

UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA



CENTRO DE POSTGRADOS

MAESTRÍA EN SILVICULTURA MENCIÓN MANEJO Y CONSERVACIÓN DE RECURSOS FORESTALES

TITULO A OBTENER MAGISTER EN SILVICULTURA

PROYECTO DE INNOVACIÓN

Efecto de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de *Swietenia macrophylla* King

Autor: Cristian Santiago Jácome Segovia

Director del Proyecto: PhD. Yudel García Quintana

Puyo – Ecuador

2018

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Cristian Santiago Jácome Segovia** con cédula de identidad 050315966-7, declaro ante las autoridades educativas de la Universidad Estatal Amazónica, que el contenido del Proyecto de Innovación titulado: “**EFECTO DE *Trichoderma harzianum* Rifai SOBRE LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS Y CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE *Swietenia macrophylla* King**”, es absolutamente original, auténtico y personal.

En tal virtud y según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente, certifico libremente que los criterios y opiniones que constan en el Proyecto de Innovación y son de exclusiva responsabilidad del autor; y que los resultados expuestos pertenecen a la Universidad Estatal Amazónica.

Cristian Santiago Jácome Segovia

C.I.050315966-7

AUTOR

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Estatal Amazónica y a sus docentes por impartir sus valiosos conocimientos en este proceso de formación.

Al PhD. Yudel García, por sus enseñanzas y valiosos aportes en la dirección de la investigación.

A mi hermano Freddy, por su incondicional contribución en el desarrollo de la investigación

Al Sr. Eloy Dagua por haberme compartido su experiencia y conocimientos ancestrales en el manejo de especies forestales.

Y a todas las personas y amigos que contribuyeron de una u otra manera en hacer posible que alcanzara el objetivo propuesto.

DEDICATORIA

A mi esposa Jessy, mis hijos Dylan y Diamara por el apoyo y el amor brindado en este proceso, quienes me han incentivado a seguir adelante hasta lograr mis objetivos.

RESUMEN EJECUTIVO

El propósito de este proyecto fue evaluar el efecto de *Trichoderma harzianum* sobre la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de *Swietenia macrophylla* en condiciones de vivero forestal. Se determinó la variabilidad morfológica de las semillas, viabilidad mediante prueba de tetrazolio al 1% y se establecieron categorías de vigor. Se elaboraron curvas de germinación acumulada a partir del conteo diario de germinación, expresado a través de los parámetros capacidad germinativa, vigor germinativo y velocidad de germinación. Se midieron los atributos morfológicos de las plantas cultivadas en vivero y las relaciones índice de esbeltez, calidad de Dickson, altura/peso seco aéreo, peso seco aéreo/peso seco radical e índice de fibrosidad y se construyeron curvas presión volumen con la cámara de scholander. Se obtuvo variación en las medidas de largo y ancho con valores medios de 35,04 y 20,21 mm respectivamente, mostrando una distribución más asimétrica el grosor de las semillas, la prueba de viabilidad reportó mayor porcentaje en la categoría vigor alto con 84% de semillas viables y menor en la categoría no vigorosas con 16%. Los parámetros de germinación reflejaron que T3 (mayor dosis de Trichoderma) resultó con mayor porcentaje de germinación y con un patrón similar en cuanto al comportamiento de los parámetros morfológicos. Estos resultados indicaron el efecto de *T. harzianum* sobre la germinación de semillas y crecimiento de plántulas. Las curvas presión–volumen reflejaron diferencias significativas entre el testigo (T0) y T3 excepto para el parámetro potencial osmótico a turgencia cero (Ψ_s^0).

Palabras claves: *Trichoderma harzianum*, germinación, crecimiento en vivero, *Swietenia macrophylla*

ABSTRACT

The purpose of this project was to evaluate the effect of *Trichoderma harzianum* on seed germination and growth of seedlings of *Swietenia macrophylla* in nursery conditions. It was determined the morphological variability of the seeds, viability using tetrazolium test 1% and force categories were established. Curves of germination accumulated from the daily count of germination, expressed through germination rate, germination vigor and germination capacity parameters were developed. Morphological attributes of plants grown in the nursery and the index relations of slenderness, Dickson, height/weight dry air, dry air quality were measured / radical dry weight and rate of woodiness and curves built pressure volume with the camera's scholander. He was variation in the measures of length and width with average values of 35.04 and 20.21 mm respectively, showing a more asymmetric distribution the thickness of seeds viability, testing reported greater percentage in the category force high with 84% of viable seeds and minor in no vigorous category with 16%. Germination parameters reflected that T3 (highest dose of Trichoderma) resulted with highest percentage of germination and a similar pattern in terms of the behavior of the morphological parameters. These results indicated the effect of T. harzianum on seed germination and growth of seedlings. Curves pressure-volume reflected significant differences between (T0) and T3 witness except for the osmotic potential parameter to zero turgor (Ψ_s^0).

Key words: *Trichoderma harzianum*, germination, growth in nursery, *Swietenia macrophylla*

TABLA DE CONTENIDOS

1.	INTRODUCCIÓN	9
1.1	PROBLEMA CIENTÍFICO	10
1.2	HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN	10
1.3	OBJETIVOS.....	10
CAPÍTULO II.....		12
2.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	12
2.1	Generalidades de la especie	12
2.2	Distribución geográfica	13
2.3	Descripción del hábitad.....	13
2.4	Árbol	13
2.5	Inflorescencia	14
2.6	Fruto	14
2.7	Semilla	14
2.8	Germinación y viabilidad.....	15
2.9	Importancia y usos	15
2.10	Propagación.....	15
2.11	Situación actual de la especie <i>S. macrophylla</i>	16
2.12	<i>Trichoderma</i>	17
2.12.1	Mecanismo de acción.....	17
2.13	Factores que influyen en el crecimiento de <i>T. harzianum</i>	18
2.14	Usos	19
CAPÍTULO III		21
3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
3.2	Tipo de investigación.....	21
3.3	Métodos de investigación.....	21
3.4	Tratamiento de datos	22
3.4.1	Variación morfométrica y viabilidad de semillas de <i>S. macrophylla</i>	22
3.4.1.1	Mediciones morfológicas de las semillas <i>S. macrophylla</i>	22
3.4.1.2	Viabilidad de semillas.....	23
3.4.2	Caracterización los patrones de germinación de semillas a diferentes dosis de inóculo de <i>T. harzianum</i>	24
3.4.2.1	Preparación de inóculo de <i>Trichoderma</i>	24

3.4.2.2 Preparación de sustrato	24
3.4.2.3 Siembra de semillas de <i>S. macrophylla</i>	25
3.4.3 Determinación los parámetros morfológicos y fisiológicos de plántulas de <i>S. macrophylla</i> con la inoculación de diferentes dosis de <i>T. harzianum</i>	26
3.4.3.1 Altura y diámetro de cuello de raíz.....	26
3.4.3.2 Peso fresco de las plantas	26
3.4.3.3 Atributos del sistema radical	26
3.4.3.4 Peso seco de la parte aérea (PSA) y parte radical (PSR)	27
3.4.3.5 Índices morfológicos	27
3.4.4.5 Potencial hídrico	28
3.5 Recursos Humanos y Materiales	29
3.5.1 Recursos humanos	29
3.5.2 Recursos materiales.....	29
CAPÍTULO IV.....	30
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
4.1 Análisis de la variación morfológica de las semillas de la <i>S. macrophylla</i>	30
4.1.1 Estadísticos descriptivos de los parámetros morfométricos	30
.....	32
.....	32
4.1.2 Patrones topológicos de viabilidad de las semillas y categorías de vigor ...	33
4.1.3 Curvas de germinación acumulada	35
4.2 Determinación de la respuesta de los parámetros morfológicos y fisiológicos de plántulas de <i>S. macrophylla</i>	36
4.3 Dendrograma jerárquico con las variables de germinación, índices y relaciones morfológicas	41
.....	42
.....	42
4.4 Curvas presión volumen.....	42
CONCLUSIONES	44
RECOMENDACIONES	45
BIBLIOGRAFIA	46

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Dosis de <i>T. harzianum</i> a semillas de <i>S. macrophylla</i>	22
Tabla 2. Estadísticos descriptivos de los parámetros morfológicos de las semillas de <i>S. macrophylla</i>	30
Tabla 3. Matriz de correlación de Pearson entre los parámetros morfológicos de las semillas de <i>S. macrophylla</i>	31
Tabla 4. Parámetros medios de la germinación de <i>S. macrophylla</i>	36
Tabla 5. Resultado del contraste multivariado de la varianza en relación a la morfometría de las plantas	37
Tabla 6. Valores medios y desviación estándar de los parámetros morfológicos utilizados en el análisis multivariado de la varianza (MANOVA)	38
Tabla 7. Matriz de correlación de Pearson entre variables morfológicas del crecimiento y desarrollo de las plantas	39
Tabla 8. ANOVA de un factor para los índices y relaciones morfológicas de las plantas cultivadas en vivero	40
Tabla 9. Valores medios y desviación estándar de los parámetros hídricos	43
Tabla 10. Matriz de correlación de Pearson entre las variables hídricas y atributos del sistema radical de <i>S. macrophylla</i>	44

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de las métricas relacionadas con la largo ancho y grosor de las semillas de <i>S. macrophylla</i>	32
Figura 2. Medición de largo (l), ancho (a) y grosor (g) de las semillas de <i>S. macrophylla</i>	33
Figura 3. Patrón de tinción de semillas de <i>S. macrophylla</i> sometidas a la prueba de tetrazolio	33
Figura 4. Representación de las categorías de vigor de las semillas sometidas a la prueba de viabilidad de tetrazolio	34
Figura 5. Curvas de germinación acumulada de <i>S. macrophylla</i> que describe el comportamiento de la germinación por tratamientos con diferentes dosis de <i>Trichoderma</i>	35
Figura 6. Dendrograma jerárquico de las variables de germinación, crecimiento y desarrollo de las plantas de <i>S. macrophylla</i> en función de los tratamientos	42
Figura 7. Curvas de presión –volumen de los parámetros hídricos de <i>S. macrophylla</i>	44

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

Swietenia macrohylla King (caoba), es una valiosa especie forestal de alta importancia económica y ecológica por su diversidad de productos, usos y su amplia distribución natural. Se encuentra distribuida geográficamente en Belice, Brasil, Colombia, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, México, Nicaragua, Panamá, Perú, Venezuela y Ecuador (Flora y Fauna Internacional, 2006).

Es una de las especies maderables más importantes en el comercio mundial. Se usa principalmente para fabricar muebles y accesorios interiores, ha sido un componente importante en la construcción de barcos (Lamb, 1966). El alto valor económico de la especie ha resultado en la sobreexplotación de casi todo su rango natural y esto, junto con altas tasas de deforestación, ha llevado a la especie a convertirse en un foco de creciente preocupación (Newton et al., 1996).

En la normativa forestal ecuatoriana se considera una especie de aprovechamiento condicionado y se encuentra incluida en el Apéndice II de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES). También a todo lo largo de su distribución natural es considerada como una especie vulnerable, según las categorías y criterios de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) (Ministerio del Ambiente, 2017)

La sobreexplotación de *Swietenia macrohylla* King en Ecuador con fines comerciales es la principal problemática que enfrenta la especie, asociado a la falta de programas de manejo sostenible, propagación y conservación, lo cual ha generado que sea declarada en veda. Es así que según el Ministerio del Ambiente en el Ecuador en las provincias de Napo, Orellana y Sucumbíos las poblaciones de *Swietenia macrohylla* King casi han desaparecido. Actualmente la población más importante se encuentra en las provincias de Pastaza y Morona Santiago con alrededor de 4000 árboles de *Swietenia macrohylla* King, lo que justifica el fomento en vivero de este importante reservorio forestal.

Para la especie *Swietenia macrohylla* King es importante que se establezcan nuevos mecanismos de disseminación con miras a la conservación y protección de sus poblaciones. En Ecuador son escasos los trabajos realizados sobre la germinación y crecimiento en vivero, además de la información sobre los efectos de la aplicación de microorganismos eficientes en

especies forestales de interés, más aún en la Amazonía ecuatoriana. Los microorganismos eficientes han sido empleados mayoritariamente como controladores biológicos, como alternativa para mejorar la fertilidad de los suelos y bioestimulantes de semillas para el incremento de la producción. Es por ello que la determinación del efecto estimulante de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre la germinación y desarrollo de las plántulas de caoba, reviste gran importancia para el establecimiento y diseminación de esta especie en la Amazonía ecuatoriana, lo que permitirá acelerar el proceso de germinación y crecimiento de plántulas como contribución al genofondo de este valioso recurso forestal. De ahí el proyecto de innovación está orientado a evaluar los efectos de *Trichoderma harzianum* Rifai en la germinación y crecimiento de *Swietenia macrophylla* King, como una nueva alternativa de producción en viveros forestales que permita el manejo adecuado y la conservación de la especie, lo cual propiciará bases científicamente fundamentadas para la toma de decisiones de los actores claves del territorio.

1.1 PROBLEMA CIENTÍFICO

¿Cómo incide la aplicación de dosis de *T. harzianum* en la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de *S. macrophylla*?

1.2 HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

La aplicación de diferentes dosis de *T. harzianum* en semillas de *S. macrophylla*, ejercerá un efecto positivo sobre la germinación y crecimiento en condiciones de vivero forestal.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de dosis de *Trichoderma harzianum* sobre la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de *Swietenia macrophylla* en condiciones de vivero forestal como alternativa para el manejo y conservación de la especie.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analizar la variación morfológica y la viabilidad de semillas de *S. macrophylla*.
- Caracterizar los patrones de comportamiento del proceso de germinación de semillas a diferentes dosis de inóculo de *T. harzianum*.

