



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 del Proyecto de Investigación:

Determinación del agente causal de la enfermedad de marchitez vascular y muerte
regresiva de *Tectona grandis* L.f. en el trópico húmedo ecuatoriano

Autora:

María Fernanda Cóndor Jiménez

Director del Proyecto de Investigación:

Dr. Carlos Eulogio Belezaca Pinargote

Quevedo - Los Ríos – Ecuador

2017

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **María Fernanda Cóndor Jiménez**, declaro que la investigación aquí descrita es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado 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. _____

María Fernanda Cóndor Jiménez

C.C. # 1207032259

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 **María Fernanda Cóndor Jiménez**, realizó el Proyecto de Investigación de grado titulado “**Determinación del agente causal de la enfermedad de marchitez vascular y muerte regresiva de *Tectona grandis* L.f. 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 muerte regresiva de *Tectona grandis* L.f. en el Trópico Húmedo Ecuatoriano”

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

Aprobado:

Ing. Elías Cuásquer Fúel
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Dra. Jessenia Castro Olaya
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Renato Baque Mite
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Quevedo - Los Ríos - Ecuador

2017

AGRADECIMIENTO

La autora deja constancia de la gratitud y el agradecimiento a las siguientes personas e instituciones:

A la Universidad Técnica Estatal de Quevedo y la Facultad de Ciencias Ambientales por haberme abierto las puertas y permitirme educar en sus aulas para formarme como una futura profesional.

A el Laboratorio de Microbiología Ambiental y Vegetal UTEQ, por la ayuda para la realización de una etapa de mi proyecto.

Al Dr. Carlos Belezaca Pinargote, por brindarme la gran oportunidad y asesoría para poder desarrollar mi presente proyecto de investigación.

Al Ing. For. MSc. Edison Solano Apuntes, por su buena amistad y por el incondicional apoyo que siempre me ha brindado en mi etapa estudiantil.

Al Ing. Cesil Moreno, por la colaboración de la entrega de las plántulas de teca para mi proyecto de investigación.

Al Ing. Pedro Suatunce, Ing. Darwin Salvatierra, Ing. Fidel Troya, Ing. Gary Ramírez, Dr. Rommel Crespo, Dra. Jessenia Castro, Ing. Elías Cuásquer y demás profesores de la Facultad de Ciencias Ambientales gracias por todos los conocimientos, valores compartidos y la amistad brindada en las aulas de clases.

A los docentes que conforman el tribunal de mi proyecto de investigación; Ing. Elías Cuásquer, Dra. Jessenia Castro e Ing. Renato Baque, gracias por sus importantes aportes metodológicos, tiempo y dedicación hacia mi proyecto final.

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico a Dios por derramar sus bendiciones sobre mí y llenarme de fuerzas para vencer los obstáculos desde el principio de mi vida y poder cumplir mi meta.

A la memoria de mi madre Sra. Narcisa Jiménez, por darme la vida y saberme guiar en el camino correcto muy orgullosa de haberte tenido como madre y padre a la vez. Gracias por la ayuda que me brindaste y ese amor sincero, hoy puedo dedicarte este trabajo sé que desde el desde el cielo te sientes feliz por este gran paso que estoy dando la culminación de mi carrera Universitaria. Te amo.

A mi abuelita Sra. Gladys Jaramillo, puedo decir con cariño que además de ser mi abuelita eres mi segunda madre, quien me ha acompañado y apoyado en muchas etapas de mi vida estudiantil. Te agradezco por todo lo que me diste y por lo que aún me das con todo tu amor sincero.

A mis hermanos y sobrinos: Lisseth Fernanda, Cindy Jamileth, Diego Alexis, Jefferson y Adahir, por todos aquellos momentos tan lindos vividos son seres muy maravillosos en mí vida con cariño les dedico este trabajo.

A mi persona favorita, tú ayuda ha sido fundamental y sincera, has estado conmigo incluso en los momentos más turbulentos. Sé que este camino no fue fácil, pero estuviste motivándome y ayudándome hasta donde tus alcances lo permitían. Te agradezco muchísimo.

A mis amigos, agradezco de corazón tener estas personas en mi vida, porque cada una de ellas representa un momento y una vivencia diferente por ser quienes me mostraron con sus hechos lo que es la verdadera amistad: Ximena, Maga, Daniela, Doris, Shirley, Danny, Luis, Manuel. Ronald, Erick, Hernán y Carlos.

A la Familia Solano Apuntes, como no estar agradecida con ustedes, que desde pequeña me brindaron ese apoyo, fortaleza y me recibieron en su hogar. Doy gracias a Dios porque tuve la oportunidad de estar con personas maravillosas, por ello mi agradecimiento es eterno para ustedes.

RESUMEN EJECUTIVO

La presente investigación tuvo como objetivo determinar el agente causal de la enfermedad de marchitez vascular y muerte regresiva de *Tectona grandis* L. f. 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 15 repeticiones (15 plantas de cuatro 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 (cm³) y la longitud total de necrosis (cm). Los volúmenes aparentes de necrosis (1,52 cm³ y 1,93 cm³) y longitudes totales de necrosis (5,41 cm y 4,21 cm) generados por las inoculaciones de los tratamientos *C. fimbriata*, y *C. fimbriata* + *Fusarium* sp., frente a los producidos por *Fusarium* sp. (0,27 cm³ y 1,75 cm), quien mostró un comportamiento similar al tratamiento control, sugieren que el patógeno causante de la enfermedad de marchitez vascular y muerte regresiva es *C. fimbriata*. La sintomatología observada en las plantas de teca 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 de ataque de *C. fimbriata* a árboles de teca en el Trópico Húmedo Ecuatoriano.

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

ABSTRACT

The present reaserh had as objective to determine the causal agent of the disease of vascular wilt and dieback of *Tectona grandis* L. f. in the Humid Tropics of Ecuador (THE), in greenhouse conditions. For this reason, it is a Complete Randomized Design (DCA), with four treatments. The treatments were constituted by the inoculation of segments of colonies of 0, 5 cm diameter of the following pathogens: **T1** = *Ceratocystis fimbriata*, **T2** = *Fusarium* sp., **T3** = *C. fimbriata* + *Fusarium* sp. and **T4** = agar water (Control). Each treatment was composed of 15 repetitions (15 plants of four months of age per treatment). After 45 days of incubation the plants were dissected by means of longitudinal and transverse cuts, from which it was felt the apparent volume of necrosis (cm³) and the total length of necrosis (cm). The apparent volume of necrosis (1, 52 cm³ and 1, 93 cm³) and total lengths of necrosis (5, 41 cm and 4, 21 cm) generated by the inoculations of the treatments *C. fimbriata*, and *C. fimbriata* + *Fusarium* sp., compared to those produced by *Fusarium* sp. (0, 27 cm³ and 1, 75 cm), who showed a similar behavior to the control treatment, suggest that the pathogen causing the disease of vascular wilt and dieback is *C. fimbriata*. The symptoms observed in teak plants inoculated with *C. fimbriata*, and *C. fimbriata*+ *Fusarium* sp., is similar to the detected at the field level in young trees and sick adults in pure plantations or in the boundaries of the Humid Tropics of Ecuador. This research is the first scientific technical report of attack of *C. fimbriata* attacks teak trees in the Humid Tropics.

Keywords: Plant Pathogens, Inoculation, Vascular wilt, Pathogenicity tests, Etiology.

