

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

EVALUACIÓN DE METABOLITOS INDUCIDOS EN  
PLANTINES DE *EUCALYPTUS GRANDIS* Y *E. GLOBULUS*  
CRECIENDO EN VIVERO SOBRE SUSTRATO INOCULADO  
CON *TRICHODERMA HARZIANUM*

por

Mitsuko KURIOKA  
Victoria MARTIRENA  
Jean C MULVANY

TESIS presentada como uno de  
los requisitos para obtener el  
título de Ingeniero Agrónomo.

MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2013

Tesis aprobada por:

Director:      í ..  
Ing. Agr. Fernando Irisity

í ..  
Ing. Agr. Graciela Romero

í í í í í .....  
Ing. Agr. Rafael Escudero

Fecha :        30 de abril de 2013

Autores :      í ..  
Mitsuko Kurioka

í ..  
Victoria Martirena

í ..  
Jean C. Mulvany

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecemos al propietario del vivero Forestal Solís, Ismael Tuduri, Ing. Agr. Graciela Romero nuestra directora de tesis, Ing. Agr. Pedro Mondino, Ing. Agr. Oscar Bentancour, Lic. Jorge Pereira, Laboratorio LAGE y Compañía, Lic. Sully Toledo.

## TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN.....	Página II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	VII
1. <u>INTRODUCCIÓN</u> .....	1
1.1 <u>CONCEPTOS GENERALES</u> í í í í í í í í í í í í í .....	1
1.2 <u>OBJETIVOS</u> í í í í í í í í í í í í í í í í í í í .....	1
1.2.1 <u>Objetivos generales</u> í í í í í í í í í í í í í í í í .....	1
1.2.2 <u>Objetivos específicos</u> .....	2
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u> í í í í í í í í í í í í í í í .....	3
2.1 <u>PRODUCCIÓN EN URUGUAY DE <i>Eucalyptus</i></u> .....	3
2.2 <u>CALIDAD DE PLANTÍN FORESTAL</u> í í í í í í í í .....	3
2.2.1 <u>Factores que afectan el crecimiento del plantín</u> í í í í .....	5
2.3 <u>PRINCIPALES ENFERMEDADES EN ETAPA DE VIVERO</u> í í .	7
2.3.1 <u>Damping off</u> .....	7
2.3.1.1 <u>Agentes causales</u> í í í í í í í í í í í í í í .....	7
2.3.1.2 <u>Daños</u> í í í í í í í í í í í í í í í í í í .....	7
2.3.1.3 <u>Factores que predisponen el ataque</u> í í í í í í í í .....	8
2.3.2 <u>Botrytis cinerea</u> í í í í í í í í í í í í í í í í .....	9
2.3.2.1 <u>Huéspedes</u> í í í í í í í í í í í í í í í í .....	9
2.3.2.2 <u>Síntomas y signos</u> í í í í í í í í í í í í í .....	9
2.3.2.3 <u>Condiciones predisponentes</u> í í í í í í í í í .....	9
2.4 <u>MANEJO DE ENFERMEDADES</u> í í í í í í í í í .....	10
2.4.1 <u>Control químico</u> í í í í í í í í í í í í í í .....	11
2.4.1.1 <u>Funguicidas</u> í í í í í í í í í í í í í .....	12
2.5 <u>CONTROL BIOLÓGICO</u> í í í í í í í í í .....	14
2.5.1 <u>Controladores biológicos</u> í í í í í í í í .....	15
2.5.2 <u>Mecanismos de biocontrol</u> í í í í í í í í .....	17
2.6 <u>TRICHODERMA</u> í í í í í í í í í .....	18
2.6.1 <u>Características</u> í í í í í í í í .....	18
2.6.1.1. <u>Aspectos nutricionales</u> í í í í í í .....	19
2.6.1.2. <u>Ocurrencia y distribución</u> í í í í í .....	19
2.6.1.3. <u>Establecimiento en la rizosfera</u> í í í í .....	20
2.6.1.4. <u>Aplicación</u> í í í í í .....	21
2.6.2 <u>Mecanismos de acción</u> í í í í í .....	22
2.6.2.1. <u>Directos</u> í í í í í .....	23