- Determinar la respuesta de los parámetros morfológicos y fisiológicos de plántulas de *S. macrophylla* con la inoculación de diferentes dosis de *T. harzianum*.

Los impactos derivados de este estudio desde el punto de vista social, económico, ambiental y científico son los siguientes:

Social: Los resultados contribuirán al conocimiento sobre manejo en vivero de un importante recurso forestal, lo que incidirá de manera positiva en los actores locales e investigadores que se dedican al cultivo de *S. macrophylla* y a la vez aporta a la matriz productiva de Ecuador.

Económico: El cultivo de plantas en condiciones de vivero con la tecnología de tubetes y el uso de bioestimulantes con diferentes dosis de *Trichoderma* resultará una alternativa económicamente factible para incrementar la producción en vivero con parámetros de calidad.

Ambiental: Se fomenta el cultivo de una especie forestal en veda de manera que el estudio contribuye a la conservación de este reservorio.

Científico: La determinación de dosis de *Trichoderma* adecuadas para promover la germinación, crecimiento y desarrollo de la especie.

CAPÍTULO II

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Generalidades de la especie

La especie *S. macrophylla* fue descrita por George King en 1886 (King, 1886). Con base en los registros del Missouri Botanical Garden (tropicos.org; theplantlist.org), la clasificación taxonómica aceptada es:

Reino Plantae,

División Magnoliophyta,

Clase Magnoliopsida,

Orden Sapindales, familia Meliaceae,

Mombres comunes: caoba, aguano, ahuano, mahogany, mogno, mara.

El nombre local de esta especie es caoba en países de habla hispana, tanto en América como en Europa. La caoba es una especie caducifolia, que mide de 35 a 50 m de altura (en ocasiones hasta 70 m y con diámetro a la altura de pecho que varía entre 1 y 1.8 m (pero puede incluso llegar hasta 3.5 m). Los árboles tienen un fuste recto de hasta 25 m, aunque es ligeramente acanalado, con contrafuertes en la parte basal de hasta 2 a 3 m de altura (Pennington y Sarukhán, 2005).

Las poblaciones de esta especie muestran una gran diferenciación genética entre las poblaciones Mesoamericanas en contraste con la evidente similitud de las del Amazonas. Esto indica que ha tenido una historia muy compleja y guardan cierto grado de aislamiento entre ellas. Es evidente las alteraciones ocasionadas a las poblaciones de la especie, las prácticas de tala en Mesoamérica han tenido un efecto negativo sobre su diversidad. En sus zonas de distribución natural se ha señalado una reducción significativa de diversidad genética en poblaciones que han sido constantemente aprovechadas, en contraste con poblaciones que han sufrido poco disturbio (Novick et al., 2003).

Un aspecto relevante de esta especie como requerimiento para los programas de reforestación es su crecimiento moderadamente rápido (en el primer año alcanza 1.8 m de altura) con características favorables para plantaciones, que puede producir madera de aserrío en turnos de rotación de 30 a 40 años (Cordero, 2003).

2.2 Distribución geográfica

Según Mayhew & Newton (1998), la especie está muy distribuida desde el sur de México hasta la cuenca del sur de la Amazonía en Brasil. En el Ecuador se encuentra distribuido en los bosques húmedos tropicales y secos, reportados en las provincias de Esmeraldas, Galápagos, Napo, Pastaza y Loja, a una altitud sobre el nivel del mar entre 1 a 500 metros (Aguirre, 2014).

2.3 Descripción del habitat

S. Macrophylla, habita en bosques húmedos y secos (con precipitación típica de 1 000-2 500 mm) la especie se encuentra en una variedad de suelos de hasta 1 400 msnm. La densidad de árboles de caoba suele ser inferior a un individuo por hectárea, aunque también se han registrado densidades de hasta ocho árboles por hectárea (Mayhew & Newton, 1998). *S. macrophylla* puede tolerar una amplia gama de suelos y condiciones ambientales dentro de su rango natural, se ha encontrado en suelos aluviales, suelos volcánicos, arcillas pesadas, suelos lateríticos y suelos derivados de caliza, granito y otros sedimentarios, ígneos o formaciones rocosas metamórficas (Whitmore 1992).

2.4 Árbol

S. macrophylla es un árbol grande, caducifolio, tropical, con una corona amplia y a menudo emergente. Puede alcanzar una altura de 40 m, un diámetro a la altura del pecho de más de 2 m y puede vivir varios siglos (Mayhew & Newton, 1998). Presenta corteza externa marrón con tintes grisáceos y con fisuras superficiales, madera interna amarilla, albura rosada a rojiza. Ramas jóvenes delgadas, con lenticelas pequeñas y abundantes. Hojas compuestas, alternas, paripinnadas de 15-30 cm, raquis glabro, con 3 a 6 pares de folíolos, opuestos o subopuestos, cartáceos, ovado lanceolados, ápice agudo o acuminado, base ligeramente redondeada, cordada y asimétrica, haz verde claro y envés verde oscuro (López & Cárdenas, 2002). *S. macrophylla* es una madera bastante blanda, de peso medio. El duramen es rojizo o rosado, el color se oscurece con la edad hasta un color rojo oscuro o marrón; la albura suele ser amarillenta.

2.5 Inflorescencia

Presenta inflorescencias en panículas en la base de las hojas nuevas (Pennington *et al.*, 1981), usualmente axilares, muy ramificadas de 10-18 cm de largo, formando fascículos o panículas de color blanco verdoso, con flores pequeñas de cinco pétalos blancos amarillentos y diez estambres castaños diminutos. (López y Cárdenas, 2002). La floración y fructificación se producen regularmente anualmente desde los 10 a los 15 años de edad. Las estaciones de floración y fructificación difieren según la ubicación geográfica. Por ejemplo, en las partes central y norte de América del Sur, el árbol florece de abril a junio y los frutos maduran de enero a marzo del año siguiente (Schmidt y Jøker, 2000).

2.6 Fruto

La caoba presenta frutos capsulares, leñosos, dehiscentes, septicidas, de forma elíptica, de 11 a 18 cm de longitud 8 cm de ancho (Alvarenga & Flores, 1988). Según López y Cardenas (2002) describen a los frutos de caoba como erectos, alargados-ovoides a veces en forma de pera, de 10-16 cm de largo y 6-8 cm de diámetro, gris-café oscuro, valvas exteriores leñosas, interiores mucho más delgadas y manchadas de café y blanco, semillas 7-10 cm de largo incluyendo el ala, de color café oscura y lustrosa.

2.7 Semilla

S. macrophylla presenta semillas anemócoras, diásporas aladas, localizadas en el extremo distal del fruto, dispuestas verticalmente en los lóculos, en forma estratificada y se mantienen unidas a la placenta por medio de un funículo largo y delgado, presentan un ala larga color pardo claro, constituida por un tejido parenquimático, esponjoso, de origen tegumentario. El hilo es de color pardo oscuro prominente, cubierto con tricomas. En un extremo del hilo se encuentra incluido el micrópilo. El tegmen es delgado unido a los cotiledones. El embrión presenta dos cotiledones grandes y carnosos. La plúmula y la radícula son inconspicuas (Alvarenga & Flores, 1988).

2.8 Germinación y viabilidad

La especie presenta una germinación hipogea y de tipo criptocotilar, la emergencia de la radícula se inicia a partir de los 12 días de imbibición y provoca la ruptura de la testa en el extremo opuesto al hilo (Alvarenga y Flores, 1988). La viabilidad de las semillas frescas de *S. macrophylla* es de alrededor del 80-90%, aunque la viabilidad de las semillas almacenadas puede variar, si se almacena a temperatura ambiente y en condiciones húmedas durante más de aproximadamente 3 meses. Las semillas de *S. macrophylla* son susceptibles a daños por frío debajo unos 16 °C (Mayhew y Newton, 1998).

2.9 Importancia y usos

S. macrophylla resulta la especie comercial más importante de América Latina, por sus diferentes usos: reforestación en zonas degradadas, empleada en sistemas agroforestales y apicultura, su madera sirve para elaborar artesanías, instrumentos musicales, construcciones rurales, curtiente, implementos agrícolas, embarcaciones, partes de molinos, muebles de lujo, gabinetes entre otros. El aceite extraído de sus semillas es utilizado para preparar cosméticos (Negreros et al., 2014).

2.10 Propagación

Se ha argumentado que los requisitos de regeneración de la caoba junto con la falta de árboles semilleros después de la tala son las principales razones para la disminución de las poblaciones explotadas (Gullison et al., 1996; Snook, 1996, Mostacedo y Fredericksen, 1999). Los datos existentes sugieren que la regeneración de caoba varía a lo largo de su rango de distribución, probablemente debido a las diferencias en la cantidad de luz que penetra en el sotobosque del bosque en diferentes tipos de bosques (Brown y Clements 2003). Para Gullison et al., (1996) y Snook, (1996) esta especie se encuentra muy poca regeneración en el bosque perennifolio tardío, donde se cree que la caoba requiere perturbaciones catastróficas como huracanes, inundaciones y migraciones fluviales para el establecimiento de la misma. Otros autores como Günter, (2001) Grogan, Ashton & Galvão (2003), establecen que la abundante regeneración se encuentra en los bosques más secos estacionalmente, donde la especie es capaz de regenerarse después de

perturbaciones a pequeña escala, como las aberturas de la brecha del dosel. En consecuencia, se ha argumentado que las poblaciones de caoba que crecen en bosques semicaducifolios tienen más probabilidades de ser manejadas de manera sostenible que las poblaciones que crecen en bosques perennes (Günter, 2001); (Grogan, Barreto & Verissimo, 2002); (Brown et al., 2003).

Según Howard y Mérida (2004), esta especie para su desarrollo normal, presenta un principal limitante en árboles jóvenes, es el factor biológico dado que está determinado en muchos casos por la susceptibilidad al ataque de *Hypsipyla grandella* Zell (Lepidoptera-Pyralidae), insecto barrenador de Meliáceas que ataca consumiendo principalmente los meristemas apicales y rebrotes. Para Quinto et al., (2009), Prado et al., (2012), establecen como factores limitantes a los índices bajos de germinación (10 al 70%) lo cual reduce la propagación sexual de la caoba, las semillas de origen desconocido ensayos insuficientes de selección basados en características fenotípicas y genotípicas, resultan plantaciones de alta heterogeneidad.

2.11 Situación actual de la especie *S. macrophylla*

S. macrophylla es la especie maderable con mayor valor económico en el mundo. Los mayores volúmenes de madera de caoba son comercializados en los mercados mundiales, provienen de las selvas tropicales nativas en donde se realiza una abusiva extracción de esta valiosa especie, es decir, no se está utilizando de manera sostenible como lo solicitan los países exportadores y CITES (Buitrón y Mulliken, 2001).

La caoba *S. macrophylla*, está considerada como la especie arbórea más comercial del trópico. La creciente demanda de madera de caoba sobrepasa la oferta disponible y aumenta la presión sobre esta especie, lo que ocasiona una disminución de las poblaciones naturales y ha provocado su extinción comercial a lo largo de su área de distribución (Reynel et al., 2003). Sus poblaciones han sido diezmadas muy rápidamente en todas sus áreas de distribución natural. Esto motivó a que fuera incluida en el apéndice II de la Convención sobre Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora (CITES) en el año 2002, siendo categorizada a nivel mundial como vulnerable (World Conservation Monitoring Centre 1998). Según las categorías y criterios de la lista Roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN), *S. macrophylla* presenta para el Ecuador la categoría en Peligro Crítico (CR A2cd), representa un riesgo

extremadamente alto de extinción en estado silvestre. El Ministerio del Ambiente dentro de sus atribuciones mediante Acuerdo Ministerial No. 090, de octubre de 2017, declaró a la especie *S. macrophylla* en veda en todo el territorio continental del Ecuador con un plazo de 10 años.

2.12 *Trichoderma*

T. harzianum es un hongo que se distribuye ampliamente en los suelos, en muchas plantas, diferentes tipos de vegetación y madera. Es un hongo anaerobio facultativo, se desarrolla rápidamente al verse favorecido cuando encuentra una buena densidad radicular, las cuales coloniza rápidamente este microorganismo (Castillo, 2007). Las especies de *Trichoderma* se conocen como agentes de control biológico y estimulador del crecimiento de plantas y se utilizan ampliamente como tratamientos de semillas para controlar enfermedades y mejorar el crecimiento y rendimiento de las plantas (Nagaraju et al., 2012). El género *Trichoderma* se conoce en la agricultura desde hace más de 200 años y está comprendido en los hongos anamórficos aislados principalmente del suelo y de la materia orgánica en descomposición (Grondona et al., 1997). *Trichoerma* es un género de hongos distribuidos en todo el mundo, muy bien adaptados para vivir en diferentes nichos ecológicos (Druzhinina et al., 2011)

2.12.1 Mecanismo de acción

Trichoderma se encuentra entre los agentes de control biológico más utilizados y es un antagonista eficaz contra los hongos patógenos de plantas (Stocco et al., 2016). Estudios recientes han demostrado que *Trichoderma* spp., especialmente *T. harzianum*, puede controlar enfermedades causadas por *Rhizoctonia solani* J.G.Kühn, *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid y *Ceratocystis radicola* Bliss (Al-Naemi et al., 2016; Javaid et al., 2017; Youssef et al., 2016). Esto se debe a su metabolismo notablemente diverso, capaz de catabolizar una amplia variedad de sustratos, así como a producir una gran diversidad de metabolitos secundarios (Mukherjee et al., 2013). *Trichoderma* ha demostrado ejercer efectos beneficiosos en las plantas, como es el de aumentar el crecimiento y la estimulación de las defensas contra el daño de factores biótico y abiótico (Shoresh et al., 2010; Hermosa et al., 2012.; Rubio et al., 2017.).

