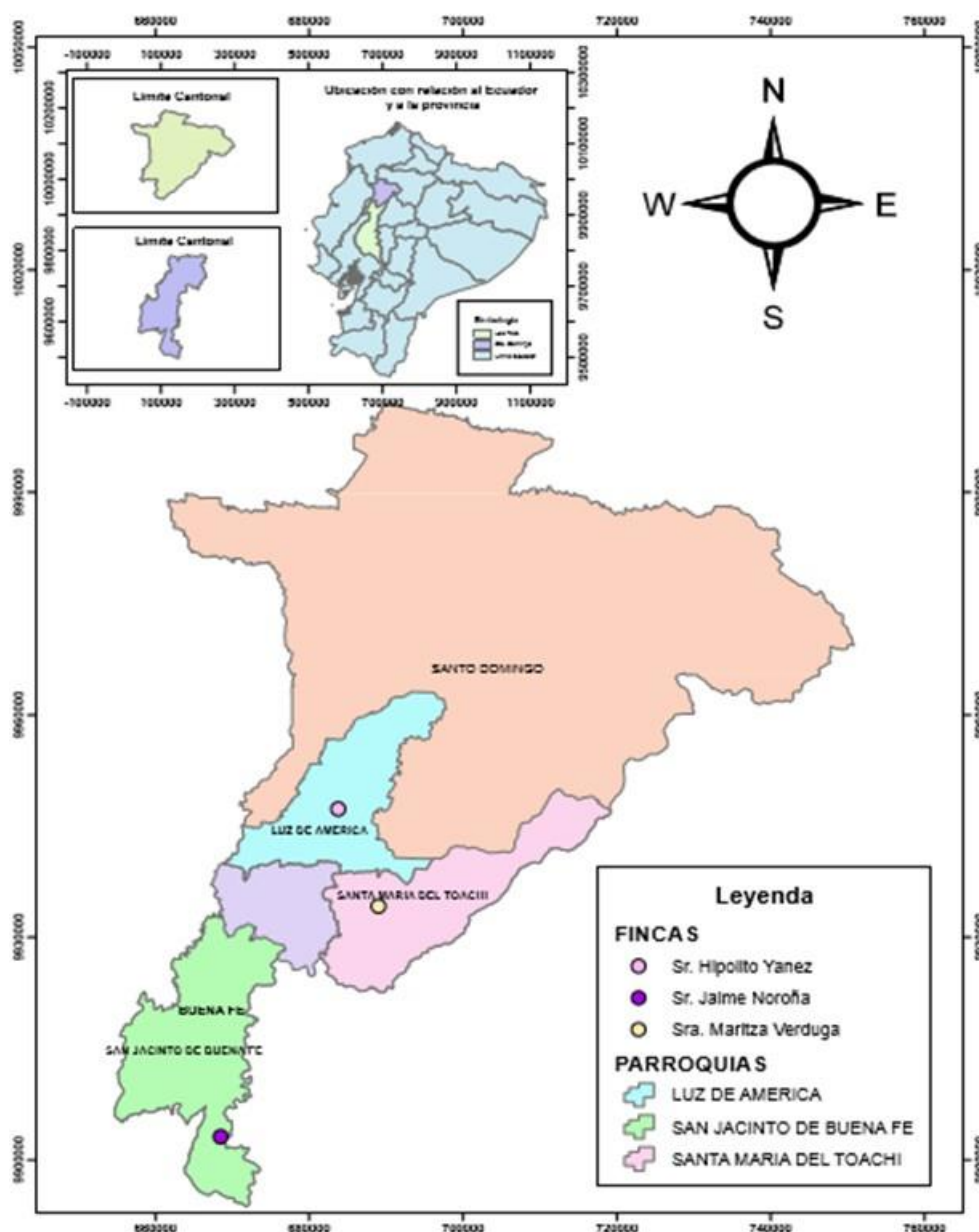


Figura 1. Ubicación geográfica de las tres plantaciones de *G. arborea* estudiadas en el Trópico Húmedo Ecuatoriano.

En la parroquia San Jacinto de Buena Fe, se analizó una plantación de 4,5 años de edad perteneciente al Sr. Jaime Noroña. En la parroquia Luz de América, la plantación tenía una edad de 2 años y pertenece al Sr. Hipólito Yánez. La plantación de la Parroquia Santa María del Toachi poseía una edad de 2,3 años, perteneciente a la Sra. Maritza Verduga. En la plantación del Sr. Jaime Noroña previamente se ha aplicado técnicas silviculturales (raleo y podas) de formación, mientras que en las plantaciones del Sr. Hipólito Yánez y la Sra. Maritza Verduga no se ha aplicado ningún manejo silvicultural.

3.2 Materiales.

Para la ejecución de la investigación se usaron diferentes equipos, herramientas y materiales, los cuales se clasificaron de la siguiente manera:

3.2.1 Materiales de campo.

- Receptor GPS Navegador
- Cinta métrica
- Fundas de plástico
- Libreta de notas
- Lapicero
- Spray (rojo)

3.2.2 Materiales de oficina.

- Laptop
- Pendrive
- Carpetas
- Impresora HP
- Hojas tamaño A4

3.2.3 Materiales de laboratorio.

- Placas Petri de vidrio
- Tubos de ensayo
- Microscopio
- Bisturí
- Cinta de Parafilm
- Algodón
- alcohol
- Agua destilada
- Sacabocado
- Asa
- Cuchillo
- Tabla de picar
- Esmaltes de colores para etiquetar

3.3 Tipo de investigación.

Se utilizó el método exploratorio, comenzado con la identificación de plantaciones que presentaran pudrición en el fuste a las que se le realizó un diagnóstico fitopatológico, estimación de la incidencia y severidad de la enfermedad a nivel de campo y finalmente aislamiento de microorganismos fúngicos asociados a árboles enfermos.

3.4 Métodos de investigación.

Para el cumplimiento de los objetivos se utilizó los métodos de observación y analítico, debido a los enfoque de los objetivos para la determinación de la etiología de la pudrición del fuste en melina.

3.5 Diseño de la investigación.

3.5.1 Determinación de la incidencia de la enfermedad.

En cada plantación se delimitaron tres parcelas rectangulares de 500 m², dentro de las cuales 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 árboles aparentemente sanos. Para el cálculo se empleó la ecuación [1] usada por Saltos (2019):

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

3.5.2 Determinación de la severidad de la enfermedad.

Para el efecto se utilizó la escala arbitraria de cinco categorías propuestas por Salas *et al.* (2016) que se detalla en la tabla 1. La severidad de la enfermedad se la estimó en función a las características morfológicas visibles de ramas, hojas y fuste de árboles enfermos, y luego comparados con árboles aparentemente sanos, además se realizó una descripción de la sintomatología de la enfermedad.

Tabla 1. Escala arbitraria de cinco categorías propuesta por Salas *et al.* (2016) para evaluar la severidad de la enfermedad de pudrición del fuste en *G. arborea*

Severidad (Criterio)	Síntomas
1	Árbol aparentemente sano, no hay evidencia de síntomas visibles.
2	Amarillamiento inicial de la copa (marchitez foliar evidente); el fuste puede tener pequeñas heridas necrosadas y con exudación negra en sitios diferentes a donde hubo podas; 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, exposición y abultamiento de la corteza, exudación prominente; 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; la pudrición externa aparente alcanza un 75% del tronco, donde la zona cancerosa (cancro) se manifiesta con claridad
5	Árbol completamente seco, podrido; la madera ya perdió completamente su valor comercial.

3.5.3 Evaluación de las variables dasométricas.

Una vez establecidas las parcelas se registraron las siguientes variables: densidad, altura total y comercial (m), diámetro a la altura del pecho (DAP) y números de brotes epicórmicos a cada uno de los árboles sanos o enfermos presentes en cada parcela.