2.6.2.2. Indirectos	26
2.6.3. <u>Inducción de resistencia como mecanismo de biocontrol</u>	28
2.6.3.1. Tipos de resistencia inducida	28
2.6.4 <u>Peroxidasas</u>	33
2.6.5. <u>Métodos de medición de metabolitos, peroxidasas</u>	35
2.6.5.1 Tinción histoquímica	35
2.6.5.2 Electroforesis isoenzimática	37
2.7. <u>PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO</u>	39
2.7.1. <u>Microorganismos promotores del crecimiento</u>	39
2.7.2. <u>Mecanismos de promoción de crecimiento</u>	40
2.7.3. <u>Trichoderma como promotor del crecimiento</u>	42
2.7.4. <u>Formulaciones comerciales</u>	44
2.7.4.1. Fithan Trichoderma sp	45
2.7.4.2. Tricholí	46
2.7.4.3. Iab -32	47
2.7.4.4. Trico-fungí	48
2.7.4.5. Trichosoil Lage y cía.	49
3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	51
3.1. <u>LOCALIZACIÓN Y ÉPOCA DE ENSAYO</u>	51
3.2. <u>INSTALACIONES</u>	51
3.3. <u>BANDEJAS</u>	51
3.4. <u>SEMILLAS</u>	51
3.5. <u>TRICHOSOIL</u>	52
3.6. <u>SUSTRATO Y FERTILIZACIÓN</u>	52
3.7. <u>PLANTINES</u>	53
3.8. <u>RIEGO</u>	54
3.9. <u>MEDICIONES REALIZADAS</u>	54
3.9.1. <u>A campo y en el laboratorio del departamento forestal</u>	54
3.9.1.1. Diseño estadístico	54
3.9.1.2. Análisis estadístico	54
3.9.2. <u>Medición de metabolitos</u>	55
3.9.2.1. Método 1 de medición de metabolitos: tinción histoquímica de tejidos para la determinación de enzimas	56
3.9.2.2. Método 2 de medición de metabolitos: electroforesis isoenzimática	60
4. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	67
4.1. <u>VARIABLE ALTURA</u>	67
4.2. <u>VARIABLE MATERIA FRESCA PARTE AEREA</u>	68
4.3. <u>VARIABLE MATERIA SECA PARTE AEREA</u>	69
4.4. <u>VARIABLE DIAMETRO</u>	70
4.5. <u>VARIABLE MATERIA SECA DE RAIZ</u>	71
4.6. <u>VARIABLE MATERIA FRESCA DE RAIZ</u>	72
4.7. <u>RESULTADOS DEL ANÁLISIS DEL LABORATORIO DE GENÉTICA</u>	73



## LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1. Clasificación de hongos	8
2. Representación gráfica del manejo integrado de plantas	11
3. Mecanismo de defensa de vegetales	29
4. Expresión de la resistencia sistémica adquirida	31
5. Producción de R.O.S. y sus funciones en la defensa de la planta	34
6. Composición química de la turba Sphagnum	52
7. Mezcla de compost de cáscara de arroz y turba rubia natural de Sphagnum	53
8. Contenido de cada uno de los tubos eppendorf a calibrar	58
9. Esquema de siembra en la bandeja de semillas de variedades de <i>Eucalyptus</i> y los tratamientos con <i>Trichoderma</i> aplicados	63
10. Detalle de cantidades de tejido fresco utilizado por muestra y volumen de buffer de extracción de proteínas empleado para la obtención de los homogeneizados de tejidos de cada muestra	63
11. Gráfico de crecimiento en altura de las 2 especies con y sin tratamiento a lo largo del tiempo	68
12. Gráfico del aumento de materia fresca parte aérea a lo largo del tiempo	69
13. Gráfico de la evolución de la materia seca de parte aérea a lo largo del tiempo	70
14. Gráfico de la evolución del diámetro a lo largo del tiempo	71
15. Gráfico de la evolución de materia seca de raíz a lo largo del tiempo.	72
16. Gráfico de la evolución de materia fresca de raíz a lo largo del tiempo	73

17. Esquema que representa la placa de depósito de la muestra en dilución 1/3	75
18. Esquema que representa la placa de depósito de la muestra en dilución 1/10	76

Figura No.

1. Diferentes formas de micoparasitismo	24
2. Acción de <i>Trichoderma</i> frente a un hongo patógeno	26
3. Extractos de muestras de los distintos tratamientos	57
4. Foto de determinación de peso de las muestras	58
5. Foto de siembra de extracto proteico	59
6. Foto de aplicación de muestras sobre la placa de acetato de celulosa	61
7. Esquema de las etapas de desarrollo de la electroforesis de isoenzimas en placas de acetato de celulosa	64
8. Fotos de resultados de la actividad de peroxidasa sobre la placa de petri	74
9. Foto de resultados obtenidos de la migración en dilución 1/3	74
10. Foto de los resultados obtenidos de la migración en dilución 1/10	76

# 1 INTRODUCCIÓN

## 1.1 CONCEPTOS GENERALES

El sector forestal en el Uruguay experimentó un desarrollo significativo a partir del año 1987 en que se promulgó la ley 15.939. Esta ley impulsó dicho rubro declarando ciertos suelos como de prioridad forestal, lo que implica ser aptos para la forestación y calificados para recibir los estímulos que la ley promociona. Dentro de estos estímulos están la exoneración de algunos impuestos y el subsidio a la plantación de especies declaradas de prioridad forestal. En las especies de prioridad forestal se encuentra el género *Eucalyptus*.