TABLA DE CONTENIDO

PORTADA	i
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS	ii
CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	iii
CERTIFICADO DE APROBACIÓN POR TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN	iv
AGRADECIMIENTO	v
DEDICATORIA	vi
RESUMEN EJECUTIVO	vii
ABSTRACT	viii
TABLA DE CONTENIDO	ix
ÍNDICE DE TABLA	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
CÓDIGO DUBLÍN	xiv
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	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	5
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
2.1. Marco conceptual	8
2.1.1. Teca (<i>Tectona grandis</i> L. f.)	8
2.1.2. Patogenicidad	11
2.1.3. Muerte regresiva	12
2.1.4. Marchitez vascular	13
2.1.5. Hongos	13
2.1.6. <i>Ceratocystis fimbriata</i>	14

2.1.7.	<i>Fusarium</i> sp.....	15
2.1.8.	Problemas fitopatológicos en especies forestales en Ecuador	17
2.2.	Marco referencial	21
CAPÍTULO III		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		29
4.1.	Resultados.....	30
4.1.1.	Volumen aparente de necrosis (cm ³) generado por fitopatógenos inoculados en plantas de teca.....	30
4.1.2.	Longitud total de necrosis (cm) generada por fitopatógenos inoculados en plantas de teca.....	31
4.1.3.	Longitud ascendente y descendente de necrosis (cm) generada por fitopatógenos inoculados en plantas de teca.	32
4.1.4.	Descripción de la sintomatología.....	33
4.1.5.	Reaislamiento de los microorganismos inoculados	34
4.2.	Discusión	35
CAPÍTULO V.....		37
5.1.	Conclusiones	38
5.2.	Recomendaciones.....	39
CAPÍTULO VI		40
6.1.	Bibliografía	41
CAPÍTULO VII.....		45
7.1.	Anexos.....	46

ÍNDICE DE TABLA

Tabla 1.	Longitud ascendente y descendente de necrosis (cm) generada por la inoculación de hongos fitopatógenos (tratamientos) en plantas de <i>Tectona grandis</i> de 4 meses de edad, 45 días de inoculación a nivel de invernadero.	32
-----------------	---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Volumen aparente de necrosis (cm³) generado por hongos fitopatógenos (tratamientos) inoculados en plantas de *Tectona grandis* de 4 meses de edad, 45 días después de inoculados a nivel de invernadero. 30
- Figura 2.** Longitud total de necrosis (cm) generada por hongos fitopatógenos (tratamientos) inoculados en plantas de *Tectona grandis* de 4 meses de edad, 45 días después de inoculados a nivel de invernadero. 31
- Figura 3.** Sintomatología progresiva generada por la inoculación de microorganismos fungosos en plantas de *Tectona grandis* a nivel de invernadero. Tratamientos: *C. fimbrita*, y *C. fimbrita* + *Fusarium* sp. A = Planta recién inoculada (sana), B = Sistema foliar con presencia de marchitez vascular y generación de brotes epicórmicos bajo el punto de inoculación, C = Sistema foliar muerto, cuyas hojas permanecen unidas a la planta, brotes epicórmicos bajo el punto de inoculación, D = Planta de teca con sistema foliar y brotes epicórmicos muertos. 33
- Figura 4.** Plantas de *Tectona grandis* 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). 34

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.	Evidencias fotográficas sobre la investigación	46
Anexo 2.	Tratamiento de <i>Ceratocystis fimbriata</i> + <i>Fusarium</i> sp.	47
Anexo 3.	Tratamiento de <i>Ceratocystis fimbriata</i>	49
Anexo 4.	Tratamiento de Control (Testigo)	50
Anexo 5.	Tratamiento de <i>Fusarium</i> sp.	51
Anexo 6.	Disecciones de las plantas de teca inoculadas	52
Anexo 7.	Análisis de varianza (ANOVA) realizado a los datos obtenidos en la variable volumen aparente de necrosis (cm ³) generados por la inoculación de hongos fitopatógenos (4 tratamientos) en plantas de teca a los 45 días de incubación a nivel de invernadero.	54
Anexo 8.	Análisis de varianza (ANOVA) realizado a los datos obtenidos en la variable longitud total de necrosis (cm) generados por la inoculación de hongos fitopatógenos (4 tratamientos) en plantas de teca a los 45 días de incubación a nivel de invernadero.	54
Anexo 9.	Análisis de varianza (ANOVA) realizado a los datos obtenidos en la variable longitud ascendente de necrosis (cm) generados por la inoculación de hongos fitopatógenos (4 tratamientos) en plantas de teca a los 45 días de incubación a nivel de invernadero.	54
Anexo 10.	Análisis de varianza (ANOVA) realizado a los datos obtenidos en la variable longitud descendente de necrosis (cm) generados por la inoculación de hongos fitopatógenos (4 tratamientos) en plantas de teca a los 45 días de incubación a nivel de invernadero.	55

CÓDIGO DUBLÍN

Título:	Determinación del agente causal de la enfermedad de marchitez vascular y muerte regresiva de <i>Tectona grandis</i> L.f. en el Trópico Húmedo Ecuatoriano.				
Autora:	Cóndor Jiménez María Fernanda				
Palabras claves:	Fitopatógenos	Inoculación	Marchitez vascular	Pruebas de patogenicidad	Etiología
Fecha de publicación:					
Editorial:	CAMB; Carrera de Ingeniería Forestal; Cóndor, M.				
Resumen:	La presente investigación tuvo como objetivo determinar el agente causal de la enfermedad de marchitez vascular y muerte regresiva de <i>Tectona grandis</i> L. f. 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 15 repeticiones (15 plantas de cuatro 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 (cm³) y la longitud total de necrosis (cm). Los volúmenes aparentes de necrosis (1,52 cm³ y 1,93 cm³) y longitudes totales de necrosis (5,41 cm y 4,21 cm) generados por las inoculaciones de los tratamientos <i>C. fimbriata</i>, y <i>C. fimbriata</i> + <i>Fusarium</i> sp., frente a los producidos por <i>Fusarium</i> sp. (0,27 cm³ y 1,75 cm), quien mostró un comportamiento similar al tratamiento control, sugieren que el patógeno causante de la enfermedad de marchitez vascular y muerte regresiva es <i>C. fimbriata</i>. La sintomatología observada en las plantas de teca 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 de ataque de <i>C. fimbriata</i> ataca árboles de teca en el Trópico Húmedo Ecuatoriano.				
Descripción:	55 Hojas: dimensiones, 29 x 21 cm + CD-ROM				
URI:					

INTRODUCCIÓN

Tectona grandis L.f. (teca) es un árbol caducifolio de tamaño grande, natural del sudeste de Asia, en donde alcanza 45 m de altura y desarrolla un tronco con contrafuertes al llegar a la madurez. La teca, es una de las maderas tropicales más valiosas y mejor conocidas, ha sido plantada extensamente para la producción de madera, usada en la construcción naviera, muebles y carpintería en general (1). De acuerdo a la Organización Internacional de las Maderas Tropicales (OIMT), hasta el año 2004 existían entre 8.000 y 12.000 hectáreas, distribuidas en el Trópico Húmedo Ecuatoriano (2), y para el año 2015 la superficie alcanzó las 19.812,60 hectáreas (3).

Las plantaciones forestales están siendo afectadas por problemas fitosanitarios que en algunos casos matan al individuo y en otros el desarrollo normal de la plantación, afectando significativamente a la parte económica de los inversionistas. Los árboles de teca, 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 netamente 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 teca en el Trópico Húmedo Ecuatoriano 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 de teca (4).

Actualmente las plantaciones de teca distribuidas en el Trópico Húmedo Ecuatoriano tienen problemas fitosanitarios graves que ponen en riesgo la estabilidad de la especie en la región. Una enfermedad con características de muerte regresiva está matando miles de árboles de teca en pie. Al respecto, investigaciones previas realizadas por Ávila (5), en tres plantaciones de teca de diferentes edades, permitieron conocer que la enfermedad presenta incidencias del 15%; 14,3%; y 11,3%, de los cuales, el 7,1%; 5,6%; y 6,3% (plantaciones de 2 años, 5 años y 7 años de edad respectivamente) corresponden a árboles muertos en pie. A partir de árboles de teca enfermos, Ávila (5) aisló los fitopatógenos *Ceratocystis fimbriata* y *Fusarium* sp. *C. fimbriata*, tuvo una frecuencia de aparición en el 100% de los

árboles enfermos (cámara húmeda y en sandwiches de zanahoria), y más del 60 % en medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA). Mientras *Fusarium* sp., presentó menor representatividad con menos del 40 % de presencia en PDA, y ausencia en cámara húmeda y sandwiches de zanahoria.

La presencia *C. fimbriata* asociado a tejidos necrosados en todos los árboles enfermos de teca estudiados, hace sospechar que probablemente sería el causante de la compleja enfermedad. No obstante, considerando la baja frecuencia de aparición de *Fusarium* sp., y que este microorganismo es cosmopolita, presente en casi todos los ambientes, con características saprofíticas en muchos casos, hace sospechar que su presencia en tejidos de árboles enfermos, tendría una actividad secundaria, más no patogénica (5).