3.5.4 Aislamiento e inoculación de cepas de *Fusarium* spp., en plantas sanas de melina.

En cada parcela se muestrearon 3 árboles (10%) con síntomas de la enfermedad. Los árboles se apearon al nivel del suelo con la ayuda de una motosierra y posteriormente se realizaron cortes transversales y longitudinales en el fuste cada 50 cm, con el propósito de determinar el sitio de ingreso de los patógenos y la diseminación de los mismos dentro de los tejidos.

Secciones de madera con evidencia de necrosis se seleccionaron y se guardaron en bolsas plásticas con su respectiva rotulación, para posteriormente trasladarlas al Laboratorio de Microbiología Ambiental y Vegetal de la UTEQ para su respectivo análisis microbiológico. Para el efecto las muestras se acondicionaron de la siguiente manera:

- **Cámara húmeda.** Muestras de madera con tejidos necrosados se introdujeron en bolsas de plástico conteniendo papel húmedo e incubando durante 96 horas en condiciones de humedad relativa y temperatura constante de $(24 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C})$ a nivel de laboratorio. Una vez que se detectaron signos de microorganismos (micelio, cuerpos fructíferos, etc.) creciendo en la madera, con la asistencia de un estereomicroscopio, estos fueron trasladados a medios de cultivo sintético, bajo condiciones de asepsia.
- **Siembra de sánduches de zanahoria.** Con el propósito de estimular en crecimiento y desarrollo de microorganismos fúngicos de difícil crecimiento inicial en medios de cultivos sintético, se realizó siembras con segmentos de tejidos

necróticos de aproximadamente 2 x 2 x 0,5 cm (largo, ancho y espesor) entre dos rodajas de zanahoria, apretadas con cinta de papel formando de esta manera un sánduche (Li *et al.*, 2014; Piveta *et al.*, 2016). Una vez realizado los sánduches de zanahoria se introdujeron en tarrinas plásticas estériles, se taparon e incubaron por 120 horas (5 días). Pasado el tiempo de incubación, se analizaron los sánduches con la ayuda de un estereomicroscopio con el propósito de detectar el desarrollo de signos (micelio, cuerpos fructíferos, etc.), creciendo en los sánduches los mismos que fueron trasladados a medios de cultivo sintético, bajo condiciones de asepsia.

- **Siembras directas en medios de cultivo PDA.** Muestras frescas seleccionadas con tejido necrótico se diseccionaron en el laboratorio con la ayuda de un cuchillo, mediante cortes de aproximadamente 0.5 x 0.5 cm, estas secciones de maderas se depositaron en una placa Petri estéril conteniendo 10 ml de medio de cultivo PDA + 0.2 ml de una mezcla de antibióticos (50 µg/ml de penicilina y 25 µg/ml de estreptomicina) (Parkinson, 1994), para luego ser incubadas durante 96 horas a temperatura de laboratorio (24 ± 2 °C).

Una vez que crecieron los hongos en los medios de cultivos se procedió a la identificación de los mismos con la ayuda de claves taxonómicas.

3.5.4.1 Preparación e inoculación.

Después de la obtención de cepas de *Fusarium* sp y *C. fimbriata*, con la asistencia de un sacabocado de vidrio estéril de 0,5 cm de diámetro se realizaron cortes circulares en las colonias del fitopatógeno para obtener áreas uniformes.

Para las pruebas de patogenicidad se utilizaron plantas de melina en buen estado sanitario de 6 meses de edad, con un diámetro del tallo a nivel del suelo de aproximadamente 3 cm. y una altura de 60 cm, procedentes de un vivero particular. Para el efecto, se desinfecto con algodón humedecido de alcohol el sitio a realizar el corte, mediante un bisturí estéril se realizó un corte inclinado comprometiendo la corteza y el xilema de la

planta. Dentro de la herida se aplicó cuidadosamente un segmento de colonia del fitopatógeno seleccionado y cortado con el sacabocado, una vez estando el hongo dentro de la planta se cubrió la herida con cinta de parafilm. Las plantas control se inocularon en las mismas condiciones anteriores con la diferencia que en el lugar de inocular el patógeno, se aplicó dentro de la herida un segmento de agua y se cerró la herida con cinta de parafilm.

Las plantas se regaron periódicamente de acuerdo a las necesidades de las mismas. El experimento se estableció durante 155 días (5 meses 4 días), tiempo en el cual se realizaron las pertinentes observaciones sobre el estado sanitario de cada una de las plantas inoculadas, con el propósito de detectar la aparición de síntomas relacionados a la pudrición del fuste, asociados al fitopatógeno inoculado. A los 155 días después de realizada la inoculación las plantas fueron diseccionadas mediante cortes longitudinales y transversales para determinar y medir (cm) los daños o lesiones necróticas en el tejido de la planta, tanto en sentido ascendente y descendente, tomando como punto de referencia la parte central de la herida efectuada en la inoculación. Las áreas de necrosis fueron medidas en tres dimensiones (alto, ancho y profundidad), para estimar el área aparente de necrosis, expresadas en cm^3 .

3.5.5 Descripción de la sintomatología desarrollada en las plantas inoculadas a nivel de vivero.

A partir de las 24 horas posteriores a la inoculación, se realizaron observaciones pasando un día, registrando y documentando detalladamente los síntomas desarrollados en cada una de las plantas inoculadas para luego ser comparadas con las plantas control.

3.5.6 Tratamientos y Diseño Experimental.

Se utilizó un Diseño completamente al Azar (DCA), constituido por siete tratamientos: T1 = plantas de melina inoculadas con *Fusarium* sp.1, T2 = plantas de melina inoculadas con *Fusarium* sp.2, T3 = plantas de melina inoculadas con *Fusarium* sp.3, T4 = plantas de melina inoculadas con *Fusarium* sp.4, T5 = plantas de melina inoculadas con

Ceratocystis fimbriata, T6 = plantas de melina inoculadas con un hongo negro (picnidial), y T7 = plantas de melina sin inocular (control). Por cada tratamiento se emplearon 17 plantas de melina (repeticiones). En la tabla 2 se muestran los tratamientos aplicados a nivel de invernadero, mientras que la figura 1 representa la distribución de los mismos.

Tabla 2. Tratamientos aplicados en plantas de *G. arborea* a nivel de invernadero

No.	Denominación	Descripción
1	T1	<i>Fusarium</i> sp. 1
2	T2	<i>Fusarium</i> sp. 2
3	T3	<i>Fusarium</i> sp. 3
4	T4	<i>Fusarium</i> sp. 4
5	T5	<i>Ceratocystis fimbriata</i>
6	T6	Hongo negro (picnidial)
7	T7	Sin inoculación (Control)

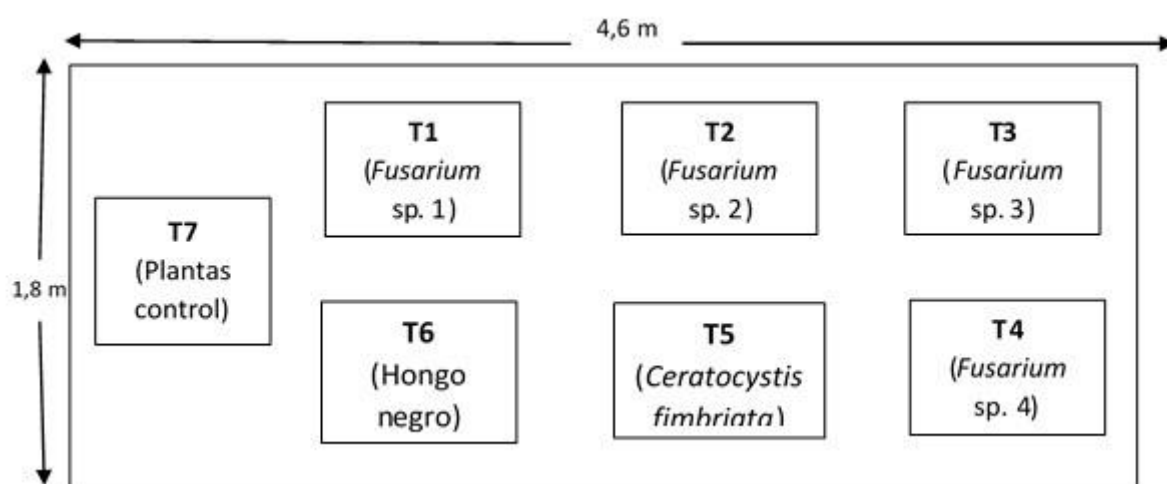


Figura 2. Distribución de los tratamientos dentro del invernadero.