Los mecanismos de acción para esta especie de microorganismo antagonico se ha reportado

efectos benéficos de la inoculación de especies de *Trichoderma* se consigue cuando mantienen una estable colonización producto de una interacción química que se refleja en la germinación de semillas, donde la producción de enzimas líticas de *Trichoderma* actúa en el epispermo de éstas (López et al., 2015). En plántulas, *Trichoderma* promueve el desarrollo de tejidos meristemáticos primarios, los cuales aumentan la altura de plántula, el peso y el desarrollo de las raíces laterales que mejoran la asimilación de nutrientes y con ello la acumulación de antocianinas en hojas (Contreras et al., 2011; Marín et al., 2016). *T. harzianum*, ha demostrado parasitismo sobre diversas enfermedades que afectan otros cultivos con problemas de *Rhizoctonia* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Fusarium* sp., *Sclerotinia* sp., *Uromyces phaseoli* (Link) Unger, entre otros, inhibe el crecimiento en un alto porcentaje de las enfermedades causadas por la mayoría de esos patógenos (Agrios, 2004). *Trichoderma* sp., otorga diferentes ventajas como microorganismo en el suelo-planta, debido a que tiene un rápido crecimiento y desarrollo, realiza una gran cantidad de enzimas inducibles que producen a través de la presencia de hongos fitopatógenos. Este microorganismo puede desarrollarse de muy buena manera en diferentes sustratos, lo cual es una ventaja en la producción del hongo en la agricultura. Además tiene una alta tolerancia a condiciones ambientales extremas y a hábitats donde los hongos causan enfermedad que le permite ser un eficiente agente de control (Howell, 2003).

2.13 Factores que influyen en el crecimiento de *T. harzianum*

La temperatura óptima de crecimiento de *T. harzianum* difiere entre las especies según (Błaszczuk et al., 2011); al igual que la gran mayoría de hongos, *T. harzianum*, tiene un desarrollo de temperatura óptimo en los rangos de 15 - 30 °C (Schuster & Schmoll, 2010). El efecto de la temperatura sobre las especies de *Trichoderma* sp, en el desarrollo de los procesos biológicos es importante para realizar desnaturalización de proteínas, inhibición de enzimas, promoción o supresión de la producción de un metabolito particular, viabilidad y muerte celular (Schuster & Schmoll, 2010).

T. harzianum en el suelo, tiene un mejor crecimiento en humedad moderada, el contenido de humedad es un factor importante en el suelo así mismo en la producción a nivel de laboratorio, por lo cual en producción de matrices sólidas se necesita un contenido de agua entre el 35 y 70 % (Błaszczuk et al., 2011).

Un factor importante para el desarrollo para *Trichoderma* es la aireación debido a que el oxígeno y el dióxido de carbono son elementos que le otorgan habilidad para crecer en diferentes tipos de suelo y debido a que las especies de *Trichoderma* son anaerobios facultativos y pueden crecer de buena manera donde el oxígeno es mínimo (Harman et al., 2004).

La luz constituye un elemento esencial ya que la mayor cantidad de las especies de *Trichoderma* son fotosensibles, lo cual otorga una esporulación rápida en los diferentes sustratos, En este sentido una buena alternancia de luz y oscuridad aproximadamente de 12 horas de luz y una etapa foto inductiva entre 380 – 440 nm de rango visible para que pueda tener un eficiente desarrollo. Cuando se encuentra por debajo de estos parámetros solamente se obtendrá producción de micelio y no habrá esporulación del hongo (Howell, 2003).

2.14 Usos

T. harzianum, en la agricultura es considerado un método de control eficiente para hongos en diferentes cultivos. Sin embargo la efectividad de los microorganismos en el suelo se ve limitada por la acción fungistasis del suelo, lo cual significa que no hay germinación de las esporas del hongo, la competencia por otros microorganismos del suelo, una pobre cantidad radicular de la planta, o condiciones ambientales desfavorables (Bae & Knudsen, 2000).

Se reporta que el tratamiento de semillas con *T. harzianum* alivia el estrés biótico, abiótico y fisiológico en la germinación de las semillas y el desarrollo de plántulas (Mastouri *et al.*, 2010). Los efectos beneficiosos de la semilla inoculada con *T. harzianum* se han reportado en girasol, tomate, zanahoria y cebolla (Mastouri et al., 2010; Nagaraju et al., 2012).

Trichoderma spp. ha desarrollado múltiples mecanismos que resultan mejoras en la resistencia de las plantas a enfermedades, al crecimiento y la productividad (Harman et al., 2004; Vinale et al., 2008). Las posibles explicaciones de este fenómeno incluyen control de la población menor de patógenos que conducen a un mayor crecimiento de la raíz y absorción de nutrientes (Yedidia et al., 2001).

Este género es micro parasítico en su gran mayoría, actualmente son bastante utilizados como antagonistas en control de enfermedades producidas por hongos, debido a la facilidad de encontrarse en diferentes ambientes, *T. harzianum* es microparasítico de una gran

variedad de hongos fitopatógenos responsables de enfermedades en los cultivos, y no realiza daño en las plantas superiores (Mohammed et al., 2004).

También se ha reportado que el hongo antagonista *Trichoderma* spp., tiene un efecto bioestimulante en la germinación de las semillas de diferentes especies, incluso forestales (Stefanova, 2007; Vinale et al., 2008).

CAPÍTULO III

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización

El ensayo de la presente investigación se realizó en el vivero forestal del Gobierno Autónomo Descentralizado del Cantón Pastaza, ubicado en el Paseo Turístico del Río Puyo del Cantón Pastaza, provincia de Pastaza, en las coordenadas UTM 166665 de longitud y 9837319 de latitud, zona 18 Sur, a partir de semillas de *S. macrophylla* provenientes de la localidad de Pastaza sector Don Bosco, del Cantón Pastaza, Provincia de Pastaza.

3.2 Tipo de investigación

El tipo de investigación es descriptiva y experimental. Se considera descriptiva porque se realizó la descripción de las variables morfológicas de las semillas de caoba (largo, ancho y grosor), así como la comprobación del porcentaje de viabilidad y la interpretación de los patrones topológicos de viabilidad de las semillas. Se consideró experimental porque comprendió la manipulación de variables, en este caso se realizó la aplicación de *T. harzianum* en tres tipos de concentraciones a las semillas de *S. macrophylla* en el vivero forestal del GAD Municipal de Pastaza para analizar la respuesta de las dosis de *T. harzianum* a la germinación de semillas y crecimiento de plántulas.

3.3 Métodos de investigación

Los métodos de investigación empleados fueron:

Observación: Se observó la reacción de las semillas mediante cambio de coloración con la prueba de viabilidad de tetrazolio a una concentración de 1% durante dos horas a 40 °C en estufa.

Medición: Se realizó la medición de los parámetros morfométricos de las semillas (largo, ancho y grosor), además se tomaron datos numéricos del proceso de crecimiento de las plantas en cuanto a altura y diámetro en el cuello de la raíz. Se realizó conteo físico de raíces nuevas mayor a 1 cm, largo de raíces, volumen de raíces, a través del cual se utilizó ciertas

reglas específicas para establecer la relación que existe entre el fenómeno que se está investigando y el sistema numérico, de esta manera se obtuvo información del fenómeno que se está investigando, asociado a la biomasa aérea y radical de las plantas.

Experimental: Se realizó un diseño de bloques completos al azar con la aplicación de tres tratamientos, con tres réplicas y una prueba testigo a base de *T. harzianum* en las concentraciones que se detallan en la tabla 1.

Tabla 1. Dosis de *T. harzianum* a semillas de *S. macrophylla*

Tratamientos	Descripción
T1	0.75* 10^8 UFC
T2	1.5* 10^8 UFC
T3	3* 10^8 UFC
T0	Testigo

3.4 Tratamiento de datos

3.4.1 Variación morfométrica y viabilidad de semillas de *S. macrophylla*

3.4.1.1 Mediciones morfológicas de las semillas *S. macrophylla*

Para determinar las mediciones morfológicas de las semillas se tomaron las dimensiones principales longitud (L), ancho (W) y grosor (T), las cuales se midieron utilizando un calibrador vernier con una precisión de ± 0.05 mm. Seguidamente se calculó el diámetro medio aritmético (Da), diámetro medio geométrico (Dg), y volumen de semillas, utilizando las siguientes ecuaciones (1, 2, 3) propuestas por (Mohsenin, 1986). Con la información de los datos morfométricos de las semillas se determinaron los parámetros estadísticos descriptivos (mínimo, máximo, media, desviación estándar y varianza), además se realizó una matriz de correlación de Pearson debido a que se trata de datos paramétricos mediante el uso del programa estadístico SPSS ver. 22.0.

$$Da = \frac{(L + W + T)}{3} \quad (1)$$

$$Dg = (L.W.T)^{1/3} \quad (2)$$

Dónde:

L = longitud

W = ancho

T = grosor

Da = diámetro medio aritmético

Dg = diámetro medio geométrico

$$S = L * \pi * (\text{Diámetro}/2) \quad (3)$$

Dónde:

L= ancho (mm)

3.4.1.2 Viabilidad de semillas

La prueba de viabilidad de las semillas se llevó a cabo en el Laboratorio de Biología de la Universidad Estatal Amazónica, para lo cual se utilizaron 100 semillas de caoba sumergidas en agua durante 24 horas, posteriormente fueron colocadas en una solución de Tetrazolio (2,3,5- cloruro trifenil tetrazolio) al 1% durante dos horas. Se contabilizó la cantidad de semillas viables según el patrón de tinción, considerando que las semillas totalmente teñidas son viables, semillas totalmente libres de coloración no son viables y semillas parcialmente teñidas, dependiendo de la intensidad y patrón de la tinción son viables. Esto fue posible a partir de lo descrito por (Rao et al., 2007), citado por Espitia et al., (2017). Se determinó el porcentaje de viabilidad de las semillas (Rodríguez y Nieto, 1999), citado por (Espitia et al., 2017).

Se realizó una categorización del vigor de las semillas en diferentes categorías (alta, media, baja y no vigorosas) como indicador de la respuesta favorable al proceso de germinación.

Para la evaluación de las categorías de vigor se consideró los siguientes criterios, según metodología propuesta por Gallo et al., (2016):

Vigor alto: Semillas que mostraron un aspecto completamente teñido de coloración rojizo.

Vigor medio: Semillas con áreas menores de color rojizo sin tinción, con tejidos necróticos o flácidos de poca profundidad.

Vigor bajo: Semillas con presencia de mayores o múltiples áreas menores de color rojizo, sin tinción con tejidos necróticos o flácidos de una extensión mayor.

No vigorosas: Semillas con radícula deteriorada sin coloración (blanco lechoso) por lo tanto, tejido muerto.

3.4.2 Caracterización los patrones de germinación de semillas a diferentes dosis de inóculo de *T. harzianum*

3.4.2.1 Preparación de inóculo de *Trichoderma*

La preparación de las proporciones de *Trichoderma* se realizó en el Laboratorio de Biología de la Universidad Estatal Amazónica. Se utilizó una balanza de precisión en la cual se pesaron las cantidades de inóculo a utilizar en los tratamientos descritos en la Tabla 1. Posteriormente se introdujo en un matraz aforado de 100 mL con la ayuda de filtración, al que se aplicó agua destilada, mediante un proceso de agitación manual para disolver las esporas de *Trichoderma*, una vez logrado una mezcla homogénea se ubicó en frascos de vidrio ámbar en un volumen de 100 mL.

3.4.2.2 Preparación de sustrato

Para la preparación del sustrato se realizó la desinfección del mismo y a capacidad de campo se colocó en una bandeja de aluminio esterilizada, para posteriormente realizar la inoculación del *Trichoderma*, en el cual se vertió la disolución ya preparada, producto de lo cual se obtuvo una mezcla que se introdujo en fundas de polietileno y se dejó 72 horas para que el *Trichoderma* colonice antes de realizar la siembra de las semillas.

3.4.2.3 Siembra de semillas de *S. macrophylla*

La presente investigación se realizó en dos fases, la primera consistió en la evaluación del proceso de germinación de las semillas y la segunda el control de las variables de crecimiento y desarrollo de las plántulas de caoba. Para la fase de germinación se emplearon bandejas de germinación para especies forestales, de 160 cc de capacidad por celda, en los cuales se dispuso de 25 semillas por tratamiento con tres repeticiones. La distribución de cada tratamiento se realizó siguiendo un diseño de parcelas divididas con un arreglo completamente al azar con tres repeticiones. Se sembraron 300 semillas, se utilizó un sustrato en razón de 75% de arena y 25% de compost, y en el sustrato se realizó la aplicación vía drench de *Trichoderma*.

El sustrato inoculado con *Trichoderma* se lo vertió en las bandejas de germinación llenando un total de 25 celdas, por tratamiento y repetición.

Se realizó diariamente el conteo físico del número de semillas germinadas por cada tratamiento, lo cual permitió elaborar las curvas de germinación acumulada en el tiempo. Esta información proporcionó los datos necesarios para calcular los parámetros de germinación relacionados con la capacidad germinativa, velocidad de germinación, día de inicio de la germinación y vigor germinativo, mediante las siguientes ecuaciones (4 y 5).

$$VE = \sum \left(\frac{x_i}{n} \right) \quad (4)$$

Dónde:

VE = Velocidad de germinación

X_i = Número de plántulas emergidas por día

n = Número de días después de la siembra

$$VG = UM * GDM \quad (5)$$

Dónde:

VG = Vigor germinativo

UM: Valor máximo o pico que se presenta entre los valores producto de la división del porcentaje acumulado de germinación y la cantidad de días que tardó en obtenerse.

GDM: Es la germinación media diaria calculada como la razón entre el porcentaje final de germinación (PG) y el número de días transcurridos hasta llegar a ese valor.