Mediante este proyecto de investigación se pretende determinar si *C. fimbriata* o *Fusarium* sp., es el agente causal de la enfermedad de muerte regresiva de teca, realizando de forma técnica-científica los postulados de Koch en plántulas de teca a nivel de invernadero. Los resultados a obtenerse generarán un mayor conocimiento sobre la etiología de la enfermedad, y permitirán desarrollar estrategias de prevención, manejo y control del fitopatógenos y la enfermedad en el Trópico Húmedo Ecuatoriano.

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 muerte regresiva de árboles de *T. grandis* (teca) en plantaciones del Trópico Húmedo Ecuatoriano.

1.1.2. Diagnóstico del problema

De acuerdo al MAGAP (3), 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 Trópico Húmedo Ecuatoriano (THE). Sin embargo, es bien conocido en Patología Forestal el corolario que al masificarse una especie mediante plantaciones puras, la aparición de problemas fitosanitarios es cuestión de tiempo, y para el caso de *T. grandis* no es la excepción. Durante casi cuatro 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 muerte regresiva, ocasionada por una marchitez vascular.

La compleja sintomatología empieza con la pérdida de vigor de los árboles, seguido por una decoloración y disminución de turgencia de las hojas ubicadas en los extremos de ramas superiores (marchitamiento). Posteriormente, conforme avanza la enfermedad, los ápices de crecimiento de las ramas mueren (se secan), y progresivamente desciende matando completamente las ramas. Cuando los árboles presentan esta sintomatología, disminuyen notoriamente su vigor, debido a la pérdida de área fotosintética, por lo que generan la emisión de muchos brotes epicórmicos en el fuste. Sin embargo, como la enfermedad continua con su avance descendente, finalmente el árbol muere (se seca) en pie.

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 muerte regresiva en *T. grandis*?

1.1.4. Sistematización del problema

- ¿Cuál es el agente biológico causal de la enfermedad de marchitez vascular y muerte regresiva en *T. grandis*?
- ¿*Ceratocystis fimbriata* y *Fusarium* sp., será capaz de ocasionar patogénesis y sintomatología de marchitez vascular y muerte regresiva en plántulas de teca 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 muerte regresiva de *Tectona grandis* L.f. en el Trópico HúmedoEcuatoriano.

1.2.2. Específicos

- Determinar la patogenicidad de los hongos *Ceratocystis fimbriata* y *Fusarium* sp., en plantas de *Tectona grandis* L. f. a nivel de vivero (Postulados de Koch).
- Describir la sintomatología desarrollada por plantas de *Tectona grandis* L. f. inoculadas con *Ceratocystis fimbriata* y *Fusarium* sp. a nivel de vivero.

1.3. Justificación

La teca es una de las principales maderas frondosas que existen en el mundo, apreciada por su color claro, su excelente fibra y su durabilidad. En Ecuador actualmente existen aproximadamente 20.000 hectáreas, establecidas principalmente en la región Costa, donde el Trópico Húmedo alberga una gran parte de la misma (3). Los cultivadores de teca se encuentran preocupados por las inversiones realizadas, e incluso han paralizado el inicio de otras plantaciones debido a la compleja enfermedad de marchitez vascular y muerte regresiva que ha desmejorado notablemente la salud de las plantaciones e incluso han muerto árboles de teca en pie, poniendo en riesgo la estabilidad de la especie en la región (5).

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 teca a nivel de invernadero.

Se espera que los resultados de la presente investigación brinden nuevos conocimientos sobre la etiología de la enfermedad y así 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. Teca (*Tectona grandis* L. f.)

2.1.1.1. Origen

La teca es originaria de Birmania, Tailandia, y algunas regiones de la India. En América los primeros países en cultivarla fueron Trinidad y Tobago (6). En la actualidad existen varios países como: Asia, África, América Central y del Sur en donde se evidencian plantaciones de teca, lo cual se ha debido a su importante valor comercial (7).

Para el caso de Ecuador, el primer cultivo de teca se remonta al año de 1950 en la Estación Experimental Tropical “Pichilingue” del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), del cantón Quevedo, mediante un germoplasma procedente de la India, lo cual dio origen a diversos plantíos en el país (región costa básicamente) (8).

La teca en Ecuador ha demostrado una excelente adaptación, posteriormente se expande a otros lugares, alcanzando alturas en su desarrollo que sobrepasan los 30 metros y producciones de 375 m³/ha en 25 años de cultivo. La primera fase de un estudio de crecimiento y rendimiento es la elaboración de un sistema para la clasificación de la productividad de los sitios forestales los cuales constituyen el conjunto de factores edáficos y bióticos que determinan la permanencia y la productividad de biomasa de determinada comunidad forestal, sea esta natural o creada por el hombre (9).

2.1.1.2. Taxonomía

La teca presenta la siguiente clasificación taxonómica de acuerdo a Walker (2006), (10) se detallan a continuación las siguientes características:

Reino	:	Plantae
Filum	:	Spermatophyta
Subphylum	:	Angiospermae
Clase	:	Dicotyledonae
Orden	:	Lamiales
Familia	:	Lamiaceae (Verbenaceae)
Género	:	<i>Tectona</i>
Especie	:	<i>grandis</i>
Nombre científico	:	<i>Tectona grandis</i> L.f.

2.1.1.3. Descripción botánica

2.1.1.3.1. Árbol

Los árboles de teca son de fuste recto y elevado. En los bosques del área natural de la especie, los árboles dominantes miden entre 25 y 30 m de altura y de 55 cm. a 80 cm. de diámetro; pero se han localizado árboles de mayores dimensiones, con fustes limpios de ramas hasta una altura de 30 m y perímetros comprendidos entre 4,5 y 6 m. (de 1,43 a 1,91 m. de DAP) (6).

2.1.1.3.2. Hojas

Hojas opuestas ovaladas, verticiladas en plantas jóvenes, de color verde oscuro en el haz y verde claro en el envés, consistentes y ásperas al tacto; miden comúnmente entre 40 y 50 cm. de largo y 20 a 25 cm. de ancho, pero en las plantas jóvenes algunas de ellas son de mayor tamaño (6).

2.1.1.3.3. Flores

Las flores son de colores blanquecinos, pequeños y numerosas, el cáliz es de color gris, finamente pubescente, con 6 lóbulos en forma de campana; corola blanco-cremosa en forma de embudo, con un tubo corto y 6 lóbulos extendidos, 6 estambres insertos en el tubo de la corola; ovario tetra ocular. Las flores son hermafroditas (6).

2.1.1.3.4. Frutos

Los frutos son drupas pequeñas de color castaño claro y forma esférica, como el tamaño de una avellana, tetra oculares; están envueltos en un cáliz membranoso y persistente, semejante a una vejiguilla, plegada irregularmente; miden de 2cm a 3 cm. de diámetro (6).

2.1.1.3.5. Semillas

Éstas son pequeñas, oleaginosas, de 5 a 6 mm de largo. Los frutos contienen desde 1 a 4 semillas, pero en la práctica cada fruto se considera una semilla. Entre 1100 y 1500 frutos (semillas) bien secos pueden llegar a pesar hasta 1 kg (11).

2.1.1.3.6. Raíces

Su sistema radicular es grande y profundo, al principio crece una raíz gruesa que al madurar el árbol puede persistir o desaparecer, desarrollándose fuertes raíces laterales, lo que la hace resistente a fuertes vientos (6).

2.1.1.3.7. Usos

La teca produce una de las maderas más valiosas y apreciadas del mundo, a causa de sus excelentes cualidades y múltiples aplicaciones. El duramen que desde temprana edad ocupa la mayor parte del tronco es de color amarillo dorado en los árboles recién cortados, luego se trona a castaño dorado o color oliva, vetado con franjas oscuras; la albura es blanquecina o amarillo crema. Esta madera contiene cierto aceite aromático, que le da un olor peculiar; es untuosa al tacto (6).

Se emplea en toda clase de construcciones navales y rurales, ebanistería, artesanía, carpintería en general, decorado interior y exterior, carrocería, puentes y toda clase de obras que requieren de madera de excelente calidad (6).

2.1.1.4. Condiciones de desarrollo

2.1.1.4.1. Temperatura

La teca puede desarrollarse en lugares donde las temperaturas mínimas bajen hasta 1,5 °C y en la que las máximas alcancen 46°C (6).