Los datos obtenidos a nivel de campo y laboratorio (cuantitativos y cualitativos) se analizaron empleando herramientas de estadística descriptiva: media, desviación estándar, error estándar, coeficiente de variación, etc. Para establecer la existencia o no de diferencias significativas, 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 de 95% ($P < 0.05$), para el efecto se empleó el paquete estadístico SYSTAT 11 versión para Windows.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Incidencia de la enfermedad en plantaciones de *G. arborea* en el Trópico Húmedo Ecuatoriano.

En la plantación 1 (4,5 años de edad) se detectó una densidad de 953 árboles por ha⁻¹, lo cual refleja la falta de manejo silvicultura. No se detectaron árboles enfermos en las parcelas, lo que permitió inferir que no existe incidencia de la enfermedad. En la evaluación de la plantación 2 (2,3 años de edad), se identificó una densidad de 840 árboles ha⁻¹, este valor debido a que no se ha realizado podas ni raleos respectivos en la plantación. Además se detectaron en promedio 5 árboles enfermos y en promedio 4 árboles muertos, cuyos resultados representaron una incidencia de 12,7%. En la plantación 3 (2 años de edad), se encontró una densidad de 940 árboles por hectárea considerando que no se ha realizado ningún manejo silvicultural. En promedio se detectaron 5 árboles enfermos y 2 árboles muertos, cuyos resultados representaron una incidencia de 11,3% (Tabla 3).

Tabla 3. Incidencia de la enfermedad de pudrición del fuste en tres plantaciones de *G. arborea* del Trópico Húmedo Ecuatoriano

Plantación	Nº. Parcela	Árboles ha ⁻¹ Densidad	Nº Árboles por parcela	Árboles sanos	Árboles enfermos	Árboles muertos	Incidencia (%)
Plantación 1 (4.5 años)	1	880	44	24	0	0	0,0
	2	1040	52	23	0	0	0,0
	3	940	47	21	0	0	0,0
	Promedio	953	48	23	0	0	0,0
Plantación 2 (2.3 años)	1	840	42	34	4	3	9,5
	2	840	42	29	5	8	11,9
	3	840	42	33	7	2	16,7
	Promedio	840	42	32	5	4	12,7
Plantación 3 (2 años)	1	940	47	41	5	1	10,6
	2	940	47	36	7	3	14,9
	3	940	47	41	4	2	8,5
	Promedio	940	47	39	5	2	11,3

4.1.1 Severidad de la enfermedad en plantaciones de *G. arborea* en el Trópico Húmedo Ecuatoriano.

En la plantación del Sr. Jaime Noroña en base a datos recolectados en campo se demostró que no existen árboles enfermos ni muertos en pie debido a las actividades de raleo realizadas. Mientras que en la plantación de la Sra. Maritza Verduga, la mayor parte de árboles enfermos se hallaron en la escala 2, lo cual indica que el 11,1% de los árboles se encuentran con presencia de la afección de pudrición del fuste en estado de progreso medio. Mientras que el 10,3% de los árboles de dicha plantación, están muertos en pie. En la evaluación de la plantación del Sr. Hipólito Yánez, la mayor parte de árboles enfermos se encontraron en la escala 2, lo cual señala que el 9,9% de los árboles se encuentran con presencia de la enfermedad de pudrición del fuste en estado de avance medio. Entretanto el 4,7% de los árboles de la respectiva plantación se encuentran muertos en pie (Tabla 4).

Tabla 4. Severidad de la enfermedad de pudrición del fuste en tres plantaciones de *G. arborea* del trópico Húmedo Ecuatoriano

Plantación	N°. Parcela	N° de árboles por escala *					Árboles enfermos	N° Árboles por parcela	Árboles ha ⁻¹ Densidad
		1	2	3	4	5			
Plantación 1 (4.5 años)	1	24	0	0	0	0	0	44	880
	2	23	0	0	0	0	0	52	1040
	3	21	0	0	0	0	0	47	940
	Promedio	23	0	0	0	0	0	48	953
Plantación 2 (2.3 años)	1	35	2	2	0	3	4	42	840
	2	29	5	0	0	8	5	42	840
	3	33	7	0	0	2	7	42	840
	Promedio	32	5	1	0	4	5	42	840
Plantación 3 (2 años)	1	41	4	1	0	1	5	47	940
	2	37	6	1	0	3	7	47	940
	3	41	4	0	0	2	4	47	940
	Promedio	40	5	1	0	2	5	47	940

4.1.2 Variables dasométricas de las plantaciones de *G. arborea*.

El comportamiento de los árboles de melina en la plantación del Sr. Jaime Noroña es aparentemente idónea con relación al diámetro y la altura, según datos recolectados, donde la altura y DAP oscilaron entre los 13,0 m – 13,6 m y 22,3 cm – 33,1 cm, respectivamente (Tabla 5).

Tabla 5. Variables dasométricas, analizadas en la plantación del Sr. Jaime Noroña, ubicada en la parroquia San Jacinto de Buena Fe. Valores promedios representan la media con su respectivo error estándar

N° Parcela	Árboles ha ⁻¹ (Densidad)	N° Árboles por parcela	Altura (m)			DAP (cm)		
			Máximo	Media	Mínimo	Máximo	Media	Mínimo
1	880	44	16	13,0 ± 0,39	5	22,3	16,5 ± 0,56	7,30
2	1040	52	16	13,6 ± 0,20	10	32,8	21,8 ± 0,63	14,0
3	940	47	16	13,1 ± 0,24	10	33,1	19,7 ± 0,67	12,7
Promedio	953	48	16	13,2 ± 0,19	8	29,4	11,2 ± 0,69	11

En la plantación de la Sra. Maritza Verduga el comportamiento de los árboles de melina fue aparentemente uniforme, esto en base a los datos recolectados en campo, donde el promedio de la altura y DAP fluctuaron entre 9,9 m – 12,2 m y 15,2 cm – 17,8 cm, respectivamente (Tabla 6).

Tabla 6. Variables dasométricas, analizadas en la plantación de la Sra. Maritza Verduga, ubicada en la parroquia Santa María del Toachi. Valores promedios representan la media con su respectivo error estándar

N° Parcela	Árboles ha ⁻¹ (Densidad)	N° Árboles por parcela	Altura (m)			DAP (cm)		
			Máximo	Media	Mínimo	Máximo	Media	Mínimo
1	840	42	13	11,6 ± 0,24	6	22,9	16,5 ± 0,44	10,5
2	840	42	13	9,90 ± 0,38	5	20,7	15,2 ± 0,62	5,70
3	840	42	13	12,2 ± 0,16	9	25,8	17,8 ± 0,40	11,8
Promedio	840	42	13	11,2 ± 0,69	7	23,1	15,5 ± 0,75	9

En la plantación del Sr. Hipólito Yáñez (2 años de edad) el comportamiento de los árboles de melina fue aparentemente uniforme, en base a los datos recolectados en campo la altura

y DAP promedio fluctuaron entre 7,4 m – 8,2 m y 13,7 cm – 14,5 cm, respectivamente (Tabla 7).