Nuestra cadena productiva comienza con la producción de plantines de vivero, trasplante a campo y crecimiento del árbol hasta la/s cosecha/s. El objetivo de la producción de plantas en vivero está orientado a la obtención de plantas sanas, resistentes y uniformes. En Uruguay la producción de plantines de *Eucalyptus* se realiza en viveros, donde se trabaja en contenedores, se utilizan sustratos comerciales, riego y fertilización. Se seleccionan los plantines de calidad y aproximadamente entre 15 y 20 cm. de altura para llevar a plantación. Luego de la obtención del plantín rustificado, se lo lleva a campo donde se lo trasplanta al lugar definitivo. La importancia de la obtención de plantines de buena calidad radica en asegurar el éxito de la plantación. Una planta fuerte y saludable es la base para evitar la incidencia de enfermedades y plagas.

En los últimos tiempos se ha tratado de reducir el uso de agroquímicos debido a los efectos adversos que generan al ambiente y a la salud humana. Por ello se estudiaron métodos de control alternativos como ser el control biológico. Nuestra investigación apunta a la aplicación del hongo *Trichoderma harzianum*, el cual se caracteriza por ser un biocontrolador y biopromotor del crecimiento vegetal.

*Trichoderma* se estudió a través de su aplicación en la etapa de vivero, midiendo sus características morfológicas y fisiológicas y análisis de metabolitos inducidos, peroxidasas.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo general

El objetivo es estudiar el efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* como biopromotor del crecimiento en plantas de *Eucalyptus globulus* y *grandis* en la etapa de vivero e identificar los metabolitos inducidos.

### 1.2.2 Objetivos específicos

- Determinar la colonización y sobrevivencia de *Trichoderma harzianum* a través del estudio de plantines de *Eucalyptus globulus* y *grandis*
- Analizar si *Trichoderma harzianum* promueve el crecimiento de plantines de *Eucalyptus globulus* y *grandis*.
- Estudio de la actividad de peroxidasa inducida por *Trichoderma harzianum*.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 PRODUCCIÓN EN URUGUAY DE *Eucalyptus*

Según datos del URUGUAY. MGAP (2007), la superficie total forestada hasta el año 2007 es de 743 mil hectáreas. Estas se dividen en 38% de *Eucalyptus globulus*, 24% de *Eucalyptus grandis*, 20% de *Pinus taeda*, 8% de *Pinus elliottii* y 10% de otras especies.

Las exportaciones en el año 2007 alcanzaron 281,378 millones de dólares, aunque en el año 2008 se alcanzaron los 800 millones de dólares. Para el año 2007 el volumen físico exportado de madera bruta fue de 2,726 millones de m<sup>3</sup>, de madera aserrada 144 mil m<sup>3</sup> y de productos elaborados 112 mil m<sup>3</sup> y 55 mil toneladas.<sup>1</sup>

El impacto socio cultural que generó este sector a nivel nacional se refleja en la dinamización de centros poblados ubicados en el interior del país sobre todo en la cercanía de las plantaciones e industrias. Se generó un incremento en la mano de obra femenina y en la mano de obra calificada. Además ha existido una constante preocupación del sector forestal por integrar jóvenes desde el nivel escolar al proceso productivo.

El 62% de la superficie cultivada es ocupada por el género *Eucalyptus* spp., donde predomina la especie *globulus*, seguida de la especie *grandis*. En menor importancia se encuentran las especies *viminalis*, *camaldulensis*, *tereticornis*, entre otras. La selección de esta especie se basa en la similitud en cuanto a condiciones climáticas de nuestro país con respecto al de origen. La consecuencia de esto es una buena adaptación, crecimiento y productividad. Una de las características más importantes en dicha producción es la obtención de un plantín de buena calidad que determinara en la etapa de campo buenos niveles de prendimiento, homogeneidad, sanidad, y altos rendimientos.

### 2.2. CALIDAD DEL PLANTÍN FORESTAL

La calidad de plantín la podemos dividir en dos parámetros:

a) parámetros morfológicos: dentro de los cuales encontramos; longitud de parte aérea, diámetro de cuello, arquitectura de la parte aérea y de la raíz, la relación altura ó diámetro de cuello, la relación parte aérea ó raíz, el peso del plantín y el estado fitosanitario.

<sup>1</sup> Cardoso, E. 2009. Com. personal.

b) parámetros fisiológicos: el contenido de agua, el estado nutricional y el estado sanitario.