2.1.1.4.2. Precipitación

La precipitación pretendida es de 1300 a 2500 mm por año y una estación seca de 3 a 5 meses .La cantidad de lluvia necesaria para su óptimo desarrollo es de 1500 a 2000 mm por año, pero soporta precipitaciones tan bajas como de 500 mm y tan altas como de 5100 mm por año. La teca soporta áreas secas, incluso bajo condiciones calientes y de sequía extrema (6).

2.1.1.4.3. Suelo

La teca crece en áreas entre el nivel del mar, como en Java, hasta una altitud de 1,200 m en el centro de la India. Se establece sobre una variedad de suelos y formaciones geológicas, pero el mejor crecimiento ocurre en suelos aluviales profundos, porosos, fértiles y bien drenados, con un pH neutral o ácido (1).

2.1.2. Patogenicidad

La patogenicidad ha sido definida como la capacidad relativa que tiene un microorganismo fitopatógeno para producir una enfermedad (12).

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, dichos postulados se los puede resumir así:

1) Hay una relación muy estrechamente 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 (13).

2.1.3. Muerte regresiva

El término inglés “die-back” que ha sido adoptado en varios idiomas, se refiere a una muerte de las ramas empezando de la parte terminal hacia abajo. Se ha traducido literalmente al castellano por “muerte descendente”, “necrosis recesiva” pero varios autores de habla española usan la palabra inglesa. Tenemos que aclarar que este término no se debería usar con referencia a una enfermedad precisa, sino solamente a un síntoma. Hay distintos tipos de die-back como por ejemplo, una clorosis puede provenir de distintas causas (14).

El hongo afecta tejidos tiernos de hojas en desarrollo, brotes terminales tanto del tallo principal como de ramas laterales en los cuales penetra por estomas y/o por heridas. Las plantas afectadas presentan necrosis descendente de los tejidos en desarrollo, la cual avanza hasta el tejido lignificado donde se detiene (15).

Los primeros síntomas de la enfermedad se manifiestan entre 4 y 9 días después de la penetración del patógeno; estos corresponden a pequeñas manchas cloróticas de forma irregular. El ataque de las plantas puede comenzar por la parte apical del brote terminal o ramas laterales y continuar progresando hacia abajo, hasta alcanzar el tallo principal (16).

Fernández, B. O., menciona que en las hojas la enfermedad produce manchas redondeadas, de color oscuro, de bordes estriados. La hoja frecuentemente se encrespa por la parte necrosada, especialmente cuando la lesión se presenta en los bordes de la hoja. En las hojas se observan microscópicamente los picnidios del hongo, distribuidos concéntricamente. En presencia de alta humedad, por el haz y envés de la lesión se nota un desarrollo micelial blanquecino y felposo (16).

2.1.4. 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 (17).

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 (18).

2.1.5. Hongos

2.1.5.1. 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 nutrientes ya elaborados. La mayoría de las 100.000 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 (19).

2.1.6. *Ceratocystis fimbriata*

Según, Alexopoulos (20) y Agrios (21) 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	:	<i>Ceratocystis</i>

2.1.6.1. 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 otras causan la mancha de la sabia y otros productos del bosque (22).

En 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 (23).

2.1.6.2. 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 en la corteza, con hundimiento del tejido (cancro). Por debajo de ésta se observa decoloración marrón oscura o verdosa y/o bolsas de quino producidas por el árbol como reacción al ataque del 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 (24).

2.1.7. *Fusarium* sp.

Según, Arias y Jerez (25) a la especie del género *Fusarium* sp., se la clasifica taxonómicamente de la siguiente forma:

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

2.1.7.1. 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 (26). 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 (26). *Fusarium oxysporum* f. sp., *dianthies* el agente etiológico que produce la enfermedad conocida como marchitamiento del clavel.

2.1.7.2. 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 (27).

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 (27).

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 éstos 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 (28).

2.1.8. Problemas fitopatológicos en especies forestales en Ecuador

- **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 *Ceratocystis* sp. (Mal del machete), esta infección fungosa no tiene control, solo prevención (29).

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) (30).

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 (30) y (31).

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 (32).

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 (32).

- **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 *Coloptoborus*, este último es un vector del hongo *Lasiodiplodia theobromae*, que produce la muerte regresiva del árbol (29).

- **Melina (*Gmelina arborea* Roxb)**

Le atacan 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 enfermedades producidas por el hongo *Fusarium* sp., el cual se puede controlar con labores silvícolas, como ralea los árboles infectados (29).

- **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 (33).

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. 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 (33).

- **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 (29).

Se realizó una investigación e identificación de insectos y plagas que afectan a los árboles de teca para dos épocas del año en las haciendas “Las Piedras”, “Alianza”, Cerro de Hojas” y “Hacha”, pertenecientes a la empresa Tropibosques S.A, localizadas en el cantón Balzar, provincia del Guayas – Ecuador.

Incidencia de insectos plagas:

- **Época lluviosa:** Los insectos con mayor incidencia en las cuatro haciendas fueron los áfidos o pulgones *Hyadaphis erysimi* (Homoptera, Aphydidae) que no causaron mayores daños en el follaje, *Hortensia similis* (Homoptera, Cicadellidae) la cual no evidenció daños de importancia en el follaje, *Phyllophaga* spp. (Coleoptera, Scarabaeidae) que causo daños de moderada consideración (34).

- **Época seca:** Las plagas de mayor incidencia en las cuatro haciendas evaluadas en esta época fueron orugas defoliadoras *Hemileucamaia* Drury (Lepidoptera, Saturniidae), hormiga arriera *Atta* sp. (Hymenoptera, Formicidae), y escolitidos *Scolytus* sp. (Coleoptera, Scolytidae) perforadores de corteza. Los daños por los defoliadores *Atta* sp. y *Hemileucamaia* fueron leves, a excepción de algunas plantas que mostraron daños severos (34).

Agentes patógenos fungosos causantes de enfermedades en la teca

- **Enfermedades época lluviosa:** Se detectaron enfermedades causadas por hongos que afectan al follaje y al sistema vascular y radicular. Las enfermedades con mayor relevancia fueron las detectadas en el follaje de plantaciones y vivero, especialmente la causada por *Colletotrichum* sp. En árboles que se encontraban en suelos anegados se detectó el patógeno *Phytophthora* spp. que causa la pudrición de la raíz principalmente de las secundarias, causando la muerte descendente del árbol. En árboles de diferentes edades se observó un marchitamiento desde el brote terminal avanzando hacia abajo del tallo causado por *Ceratocystis* sp. (34).
- **Enfermedades en época seca:** Se identificaron enfermedades causadas por hongos que afectaron al follaje, fuste, ápices, ramas, sistema vascular y radicular. Se presentaron grandes manchas desde el área apical hasta el área basal del follaje variando de tonalidad de verde claro, amarillo, rojizo a café oscuro causadas por *Pestalotia palmarum*. También se detectó otros patógenos de menor incidencia en el follaje como *Nigrospora* sp., *Aspergillus niger* y *Rizopus stolonifer* (34).
- En el fuste, en los puntos de poda, se detectaron exudaciones de color oscuro que presentaban pequeñas aberturas longitudinales, al realizar el corte se observó que el duramen estaba totalmente rodeado de una coloración oscura con bordes café, la misma que descendía hasta el cuello del árbol. Esta enfermedad la causa el hongo *Botryodiplodia* sp., pero no se presentó mortalidad de los árboles infectados. Se detectó la muerte de ápices y ramas e incluso de árboles causada por *Botryodiplodia theobromae*, el cual provoca lesiones circulares a ovaladas alargadas de hasta 15 cm de longitud, de color oscuro que pueden estar cubiertas por grandes masas de esporas (34).

Por otra parte, la enfermedad ocasionada por la roya de la teca perjudica plantaciones en Ecuador. A finales del año 2004, se observaron las primeras plantas afectadas con roya en un vivero y plantaciones experimentales jóvenes (seis años) de la finca experimental “La Represa” (01° 03’ 27’’ S y 79° 25’ 0’’ O), propiedad de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), donde las plantas presentaban síntomas consistentes en el necrosamiento de hojas, acompañado de coloración naranja a rojizo en el envés, provocando defoliaciones prematuras. En función a las características morfológicas del patógeno se lo identificó como el hongo *Olivea tectonae* (Rac) (35).