Tabla 7. Variables dasométricas, analizadas en la plantación del Sr. Hipólito Yáñez, ubicada en la parroquia Luz de América. Valores promedios que representan la media con su respectivo error estándar

N° Parcela	Árboles ha ⁻¹ (Densidad)	N° Árboles por parcela	Altura (m)			DAP (cm)		
			Máximo	Media	Mínimo	Máximo	Media	Mínimo
1	940	47	10	7,4 ± 0,16	6	18,8	13,7 ± 0,49	4,5
2	940	47	10	7,7 ± 0,20	4	18,8	14,5 ± 0,38	6,0
3	940	47	10	8,2 ± 0,21	5	18,8	14,5 ± 0,60	5,7
Promedio	940	47	10	7,7 ± 0,22	5	18,8	14,2 ± 0,26	5,4

4.1.3 Aislamiento e inoculación de cepas de *Fusarium* spp., en plantas de *G. arborea* a nivel de vivero (Postulados de Koch).

4.1.3.1 Aislamiento de microorganismos fungosos en tejidos leñosos de árboles enfermos

Luego de analizar las secciones de madera con la ayuda de un estereomicroscopio, se determinó la presencia de colonias algodonosas de color blanco amarillento perteneciente al hongo *Fusarium* sp., y en algunas muestras se observaron peritecios globosos color negro pertenecientes al hongo *C. fimbriata*.

Los microorganismos fungosos aislados en PDA, luego de 96 horas de incubación en las placas Petri, dieron como resultado el crecimiento de colonias de color blanco algodonoso. Observaciones en el microscopio permitieron identificar que las colonias correspondían al hongo *Fusarium* sp. (Figura 3).

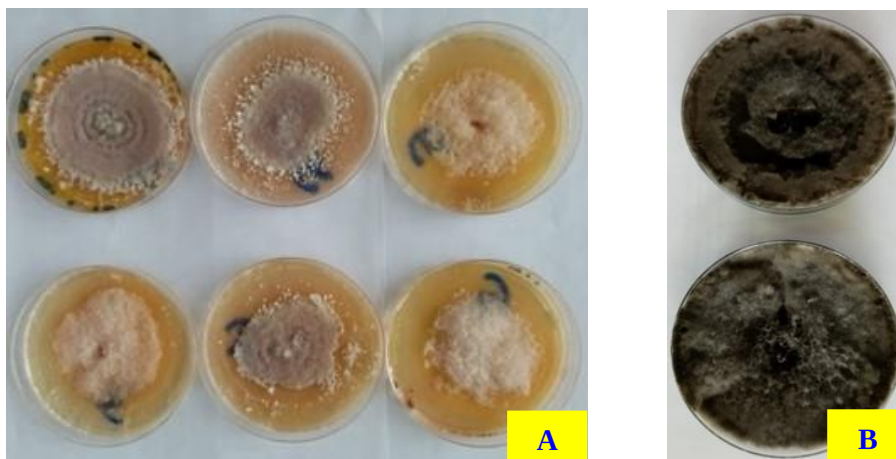


Figura 3. A = Colonias de *Fusarium* spp., y B = hongo negro (picnidial), obtenidas a partir de árboles enfermos de *G. arborea*, creciendo en medio de cultivo PDA.

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

Se detectaron diferencias estadísticas significativas ($F=7,73$; $P=0.000$) entre los volúmenes aparentes de necrosis generados por los fitopatógenos inoculados (tratamientos) en las plantas de melina. Los tratamientos *Fusarium* sp.1 y *Fusarium* sp.2, generaron los mayores volúmenes aparentes de necrosis, con 2,31 cm³ y 2,43 cm³, respectivamente, y discretamente parecidos al tratamiento *Fusarium* sp. 4 con 1,71 cm³, siendo estadísticamente similares entre sí, y diferentes a los tratamientos *Fusarium* sp.3, *C. fimbriata* y el hongo negro picnidial, no obstante el tratamiento control alcanzó el volumen más bajo de necrosis con 0,03 cm³ (Figura 4).

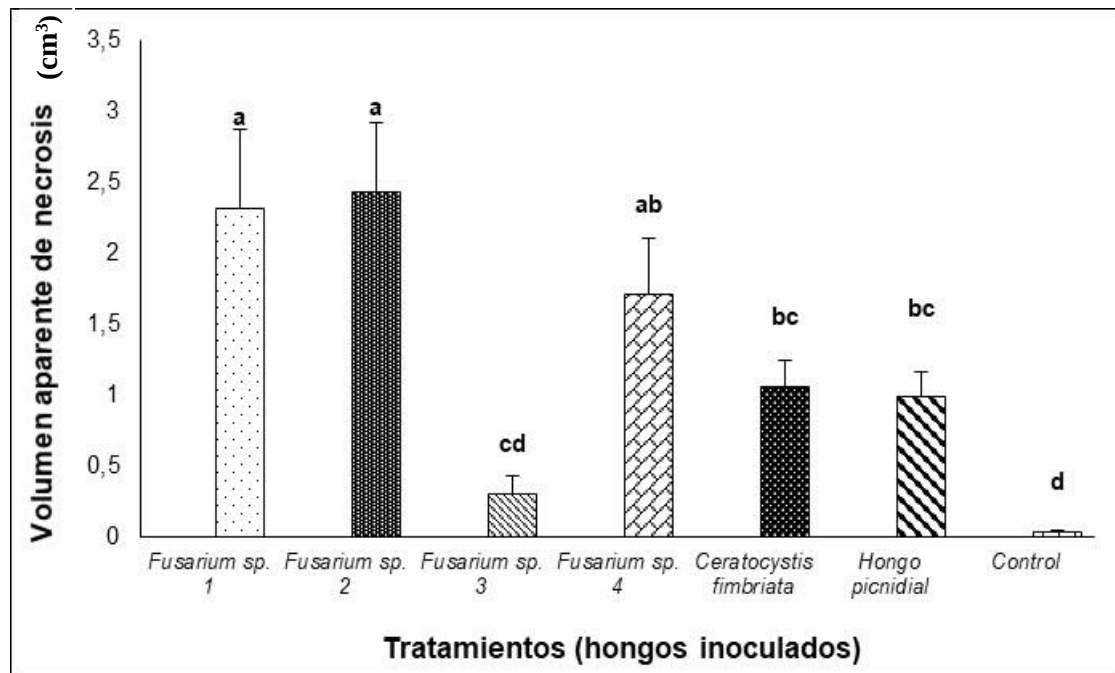


Figura 4. Volumen aparente de necrosis, generado por hongos fitopatógenos (tratamientos) inoculados en plantas de *G. arborea* (melina) de 6 meses de edad, 155 días después de inoculados a nivel de invernadero. Valores corresponden al volumen aparente de necrosis promedio de 17 plantas de melina, con su respectivo error estándar.

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

En la figura 5 se muestra la longitud total de necrosis ocasionada por hongos fitopatógenos inoculados en plantas de melina, donde se detectaron diferencias estadísticas significativas ($F=6,48$; $P=0,000$) entre las longitudes de necrosis generadas por los hongos. Los tratamientos *Fusarium* sp.1, *Fusarium* sp.2, *Fusarium* sp.4, *C. fimbriata* y el hongo negro picnidial produjeron las mayores longitudes de necrosis, con 10,95 cm; 12,91 cm; 9,71 cm; 8,67 cm y 12,25 cm respectivamente, siendo estadísticamente similares entre sí, pero diferentes a los tratamientos *Fusarium* sp.3 y Control que alcanzaron longitudes menores, de 3,76 cm y 1,53 cm, respectivamente.