Los datos obtenidos del proceso de germinación, expresado a través de los parámetros descritos anteriormente fueron procesados mediante un ANOVA y pruebas de comparación de medias de Tukey al 95% de confiabilidad. Se comprobaron los supuestos teóricos de normalidad y homogeneidad de la varianza.

3.4.3 Determinación los parámetros morfológicos y fisiológicos de plántulas de *S. macrophylla* con la inoculación de diferentes dosis de *T. harzianum*

3.4.3.1 Altura y diámetro de cuello de raíz

Para la medición de la altura de las plántulas, se empleó una regla graduada de 30 cm, las medidas se tomaron desde la base del tallo hasta el ápice de la plántula y el diámetro del cuello de la raíz se determinó con la ayuda de un calibrador Vernier.

3.4.3.2 Peso fresco de las plantas

Para realizar el estudio de biomasa se sacrificaron cinco plántulas por tratamiento y repetición, estas muestras fueron lavadas con agua común y posteriormente secadas con papel absorbente, se separó la biomasa en componentes aéreo y radical (tallos, hojas y raíz) y con la ayuda de una balanza digital se determinó el peso fresco de cada componente de la biomasa.

3.4.3.3 Atributos del sistema radical

Para medir la longitud de la raíz se tomó las dimensiones desde el cuello de la raíz hasta el extremo distal de la misma, empleando una regla graduada de 30 cm. Para determinar el volumen de la raíz se utilizó una probeta de 100 mL con agua común a 60 mL, posteriormente se sumergieron las raíces en el interior de la probeta y se consideró el volumen de agua desplazado como el volumen del sistema radical. Se contabilizaron las raíces secundarias nuevas mayores a 1 cm, para determinar el potencial de crecimiento radicular y el índice de fibrosidad se determinó como la relación volumen de la raíz y peso seco de la raíz.

3.4.3.4 Peso seco de la parte aérea (PSA) y parte radical (PSR)

Las muestras de los componentes de la biomasa seleccionados fueron colocados en la estufa a una temperatura de 60 °C durante 48 horas y posteriormente cada fracción de las plántulas fueron pesadas en una balanza analítica para obtener el peso seco de la biomasa aérea y radical.

3.4.3.5 Índices morfológicos

La relación parte aérea – parte radical se determinó mediante el cociente entre el peso seco aéreo y el peso seco radical (Thompson, 1985). Se determinó el índice de esbeltez mediante la relación altura y diámetro del tallo (Torralba, 1997). El índice de calidad de Dickson se calculó en función del peso seco total, el índice de esbeltez y la relación parte aérea y parte radical, según lo propuesto por Dickson et al., (1960), mediante la ecuación (6).

$$IQ = \frac{Pst}{\frac{h}{d} + \frac{Psa}{Psr}} \quad (6)$$

Dónde:

IQ = Índice de calidad de Dickson

Pst = Peso seco total

h = altura

d = diámetro

Psa = Peso seco aéreo

Psr = Peso seco radical

Los parámetros morfológicos y desarrollo de las plantas cultivadas en las condiciones del vivero fueron procesados mediante un análisis multivariado de la varianza (MANOVA), además se realizó una matriz de correlación de Pearson para establecer correlaciones entre las variables morfológicas.

Se realizó un dendrograma jerárquico como método multivariado a partir de la distancia de aglomeración reescalada, lo cual permitió la clasificación de grupos en función de las

variables medidas del proceso de germinación, crecimiento y desarrollo de las plantas. Todo el procesamiento estadístico fue realizado con el programa SPSS ver.22.0.

3.4.4.5 Potencial hídrico

Para evaluar los parámetros relacionados con el funcionamiento hídrico de la especie se construyeron curvas presión–volumen. Se realizaron tres curvas por tratamiento, lo cual equivale a 12 curvas en total. Las curvas se elaboraron siguiendo la técnica desarrollada por Tyree y Hammel (1972) y Turner (1986) y a partir de las cuales se determinaron los componentes del potencial hídrico (Ψ_w), según metodología descrita por Azcón y Talón (2008): contenido hídrico relativo en el punto de pérdida de la turgencia (CHRo), potencial osmótico a cero turgencia (Ψ_s^0), potencial osmótico a plena turgencia (Ψ_s^{100}) y módulo de elasticidad de la pared celular (ε).

Para la construcción de las curvas presión-volumen las plantas fueron sometidas a un período de hidratación con agua destilada y en la oscuridad. Se realizaron medidas sucesivas de Ψ_w con la cámara de presión (Model 1000, PMS Instruments, Corvallis, USA), antecedida por la pesada de las muestras. Se efectuaron medidas de Ψ_w , hasta obtener potenciales hídricos bajos, finalmente el peso seco se determinó en estufa a 80 °C hasta peso constante. Para las pesadas se utilizó balanza analítica Sartorius AG GOTTINGEN SP61S con 0,0001 g de precisión.

El contenido hídrico relativo se calculó por la expresión (7):

$$CHR = \frac{P_f - P_s}{P_t - P_s} * 100 \quad (7)$$

Donde: P_f , representa el peso fresco; P_s , peso seco; P_t , peso turgente

El peso turgente se estimó a partir de la linealidad existente entre Ψ_w y el peso fresco, tomando los datos correspondientes a las primeras mediciones que ofrecieron un mayor grado de correlación, según criterios de Kubiske y Abrams (1991). Gráficamente se determinó el punto de pérdida de turgencia para el cual el $\Psi_w = \Psi_s$ ($\Psi_p = 0$), que corresponde al punto en que la curva se hizo lineal.

El potencial osmótico a plena turgencia (Ψ_s^{100}), se estimó mediante la extrapolación de la zona lineal de la curva presión–volumen, a partir del punto de pérdida de turgencia hasta el valor de $1/\Psi_w$ correspondiente al 100% del contenido de agua del tejido.

El potencial osmótico a turgencia cero (Ψ_s^0), corresponde al valor del potencial en el punto de inicio de la plasmólisis.

Además, se determinó el módulo de elasticidad de la pared celular (ϵ), expresado en megapascales (MPa), aplicado a los cinco o seis primeros puntos de la curva P-V hasta llegar a la marchitez, dada por la ecuación (8):

$$\epsilon = \frac{dP}{dCHR} \quad (8)$$

Donde: $\frac{dP}{dCHR}$ es la relación entre la variación del potencial de presión y el contenido hídrico relativo entre el punto de máxima turgencia y a turgencia cero.

3.5 Recursos Humanos y Materiales

3.5.1 Recursos humanos

El recurso humano para la presente investigación estuvo conformado por el Director del Proyecto, el egresado de la maestría, los técnicos de laboratorio, el técnico de campo y el técnico del vivero.

3.5.2 Recursos materiales

Para el desarrollo de la presente investigación se utilizó material genético a partir de semillas de *S. macrophylla*, sustrato compuesto por arena de río, esporas de *Trichoderma*, producto comercial bandejas de germinación para especies forestales de capacidad de celda de 160 cc, calibrador vernier, instrumental y equipo de laboratorio, probetas, vasos de precipitación, envases de cristal de ámbar, embudos de filtración, agitador magnético, balanza digital marca Sartorius, agua destilada, estufa Binder, cámara de presión Scholander, material de oficina, laptop, tablero y cámara fotográfica marca Cannon.

CAPÍTULO IV

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Análisis de la variación morfológica de las semillas de la *S. macrophylla*

4.1.1 Estadísticos descriptivos de los parámetros morfométricos

La morfología de las semillas de *S. macrophylla*, analizada a través de los estadísticos descriptivos, manifestaron un patrón general de comportamiento con altos niveles de variación en las medidas de forma y tamaño, resultando el volumen de semillas el de mayor variabilidad, lo cual pudiera estar asociado al peso y estructura de las semillas (Tabla 2). Estos resultados demuestran que las dimensiones ortogonales de las semillas responden a la variación encontrada en los cinco árboles donde se cosecharon las semillas del sitio Don Bosco, del Cantón Pastaza, Provincia de Pastaza, aspecto importante para garantizar una respuesta más favorable al proceso de germinación. Esto se corresponde con lo descrito por De la Cruz y Chávez (2005), donde refieren que la variación encontrada en las semillas relacionadas con el peso, largo y ancho muestran un potencial de variabilidad debido a las características que presentan los árboles, lo cual permite a futuro desarrollar programas de selección de árboles semilleros para satisfacer la demanda de semillas de calidad en los programas de reforestación con la especie *S. macrophylla*.

Tabla 2. Estadísticos descriptivos de los parámetros morfológicos de las semillas de *S. macrophylla*

Variables	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar	Varianza
L	20,6	56,45	35,01	5,79	33,56
A	13,3	28,9	20,21	2,91	8,49
G	4,3	8,85	6,5	1	1
Da	12,88	29,18	20,58	2,66	7,09
Dg	3,38	4,44	3,94	0,17	0,03
VS	93,27	393,96	207,96	50,5	2550,47
RLA	1,17	2,83	1,75	0,3	0,09

Leyenda: Largo (L), Ancho (A), Grosor (G), Diámetro aritmético (Da), Diámetro geométrico (Dg), Volumen de semillas (Vs), Relación Largo/Ancho (RLA).

Las variables morfológicas mostraron una correlación significativa ($p \leq 0,05$), expresada a través de la matriz de correlación de Pearson, lo que demuestra la estrecha relación entre las variables asociadas al tamaño y forma de las semillas. El volumen de semillas manifestó una correlación negativa fuerte con la variable relación largo-ancho (Tabla 3).

Tabla 3. Matriz de correlación de Pearson entre los parámetros morfológicos de las semillas de *S. macrophylla*

	L	A	G	Da	Dg	Vs	RLA
L	1	0,406**	0,438**	0,928**	0,924**	0,518**	0,640**
A		1	0,342**	0,702**	0,706**	0,800**	-0,426**
G			1	0,567**	0,562**	0,830**	0,119*
Da				1	0,998**	0,771**	0,323**
Dg					1	0,767**	0,318**
Vs						1	-0,168**
RLA							1

** La correlación es significativa en el nivel 0,01

* La correlación es significativa en el nivel 0,05

Leyenda: Largo (L), Ancho (A), Grosor (G), Diámetro aritmético (Da), Diámetro geométrico (Dg), Volumen de semillas (Vs), Relación Largo/Ancho (RLA).

En la Figura 1 a, b y c se representa la distribución de las métricas relacionadas con la forma y tamaño de las semillas, adoptando un comportamiento gaussiano, así como imágenes de las medidas de largo, ancho y grosor de las semillas (Figura 2). Se comprobó que del lote de semillas utilizadas para la siembra (300 semillas), las variables largo y ancho mostraron una distribución más asimétrica que el grosor de semillas, con valores medios de 35,04 mm y 20,21 mm respectivamente.

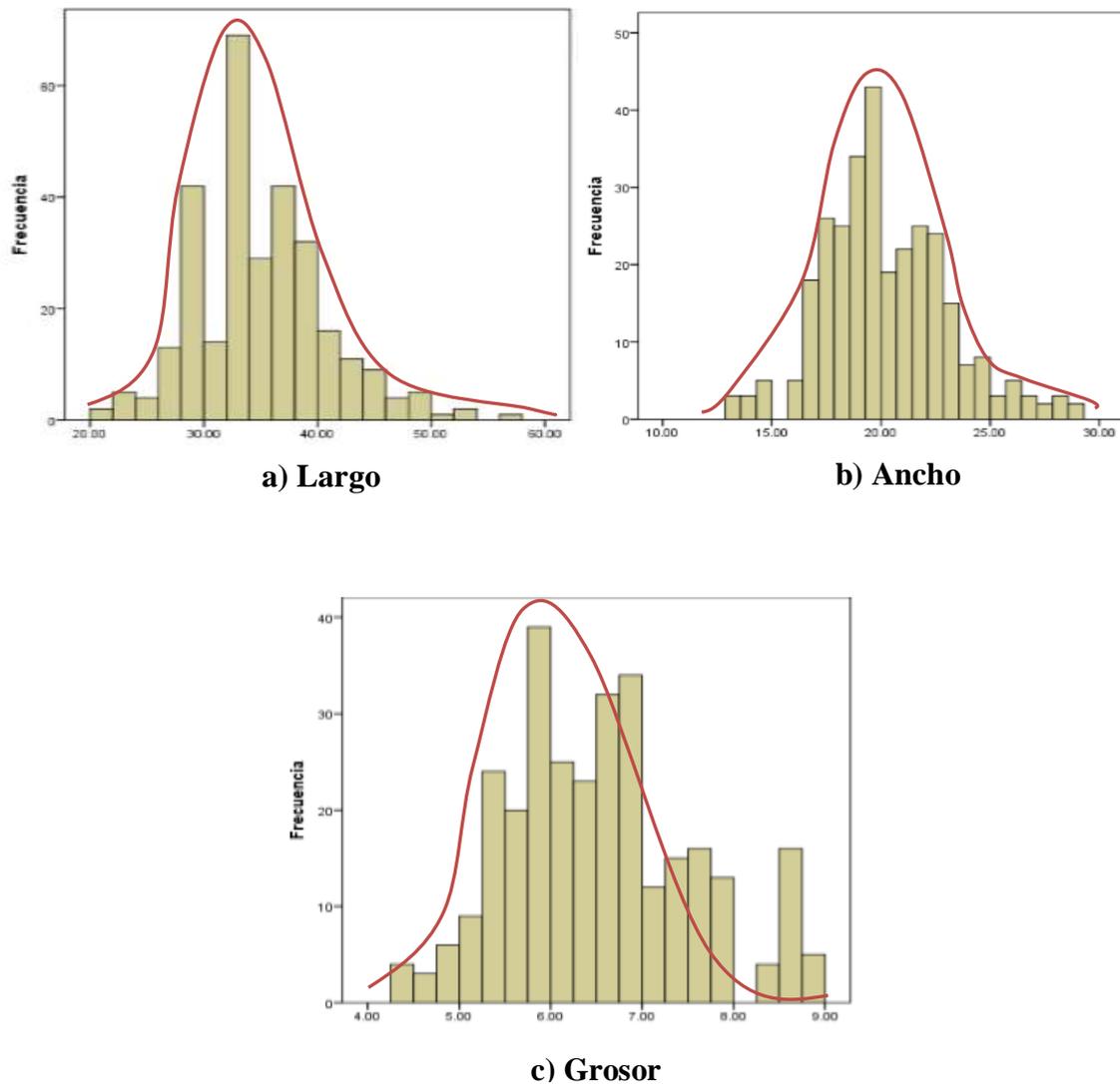


Figura 1. Distribución de las métricas relacionadas con la largo ancho y grosor de las semillas de *S. macrophylla*

Alvarenga & Flores (1988), determinó que las semillas *S. macrophylla* presentaron métricas en largo y ancho de aproximadamente de 20 mm y 9 mm respectivamente, en cambio para el grosor presento variables en sus diferentes zonas. Acosta et al., (2012), al estudiar semillas de *S. macrophylla* de diferentes localidades, estas presentaron variaciones altamente significativas en largo y ancho.