2.2. Marco referencial

Uno de los principales problemas que vienen enfrentado las plantaciones de ***T. grandis*** en el Trópico Húmedo Ecuatoriano en los cinco últimos años, es la marchitez vascular y muerte regresiva, problema que fue abordado por Ávila (5), quien reportó asociado a árboles enfermos los fitopatógenos fungosos *Ceratocystis fimbriata*, y *Fusarium* sp. Hasta el momento, la enfermedad sigue matando miles de árboles en pie, sin que se defina científicamente el agente causal de la compleja enfermedad.

Esta enfermedad también ha sido reportada en Brasil, afectando plantaciones de ***T. grandis***, y estudios posteriores de patogenicidad permitieron identificar al *C. fimbriata* como el agente etiológico del problema (36).

No obstante, existen otros problemas fitosanitarios que aquejan a esta especie forestal en Ecuador. En este sentido, (34) efectuaron una investigación sobre las plagas y enfermedades en plantaciones de ***T. grandis*** en la zona de Balzar, provincia del Guayas. Identificaron que las de mayor incidencia y severidad eran: *Hyadaphis erysimi* y *Hortensia similis* (Homoptera); y *Colletotrichum* sp., *Olivea tectonae* y *Ceratocystis* sp., en época lluviosa. *Atta* sp. (Hymenoptera), *Hemileucamaia* y *Scolytus* sp. (Coleoptera); y *Olivea tectonae* en época seca (34).

A partir de una investigación se efectuó una evaluación fitosanitaria de las plantaciones de ***T. grandis*** de Ecoforest Panamá S.A. La investigación tuvo una etapa previa que consistió en la revisión de los informes fitosanitarios emitidos por la empresa Ecoforest, relativos a sus plantaciones. El trabajo permitió valorar las plantaciones de las Pavas, Santa Clara y la

Represa, considerando 108, 63 y 52 parcelas respectivamente, cada una con 100 árboles sembrados a una densidad de 3 m x 3 m, en zonas relativamente planas. Los especímenes recolectados fueron analizados en el laboratorio del Instituto Nacional de Biodiversidad de Costa Rica. De los problemas fitosanitarios reconocidos, diez se debían a la presencia de insectos, cinco por la influencia de patógenos, dos concernieron a vertebrados y ocho eran inducidos por las condiciones medioambientales y fisiológicas de la especie. La mayor parte de los problemas fitosanitarios se evidenciaron en el follaje, en cuya zona, la aparición del defoliador *Rhabdopterus* sp. y la roya *Olivea Tectona* se dio de forma generalizada (37).

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 teca por Ávila (5). 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 teca fueron provistas del vivero de la UTEQ, ubicado en la Finca Experimental “La Represa”, localizada en el 7,5 km de la vía Quevedo – San Carlos, recinto Fayta, parroquia San Carlos, cantón Quevedo, provincia de Los Ríos.

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 utilizaron plantas de teca de cuatro meses de edad, con un diámetro del tallo a nivel del suelo de aproximadamente 1,5 cm, en buen estado sanitario, procedente del vivero de la Finca Experimental "La Represa" propiedad de la UTEQ.

Las plantas estaban sembradas en fundas negras de polietileno de 5 x 8 cm de diámetro, el sustrato estaba 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 75% (sembrado) las cuales se mantuvieron dentro del invernadero mientras duró el experimento.

Las plantas seleccionadas para la inoculación presentaron 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 *Ceratocystis fimbriata* y *Fusarium* sp., colectadas por Ávila (5) desde árboles de teca enfermos, y que reposan en el laboratorio de Microbiología Ambiental y Vegetal de la UTEQ, se sembró en placas de Petri de 9 cm de diámetro conteniendo aproximadamente 10 mL de medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA), e incubó durante 8 días a temperatura de laboratorio (22 ± 2 °C). Después de la incubación, con la asistencia de un sacabocado de vidrio estéril de 0,5 cm de diámetro se realizaron cortes circulares en las colonias 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 teca de cuatro 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 teca 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 45 días, tiempo en el cual se realizaron observaciones periódicas sobre el estado sanitario de las plantas, con el propósito de detectar la aparición de síntomas de la enfermedad de marchitez vascular y muerte regresiva, asociados al fitopatógeno inoculado, y registró detalladamente el desarrollo de la sintomatología en las plantas de teca. A los 45 días después de las inoculaciones las plantas fueron arrancadas del sustrato y diseccionadas 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 cm³.

3.3.4. Descripción de síntomas

A partir de las 24 horas posteriores a las inoculaciones, diariamente se realizaron observaciones, registraron y documentaron detalladamente los síntomas desarrollados por las plantas inoculadas con los microorganismos y compararon 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 teca inoculadas con el fitopatógeno *Ceratocystis fimbriata*, T2 = plantas de teca inoculadas con el fitopatógeno *Fusarium* sp.; T3 = plantas de teca inoculadas con los fitopatógenos *Ceratocystis fimbriata* + *Fusarium* sp., T4 = plantas de teca inoculadas únicamente con agar-agar (tratamiento control). Cada tratamiento estuvo constituido por 15 repeticiones (15 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.

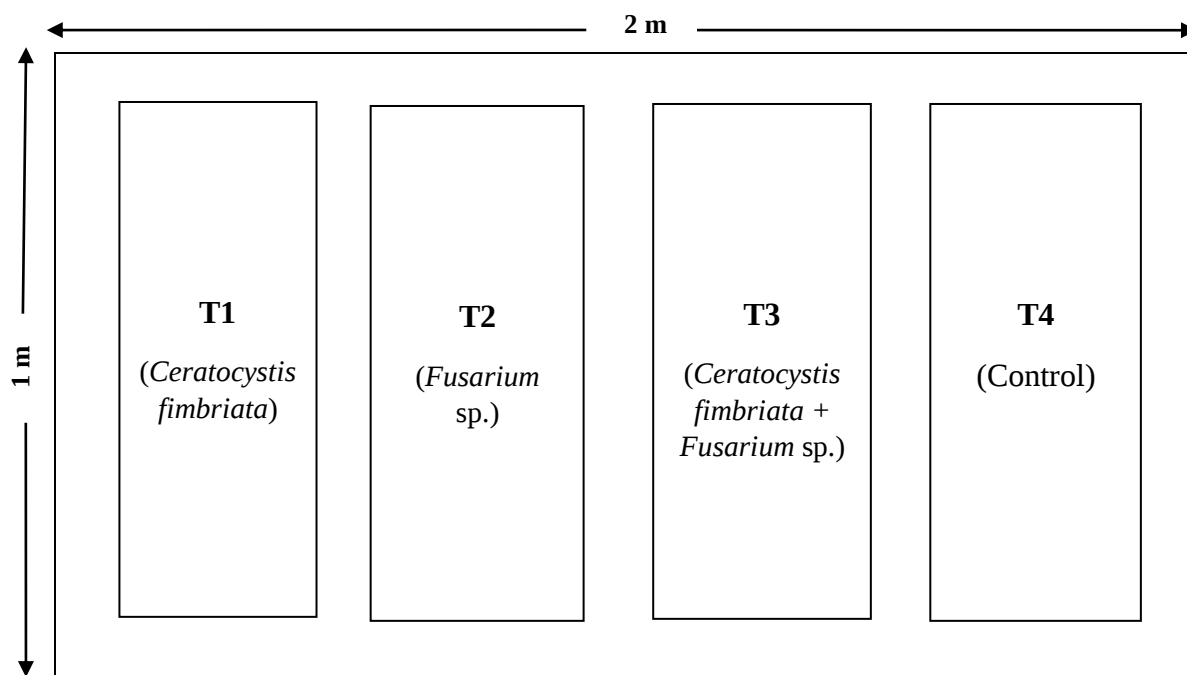


Diagrama del Diseño Completamente al Azar de los cuatro tratamientos.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

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

Se detectaron diferencias estadísticas significativas ($F=15,46$; $P=0,000$) entre los volúmenes aparentes de necrosis generados por los fitopatógenos inoculados (tratamientos) en las plantas de teca. Los tratamientos *C. fimbriata*, y *C. fimbriata* + *Fusarium* sp., generaron los mayores volúmenes aparentes de necrosis, con 1,52 cm³ y 1,93 cm³, respectivamente, siendo estadísticamente similares entre sí, pero diferentes a los tratamientos *Fusarium* sp., y el Control que alcanzaron volúmenes más bajos, de 0,27 cm³ y 0,16 cm³ respectivamente, y estadísticamente tuvieron un comportamiento similar (Figura 1).