La capacidad de arraigo y supervivencia de las plantas está ligada a la morfología del plantín y al equilibrio que presenta entre su parte aérea y su sistema radical. La significancia productiva de este parámetro es la alta correlación entre la sobrevivencia y el diámetro de los plantines luego de la plantación (Cárdenas, 2003)

En cuanto a la dimensión y edad de los plantines .deben ser preferentemente jóvenes para que tengan un mayor potencial de crecimiento en sus raíces, pero no tanto como para no haber estado en vivero todo el tiempo suficiente en el que necesitan intensos cuidados. Los plantines más grandes aseguran un mayor porcentaje de prendimiento y crecimiento (Aguiar y Mello, citados por Quiroz et al., 2009)

En cuanto al equilibrio y proporción sugieren que la planta lavada y secada al aire, tenga un peso de la parte aérea menor al doble del peso de la raíz. El exceso de humedad produce plantas con poca raíz que van a tener dificultades al momento de trasladarse al campo. Las plantas con excesiva parte aérea se debe a la poca iluminación y nutrientes, por lo que siempre será débil y tendrá problemas para enraizar. El grosor de tallo también es un parámetro de calidad y debe ser acorde con las dimensiones del plantín.

La longitud no debería sobrepasar los 20 cm. ni ser menor de 15 cm. en cuanto a la forma lo ideal es que sea recta, colgante y sin enroscamientos, bien fasciculada y de abundante cabellera.

La homogeneidad es de fundamental importancia para conservar una plantación pareja. La coloración general del follaje debería ser verde oscura y brillante, indicándonos esto una correcta nutrición, iluminación e hidratación.

Cualquier desbalance en las propiedades de un sustrato afectara la calidad del plantín ya que pueden aparecer problemas de asfixia radicular, deshidratación del plantín, exceso o carencia de nutrientes, problemas sanitarios, enfermedades y plagas.

El estado sanitario debe ser perfecto sin ningún daño y sin coloraciones anormales. Los problemas sanitarios son determinantes de la calidad del plantin dado que pueden provocar daños como: disminución de prendimiento en plantación, origen de dispersión de enfermedades, perdidas completas de las plantaciones, disminución en el rendimiento y su consecuente pérdida económica.

### 2.2.1 Factores que afectan el crecimiento del plantín

**Envases:** es importante para el desarrollo de los plantines el tipo y las dimensiones de los envases. El volumen del mismo dependerá de la especie y las características del lugar donde se establecerá la plantación. Al elegir el envase se debe tener en cuenta el tamaño, espaciamiento entre celdas, diseño antiespiralizante (para evitar raíces espiraladas), drenaje y propiedades aislantes. Es importante la capacidad de retención de agua, sobretodo en recipientes con volúmenes chicos, ya que las condiciones de crecimiento favorecen la evapotranspiración y como consecuencia requieren mayor frecuencia de riego.

**Sustrato:** los materiales actualmente más utilizados en nuestro país son, orgánicos (animales o vegetales); estiércoles, cáscara de arroz, cáscara de pino, aserrín, residuos vegetales, residuos de la industria de la caña de azúcar y esfagno. Estos pueden ser utilizados tal cual, o después de un proceso de compostaje o vermicompostaje. Minerales; arenas, arcillas, vermiculita, perlita y lana de roca Sintéticos; flocos de poliestireno, lana de vidrio

Actualmente los sustratos tienen predominantemente componentes orgánicos. Para elegir el sustrato debemos tener en cuenta que las raíces puedan respirar, absorber el agua y los nutrientes. El terrón debe ser consistente sin adherirse a las paredes y mantenerse adherido a la raíz para el transplante. Proporcionar oxígeno y un adecuado intercambio con la atmósfera y ser un soporte para la planta en crecimiento (anclaje).

Para la elección de los materiales del sustrato se deberá tener en cuenta:  
Propiedades de cada uno y del sustrato resultante  
Facilidad para ser mezclados  
Disponibilidad, permanencia del suministro y costos  
Capacidad de ser estoqueado sin variar sus propiedades  
Información disponible resultante de la investigación y experiencia en su uso.

Las propiedades a tener en cuenta para la fabricación de los sustratos son la granulometría, que es el tamaño promedio y la distribución de las partículas. Se sugiere que las partículas sean mayores a 2 mm (Irisity, 1999). Para sustratos forestales se recomienda que la textura sea franco arenosa y con buen drenaje. Cuanto mayor tamaño de las partículas, mayor será el contenido de aire y menor el de agua. La relación ideal aire/agua es 3:1. La porosidad ideal es > 80% y capacidad de agua disponible entre 24 y 40%. Si existe alta capacidad de retención de agua y fertilidad los sistemas radiculares serán poco desarrollados. Se debe tener en cuenta que la composición del sustrato afectara la concentración de sales en la solución acuosa (salinidad).

La densidad aparente debe ser menor a 0.4 g/cc. La relación C/N es aconsejable que sea entre 20 y 30, ya que a mayor valor comienza la inmovilización de nitrógeno. El

grado de estabilidad de la materia orgánica (tasa de descomposición) es muy importante para que no evolucione a partículas más finas o cambie mucho la relación C/N. La materia orgánica debe estar entre 2.5 y 5%.