Figura 2. Medición de largo (l), ancho (a) y grosor (g) de las semillas de *S. macrophylla*

4.1.2 Patrones topológicos de viabilidad de las semillas y categorías de vigor

La interpretación de los patrones topológicos mediante la prueba de viabilidad de las semillas demostró que la disolución de tetrazolio al 1% fue suficiente para lograr la tinción en las estructuras esenciales del embrión, resultando un 84% de semillas con viabilidad. Existieron indicaciones que la sesión que produjo una mayor reacción en las semillas de la especie *S. macrophylla* la constituyó el eje embrional (meristemo apical caulinar, hipocótilo y meristemo sub-apical radical), con un patrón topológico de tinción rojiza total en todos los componentes estructurales de la semilla, expresión del buen estado físico de las semillas y de su calidad fisiológica (Figura 3).



Figura 3. Patrón de tinción de semillas de *S. macrophylla* sometidas a la prueba de tetrazolio

La evaluación de la calidad fisiológica de las semillas forestales ha sido un desafío para los estudiosos de esta área, debido a la influencia de los diversos factores que pueden afectar su calidad, en las diferentes fases de su producción. El test de tetrazolio, permitió brindar un

examen detallado de las estructuras esenciales de la semilla, lo cual ha contribuido para identificar factores responsables de la reducción de la calidad de las semillas. Estudios similares fueron reportados para la especie *Cedrela odorata* L., donde se determinó que la concentración de 1% de tetrazolio y tiempo de tinción de dos horas fueron suficientes para evaluar la calidad de las semillas (Espitia et al., 2017).

Las categorías de vigor evaluadas (alta, medio, baja y no vigorosas) resultaron con una fuerte variación entre las diferentes categorías resultando con mayor porcentaje la categoría de vigor alto y menor en la categoría no vigorosas. Esto demuestra la alta viabilidad de las semillas de *S. macrophylla* como indicador de la respuesta favorable al proceso de germinación (figura 4).

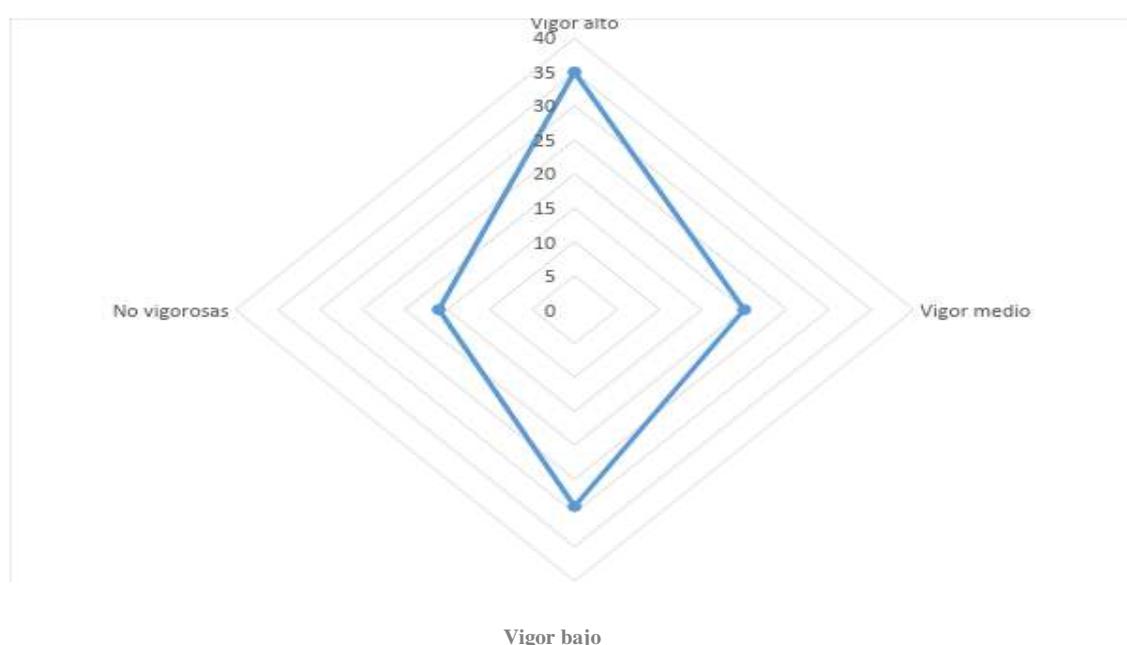


Figura 4. Representación de las categorías de vigor de las semillas sometidas a la prueba de viabilidad de tetrazolio

En estudios similares se obtuvieron patrones de tinción en semillas de otras especies arbóreas como: de *C. odorata* y *Cariniana pyriformis* Miers (Espitia et al., 2017). *Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sandwith (Abbade y Takaki, 2014), *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong (Nogueira et al., 2014) y *Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel (Hössel et al., 2013).

Las semillas que mostraron un aspecto completamente teñido de coloración rojizo (vigor alto) correspondieron al 36%, semillas con áreas menores de color rojizo sin tinción, con tejidos necróticos o flácidos de poca profundidad (vigor medio) con un 25%, con presencia

de mayores o múltiples áreas menores de color rojizo sin tinción con tejidos necróticos o flácidos de una extensión mayor (vigor bajo) con un 23% y semillas con radícula deteriorada sin coloración (blanco lechoso) por lo tanto, tejido muerto (no vigorosas) con un 16%.

4.1.3 Curvas de germinación acumulada

Las curvas de germinación acumulada no adoptaron al final del período de evaluación un patrón sigmoideal (Figura 5), lo que denota que aún las plantas se encuentran en período de crecimiento. Este comportamiento estuvo precedido de una fase constante comprendida entre la siembra y el inicio de germinación (0-10 días), y luego el inicio de la fase exponencial donde los porcentajes de germinación ocurrieron en forma acelerada hasta quedar finalmente en forma estacionaria. En ninguno de los tratamientos de estudio (T0, T1, T2 y T3) se definió la fase estacionaria a los 21 días del ensayo de germinación. Se comprobó que T3 con una dosis de *Trichoderma* superior al resto de los tratamientos 3×10^8 presentó, al final de período del ensayo, un mayor porcentaje de germinación acumulada.

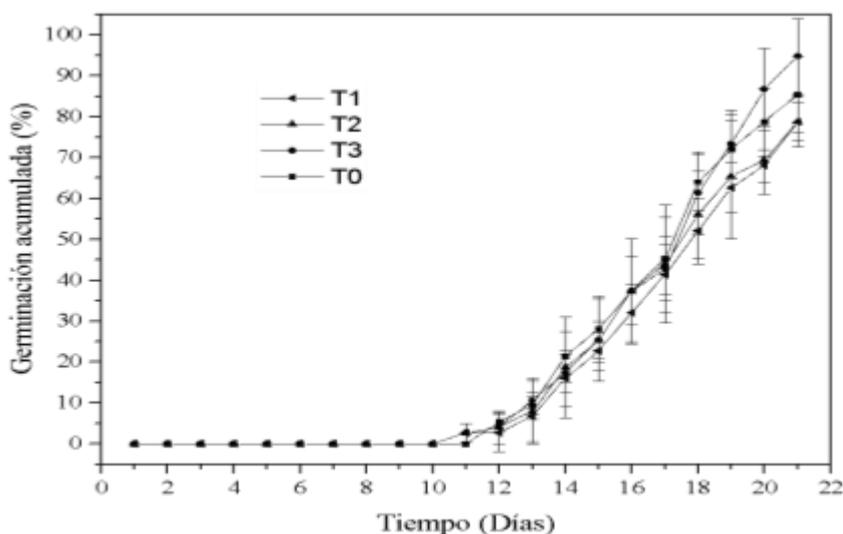


Figura 5. Curvas de germinación acumulada de *S. macrophylla* que describe el comportamiento de la germinación por tratamientos con diferentes dosis de *Trichoderma*

Los parámetros medios de germinación para cada tratamiento analizado mediante ANOVA y pruebas de comparación de rangos múltiples de Tukey (Tabla 4) reflejaron que la capacidad germinativa, velocidad de germinación y vigor germinativo fueron significativamente superiores en T3 ($p \leq 0,05$). Estos resultados demostraron el efecto de la dosis de *Trichoderma* en la germinación de las semillas, o sea que la aplicación del hongo

Trichoderma con dosis de 3×10^8 esporas estimuló el proceso de germinación. Resultados similares fueron obtenidos por Díaz y Ayala (2011), donde comprobaron los efectos en la germinación de semillas de *Talipariti elatum* (majagua) sometidas a remojo durante 48 horas y seguido de un tratamiento con *T. harzianum*, con valores significativamente mayores a diferencia de los otros tratamientos. Ramírez et al., (2015), determinaron que el porcentaje de germinación en las especies forestales *Lysiloma behanensis* L (soplillo), *Caesalpinia violacea* (Mill.) standl (yarúa) y *Albizia procera* (Roxb.) Benth (sirís blanco), al aplicar *T. harzianum* fue mayor que el testigo.

Tabla 4. Parámetros medios de la germinación de *S. macrophylla*

Parámetros de germinación	Tratamientos			
	T0	T1	T2	T3
Capacidad germinativa	85,33±2,40 ^b	78,67±2,35 ^b	78,67±2,35 ^b	94,67±3,45 ^a
Velocidad de germinación	5,31±0,62 ^a	4,59±2,35 ^a	4,87±0,62 ^a	5,43±0,77 ^a
Día de inicio de la germinación	14,58±1,02 ^a	15,0±1,03 ^a	14,17±1,01 ^a	14,59±1,79 ^a
Vigor germinativo	16,25±1,82 ^b	14,99±0,68 ^b	14,99±0,65 ^b	18,03±0,42 ^a

En una misma fila letras desiguales difieren significativamente mediante la prueba de Tukey con una $p \leq 0,05$.

4.2 Determinación de la respuesta de los parámetros morfológicos y fisiológicos de plántulas de *S. macrophylla*

Los resultados del análisis multivariado de la varianza representado mediante modelo lineal (Tabla 5), obtenidos a partir de los parámetros morfológicos relacionados con el crecimiento y desarrollo de las plántulas de *S. macrophylla*, cultivada en condiciones de vivero, indicaron que existen diferencias significativas entre las variables morfológicas para los cuatro

tratamientos. Esto demuestra el efecto de la aplicación de dosis de *Trichoderma* como microorganismo eficiente contribuye al crecimiento y desarrollo de las plantas. Los resultados del contraste multivariado determinados por la Traza de Pillai, Lambda de Wilks, Traza de Hotelling y Raíz mayor de Roy confirmaron que los tratamientos T0, T1, T2 y T3 mostraron diferencias en las medias ($p \leq 0,05$).

Tabla 5. Resultado del contraste multivariado de la varianza en relación a la morfometría de las plantas

Efecto		Valor	F	Gl de hipótesis	gl de error	Sig.
Interceptación	Traza de Pillai	0.997	1874.524 ^b	8.000	49.000	0.000
	Lambda de Wilks	0.003	1874.524 ^b	8.000	49.000	0.000
	Traza de Hotelling	306.04	1874.524 ^b	8.000	49.000	0.000
	Raíz mayor de Roy	306.04	1874.524 ^b	8.000	49.000	0.000
Tratamientos	Traza de Pillai	1.534	6.675	24.000	153.000	0.000
	Lambda de Wilks	0.075	8.547	24.000	142.716	0.000
	Traza de Hotelling	5.552	11.027	24.000	143.000	0.000
	Raíz mayor de Roy	4.422	28.190 ^c	8.000	51.000	0.000

a. Diseño : Interceptación + Tratamientos

b. Estadístico exacto

c. El estadístico es un límite superior en F que genera un límite inferior en el nivel de significación.

Los valores medios y desviación estándar de los parámetros morfológicos utilizados en el análisis multivariado de la varianza (MANOVA) (Tabla 6), indicó que las plantas cultivadas con mayor dosis de *Trichoderma* 3×10^8 UFC, presentaron mayor crecimiento en los valores promedios de altura, diámetro en el cuello de la raíz, número de hojas, volumen de raíz, biomasa aérea y radical. Los valores medios en todas las variables analizadas fueron significativamente inferiores al testigo.