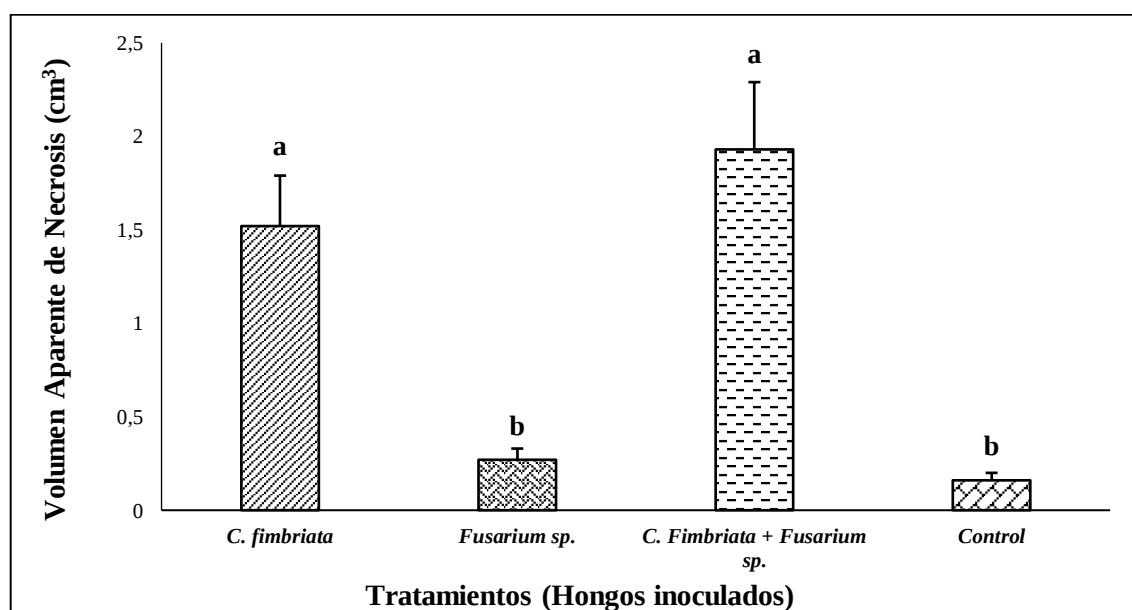


Figura 1. Volumen aparente de necrosis (cm³) generado por hongos fitopatógenos (tratamientos) inoculados en plantas de *Tectona grandis* de 4 meses de edad, 45 días después de inoculados a nivel de invernadero.

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

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 ($F=15,99$; $P=0,000$) 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 5,41 cm y 4,21 cm, respectivamente, siendo estadísticamente similares entre sí, pero diferentes a los tratamientos *Fusarium* sp., y el Control que alcanzaron longitudes menores, de 1,75 cm y 1,11 cm, respectivamente, y manteniendo un comportamiento estadístico similar.

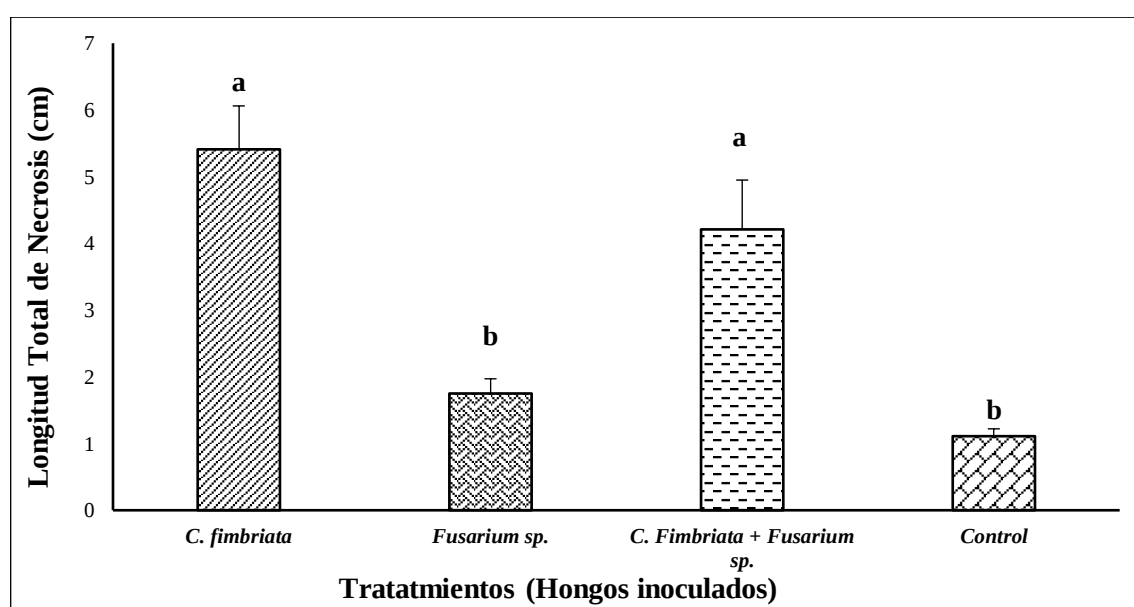


Figura 2. Longitud total de necrosis (cm) generada por hongos fitopatógenos (tratamientos) inoculados en plantas de *Tectona grandis* de 4 meses de edad, 45 días después de inoculados a nivel de invernadero.

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

Se detectaron diferencias estadísticas significativas entre las longitudes de necrosis ascendentes ($F=11,24$; $P=0,000$) y descendente ($F=23,09$; $P=0,000$), causadas por los fitopatógenos inoculados (tratamientos) en plantas de teca. Los tratamientos *C. fimbriata*, y *C. fimbriata* + *Fusarium* sp., generaron las mayores longitudes ascendentes de necrosis, con 3,12 cm y 2,59 cm, respectivamente, y mantuvieron la misma tendencia, aunque con valores menores para la longitud descendente, con 2,29 cm y 1,62 cm respectivamente, siendo en ambos casos estadísticamente similares entre sí, pero diferentes a los tratamientos *Fusarium* sp., y el Control que alcanzaron menores longitudes ascendentes de 0,73 cm y 0,48 cm, y longitudes descendentes de 1,01 cm y 0,63 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 *Tectona grandis* de 4 meses de edad, 45 días de inoculación a nivel de invernadero.

Tratamientos	Longitud ascendente	Error estándar	Longitud descendente	Error estándar
<i>Ceratocystis fimbriata</i>	3,12 a	0,56	2,29 a	0,16
<i>Fusarium</i> sp.	0,73b	0,14	1,01 c	0,12
<i>Ceratocystis fimbriata</i> + <i>Fusarium</i> sp.	2,59 a	0,53	1,62 b	0,22
Control	0,48 b	0,07	0,63 c	0,06

En base a los análisis anteriores se concluye que la patogenicidad fue alta.

4.1.4. Descripción de la sintomatología

La sintomatología presentada por las plantas de teca en los tratamientos *C. fimbriata*, y *C. fimbriata* + *Fusarium* sp., fueron similares, y para ambos casos entre los 11 y 18 días después de la inoculación se detectaron plantas con pérdida decoloración (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 20 días posterior a la inoculación, 1 planta (*C. fimbriata*), y 3 plantas (*C. fimbriata* + *Fusarium* sp.) con síntomas de enfermedad, murieron, quedando las hojas secas adheridas a la planta, y dos semanas después los brotes epicórmicos también murieron. 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 teca a nivel de invernadero. Tratamientos: *C. fimbriata*, y *C. fimbriata* + *Fusarium* sp. A = Planta recién inoculada (sana), B = Sistema foliar con presencia de marchitez vascular y generación de brotes epicórmicos bajo el punto de inoculación, C = Sistema foliar muerto, cuyas hojas permanecen unidas a la planta, brotes epicórmicos bajo el punto de inoculación, D = Planta de teca con sistema foliar y brotes epicórmicos muertos.

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 teca 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 teca. *C. fimbriata* fue recuperado mediante la técnica de sandwiches de zanahoria, y *Fusarium* sp., en medio de cultivo PDA empleado por Ávila (5).