La CIC determina la disponibilidad de los nutrientes para ser asimilados por el plantín, con frecuencia esta debe ser alta debido a que generalmente la densidad de los sustratos es baja por lo que el valor absoluto de los nutrientes disponibles aumenta en la medida en que la CIC es alta. Los valores ideales se encuentran entre 6 y 15 meq/100cc.

El pH del sustrato determinara la disponibilidad de nutrientes. A su vez cada especie logra óptimos desarrollos a diferentes pH. Los valores deberían estar entre 5.4 y 6.0 para sustratos sin suelo y entre 6.2 y 6.8 en sustratos con suelo (García y González, 2005). Según Irisity (1999) el pH debe ser entre 5,5 y 6,5.

Las proporciones de las fases sólida, líquida y gaseosa son distintas según el sustrato, la fase sólida es la mitad mientras la líquida no llega a la cuarta parte.

La turba presenta una densidad aparente variable con respecto a la arena (que es muy alta), la retención de agua es alta, la aireación es menor que la de la arena, drenaje variable, alta CIC, relación C/N (9 a 37) y el pH (entre 3.6 a 8) son muy variables y presenta poder buffer (García y González, 2003).

**Esterilidad:** debemos asegurarnos que el sustrato y los envases estén libres de patógenos, plagas y semillas de malezas. Esto actualmente se logra con métodos químicos o por vapor.

**Riego:** según Irisity (1999) el agua debe ser abundante y de buena calidad con sales solubles menores a 600 ppm para no modificar el pH del medio.

**Fertilización:** los requerimientos son diferentes en cada etapa de desarrollo. Es necesario identificar los efectos de cada nutriente en las diferentes etapas de la producción, para establecer los momentos y dosis de cada nutriente según la etapa. El plan de fertilización debería crearse a partir de las necesidades de macronutrientes. La frecuencia y cantidad está regulada por la CIC del sustrato (García y González, 2005). Es necesario tener prudencia ya que el agregado de dosis excesivas o en momentos inadecuados resiente la calidad del plantin. Al fertilizar nos aseguramos un aumento del crecimiento de la parte aérea que viene acompañada de un mayor contenido de agua en los tejidos. En cuanto al sistema radicular encuentra más fácilmente los nutrientes y no se desarrolla tanto. Las restricciones químicas aumentan el crecimiento radicular.

## 2.3 PRINCIPALES ENFERMEDADES EN LA ETAPA DE VIVERO

Según Agrios (1996), la enfermedad en las plantas se produce cuando una o varias funciones son alteradas por organismos patógenos o por condiciones desfavorables del medio. Por lo tanto las causas reales determinantes de las enfermedades pueden ser de dos clases: abióticas y bióticas. Las primeras son aquellas originadas por factores como ser: falta o exceso de agua, motivadas por el frío o calor, falta o exceso de nutrientes en el suelo, acidez o alcalinidad, excesiva o escasa luz, las que son originadas por daños atmosféricos y mecánicos. Las causas bióticas son las que estudiaremos con más énfasis y son originadas por la acción de organismos vivos como ser: hongos, bacterias, virus, nemátodos e insectos plagas.

Hay diferentes maneras en que los patógenos causan daños en las plantas; por el debilitamiento del hospedero debido a la absorción de los nutrientes de este último para su propio uso. La secreción de toxinas, enzimas o sustancias reguladoras del crecimiento que afectan el metabolismo de las células del hospedero, también el bloqueo de la traslocación de nutrientes y agua, y el consumo del contenido de las células del hospedero.

Las enfermedades pueden clasificarse de acuerdo a los síntomas que provocan, al órgano que afectan o los tipos de plantas afectadas. Los hongos son el problema más grave en la mayoría de los viveros comerciales del país. Dentro de estos los más comunes son el complejo damping-off y *Botrytis cinerea*.

### 2.3.1 Damping off

#### 2.3.1.1 Agentes causales

El complejo damping-off, también llamado, enfermedad o caída de los almácigos, podredumbre de cuellos o mal de los semilleros es causado por un complejo de más de 30 especies de hongos, entre los que se encuentran *Pythium spp.*, *Fusarium spp.*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium spp.*, *Phytophthora spp.*, etc.

#### 2.3.1.2 Daños

Es producido por la disolución de las laminillas debido a la acción de las enzimas pectinolíticas. Una vez muerta la planta el hongo continúa como saprófito hasta encontrar nuevamente otro huésped. El ataque se manifiesta repentinamente y alcanza altos niveles de daño en corto tiempo.

Sintomatología: los daños pueden presentarse en 5 momentos diferentes en el desarrollo de la planta:

1) Fallas en la germinación: donde no se produce la emergencia de la plántula, el patógeno puede estar ubicado dentro de la semilla (en el tegumento) y/o en el suelo (entra a la semilla en el proceso de imbibición). Si no hay emergencia posterior a los 20 días de la siembra, es común encontrar la semilla podrida al remover el suelo.