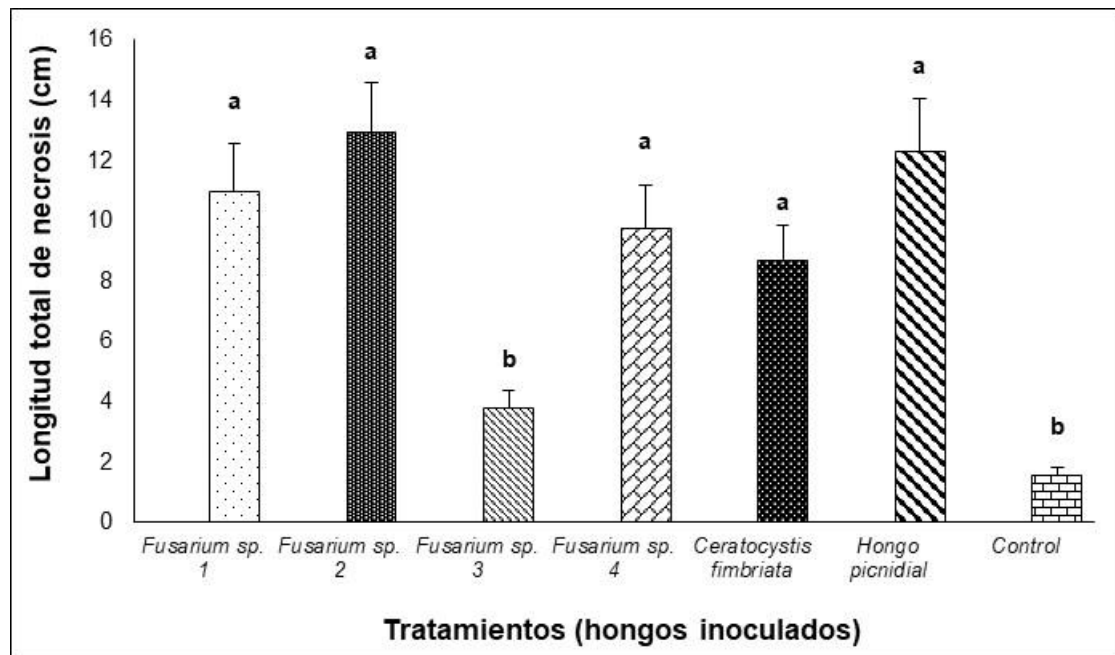


Figura 5. Longitud total de necrosis, generada por hongos fitopatógenos (tratamientos) inoculados en plantas de *G. arborea* (melina) de 6 meses de edad, 155 días después de inoculados a nivel de invernadero. Valores corresponden al volumen aparente de necrosis promedio de 17 plantas de melina, con su respectivo error estándar.

4.1.3.4 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 ($F=5,25$; $P=0,000$) y descendente ($F=5,83$; $P=0,000$); causadas por los fitopatógenos inoculados (tratamientos) en plantas de melina. El tratamiento *Fusarium* sp.2, generó la mayor longitud ascendente de necrosis con 9,08 cm; siendo estadísticamente superior a los demás tratamientos. Mientras que el tratamiento Control mostró el menor valor con 1,05 cm de longitud de necrosis (Tabla 8).

Tabla 8. Longitud ascendente y descendente de necrosis (cm) generada por la inoculación de hongos fitopatógenos (tratamientos) en plantas de *G. arborea* (melina) de 6 meses de edad, a los 155 días de inoculación a nivel de invernadero. Valores corresponden longitudes ascendentes y descendentes de necrosis promedio de 17 plantas de melina, con su respectivo error estándar

Tratamientos	Longitud ascendente	Error estándar	Longitud descendente	Error estándar
<i>Fusarium</i> sp.1	6,65 ab	1,56	4,30 a	0,69
<i>Fusarium</i> sp.2	9,08 a	1,62	3,83 a	0,73
<i>Fusarium</i> sp.3	2,31 bc	0,60	1,44 b	0,33
<i>Fusarium</i> sp.4	6,00 ab	1,44	3,71 a	0,75
<i>C. fimbriata</i>	5,36 bc	1,14	3,30 a	0,43
Hongo negro (picnidial)	8,67 ab	1,77	3,57 a	0,72
Control (sin inocular)	1,05 d	0,26	0,47 b	0,12

4.1.4 Descripción de sintomatología de plantaciones de *G. arborea* Roxb. a nivel de campo.

Los primeros síntomas observados en árboles enfermos en las plantaciones de melina fue decoloración y pérdida de turgencia en el sistema foliar, emisión de brotes epicórmicos y exudación en el fuste, también se observaron árboles muertos (secos) (Figura 6). No se observó presencia de insectos barrenadores de corteza o/y madera.



Figura 6. Evolución de la enfermedad de pudrición del fuste en árboles de melina: A = Primeros síntomas caracterizados por clorosis en las hojas. B = Generación de múltiples brotes epicórmicos en el fuste. C = Muerte del sistema foliar. D = Pérdida de las hojas.

Al realizar cortes transversales en la base del árbol (5 – 10 cm) sobre el nivel del suelo, se pudo evidenciar que en algunos árboles existían daños irreversibles ocasionados por patógenos en el tejido vascular (Figura 7).

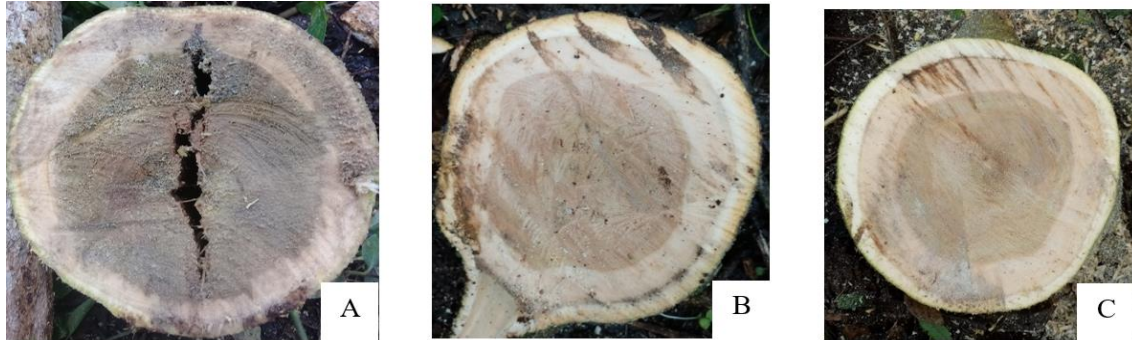


Figura 7. Cortes transversales en la base de árboles enfermos de melina: A = 2,3 años de edad. B = Árbol de 4,5 años de edad. C = 2 años de edad.

Con el propósito de evidenciar los daños causados por el o los patógenos en tejidos vasculares, necrosamiento y taponamiento de vasos conductores, se realizó cortes transversales y longitudinales a las muestras, evidenciando como este daño impide el normal flujo y reflujo de soluciones nutritivas y fotoasimilados (Figura 8).





Figura 8. Cortes transversales y longitudinales de árboles enfermos de melina mostrando lo daños internos generados por los fitopatógenos.

4.1.5 Descripción de sintomatología de plantas de *G. arborea* Roxb. a nivel de vivero.

Los primeros síntomas observados en plantas de melina en los tratamientos, fueron similares entre los 30 y 40 días después de la inoculación, aparecieron brotes epicórmicos bajo en punto de inoculación. A los 60 días algunas comenzaron a perder coloración (amarillamiento) y turgencia en el sistema foliar.