Tabla 6. Valores medios y desviación estándar de los parámetros morfológicos utilizados en el análisis multivariado de la varianza (MANOVA)

T	H	DCR	No hojas	Largo de la raíz	No. raíces	Volume n de raíz	PSA	PSR
T0	11,57± 1,60 ^b	0,20±0, 03 ^c	4,40±0, 74 ^c	4,83±1, 06 ^c	7,40±1, 24 ^c	1,53±0, 26 ^c	0,38±0, 03 ^c	0,08±0, 01 ^c
T1	14,19± 1,31 ^a	0,28±0, 049 ^b	4,67±0, 62 ^c	7,57±2, 21 ^a	9,40±1, 81 ^b	2,07±0, 52 ^b	0,40±0, 05 ^c	0,11±0, 02 ^b
T2	14,81± 1,53 ^a	0,30±0, 040 ^b	5,07±1, 16 ^b	5,87±1, 17 ^{bc}	12,27± 2,43 ^a	2,47±0, 51 ^{ab}	0,45±0, 03 ^b	0,12±0, 01 ^b
T3	14,93± 1,43 ^a	0,35±0, 039 ^a	5,74±1, 10 ^a	6,63±1, 84 ^b	10,20± 1,74 ^b	2,60±0, 52 ^a	0,49±0, 02 ^a	0,13±0, 01 ^a

En una misma columna letras desiguales difieren significativamente mediante la prueba de Tukey con $p \leq 0,05$.

Santana - Díaz y Castellanos - Gonzalez (2018), menciona que el efecto del *Trichoderma* sobre *Cedrela odorata*, incrementó las variables altura, número de hojas y biomasa seca de la parte aérea de la planta. Ramírez et al., (2015), concluye que la aplicación de *Trichoderma* en el sustrato favorece el desarrollo y calidad de las plantas.

La altura de la planta en condiciones de vivero es un indicador del grado de desarrollo de la parte aérea, de ahí que la tendencia debe ser conseguir una planta en vivero cuya altura maximice la supervivencia, mostrando al tratamiento T3 medias superiores al resto de los tratamientos.

El diámetro del cuello de raíz (DCR) se considera un predictor de la supervivencia y desarrollo, ofrece una relación muy favorable entre el bajo costo de su medición y su capacidad de pronóstico de respuesta en campo. Este parámetro morfológico muestra una aproximación de la sección transversal de transporte de agua, de la resistencia mecánica y de la capacidad relativa para tolerar altas temperaturas en la superficie del suelo, por lo que las plantas cultivadas en T3 manifiestan mayor resistencia mecánica.

DCR, es uno de los atributos morfológicos más utilizados en la caracterización de la calidad y de pronóstico de supervivencia de la planta, por su bajo costo de su medición y capacidad predictiva de respuesta en el campo (Barnett, 1984). Esto se fundamenta en la relación que

existe, entre el diámetro del cuello de raíz y el grado de lignificación del tallo, y por otro lado con el desarrollo radical, el cual a su vez se correlaciona con otros parámetros como la masa total de la planta o la masa radical (Mexal y Landis, 1990; Peñuelas y Ocaña, 1991; Serrada, 1995).

El peso seco es una medida mucho más estable que el peso fresco, este último está sujeto a cambio debido a las fluctuaciones ambientales y fisiológicas (Thompson, 1985).

Las propiedades de los atributos de la raíz, dada su estrecha relación con la capacidad absorbente de la planta, son más adecuados para pronosticar la supervivencia en plantación que los atributos de la parte aérea, de modo que la obtención en vivero de sistemas radicales más y mejores desarrollados puede constituir una garantía de la actividad de la planta, especialmente en zonas de plantación con condiciones adversas (Oliet, 2000). Esto refleja que las plantas cultivadas con los tratamientos T1, T2 y T3 reflejaron mayor cantidad de raíces en relación al testigo y por consiguiente mayor capacidad de absorción de agua y nutrientes. Romero et al., (2008) observaron que la inoculación de *Trichoderma* en el sustrato tuvo efecto promotor en el crecimiento y desarrollo.

Las variables morfológicas relacionadas con el crecimiento y desarrollo de las plantas mostraron una correlación significativa ($p \leq 0,05$), expresada a través de la matriz de correlación de Pearson (Tabla 7). Las variables asociadas a la biomasa aérea reflejaron una relación fuerte con la biomasa radical, como indicador del equilibrio estructural de las diferentes partes de la planta, esto refleja que a mayor altura de la planta, mayor DCR, mayor número de hojas, peso y mejor sistema radical.

Tabla 7. Matriz de correlación de Pearson entre variables morfológicas del crecimiento y desarrollo de las plantas

	H	DCR	NH	LR	NR	VR	PSA	PSR
H	1	0,661**	0,433**	0,266*	0,434**	0,436**	0,598**	0,639**
DCR		1	0,342**	0,220	0,366**	0,462**	0,667**	0,718**
NH			1	-0,052	0,482**	0,221	0,378**	0,366**
LR				1	-0,036	0,251	0,096	0,223
NR					1	0,643**	0,355**	0,541**
VR						1	0,504**	0,639**

PSA	1	0,778**
PSR		1

** La correlación es significativa en el nivel 0,01

* La correlación es significativa en el nivel 0,05

Los índices y relaciones morfológicas reflejaron diferencias significativas con relación al testigo ($p \leq 0,05$), con excepción del índice de fibrosidad (Tabla 8). El índice PSA/PSR reflejó valores más elevados en T0, esto quiere decir que las plantas de este tratamiento presentan menor capacidad de sobrevivencia, obteniendo valores más bajos en los tratamientos sometidos a diferentes dosis de *Trichoderma*, como expresión de una mejor supervivencia en campo, lo cual se debe al reducirse la superficie transpirante respecto a la absorbente.

Tabla 8. ANOVA de un factor para los índices y relaciones morfológicas de las plantas cultivadas en vivero

Índices	Tratamientos			
	T0	T1	T2	T3
H/PSA	30,43±1,03 ^{bc}	35,25±0,09 ^a	33,37±1,06 ^{ab}	30,63±1,33 ^b
PSA/PSR	4,54±0,06 ^a	3,69±0,60 ^b	3,76±0,05 ^b	3,74±0,05 ^b
E	57,94±0,02 ^a	52,87±0,05 ^b	50,83±0,03 ^b	43,52±0,07 ^c
Qi	0,007±0,01 ^d	0,009±0,02 ^c	0,011±0,02 ^b	0,031±0,01 ^a
IF	17,73±1,02 ^a	18,88±1,11 ^a	20,83±1,17 ^a	19,93±1,22 ^a

En una misma columna letras desiguales difieren significativamente mediante la prueba de Tukey con $p \leq 0,05$.

La esbeltez resultó con valores más bajos en los tratamientos donde se inoculó el hongo de *Trichoderma* a diferentes dosis, esta disminución del valor significa mayor resistencia mecánica de la planta frente al efecto de los viento o la sequía.

El índice de calidad de Dickson resultó con medias superiores en T3, lo cual expresa la potencialidad de la planta en relación con la sobrevivencia y el crecimiento.

La relación A/PSA es referido como una medida del grado de lignificación de la planta (Gomes et al., 2002), sin embargo puede ser interpretado también como un estimador de la asimilación neta fotosintética de la planta y por tanto indicaría una mayor expectativa de supervivencia; es decir los valores menores serían recomendados. En este sentido, los

tratamientos utilizados fueron pocos diferenciados. Dicha relación si bien no es usada comúnmente para expresar la calidad pudiera representar una posibilidad para evaluar el grado de lignificación y la tasa de asimilación neta (Gomes et al., 2002; Zumkeller et al., 2009).

El índice de calidad de Dickson que resulta de integrar los valores de la biomasa total, índice de esbeltez y de la relación parte aérea/raíz, muestra que los mayores valores se obtuvo con la dosis 3×10^8 UFC de *Trichoderma*, mientras que los más bajos fueron con dosis de 0.75×10^8 UFC. Este índice al combinar la información de dos índices y ajustarlo por efecto de tamaño de la planta muestra que un aumento en el índice representa plantas de mejor calidad, lo cual implica que, por una parte, el desarrollo de la planta es grande y que al mismo tiempo las fracciones aérea y radical está equilibrada (Oliet, 2000).

La relación entre materia seca de la parte aérea y la materia seca de la raíz es considerada como un elemento eficiente y seguro para expresar las propiedades de la evaluación en un sistema de producción en tubetes o contenedores, que generalmente para climas secos o tropicales se prefiere valores cercanos a 2.0 que serían la mejor relación entre estos atributos (Navarro et al., 2006).

La esbeltez, permite estimar la resistencia física de las plantas durante las operaciones de plantación y su resistencia al efecto mecánico del viento, según indican Aranda et al., (2005). El consumo de nutrientes por parte de las plantas depende de la habilidad de las raíces para absorberlos, de la capacidad del sustrato para suministrarlo y de la accesibilidad de los mismos, lo que está determinado por el tamaño y la configuración del sistema radical (Ramírez y Rodríguez, 2004). Ramírez et al., (2015), para el índice de calidad de Dickson obtuvieron valores más altos en los tratamientos en los cuales no se aplicó *Trichoderma*, para la especie forestal *C. violácea* (yarua), en cambio para la relación PSA/PSR obtuvieron resultados favorables para la especie *L. behanensis* (soplillo), destacando la aplicación de *Trichoderma* como mejor tratamiento. Para la determinación de la esbeltez obtuvieron resultados más bajos con la aplicación de *Trichoderma*.

4.3 Dendrograma jerárquico con las variables de germinación, índices y relaciones morfológicas

El análisis del dendrograma jerárquico, a partir de las medidas de distancia de aglomeración reescalada, con un criterio de corte de cinco unidades a través de la combinación de las variables morfológicas asociadas a la germinación, crecimiento y desarrollo de las plantas

resultó con tres grupos (Figura 6). El primer grupo estuvo conformado por T1 y T0, correspondiendo al testigo y tratamiento con menores dosis de *Trichoderma*, el segundo compuesto por T2 y tercero por T3, encontrándose en los dos últimos grupos los tratamientos que presentaron mayor dosis del hongo *Trichoderma*. Estos resultados demostraron la respuesta favorable de mayores dosis de *Trichoderma* como mecanismo bioestimulante que promueve la germinación, crecimiento y desarrollo de las variables analizadas en este estudio.

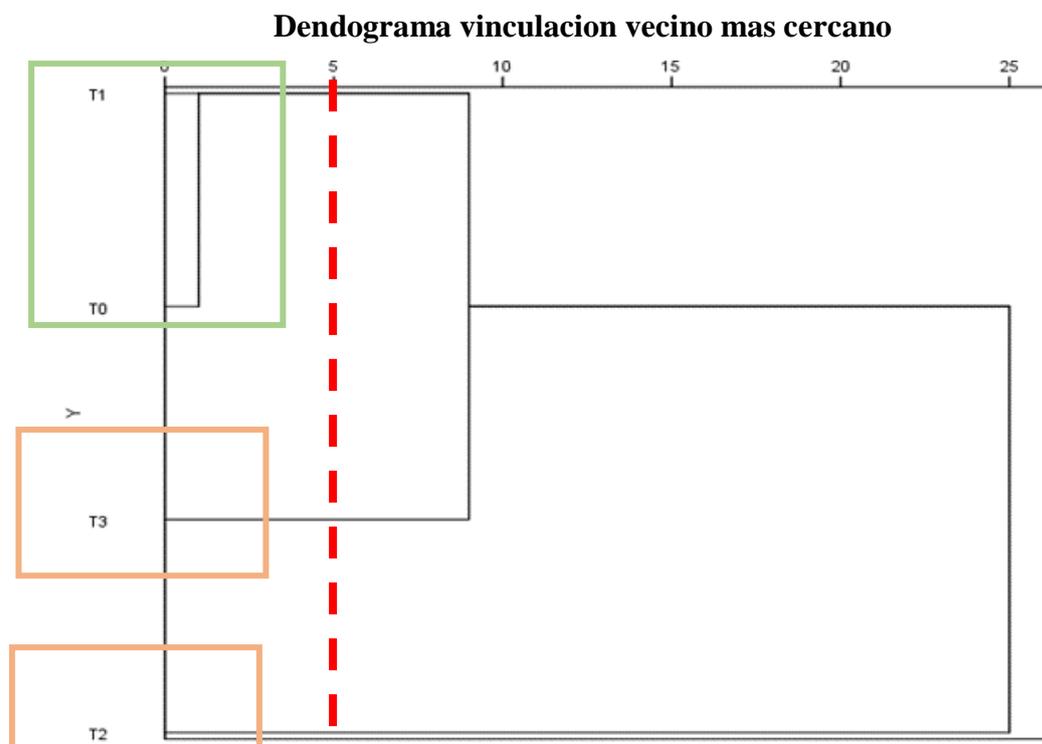


Figura 6. Dendrograma jerárquico de las variables de germinación, crecimiento y desarrollo de las plantas de *S. macrohylla* en función de los tratamientos

4.4 Curvas presión volumen

Los parámetros hídricos (Tabla 9), derivados de las curvas presión-volumen (Figura 7) indicaron diferencias significativas entre el testigo (T0) y T3, excepto para Ψ_w^0 , lo que evidenció el efecto de la inoculación *Trichoderma* en concentración de $3 \cdot 10^8$ UFC, en la capacidad de absorción de agua de las plántulas y el reflejo en las relaciones hídricas de las mismas. La respuesta hídrica de estas debe ser considerada y manejada para lograr su calidad fisiológica, sobre todo si su destino final será sitios de escasas precipitaciones.