2) Ataque pre-emergencia: esta ocurre cuando se abre paso a través del suelo, entrando en contacto con micelio o esporas del hongo.

3) Ataque post-emergencia: se observa un estrangulamiento el cual se marchita y se vuelca. La planta se halla susceptible hasta 3-4 semanas post-emergencia, momento en que se da la cutinización. Síntomas:

- Hidrólisis de cuello (aparición de exudados)
- Epinastia (curvamiento hacia abajo de la parte superior de la planta)
- Marchitamiento (penetran hifas a nivel vascular)
- Caída de la planta (penetran hifas a nivel vascular)

4) Ataque de copas: uso de materiales en recubierta en demasía (en almácigos) con fines de impedir la desecación rápida de los mismos. Con estos se puede aportar esporas de patógeno. Cuando riego salpico y se desarrolla el micelio el cual recubre y apelmaza la copa. Esto se debe a un mal manejo.

5) Podredumbre de la raíz o ñroot-rotö: marchitamiento con toma paulatina de colores amarronados de plantas grandes de más de 15cm de altura. Al inicio se asemeja a una falta de agua, no se produce hidrólisis. Si arranco la planta sale entera. Producida por *Fusarium* y *Verticillium* (Romero, 2005)

Cuadro No.1 Clasificación de hongos.

SUB-DIVISIÓN	CLASE	ORDEN	GÉNERO
<i>Deuteromycotina</i>	<i>Hyphomycete</i> <i>Agonomycetes</i>	<i>Hyphales</i> <i>Agonomycetales</i>	<i>Fusarium spp.</i> <i>Rhizoctonia Solani</i> <i>Scerotium spp.</i>
<i>Mastigomycotina</i>	<i>Oomycetes</i>	<i>Peronosporales</i>	<i>Phytium spp.</i> <i>Phytophthora spp.</i>

### 2.3.1.3 Factores predisponentes al ataque

Cada uno de los agentes causales del complejo ñDamping offö presentan diferentes exigencias climáticas. *Rhizoctonia* se ve favorecida por condiciones de alta humedad atmosférica y solo hasta un 60% en contenido humedad en el suelo, o sea relativamente baja. *Phytium*, por el contrario se ve favorecida por contenidos de humedad atmosférica baja y altos contenidos de humedad en el suelo. Para *Fusarium spp.* alta temperatura en el suelo favorece el desarrollo de solo algunas especies, pero siempre favorece el proceso de infección.

Aumenta el riesgo de ataque por patógenos cuando se realizan almácigos en suelos con pH 7 o mayores, por ello se debe utilizar valores de pH 6 o menores.

También debemos cuidar la fertilización nitrogenada ya que altas concentraciones de N generan gran crecimiento vegetativo, las células aumentan de tamaño, como consecuencia se produce membranas y paredes celulares delgadas, debilitando las barreras de la planta. Se debe evitar fertilizar con N en las primeras etapas de crecimiento.

### 2.3.2 Botrytis cinerea

#### 2.3.2.1 Huéspedes

*Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus globulus ssp. maidenii*, *Eucalyptus grandis*, *Pinus taeda* y *Pinus elliotti*. También es frecuente en viveros de ornamentales, frutales, florales y hortícolas.

#### 2.3.2.2 Síntomas y signos

Es una enfermedad que causa daños con frecuencia en viveros. El síntoma se manifiesta en plantines de aproximadamente 10 cm de altura como un moho algodonoso color grisáceo en la punta, donde se observan hojas apicales secas. Pertenece a la sub-división *Deuteromycete*, clase *Hyphomycetal*, fructifica directamente de las hifas. Forma mucho micelio a partir del cual produce gran cantidad de conidios (grandes, hialinos y no septados). En la lupa se pueden observar estructuras arborescentes donde se encuentran las fructificaciones del hongo.

El moho también se puede manifestar en plantaciones jóvenes, en condiciones de temperaturas medias y humedad relativa alta, esto se da cuando las plantas ya provienen del vivero infectadas.

#### 2.3.2.3 Condiciones predisponentes

Es favorecida por las condiciones de vivero bajo invernáculo, donde se genera un microclima húmedo con temperaturas medias-altas a esto se le suma la escasa ventilación presente en estos ambientes. También favorece su aparición el exceso de fertilización nitrogenada, el cual produce un gran crecimiento vegetativo, adelgazando las paredes celulares y facilitando la entrada del patógeno a la planta.

En plantaciones jóvenes puede detectarse cuando hay temperaturas medias en la etapa de òcierre del doselõ donde las condiciones de humedad y sombra favorecen que se desarrolle en los brotes tiernos (Baldini y Pancel, 2002).