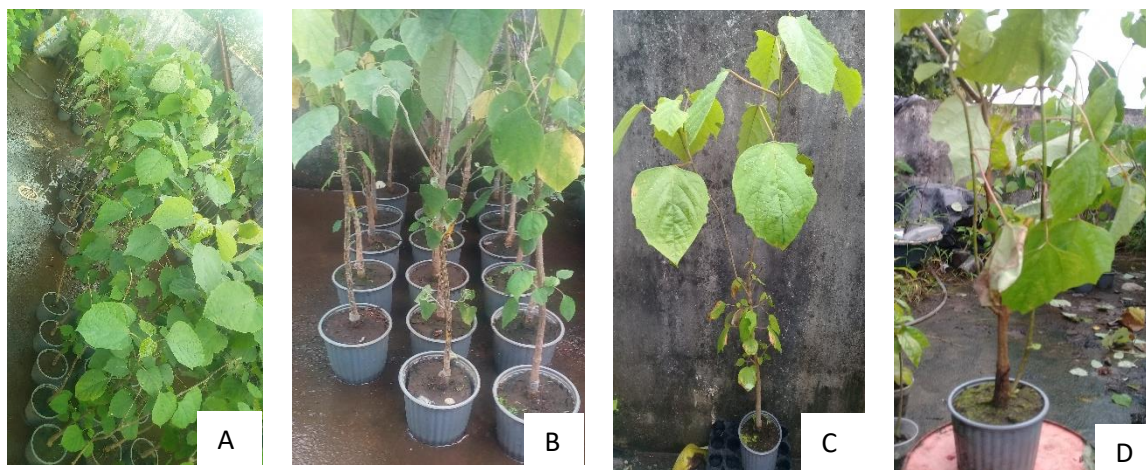


Figura 9. Sintomatología generada por la inoculación de microorganismos fungosos en plantas de melina a nivel de vivero. A = Plantas recién inoculadas. B = Sistema foliar con inicios de clorosis. C= Emisión de brotes epicórmicos bajo el punto de inoculación. D = Sistema foliar afectado por la marchitez vascular, brote epicórmico bajo el punto de inoculación.

Al momento de realizar disección 155 días (5 meses 4 días), se observó plantas aparentemente sana, similares a las plantas control (Figura 10).



Figura 10. Plantas de melina inoculadas. A = Plantas con *Fusarium* sp., B = Plantas control.

En la mayoría de las plantas una vez diseccionadas se pudo apreciar el avance de la enfermedad, en comparación con las plantas control (Figura 11).

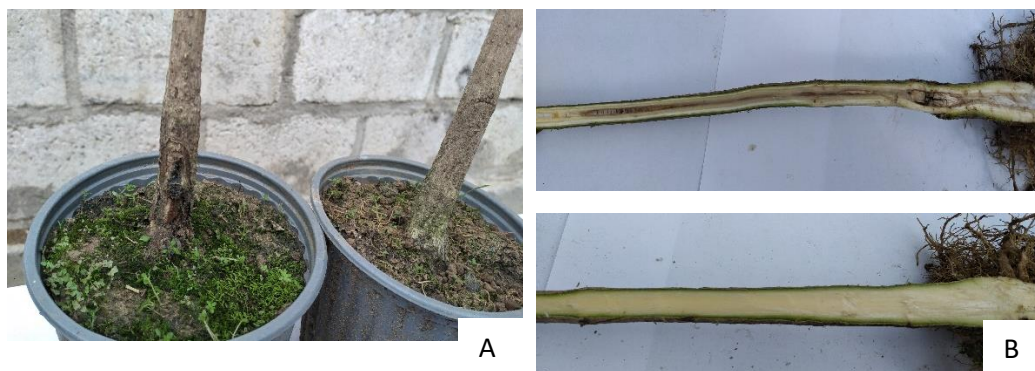


Figura 11. Plantas con su corte respectivo A = Plantas con *Fusarium* spp., B = Plantas control.

4.1.6 Reaislamiento de los microorganismos inoculados.

Una vez diseccionadas las plantas y dando cumplimiento a los postulados de Koch, se procedió a la recuperación de los microorganismos inoculados en las plantas de melina, mediante la técnica de sánduches de zanahoria y medio de cultivo PDA.

4.2 Discusión

Concluida la investigación, se identificó la incidencia de la enfermedad en las plantaciones siendo aquella de la Sra. Maritza Verduga la de mayor incidencia y severidad con 12% y 11,1%; respectivamente, seguido de la plantación del Sr. Hipólito Yáñez con 9,9% de incidencia y en estado de avance medio. Estos valores que podrían considerarse altos, debido al gran número de árboles enfermos y muertos dentro de las plantaciones. Hay que considerar que en las dos últimas plantaciones no se realizaron las actividades silviculturales como el raleo de árboles enfermos, los cuales deberían eliminarse.

La mayor parte de los árboles enfermos y/o muertos se encontraron en la escala 2, lo cual indica que la enfermedad se encuentra presente en diferentes niveles de severidad, lo que nos hace inferir que los árboles poseen niveles diferentes de tolerancia y resistencia a las enfermedades. De acuerdo a los estudios realizados en el presente trabajo de investigación la enfermedad sería de origen biótico dado que en los árboles enfermos se encontraron fitopatógenos asociados a tejidos necrosados. Además, la sintomatología que presentan los árboles posee características parecidas a las observadas en otras especies forestales tropicales reportadas por (Belezaca *et al.*, 2005 y 2011) en *A. fraxinifolius* y *S. Parahybum*, donde se encontraron asociados a árboles enfermos.

La incidencia detectada en las plantaciones de melina durante la presente investigación (0%; 12,7% y 11,3) están entre los rangos previamente encontrados y reportados en plantaciones de *G. arborea* (18,1%; 7,9% y 8,5%) de los cantones de Valencia y Pangua por Saltos (2019) y Macías (2019). Sin embargo fueron inferiores a las detectadas en plantaciones de *S. Parahybum* (24%; 29% y 55%), ubicadas en las provincias de Santo Domingo de los Tsáchilas y Esmeraldas (Belezaca *et al.*, 2012).

Una vez obtenidas las muestras en campo se aislaron e identificaron dos hongos (*Fusarium* spp. y *Ceratocystis fimbriata*), obtenidos a partir de tres diferentes métodos de cultivos de hongo (cámara húmeda, sánduches de zanahoria y medio de cultivo PDA), los mismos que se inocularon en plantas sanas de 6 meses de edad y se evaluaron a lo largo de 155 días. Los volúmenes aparente de necrosis en T1, T2 y T4 (2,31 cm³; 2,43 cm³ y

1,71) son similares entre si y diferentes a T3, T5 y T6, no obstante T3 alcanzó el volumen más bajo de necrosis con 0,03 cm³.

La longitud total de necrosis en los tratamientos T1, T2, T4, T5 y T6 produjeron las mayores longitudes de necrosis, con 10,95 cm; 12,91 cm; 9,71 cm; 8,67 cm y 12,25 cm, respectivamente, siendo estadísticamente similares entre sí, pero diferentes a los tratamientos T3 y T7 (control) que alcanzaron longitudes menores, de 3,76 cm y 1,53 cm, respectivamente. Estos valores no se asemejan a los expuestos por Macías (2019) en su estudio de “Determinación del agente causal de la enfermedad de marchitez vascular y pudrición del fuste de *Gmelina arborea* Roxb., en el Trópico Ecuatoriano”, donde el género *Fusarium* no generó una patogénesis significativa en los 45 días que duró la inoculación en plantas de melina.

La sintomatología observada a nivel de invernadero empieza con la aparición de brotes epicórmicos, una clorosis y posterior marchitamiento del sistema foliar de las plantas. Sin embargo, con el pasar de los días la planta no muere. 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 (Saltos, 2019).