Tabla 9. Valores medios y desviación estándar de los parámetros hídricos

Tratamiento	CHR ⁰ (%)	Ψ _w ¹⁰⁰ (MPa)	Ψ _w ⁰ (MPa)	ε(MPa)
T0	91,21±1,09 ^a	-3,12±0,09 ^a	-3,41±0,10 ^a	30,90±1,05 ^a
T1	94,41±1,01 ^b	-2,91±0,20 ^c	-3,16±0,11 ^b	53,43±1,01 ^b
T2	96,07±0,97 ^{bc}	-2,87±0,04 ^{ab}	-3,11±0,05 ^b	82,97±1,28 ^c
T3	96,89±0,90 ^c	-2,27±0,20 ^b	-3,05±0,10 ^c	92,73±1,66 ^d

En una misma columna letras desiguales difieren significativamente mediante la prueba de Tukey con $p \leq 0,05$

Al tratarse de plantas muy jóvenes, a partir de este período se pueden regular las condiciones de riego para obtener plantas más resistentes a las limitaciones de agua, lo que garantice mayor arraigo postrasplante. De acuerdo a los valores de los parámetros hídricos son plantas que, con la pérdida de pequeños volúmenes de agua, entre 9-3% aproximadamente (Ver CHR0 en tabla 9; T0-T3) llegan al punto de pérdida de la turgencia. Los potenciales osmóticos a máxima saturación y a saturación cero también difieren entre tratamientos. Potenciales más bajos son el reflejo de la menor entrada de agua por el sistema radical, lo que es expresado a través de la respuesta de la planta. Aquellas con mayor disponibilidad hídrica tendrá valores más altos tal y como se reflejó en el tratamiento T3. En relación al módulo de elasticidad de las paredes celulares, se trata de paredes celulares rígidas; en el testigo (T0) se evidenció paredes menos rígidas. Estos resultados obedecen a que se trata de plantas aún muy jóvenes (Azcón-Bieto y Talón, 2008). Otros investigadores han reportado valores diferentes cuando plántulas de *Talipariti elatum* (Sw) Frixell se han producidos en diferentes sustratos orgánicos con capacidades de retención de humedad diferentes, que aunque se trata de una especie diferente si se comprobó que el comportamiento de los parámetros hídricos está condicionado por la disponibilidad de agua (Arteaga-Crespo et al., 2018).

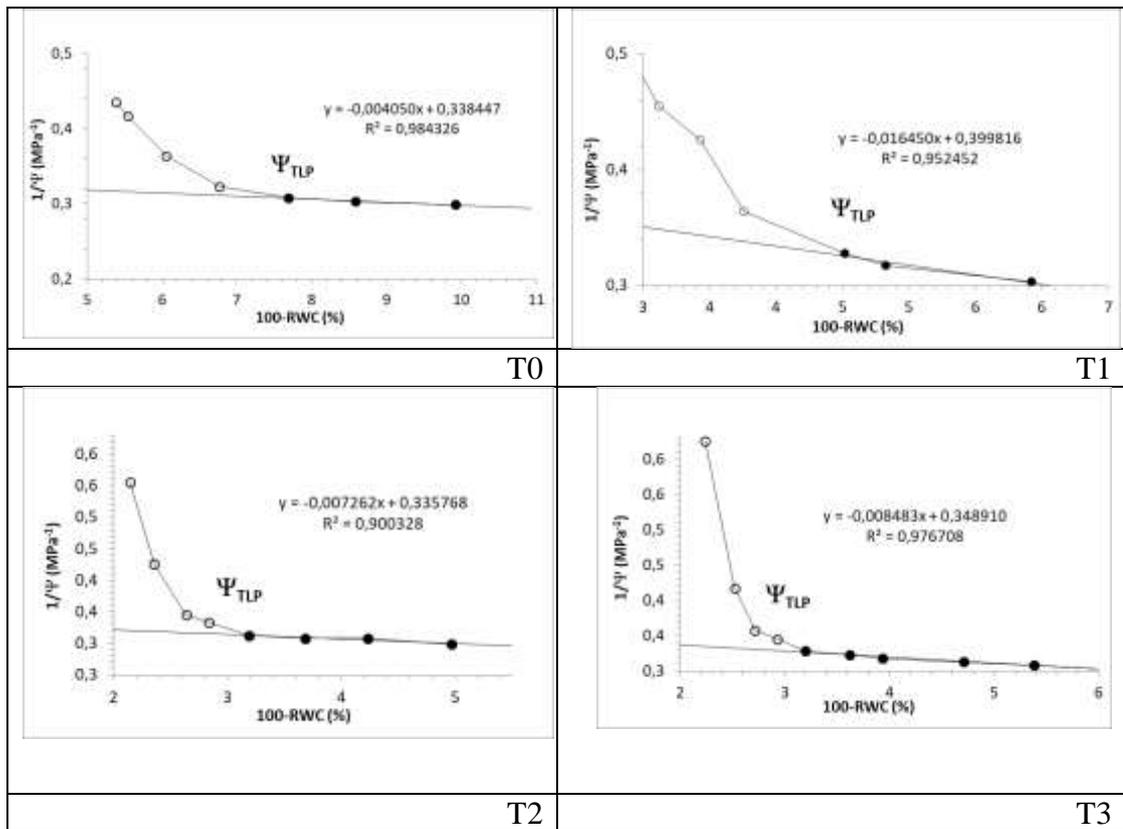


Figura 7. Curvas de presión –volumen de los parámetros hídricos de *S. macropylla*

En la tabla 10 se puede observar una alta correlación de los parámetros hídricos con los atributos de la raíz.

Tabla 10. Matriz de correlación de Pearson entre las variables hídricas y atributos del sistema radical de *S. macropylla*

	Ψ_w^{100}	Ψ_w^0	CHR ⁰	ϵ	L.Raíz	NR	VR
Ψ_w^{100}	1	0,764**	0,744**	0,568*	-0,454	0,029	-0,096
Ψ_w^0		1	0,250	0,074	-0,301	0,540	0,179
CHR ⁰			1	0,908**	-0,356	-0,388	-0,163
ϵ				1	-0,253	-0,439	-0,579
L.Raíz					1	-0,036	0,251
NR						1	0,643**
VR							1

** La correlación es significativa en el nivel 0,01

* La correlación es significativa en el nivel 0,05

CONCLUSIONES

- La morfología de las semillas de *S. macropylla* manifestó un patrón con altos niveles de variación en la forma y tamaño de las semillas, resultando el volumen de semillas con mayor variabilidad, lo cual pudiera estar asociado al peso y estructura de las semillas.
- La prueba de viabilidad de las semillas permitió comprobar la tinción en las estructuras esenciales del embrión, resultando un 84% de semillas con viabilidad y con mayor porcentaje en la categoría de vigor alto.
- La dosis de $3 \cdot 10^8$ UFC, de *Trichoderma* estimuló la germinación de las semillas, expresado en los parámetros capacidad germinativa, velocidad de germinación y vigor germinativo con valores significativamente superiores.
- Los resultados del contraste multivariado de la varianza (MANOVA) reflejaron el efecto positivo de la aplicación de dosis de *Trichoderma* en las variables de crecimiento y desarrollo, resultando las plantas cultivadas en el tratamineto T3 con mayor crecimiento en altura, diámetro en el cuello de la raíz, número de hojas, volumen de raíz, biomasa aérea y radical.
- Los parámetros hídricos, derivados de las curvas presión-volumen, mostraron diferencias significativas entre el tratamiento T0 y el tratamiento T3, excepto para ψ_w^0 , lo que evidenció el efecto de la inoculación de dosis de *Trichoderma* en la capacidad de absorción de agua de las plántulas.

RECOMENDACIONES

- Continuar con el proceso de monitoreo de datos de crecimiento y desarrollo en los diferentes tratamientos hasta la fase donde se demuestre que las plantas son aptas para las condiciones de plantación.
- Presentar estos resultados a los actores sociales y gubernamentales responsables de la actividad forestal para facilitar la implementación de dosis de *Thichoderma* en los viveros forestales, como experiencia pionera en condiciones amazónicas para el sector forestal.
- Fortalecer los estudios de calidad de las plantas forestales con tecnología de tubetes o contenedores forestales, de manera tal que propicie una ficha tecnológica para garantizar plantas de mayor calidad, como satisfacción de los programas de reforestación y restauración de ecosistemas degradados donde se inserte este importante recurso forestal.

BIBLIOGRAFIA

Abbade, L.C., e M. Takaki. 2014. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de

sementes de *Tabebuia roseo-alba* (Ridl.) Sandwith - Bignoniaceae, submetidas ao armazenamento. Rev. Árvore 38:233-240.

Acosta Galván, Ricardo, Mendizábal-Hernández, Lilia del Carmen, Alba-Landa, Juan, Alderete Chávez, Ángel, de la Cruz Landero, Nancy, VARIACIÓN DE SEMILLAS Y GERMINACIÓN DE *Swietenia macrophylla* King DE TRES PROCEDENCIAS DEL ESTADO DE TABASCO, MÉXICO. Foresta Veracruzana [en línea] 2012, 14 (Marzo-Agosto)

Al-Naemi FA et al . Efectos antagonistas de los aislamientos de *Trichoderma harzianum* contra *Ceratocystis radicola* : pionero en una estrategia de control biológico contra la enfermedad por quemadura negra en palmeras datileras. J Phytopathol. 2016; 164: 464-75.

Alvarenga. S., & E. M. Flores. (1988). Morfología y germinación de la semilla de caoba, *Swietenia macrophylla* King (Meliaceae). Revista de Biología Tropical 36: 261-267.

Aranda, L.; Castro, M.; Pardos, L.; Gil y J.A. Pardos. (2005). Effects of the interaction between drought and shade on water relations, gas exchange and morphological traits in cork oak (*Quercus suber* L.).

Aguirre, Z. (2014). Especies forestales del Ecuador. Revista Técnica de Proforestal. 56-72.

Agrios, G. N. (2004). Fungi. Gainesville, USA: Limusa. 821 p.

Arteaga, Y., Geada G., García, Y., Guerrero, J., & Vargas, J. (2018). Elastic and osmotic adjustment of *Talipariti elatum* (Sw) Frixell grown in organic substrates. Floresta e Ambiente, 25(4)

Azcón, J., & Talón, M. (2008). Fundamentos de fisiología vegetal. McGrawHill. 651 pp.

- Bae, Y. S., & Knudsen, G. R. (2000). Cotransformation of *Trichoderma harzianum* with β -glucuronidase and green fluorescent protein genes provides a useful tool for monitoring fungal growth and activity in natural soils. Obtenido de *Applied and Environmental Microbiology* 66 (2), 810-815.
- Barnett, J.P (1984). Relating seedling physiology to survival and growth in container-grown southern pines. En: Duryea, M. L., Brown, G.N. (Eds.): *Seedling physiology and reforestation success*. Nijhoff/Junk Pub. 157-178 p.
- Błaszczak, L., Popiel, D., Chełkowski, J., Koczyk, G., Samuels, G., Sobieralski, K., (2011). Species diversity of *Trichoderma* in Poland. Obtenido de *Journal of Applied Genetics* 52 (2),233-243:
- Brown, N., Jennings, S. & Clements, T. (2003) The ecology, silviculture and biogeography of mahogany (*Swietenia macrophylla*): a critical review of the evidence. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 6, 37–49.
- Buitrón, X.; Mulliken, T. (2001): El apéndice III de CITES y el comercio de la caoba (*Swietenia macrophylla*). TRAFFIC International. Quito, Ecuador
- Castillo Samudio, R. R. (2007). Efecto de la aplicación de (*Trichoderma harzianum*) en la producción de maíz dulce (*Zea mays*) variedad golden baby. Obtenido de Biblioteca Wilson Popenoe, Zamorano.
- Cordero, J. (2003). Árboles de Centroamérica: un manual para extensionistas. Disponible en:
http://herbaria.plants.ox.ac.uk/adc/downloads/capitulos_especies_y_anexos/swietenia_macrophylla.pdf.
- Contreras, H. A., Macías, L., Beltrán, E., Herrera, A., & López, J. (2011). *Trichoderma*-induced plant immunity likely involves both hormonal- and

camalexin-dependent mechanisms in *Arabidopsis thaliana* and confers resistance against necrotrophic fungi *Botrytis cinerea*. *Plant Signaling & Behavior*, 6(10), 1554-1563. doi:10.4161/psb.6.10.17443

De la Cruz Landero, N., & Alderete Chávez, Á. (2005). Variación en semillas de *Swietenia macrophylla* King. procedentes de los estados de Campeche y Tabasco, México. *Foresta Veracruzana*, 7 (1), 11-14.

Díaz, M.C., & Ayala, J.L. (2011). Influencia de *Trichoderma harzianum* a-34 en la germinación de las semillas de majagua (*Talipariti elatum* (Sw.) Fryxell). *Fitosanidad*, 15(3), 159-161.

Dickson, A., A., Leaf, L. And Hosner, J. F. (1960). Quality appraisal of White spruce and white pine seedling stock in nurseries. *For. Chron.* 36(1): 10-13.

Druzhinina, IS, Seidl-Seiboth, V., Herrera-Estrella, A., Horwitz, BA, Kenerley, CM, Monte, E., et al . (2011). *Trichoderma*: la genómica del éxito oportunista. *Nat. Rev. Microbiol.* 9, 749-759. doi: 10.1038 / nrmicro2637

Espitia-Camacho, M., & Araméndiz-Tatis, H., & Cardona-Ayala, C. (2017). Características morfométricas, anatómicas y viabilidad de semillas de *Cedrela odorata* L. y *Cariniana pyriformis* Miers. *Agronomía Mesoamericana*, 28 (3), 605-617. <http://dx.doi.org/http://dx.doi.org/10.15517/ma.v28i3.26287>.

Flora y Fauna Internacional. (2006). Estado y aprovechamiento sostenible de la caoba en Centroamérica. Reino Unido, ISBN 1903703 21 2.

Gallo, C; Franca – Neto, J.B; Arango, M; Gonzalez, S. ; Francomano, V.; Carracedo, C. ; Costa, O. ; Alvez, R.; Magnano, L.; Craviotto, R. (2016). Prueba de tetrazoli como método de vigor para semillas de *Glycine max*. Propuesta de validación del método para ISTA.