4.2. Discusión

Las plantaciones forestales no siempre son nativas de una región sino que son introducidas de otras. Para obtener mejores rendimientos las especies se encuentran establecidas en plantaciones puras, para cuyo efecto se han eliminado áreas donde existían especies nativas. Estas son 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 (32).

En este sentido, *T. grandis* 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, por ser una especie forestal exótica, actualmente está siendo afectada por una compleja enfermedad con características de marchitez vascular y muerte regresiva, donde a partir de árboles enfermos se ha detectado los fitopatógenos *C. fimbriata* y *Fusarium* sp. (5).

Las inoculaciones controladas efectuadas a nivel de invernadero en plantas de teca de 4 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 (1,52 cm³ y 1,93 cm³) y longitudes totales de necrosis (5,41 cm y 4,21 cm) generados por las inoculaciones de *C. fimbriata*, y *C. fimbriata* + *Fusarium* sp., y su similitud estadística entre ellos, frente a los generados por *Fusarium* sp. (0,27 cm³ y 1,75 cm respectivamente), quien tuvo un comportamiento similar al tratamiento control, permiten sugerir que el patógeno causante de la enfermedad de marchitez vascular y muerte regresiva es *C. fimbriata*.

No es de extrañar la patogenicidad de *C. fimbriata* en teca, ya que la literatura científica lo reporta como un patógeno altamente agresivo con un amplio rango de hospederos, desde angiospermas hasta gimnospermas (38). Este patógeno reviste gran importancia para el sector forestal ecuatoriano, ya que se conoce que es patógeno de especies como *Gmelina arborea* (melina) (39), *Schizolobium parahybum* (pachaco) (40), (41), *Acrocarpus fraxinifolius* (cedro rosado) (33), *Eucaliptus* spp. (42), *Carapa guianensis* (tangaré) (43). No obstante, *C. fimbriata* también ha sido reportado provocando alta mortalidad en plantaciones de *T. grandis* en Brasil (36).

Para el caso de *Fusarium* sp., pese a que este género posee especies altamente patogénicas (44), no generó patogénesis en plantas de teca. Las necrosis generadas en los tejidos de las plantas fueron similares a las que presentaron las plantas Control (sin inocular con fitopatógenos). Esto indicaría que la presencia de *Fusarium* sp., en árboles de teca 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 la decoloración y posterior marchitamiento del sistema foliar de las plantas, que aparentemente estimula la generación de brotes epicórmicos, para recuperar área fotosintética, 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 enfermos en plantaciones puras o en linderos, anteriormente reportada por (5).

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- Los volúmenes aparentes de necrosis ($1,52 \text{ cm}^3$ y $1,93 \text{ cm}^3$) y longitudes totales de necrosis (5,41 cm y 4,21 cm) generados por las inoculaciones de los tratamientos *C. fimbriata*, y *C. fimbriata* + *Fusarium* sp., frente a los producidos por *Fusarium* sp. ($0,27 \text{ cm}^3$ y 1,75 cm, respectivamente), quien tuvo un comportamiento similar al tratamiento control, permiten sugerir que el patógeno causante de la enfermedad de marchitez vascular y muerte regresiva es *C. fimbriata*.
- La sintomatología observada en las plantas de teca 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.
- Las plantas de teca inoculadas con el tratamiento *Fusarium* sp. no generaron ninguna sintomatología y presentaron una apariencia óptica de sanidad, similar a las plantas del tratamiento Control (sin inocular).
- Aparentemente *Fusarium* sp. tendría un papel secundario, y el hecho que esté presente en árboles debilitados/enfermos a nivel de campo, obedecería probablemente a una actividad saprofítica no patogénica.

5.2. Recomendaciones

- Realizar inoculaciones con *C. fimbriata* en árboles jóvenes de *T. grandis* establecidos en plantaciones, con el propósito de estudiar la evolución de la enfermedad a nivel de campo.
- Efectuar pruebas de patogenicidad con *C. fimbriata* en otras especies forestales de importancia económica para el Trópico Húmedo Ecuatoriano, con el propósito de determinar su susceptibilidad.
- Realizar una identificación (caracterización) molecular a cepas de *C. fimbriata* aisladas desde árboles enfermos de teca del Trópico Húmedo Ecuatoriano.

CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍA

6.1. Bibliografía

1. Weaver, P. L. *Tectona grandis* L.F. Teca. Producción de semillas y su disseminación. (En línea). U.S.A. 2000. (Consultado el 28 de agosto del 2007). Disponible en: <http://www.fs.fed.us/globaliitf/Tectonagrandis.pdf>.
2. Bhat, K.M. & Ok Ma, H. Perspectiva para la teca de plantaciones. *Actualidad Forestal Tropical*, 12(1):1-5 p. 2004.
3. MAGAP (Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca). Programa de incentivos para la reforestación con fines comerciales. Guayaquil, Ecuador. 71 p. 2016.
4. Pinzón, O. Problemas fitosanitarios en plantaciones forestales en Colombia. Generalidades. (En línea). Colombia. 2007. (Consultado el 26 de septiembre del 2008). Disponible en: <http://www.cerambycoidea.com/titles/pinzonflorian2004.pdf>
5. Ávila, A. Identificación de microorganismos fungosos asociados a la enfermedad de muerte regresiva en plantaciones de *Tectona grandis* L. F. (teca) en la zona central del Trópico Húmedo Ecuatoriano. Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de ingeniero Forestal. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Ecuador. 77 p. 2016.
6. Betancourt, B.A. Silvicultura especial de árboles maderables tropicales. Habana, Cuba: Editorial Científico-Técnica. 427 p. 1987.
7. Martínez, H. Teca (*Tectona grandis* L. f.): condiciones para su cultivo “Fomento de la reforestación comercial para la mejora y conservación”. Moravia, Costa Rica: Fondo Nacional de Financiamiento Forestal. 60 p. 2015.
8. Nieto, J. Hernández, S. Motte, E.& Mayek, N. Análisis de la diversidad genética del germoplasma de Teca (*Tectona grandis* L.f.) en el Ecuador. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 5(21):108-121 p. 2014.
9. Álvarez, O.P.A. &Varaona, J.C. Silvicultura. Ciudad de la Habana: Editorial Pueblo y Educación; 354 p. 1988.
10. Walker, A. Enciclopedia de la madera. Ed. Brume. 1ª edición. Barcelona, España. 192p. 2006.
11. Suatunce, P. Díaz, G. & García, L. Efecto de la densidad de plantación en el crecimiento de cuatro especies forestales tropicales. *Ciencia y Tecnología*. 1 (8): 7-9 p. 2010.
12. Agrios, G. Plant Pathology. (5thed.) Published Elsevier. United States of America. 948 p. 2005.