Los resultados obtenidos en esta investigación no son concluyentes, pero llama la atención que los tratamientos *Fusarium* sp., 1 y *Fusarium* sp., 2 generaran mayor volumen aparente de necrosis, mostrando una tendencia que podría indicar su implicación en la enfermedad de melina, no obstante los resultados aquí mostrados no indican claramente su papel en la patogénesis.

Si bien la patogenicidad de *C. fimbriata* para con *G. arborea* ya fue previamente demostrada por Macías (2019), en esta investigación el hongo mostro una leve patogenicidad, inferior a la mostrada por *Fusarium* sp. 1 y *Fusarium* sp. 2, pero muy parecida a la reflejada por el hongo negro (picnidial).

CAPÍTULO V
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones.

- La incidencia y severidad de la enfermedad de pudrición del fuste en plantaciones de melina del Sr. Jaime Noroña (4,5 años de edad), de la Sra. Maritza Verduga (2,3 años) y del Sr. Hipólito Yáñez (2 años) fue del 0%; 12,7% y 11,3 % respectivamente, donde la mayor parte de árboles enfermos y muertos se encontraron en la escala 2 y 5.
- Mediante el método de aislamiento de los hongos sembrados en PDA se obtuvo presencia de *Fusarium* sp., y *C. fimbriata*, mientras que en sánduches de zanahorias y cámara húmeda no se aisló ningún microorganismo a propósito.
- Los volúmenes aparentes de necrosis en *Fusarium* sp. 1, *Fusarium* sp. 2 y *Fusarium* sp. 4 (2,31 cm³; 2,43 cm³ y 1,71) son similares entre si y diferentes a *Fusarium* sp. 3, *C. fimbriata* y hongo negro (picnidial).
- La longitud total de necrosis en los tratamientos *Fusarium* sp. 1, *Fusarium* sp. 2, *Fusarium* sp. 4, *C. fimbriata* y hongo negro (picnidial), produjeron las mayores longitudes de necrosis con (10,95 cm; 12,91 cm; 9.71 cm; 8,67 cm y 12,25 cm) respectivamente, siendo estadísticamente similares entre sí, pero diferentes a los *Fusarium* sp. 3 y plantas sin inocular (control) que alcanzaron longitudes menores, de 3,76 cm y 1,53 cm, respectivamente.
- Las plantas de melina 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.
- Si bien las plantas inoculadas con los hongos no presentaron síntomas visibles de la enfermedad, y no murieron, los tratamientos *Fusarium* sp. 1 y *Fusarium* sp. 2 generaron los mayores volúmenes aparentes de necrosis, que indicaría su implicación en la enfermedad de melina, aunque los resultantes no son concluyentes.

5.2 Recomendaciones.

- Realizar seguimientos continuos en las plantaciones de Melina del Trópico Húmedo Ecuatoriano, con la finalidad de detectar focos infecciosos de la enfermedad en los árboles.
- Aumentar el número de especies o cepas de *Fusarium* spp. y plantas inoculadas, para la obtención de datos más precisos.
- Realizar estudios donde se amplíe el tiempo de inoculación a nivel de campo e invernadero.

CAPÍTULO VI
BIBLIOGRAFÍA

6.1 Bibliografía.

- 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.
- Arguedas, M. 2004. Problemas fitosanitarios de la melina (*Gmelina arborea* (Roxb)) en Costa Rica. *Kuru*, 1(2): 1-9.
- Arias, J. y Pérez, A. Elaboración de un atlas para la descripción macroscópica y microscópica de hongos fitopatógenos de interés en especies de flores de corte cultivales en la Sabana de Bogotá. Trabajo de grado (Microbiólogas Industriales). Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias, Carrera de Microbiología Industrial. Bogotá, D. C. 31 – 142. P.
- Belezaca, C., Díaz, G., Ramos, L. & N. Ricachi. (2005). Agentes biológicos asociados a la muerte regresiva de *Acrocarpus fraxinifolius* Wight et Arm “cedro rosado” (Fabaceae: Leguminosae) en el Litoral ecuatoriano. In Memorias de la II Jornada Nacional de Investigación Forestal. Quevedo, Diciembre 2005. 1 disco compacto, 8mm.
- Belezaca, C., Suárez, C. & D. Vera. (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): 15-22.
- Belezaca, C., Mora, W., Prieto, O., Cedeño, P., Moran, J. y E. Valenzuela. (2012). 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. (17-19 de octubre del 2012). 79p.
- Coy, V. (2017). Identificación de hongos y bacterias asociados al tejido vascular de fustes enfermos de melina (*Gmelina arborea* Roxb) en plantaciones ubicadas en los municipios de Guamo, Armero-Guayabal, Espinal y Venadillo en el departamento del Tolima. Tesis de Ingeniería Forestal. Universidad del Tolima. Ibagué, Colombia. 76 p.
- FAO. (2000). Perspectivas mundiales del suministro futuro de madera procedente de plantaciones (Online). Extraído el 02 de febrero del 2020 desde <http://www.fao.org/docrep/004/X8423S/X843S00.htm#TOC>
- Garbelotto, M. y P. Gonthier. 2018. Forest Pathology and Plant Health. MDPI Books. 234 p. ISBN 978-3-03842-672-2.

- 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.
- Li, J., Zhang, Y., Xu, K., Yang, J., Han, Y., Sun, Y. y Q. Huang. (2014). First Report of Wilt of Eucalyptus Caused by *Ceratocystis fimbriata* in China. *Plant Disease*, 98(12): 1744.
- Macías, 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 Ingeniería Forestal. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Quevedo, Ecuador. 47 p.
- MAGAP (Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca). (2016). Programa de incentivos para la reforestación con fines comerciales. Guayaquil, Ecuador. 71 p.
- Moya, R. (2004). Industrialización y Usos. Capítulo 5, En: Rojas, F., Arias, D., Moya, R., Mesa, A., Murillo, O. y Arguedas, M. (Eds.). Manual para productores de melina en Costa Rica. Instituto Tecnológico de Costa Rica, Escuela de Ingeniería Forestal. Cartago, Costa Rica. Pp. 227- 250.
- Murillo-Gamboa, O., Salas-Rodríguez, A., Murillo-Cruz, R. & C. Ávila-Arias. 2016. Tasa de avance de la pudrición del tronco en melina *Gmelina arborea* Roxb. y posibilidades de manejo. *Revista Forestal Mesoamericana Kuru*, (volumen especial): 40-50.
- 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 fluorescens*, *Streptomyces coelicolor* y *Trichoderma hamatum*. Trabajo de grado (biólogo) universidad Javeriana.
- Parkinson, D. (1994). Filamentous fungi. In Weaver, R.; Angle, S.; Bottomley, P.; Bezdicsek, D.; 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, USA. 350 P.
- Piveta, G., Ferreira, M., Muniz, M., Valdetaro, D., Valdebenito-Sanhueza, R., Harrington, T. & A. Alfenas. (2016). *Ceratocystis fimbriata* on kiwifruit (*Actinidia* spp.) in Brazil. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 44(1): 13-24.
- Puente, D. y Puente, G. (2017). Carbono acumulado en la biomasa aérea en *Terminalia ivorensis* A. Chev (terminalia) y *Gmelina arborea* Roxb (melina), en tres cantones del Litoral ecuatoriano 2017. Tesis de Ingeniería Forestal. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Quevedo, Ecuador. 76 p.
- Quisobony, D. (2011). Análisis y validación de microsatélites EST-SSRs como candidatos a marcadores moleculares de la tolerancia a estrés hídrico en una

- colección de clones de melina (*Gmelina arborea* Roxb.). Tesis de grado. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C. 58 P.
- Rojas, F. y Murillo, O. 2004. Botánica y ecología. Capítulo 1 En: Rojas, F., Arias, D., Moya, R., Mesa, A., Murillo, O. y Arguedas, M. (Eds.). Manual para productores de melina en Costa Rica. Instituto Tecnológico de Costa Rica, Escuela de Ingeniería Forestal. Cartago, Costa Rica. Pp. 117- 138.
- Salas, A., Murillo, O., Murillo, R., Ávila, C. y X. Mata. (2016). Evaluación de la severidad de la pudrición del tronco de *Gmelina arborea* (Roxb). *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, 13(32): 01-10. <https://doi.org/10.18845/rfmk.v0i0.2547>
- 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 Ingeniero Forestal. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Quevedo, Ecuador. 63 p.
- Valencia, M. (2009). Caracterización enzimática de cepas de *Fusarium* aisladas de lesiones de animales, humanos y plantas. Tesis de grado. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá D.C. Colombia. 152 p.
- Tapia, C. y Amaro, J. (2014). Género *Fusarium*. Retrato Microbiológico. *Revista Chilena Infectología*. 31 (1): 85-86.