- Gomes, J.M., Couto L., Leite, H.G., Xavier, A. y Garcia, S.LR (2002). Parametros morfológicos na avaliacao de qualidade de Mudas *Eucalyptus grandis*. Rev. Arvore. 26(6):655-664.
- Gullison, R.E., Panfil, S.N., Strouse, J.J. & Hubbell, S.P. (1996) Ecology and management of mahogany (*Swietenia macrophylla* King) in the Chimanes forest, Beni, Bolivia. Botanical Journal of the Linnean Society, 122, 9–34.
- Günter, S. (2001) Impacto de los factores ecológicos en la regeneración de la mara (*Swietenia macrophylla* King) en bosques naturales de Bolivia. Regeneración y Silvicultura de Bosques Tropicales de Bolivia (eds B. Mostacedo & T.S. Fredericksen), pp. 99–188. Proyecto BOLFOR, Santa Cruz, Bolivia.
- Grogan, J., Ashton, M.S. & Galvão, J. (2003). Bigleaf mahogany (*Swietenia macrophylla*) seedling survival and growth across a topographic gradient in southeast Para', Brazil. Forest Ecology and Management, 186, 311–326
- Grogan, J., Barreto, P. & Verissimo, A. (2002) Mahogany in the Brazilian Amazon: Ecology and Perspectives on Management. Imazon, Belem, Brazil.
- Gronzona, I., Hermosa, R., Tejada, M., Gomis, M. D., Mateos, P. F., Bridge, P. D., y otros. (29 de Mayo de 1997). Physiological and biochemical characterization of *Trichoderma harzianum*, a biological control agent against soilborne fungal plant. Applied and Environmental Microbiology 63 (8) : 3189–3198.
- Harman, G.E., R. Petzoldt, A. Comis, J. Chen. (2004). Interactions between *Trichoderma harzianum* strain t22 and maize inbred linemo17 and effects of these interactions on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. J. Phytopathol., 94(2): 147-153.
- Harman, G., Howell, C., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species

- opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology* 2 : 43-56:

Harman, G. (2006). Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *APS Journals* 96 (2): 190-194.

Hermosa, R., Viterbo, A., Chet, I. y Monte, E. (2012). Efectos beneficiosos para las plantas de *Trichoderma* y de sus genes. *Microbiología* 158, 17–25. doi: 10.1099 / mic.0.052274-0

Hössel, C.J., J.S.A. Alves-de-Oliveira, K.C. Fabiane, A. Wagner-Júnior, e I. Citadin. 2013. Conservação e teste de tetrazólio em sementes de jabuticabeira. *Rev. Bras. Frutic.* 35:255-261. doi:10.1590/S0100-29452013000100029

Howard, F. W., M. A. Mérida. (2004). El taladrador de las meliáceas, *Hypsipyla grandella* (Zeller) (Insecta: Lepidoptera: Pyralidae: Phycitinae). EDIS/IFAS, University of Florida. Document EENY-337.

Howell, C. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *APS Journals* 87(1):4-10

Javaid A., Afzal L., Shoaib A. Control biológico de la pudrición carbonosa del frijol mungo por *Trichoderma harzianum* y la biomasa seca de *Sisymbrium irio* . *Planta Daninha*. 2017; 35: e017165756

King, George. (1886). *Hooker's Icones Plantarum* 16: t. 1550. Longman, Rees, Orme, Brown, Green & Longman. Vol. 16. London, UK.

Kubiske ME, Abrams MD (1991). Seasonal, diurnal and rehydration- induced variation of curves pressure-volume relation in *Pseudotsuga menziesii*. *Physiologia Plantarum*; 83(1):107-116. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1991>.

tb01288.x.

López-Bucio, J., Pelagio-Flores, R., & Herrera-Estrella, A. (2015). *Trichoderma* as biostimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. *Scientia Horticulturae*, 196, 109-123

López, R., & Cardenas, D. (2002). *Manual De Identificación de Especies Maderables Objeto de Comercio en la Amazonia Colombiana.*

Mastouri F, Bjoerkman T, Harman GE. (2010). Seed Treatment with *Trichoderma harzianum* Alleviates Biotic, Abiotic, and Physiological Stresses in Germinating Seeds and Seedlings. *Phytopathology* 100(11):1213-1221

Marín-Guirao, J. I., Rodríguez-Romera, P., Lupión-Rodríguez, B., Camacho-Ferre, F., & Tello-Marquina, J. C. (2016). Effect of *Trichoderma* on horticultural seedlings' growth promotion depending on inoculum and substrate type. *Journal of Applied Microbiology*, 121(4), 1095-1102. doi:10.1111/jam.13245

Mayhew, J. E.J. E. Andand Newton A. C.A. C. (1998). *The Silviculture of Mahogany.* CABI Publishing, Oxford.

Mayhew, J.E. and Newton, A.C. (1998). *The silviculture of S. macrophylla.* CABI Publishing, New York.

Mexal, J. G. and Landis T. D. 1990. Target seedling concepts: height and diameter. In: Target seedlings symposium. General Technical Report USDA Forests 13:105-119.

Ministerio del Ambiente. (2017). Hito Ministerial Veda de la especie *Swietenia macrophylla* (Caoba/Ahuano).

- Mohammed, E., Pérez Sánchez, C., Ahmed, S. A., Requena, M. E., & Candela, M. E. (2004). *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annum* L.). Obtenido de Universidad de Murcia 26: 35-45:
- Mostacedo, B. & Fredericksen, T.S. (1999). Regeneration status of important tropical forest tree species in Bolivia: assessment and recommendations. *Forest Ecology and Management*, 124, 263–273.
- Mohsenin, NN. (1986) *Propiedades físicas de materiales de plantas y animales* ; Gordon and Breach Science Public: New York, Gordon y Breach Science Public: Nueva York, NY Nueva York , USA, 1986; , USA, 1986; pp. 1–891. pp. 1–891. ISBN 9780677213705. ISBN 9780677213705.
- Mukherjee, PK, Horwitz, BA, Herrera-Estrella, A., Schmoll, M., y Kenerley, CM (2013). La investigación del trichoderma en la era genómica. *Annu. Rev. Phytopathol.* 51, 105-129. doi: 10.1146 / annurev-phyto-082712-102353
- Nagaraju A, Sudisha J, Murthy SM, Ito SI. (2012). Seed priming with *Trichoderma harzianum* isolates enhances plant growth and induces resistance against *Plasmopara halstedii*, an incitant of sunflower downy mildew disease. *Australas Plant Pathol.* 41:609-620.
- Navarro, M.R, Salvador, S.P. y Del Campo , A. 2006. Morfología y establecimiento de los plantones. In book: *Calidad de planta forestal para la restauración en ambientes mediterráneos. Estado actual de conocimientos.*, Chapter: Morfología y establecimiento de plantones, Publisher: DGB. Ministerio de Medio Ambiente. ISBN: 10:84-8014-670-2. pp. 67-88.
- Negreros, P., Camara, L., Devall, M., Fajvan, M., Mendoza, M., Mize, C., & Navarro, A. (2014). *Silvicultura de las selvas de caoba en Quintana Roo, Mexico.* Conafor,

- Newton, AC, Cornelius, JP , Baker, P. , Gillies, ACM , Hernández, M. ,Ramnarine, R. -- (1996). Caoba como recurso genético. *Bot J Linn Soc* , 122 : 61-73.
- Nogueira, N.W., S.T. Barros, e R.M. Oliveira. 2014. Tetrazolium test in timbaúba seeds. *Semin: Ciênc. Agrár.* 35:2967-2976.
- Novick, R. R., C.W. Dick, M.R. Lemes, C. Navarro, A. Caccone y E. Bermingham (2003). Genetic structure of Mesoamerican populations of big-leaf mahogany (*Swietenia macrophylla*) inferred from microsatellite analysis. *Molecular Ecology* 12: 2885-2893.
- Oliet, J. A. (2000). La calidad de la planta forestal en vivero. Ed. ETSIAM. Córdoba. España. 93 p.
- Pennington, TD; Styles, BT; Tayler, DAH. (1981). *Meliaceae: Flora Neotropica*. The New York Botanical Garden. 472 p. (Monograph 28)
- Pennington, T. D. y J. Saraukán. (2005). Árboles tropicales de México. Manual de identificación de las principales especies. 3ª edición. Fondo de Cultura Económica. México, D. F. México. 523 p.
- Peñuelas, J. y Ocaña, L. (1991). La calidad de la planta forestal. Jornada sobre la situación y técnicas modernas para la producción de posturas. Madrid 50 p.
- Prado, L., C. Samaniego, J. Ugarte-Guerra. (2012). Estudio de las cadenas de abastecimiento de germoplasma forestal en Ecuador. ICRAF working paper No 115. World Agroforestry Centre (ICRAF), Lima, Peru.
- Quinto, L., P. Martínez-Hernández, L. PimentelBribiesca, D. Rodríguez-Trejo. (2009). Alternativas para mejorar la germinación de semillas de tres árboles tropicales.

Revista. Chapingo 15(1): 23-28.

Reynel, C, Pennington R, Pennington T, Flores C, Daza A. (2003). Árboles útiles de la Amazonía Peruana. Manual con apuntes de identificación, ecología y propagación de las especies. Perú.

Ramírez, M., Mesa. J.R., & Soto R. (2015). Alternativas agroecológicas en la producción de posturas de tres especies forestales en el municipio de Aguada de Pasajeros. Agroecosistemas, 3(1), 387-400.

Ramírez, A. y Rodríguez T., D. A. (2004). Efecto de calidad de planta, exposición y micrositio en una plantación de *Quercus rugosa*. Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente. 10: (1), 13-23.

Rao, N.K., J. Hanson, M.E. Dulloo, K. Ghosh, D. Novell, y M. Larinde. (2007). Manual para el manejo de semillas en bancos de germoplasma. No. 8. Bioersivity International, Roma, ITA.

Rodríguez, J., y V. Nieto. (1999). Investigación en semillas forestales nativas. CONIF, Bogotá, COL.

Rubio, MB, Hermosa, R., Vicente, R., Gómez-Acosta, FA, Morcuende, R., Monte, E., et al . (2017). La combinación de *Trichoderma harzianum* y la fertilización química conduce a la desregulación de las redes de fitohormonas, lo que evita las respuestas adaptativas de las plantas de tomate al estrés salino. Frente. Planta sci. 8: 294. doi: 10.3389 / fpls.2017.00294

Santana-Díaz, T., & Castellanos-González, L. (2018). Efecto bioestimulante de *Trichoderma harzianum* Rifai en posturas de *Leucaena*, Cedro y Samán. Colombia Forestal, 21(1), 81-90.g

Schmidt, L. and Jøker, D. (2000) *Swietenia macrophylla* King. Seed Leaflet No. 30, September 2000. Danida Forest Seed Centre, Denmark.

- Schuster, A., & Schmoll, M. (2010). Biology and biotechnology of *Trichoderma*.
Obtenido de *Applied Microbiology and Biotechnology* 87 (3) :787–799:
- Serrada, R. (1995). *Apuntes de Repoblados Forestales*. Escuela Universitaria de Ingeniería técnica Forestal. Editorial Conde Valle Salazar. España. 379 p.
- Shoresh, M., Harman, GE y Mastouri, F. (2010). Resistencia sistémica inducida y respuestas de la planta a agentes de control biológico de hongos. *Annu. Rev. Phytopathol.* 48, 21–43. doi: 10.1146 / annurev-phyto-073009-114450
- Snook, L.K. (1996). Catastrophic disturbance, logging and the ecology of mahogany (*Swietenia macrophylla* King): grounds for listing a major tropical timber species in CITES. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 122, 35–46.
- Stefanova, Marusia. (2007). Introducción y eficacia del biocontrol de fitopatógenos *Trichoderma* spp. en Cuba, *Fitosanidad* 11 (3): 7580, La Habana.
- Thompson, B. E. (1985). Seedling morphological evaluation: what you can tell by looking. In: M. L. Duryea (ed.). *Evaluating seedling quality; principles, procedures, and predictive abilities of major test*. Forest Res.Lab., Oregon State University, Corvallis, OR, USA. pp: 59-71.
- Toral I, M. (1997). Concepto de calidad de plantas en viveros forestales. Documento Técnico 1. Programa de Desarrollo Forestal Integral de Jalisco. SEDER., Fundación Chile, Consejo Agropecuario de Jalisco. México.
- Turner N. (1986) Measurement of plant water status by the pressure chamber technique. *Irrigation Science* 1986; 9: 289-308
- Tyree M, Hammel H. (1972) The measurement of the turgor pressure and the water relations of plants by the pressure bomb-technique. *Journal of Experimental*

Botany 1972; 23(1): 267-282. <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/23.1.267>.

Vinale, F., K. Sivasithamparam, E.L. Ghisalberti, R. Marra, S.L. Woo and M. Lorito-, (2008). Trichoderma plant pathogen interactions. Soil Biol. Biochem., 40: 1-10.

Whitmore, J.L. (1992) An introduction to Swietenia with emphasis on silvics and silviculture. In: Proceedings of Mahogany workshop: review and implications of CITES. 3-4 February 1992. Tropical Forest Foundation, Washington DC.

Yedidia, I., A.K. Srivastva, Y. Kapulnik, I. Chet-, (2001). Effect of Trichoderma harzianum on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. Plant Soil, 235:235-242.

Youssef SA, Tartoura KA, Abdelraouf GA Evaluación del efecto de *Trichoderma harzianum* y *Serratia proteamaculans* sobre la supresión de la enfermedad, la estimulación de las enzimas de eliminación de ROS y la mejora del crecimiento del tomate infectado por *Rhizoctonia solani* . Control Biol. 2016; 100: 79-86.

Zumkeller, S.D., Galbiattib J.A., de Paula R.C., y Gonzales J.L. (2009). Producción de plantas de tabebuia heptaphylla en diferentes sustratos y niveles de irrigación en condiciones de invernadero. Bosque 30(1):27-35