## 2.4 MANEJO DE ENFERMEDADES

En primera instancia se debe hacer un manejo preventivo, esto consiste en hacer un manejo adecuado en vivero como en plantación. En vivero a través de un correcto manejo preventivo (buen sustrato, compostado e inoculado con antagonistas, semilla sana, viable, de alto vigor y alto porcentaje de germinación, correcta fertilización, pH del suelo o sustrato ácido, buena calidad del agua de riego, evitar heridas, raíces distorsionadas por el repique, además de evitar llevar plantines infectados a la plantación, entre otras). Esto nos orienta a obtener una planta sana y vigorosa libre de enfermedades.

Los métodos de control varían entre las diferentes enfermedades dependiendo del tipo de patógeno que ataca, el hospedante y la interacción entre ellos.

Existen diferentes tipos de control de enfermedades:

Métodos reguladores que ayudan a eliminar los patógenos del hospedante o de determinada área geográfica.

Controles culturales que evitan el contacto entre el patógeno y la planta hospedera y permiten erradicar o disminuir la abundancia del patógeno en la planta, un campo o área geográfica.

Control biológico es la destrucción total o parcial de poblaciones de patógenos por medio de otros organismos. Consiste en mejorar la resistencia del hospedante y favorecen el crecimiento de los microorganismos antagonistas.

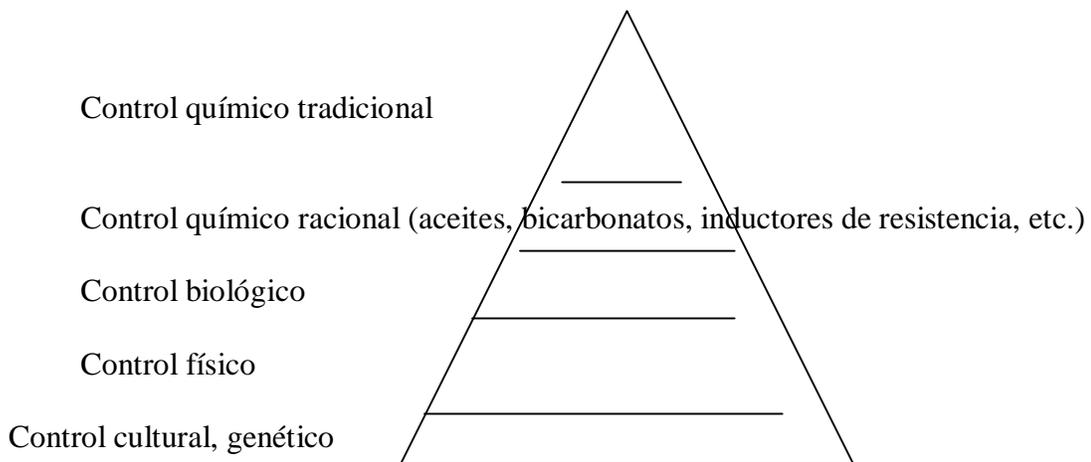
Métodos físicos y/o químicos que protegen a la planta contra el inoculo del patógeno y en algunos casos curan la infección.

Ha habido una evolución en cuanto al tipo de método que se utiliza para el control de enfermedades. Tradicionalmente el más usado ha sido el control químico con uso de pesticidas. Pero el uso indiscriminado de este método tiene como consecuencia:

- Que las plagas se hagan resistentes a ciertos compuestos químicos.
- La aparición de nuevas plagas.
- El aumento en los costos de producción debido al creciente costo de estos productos y a las cantidades en que se usan.
- La existencia de peligro de toxicidad en su manejo y toxicidad residual en el cultivo.
- Efectos nocivos para el medio ambiente debido a la contaminación que pueden provocar los compuestos químicos.

Esto fundamenta la necesidad de utilizar métodos de control biológico para combinarse con otros métodos y llevar a cabo un programa de manejo integrado de plagas. La representación de lo anterior está dada por la pirámide que se muestra a continuación:

Cuadro No.2 Representación grafica de construcción de manejo integrado de plantas



El manejo integrado de plagas trata de mantener las plagas de un cultivo a niveles que no causen daño económico. Se considera que los patógenos, insectos plaga o malas hierbas son componentes del agro-ecosistema, por lo que el objetivo no es destruirlos sino convivir con ellos. Existen interacciones positivas y negativas entre estos componentes del sistema, mediante el manejo de estas interacciones se puede dificultar el desarrollo de patógenos o contribuir a su mortalidad. Por ejemplo contribuir al aumento de resistencia de las plantas, la acción de los controladores biológicos y algunas prácticas agrícolas.

Para que el manejo integrado de plagas funcione es necesario establecer un sistema de evaluación periódica de los niveles de plagas y sus enemigos naturales en el campo y tener una idea de los límites tolerables de infección para que no se resienta el rendimiento del cultivo.