CAPÍTULO VII

ANEXOS

Anexo 1. Ficha forestal de la plantación del Sr. Jaime Noroña.

UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO																
FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES																
CARRERA DE INGENIERIA FORESTAL																
PROYECTO: Implicaciones de Fusarium spp., en la etiología de la pudrición del fuste de <i>Gmelina arborea</i> Roxb (melina) en el Trópico Húmedo Ecuatoriano																
FINCA:	Sector "La Nueva Esperanza 2"									COORD:		668478 - 9903003				
PARCELA:	1									SUPERFICIE:		500 m2				
Fecha:	6/3/2020									EVALUADOR:		Morán M.				
#	ALTURA (m)		CAP (cm)	DAP	SEVERIDAD DE LA EMFERMEDAD											
	Total	Comercial			1	2	3	4	5	S*	M*	R*	Exudación	# brotes		
1	12	6	54	17,19	X											
2	13	8	56	17,83	X											
3													X			
4	14	8	53	16,87	X											
5	13	5	50	15,92	X											
6													X			
7													X			
8													X			
9	12	8	53	16,87	X											
10	12	7	31	9,87	X											
11	13	9	56	17,83	X											
12	6	4	27	8,59	X						X					
13													X			
14													X			
15	14	9	44	14,01	X											
16													X			
17	15	12	61	19,42	X											
18	15	11	57	18,14	X											
19	16	12	70	22,28	X											
20	13	8	48	15,28	X											
21													X			
22	12	7	49	15,6	X											
23													X			
24	15	10	51	16,23	X											
25	13	5	61	19,42	X											
26													X			
27													X			
28	13	7	55	17,51	X											
29	15	8	50	15,92	X											
30	14	7	46	14,64	X											
31													X			
32													X			
33	16	9	53	16,87	X											
34													X			
35	13	8	67	21,33	X											
36													X			
37													X			
38													X			
39	13	6	68	21,65	X											
40													X			
41													X			
42	14	8	59	18,78	X											
43													X			
44	5	2	23	7,32	X						X					

Anexo 2. Ficha forestal de la plantación de la Sra. Maritza Verduga.

UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO															
FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES															
CARRERA DE INGENIERIA FORESTAL															
PROYECTO: Implicaciones de Fusarium spp., en la etiología de la pudrición del fuste de <i>Gmelina arborea</i> Roxb (melina) en el Trópico Húmedo Ecuatoriano															
FINCA:	Verduga				COORD:		689006 - 9934156								
PARCELA:	2				SUPERFICIE:		500 m2								
FECHA:	8/3/2020				EVALUADOR:		Morán M.								
#	ALTURA (m)		CAP (cm)	DAP	SEVERIDAD DE LA EMFERMEDAD										
	Total	Comercial			1	2	3	4	5	S*	M*	R*	Exudación	# brotes	
1	8	5	61	19,42	X										
2	9	5	34	10,82	X										
3	11	8	56	17,83		X							X		
4	10	8	53	16,87	X										
5	12	8	57	18,14	X										
6	12	10	54	17,19	X										
7											X				
8	12	9	53	16,87	X										
9	12	9	51	16,23	X										
10	11	7	48	15,28	X										
11	12	9	49	15,60	X										
12	10	7	54	17,19		X							X		
13	13	10	62	19,74	X										
14	11	7	46	14,64	X										
15	12	8	56	17,83	X										
16	13	10	65	20,69	X										
17	11	5	53	16,87		X							X		
18	10	6	60	19,10	X										
19	13	10	58	18,46	X										
20	10	7	56	17,83		X							X		
21	10	7	52	16,55	X										
22	12	8	55	17,51	X										
23	12	8	56	17,83	X										
24											X				
25											X				
26											X				
27	6	3	30	9,55	X									1	
28											X				
29	8	5	49	15,60	X										
30	9	6	44	14,01	X										
31											X				
32	5	2	19	6,05	X										
33	6	3	42	13,37	X										
34											X				
35	5	2	18	5,73		X							X		
36	10	7	64	20,37	X										
37	11	7	38	12,10	X										
38	11	6	43	13,69	X										
39											X				
40	7	3	31	9,87	X										
41	5	2	22	7,00	X										
42	7	4	38	12,10	X										

Anexo 3. Ficha forestal de la plantación del Sr. Hipólito Yáñez.

UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO																
FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES																
CARRERA DE INGENIERIA FORESTAL																
PROYECTO: Implicaciones de Fusarium spp., en la etiología de la pudrición del fuste de <i>Gmelina arbórea</i> Roxb (melina) en el Trópico Húmedo Ecuatoriano																
FINCA:	Yanez				COORD:			683416 - 9947345								
PARCELA:	3				SUPERFICIE:			500 m2								
FECHA:	8/3/2020				EVALUADOR:			Morán M.								
#	ALTURA (m)		CAP (cm)	DAP	SEVERIDAD DE LA EMFERMEDAD											
	Total	Comercial			1	2	3	4	5	S*	M*	R*	Exudación	# brotes		
1	11	8	54	17,19	X											
2	10	7	51	16,23	X											
3	8	5	47	14,96		X								X	3	
4	7	5	38	12,10	X											
5	8	5	49	15,60	X											
6	9	6	45	14,32	X											
7	8	5	42	13,37	X											
8											X					
9	9	7	52	16,55	X											
10	8	5	47	14,96	X											
11	9	5	47	14,96	X											
12	9	6	49	15,60	X											
13	7	4	45	14,32	X											
14	5	2	21	6,68	X											
15	8	5	51	16,23	X											
16	7	4	48	15,28	X											
17	10	7	59	18,78	X											
18	7	5	44	14,01		X								X	1	
19	7	5	43	13,69		X								X	2	
20	8	5	47	14,96	X											
21	7	4	35	11,14	X											
22	7	5	37	11,78	X											
23	7	4	39	12,41	X											
24	8	5	43	13,69	X											
25	8	5	41	13,05	X											
26	7	5	37	11,78	X											
27	9	6	52	16,55	X											
28	10	7	57	18,14	X											
29	9	6	50	15,92	X											
30	5	3	22	7,00	X											
31	8	5	49	15,60	X											
32	10	8	58	18,46	X											
33	10	8	59	18,78	X											
34	9	7	54	17,19	X											
35	5	2	18	5,73	X											
36	8	5	47	14,96	X											
37	8	5	41	13,05	X											
38	10	7	58	18,46	X											
39	8	5	49	15,60	X											
40											X					
41	9	6	52	16,55	X											
42	10	7	57	18,14	X											
43	9	6	50	15,92	X											
44	5	3	21	6,68	X											
45	9	6	49	15,60	X											
46	9	6	51	16,23		X								X	1	
47	8	5	45	14,32	X											

Anexo 4. Inoculación y disección de las plantas de melina.



Anexo 5. Fotografías de plantas de melina diseccionadas.