13. Hernández, O. Detención y caracterización del agente causal del tizón foliar en Teca (*Tectona grandis* L. F.) en Huimanguillo, Tabasco. Tesis de Ingeniero Forestal. Universidad Autónoma Chapingo. México. 63 p. 2010.
14. Silvain, P. G. Materiales de enseñanzas de café y cacao. Algunos trastornos fisiológicos del cafeto. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. Turrialba, Costa Rica. 26 p. 1959.
15. Gil, V. L. F. & Leguizamon, C. J. E. La muerte descendente del cafeto (*Phoma* sp.). Avances Técnicos Cenicafe No. 278: 1 – 4 p. 2000.
16. Fernández, B. O. Muerte descendente de los brotes del cafeto causado por especies de *Phoma* y *Colletotrichum*. Cenicafe 12 (3): 127 – 140 p. 1961.
17. Agrios, G. Fitopatología. Segunda Edición. Limusa. Grupo Noriega Editores. México. 425– 431 p. 2002.
18. Estupiñan, H. & Ossa, J. 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. Trabajo de grado previo al título de Microbiólogo Agrícola y Veterinario. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Carrera de Microbiología Agrícola y Veterinaria. Bogotá, D. C. 24- 89 p. 2007.
19. Agrios, G. Fitopatología Primera Edición. Editorial Limusa. S. A. D/E C. V. 741 p. 1986.
20. Alexopoulos, C. J. Introducción a la micología. Editorial Universitaria. Buenos Aires- Argentina. 614 p. 1962.
21. Agrios, G. Fitopatología. Editorial Limusa. Segunda edición. México. 838 p. 1996.
22. Upadhyay, H. P. Classification of the Ophiostomatoid fungi. In *Ceratocystis* and *Ophiostoma*: Taxonomy, Ecology and Pathogenicity. Wingfield, M. J. Seifert, K. A. & Webber, J. F. The American Phitopathological Society. St. Paul, Minnesota. 7-13 p. 1993.
23. Suarez, C. Moreira, M. & Vera, B. Manual del cultivo de cacao, INIAP, Quevedo, Ecuador. 10-16 p. 1993.
24. Reyna, R. & Pérez, C. Reconocimiento a campo de plagas y enfermedades forestales. Marchitamiento por *Ceratocystis*. Universidad de la República Uruguay. Facultad de Agronomía Cartilla N° 38. 1-2 p. 2014.
25. Arias, J. & Jerez, A. 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, D. C. 31- 142 p. 2008.
26. Agrios, G. Fitopatología. Enfermedades de las plantas ocasionadas por hongos. Editorial Limusa. México. 356-360 p. 1998.
 27. Ochoa, J. 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. Facultad de Ciencias. Carrera de biología. Bogotá, D. C. 32-142 p. 1996.
 28. Arbelaez, G. Investigación y desarrollo en el control de marchitamiento vascular del clavel en Colombia. Edición Harti Tecnic. 89-98 p. 2000.
 29. MAGAP(Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca). Programa de Incentivos para la Reforestación con Fines Comerciales. Guayaquil - Ecuador. 70 p. 2014.
 30. Cannon, P. Patología Forestal en el Ecuador. Unidad de protección forestal DINAF/MAG-USAID. Centro de investigaciones y capacitación Conocoto. Quito, Ecuador. 209 p. 1990.
 31. Ramírez, W. Determinación e identificación de los agentes causales de la pudrición del fuste del Pachaco en la zona central del Litoral Ecuatoriano. Tesis Ingeniero Forestal. Universidad Nacional de Loja. Ecuador. 65 p. 1990.
 32. Belezaca, C. Suárez, C. & Vera, D. 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 p. 2011.
 33. Belezaca, C. Muerte regresiva en cedro rosado en Ecuador. Plagas Forestales Neotropicales. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*. No. 76. 89-91 p. 2005.
 34. Flores, T. Crespo, R. & Cabezas, F. Plagas y enfermedades en plantaciones de Teca (*Tectona grandis* L.F.) en la zona de Balzar, provincia del Guayas. Artículo en Ciencia y Tecnología. Quevedo-Ecuador: UICT-UTEQ, TROPIBOSQUES S.A. 3(1): 15-22 p. 2010.
 35. Belezaca, C. La roya de la teca en Ecuador. Plagas Forestales Neotropicales. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*, No. 72: 98-99 p. 2004.

36. Firmino, A. C. Tozze, Jr. H. J. & Furtado. EL. Primer informe de *Ceratocystis fimbriata* causando marchitez en *Tectona grandis* en Brasil. Brasil. Informes nueva enfermedad 25, 24 p. 2012.
37. Baltodano C. Evaluación fitosanitaria de las plantaciones de *Tectona grandis* L.f. de Ecoforest Panamá S.A. Cartago, Costa Rica: Instituto Tecnológico de Costa Rica, Ingeniería Forestal; 2007.
38. Herrera-Isla, L., Grillo-Ravelo, H., Harrington, T., Díaz-Medina, A. & Álvarez-Puente, R. *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 p. 2015.
39. Ferreira, E.M., Harrington, T.C., Thorpe, D.J. & A.C. Alfenas. Genetic diversity and interfertility among highly differentiated populations of *Ceratocystis fimbriata* in Brazil. *Plant Pathology*, 59(4):721-735 p. 2010.
40. Ospina, C., Posada, F., Gil, Z. & Castro, B. El cultivo del tambor. Aspectos limitativos en Colombia. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Caldas, Colombia. 40 p. 2003.
41. Geldenhuis, M.M., Roux, J., Montenegro, F., De Beer, Z.W., Wingfield, M.J. & Wingfield, B.D. Identification and pathogenicity of *Graphium* and *Pesotum* species from machete wounds on *Schizolobium parahybum* in Ecuador. *Fungal diversity* 15: 137-151 p. 2004.
42. Alves - Ferreira, F., Maffia, L.A., Weingart-Barreto, R., Demuner, N.L. & S. Pigatto. Sintomatología da murcha de *Ceratocystis fimbriata* en eucalipto. *Revista Árvore*, 30(2): 155-162 p. 2006.
43. Halfeld-Vieira, B.A., Zilli, J.E., Nechet, K.L., Pereira, G.M.D. & G.R. Souza. First record of *Ceratocystis fimbriata* on *Carapa guianensis*. *New Disease Reports*, 26:13 p. 2012.
44. Landeras, E., García, P., Fernández, Y. & M. Braña. Outbreak of Pitch Canker Caused by *Fusarium circinatum* on *Pinus* spp. in Northern Spain. *PlantDisease*, 89(9): 1015 p. 2005.

CAPÍTULO VII

ANEXOS

7.1. Anexos

Anexo 1. Evidencias fotográficas sobre la investigación

Fotografías 1- 3: Selección y traslado de las plantas de teca del vivero “La Represa”



Fotografía 4: Desinfección de las plantas para la inoculación



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

Fotografías 5-9: Resultados obtenidos en el invernadero





Foto # 7



Foto # 8



Foto # 9

Anexo 3. Tratamiento de *Ceratocystis fimbriata*

Fotografías 10-12: Resultados obtenidos en el invernadero



Anexo 4. Tratamiento de Control (Testigo)

Fotografías 13-14: Resultados obtenidos en el invernadero



Anexo 5. Tratamiento de *Fusarium* sp.

Fotografías 15-17: Resultados obtenidos en el invernadero



Anexo 6. Disecciones de las plantas de teca inoculadas

Ceratocystis fimbriata + *Fusarium* sp.



Ceratocystis fimbriata



Testigo



Fusarium sp.



Anexo 7. Análisis de varianza (ANOVA) realizado a los datos obtenidos en la variable volumen aparente de necrosis (cm³) generados por la inoculación de hongos fitopatógenos (4 tratamientos) en plantas de teca a los 45 días de incubación a nivel de invernadero.

Volumen aparente de necrosis (cm³)

Fuente de variación	Grado de libertad	Suma de cuadrados del error	Cuadrado de la media	F – Valor	Pr > F
Modelo	3	35.39324500	11.79774833	15.46	<.0001
Error	56	42.73945333	0.76320452		
Total de error	59	78.13269833			

Anexo 8. Análisis de varianza (ANOVA) realizado a los datos obtenidos en la variable longitud total de necrosis (cm) generados por la inoculación de hongos fitopatógenos (4 tratamientos) en plantas de teca a los 45 días de incubación a nivel de invernadero.

Longitud total de necrosis (cm)

Fuente de variación	Grado de libertad	Suma de cuadrados del error	Cuadrado de la media	F – Valor	Pr > F
Modelo	3	185.6965000	61.8988333	15.99	<.0001
Error	56	216.7333333	3.8702381		
Total de error	59	402.4298333			

Anexo 9. Análisis de varianza (ANOVA) realizado a los datos obtenidos en la variable longitud ascendente de necrosis (cm) generados por la inoculación de hongos fitopatógenos (4 tratamientos) en plantas de teca a los 45 días de incubación a nivel de invernadero.

Longitud ascendente de necrosis (cm)

Fuente de variación	Grado de libertad	Suma de cuadrados del error	Cuadrado de la media	F – Valor	Pr > F
Modelo	3	78.3273333	26.1091111	11.24	<.0001
Error	56	130.0386667	2.3221190		
Total de error	59	208.3660000			

Anexo 10. Análisis de varianza (ANOVA) realizado a los datos obtenidos en la variable longitud descendente de necrosis (cm) generados por la inoculación de hongos fitopatógenos (4 tratamientos) en plantas de teca a los 45 días de incubación a nivel de invernadero.

Longitud descendente de necrosis (cm)

Fuente de variación	Grado de libertad	Suma de cuadrados del error	Cuadrado de la media	F – Valor	Pr > F
Modelo	3	23.90183333	7.96727778	23.09	<.0001
Error	56	19.32000000	0.34500000		
Total de error	59	43.22183333			