#### 2.4.1 Control químico

El control químico es uno de los métodos más utilizados actualmente y se utiliza tanto para campo, invernadero y en ocasiones durante el almacenamiento de los productos vegetales, presenta una acción tóxica contra los patógenos. Estos compuestos químicos inhiben la germinación, el desarrollo y la reproducción de los patógenos, o

tienen efectos letales a ellos. De acuerdo al tipo de patógeno que afecten se clasifican en: funguicidas, bactericidas, nematocidas, viricidas, entre otros.

La mayoría de los compuestos químicos se aplican sobre la superficie de las plantas u órganos y, solamente la protegen de infecciones posteriores, pero no pueden detener o curar una enfermedad una vez que se ha iniciado. También la gran mayoría son efectivos en la zona de la planta donde se de la aplicación, por lo tanto tienen una acción local., sin ser absorbidos o trasladados por la planta. Pero también existen aquellos compuestos de acción terapéutica, erradicante, de los cuales mucho de ellos son absorbidos y trasladados sistémicamente por las plantas (como en el caso de funguicidas y antibióticos sistémicos).

Como ya vimos, las enfermedades más importantes que atacan en la etapa de vivero son las producidas por hongos, por lo tanto desarrollaremos a continuación los funguicidas en general y los específicos para controlar las enfermedades más comunes.

#### 2.4.1.1 Funguicidas

Según Gepp y Mondino (2002) los funguicidas se clasifican en: funguicidas de contacto y sistémicos. Los primeros son los son los más antiguos e incluyen los principios activos más utilizados a nivel mundial, se caracterizan por:

Mínima penetración al vegetal  
En general de amplio espectro  
Múltiples sitios de acción.

Los funguicidas de contacto se dividen en inorgánicos y orgánicos. Los inorgánicos están formados por los azufrados y cúpricos. Los azufrados son funguicidas curativos y de contacto también acaricidas, que presentan baja toxicidad, están formados por sulfuro de H, que inhibe la respiración, afecta las proteínas y forma quelatos con metales pesados en la célula fúngica. Los cúpricos, presentan muchos principios activos: oxiclورو de cobre, hidróxido de cobre, sulfato de cobre, caldo de bordelés, etc. El  $Cu^{++}$  se acumula en la célula de hongos sensibles, formando complejos con enzimas que poseen grupos sulfhidrilo, hidroxilo, amino o carboxilo, inactivándolos. Tienen muy amplio espectro de acción en bacterias, hongos inferiores (Deuteromycetes, Mastigomycotinas), algunos hongos superiores y royas.

Los funguicidas orgánicos se dividen en 4 grupos:

1) Ditiocarbamatos (comprenden al thiram, ferbam, ziram, maneb, zineb, mancozeb). Reaccionan con los grupos -SH, inhiben enzimas, interfieren en la producción de energía dentro de la célula. Son de amplio espectro, efectivos para *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans*, *Alternaria spp.*, *Septoria spp.*, etc.

2) Aceites, no son muy utilizados para controlar hongos aunque tienen cierta efectividad contra *Septoria spp.*, *Mycosphaerella spp.* oidios y mildius.

3) Ftalamidas, (incluyen Captan y Folpet) inhiben la síntesis de compuestos esenciales que tienen los grupos -NH<sub>2</sub> y -SH (aminoácidos y enzimas). De muy amplio espectro, eficiente contra: *Botrytis cinerea*, *Alternaria spp.*, *Colletotrichum spp.*, *Ascochyta spp.*, *Phoma spp.*, *Phytophthora spp.*, *Phytium spp.*, *Rizoctonia spp.*, (los últimos tres son agentes causales del complejo damping off)

4) Clorofenilos, (Clorotalonil) Se fija a los grupos sulfhidrilo. De contacto y de muy amplio espectro, similar a lo ditiocarbamatos, por lo tanto se pueden utilizar contra *Botrytis cinerea* y también contra algunos hongos del complejo damping off. Presenta efectos tóxicos contra mamíferos.

Como mencionamos anteriormente encontramos lo funguicidas penetrantes o sistémicos. Las plantas absorben este tipo de funguicida a través de su follaje o raíces, y luego los traslocan en sentido ascendente a través del xilema, siguiendo la corriente de transpiración. Se clasifican en 8 grupos:

1) Dicarboximidias, (Principio activo: Iprodione, Procimidone, Clozolate, Diclozoline). Interfieren en la actividad y/o síntesis de ADN, también inhiben la germinación de esporas y provocan lisis de hifas. Presenta escasa capacidad de moverse dentro del vegetal. Efectivo contra *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia*, *Alternaria*, *Septoria*, *Rizoctonia*, etc. No controla oomycetes como *Phytium* y *Phytophthora spp.* (del complejo damping off). Para evitar la resistencia en *Botrytis cinerea*, FRAC recomienda no aplicarlo más de 2 o 3 veces por ciclo de cultivo, aplicar cuando la infección es alta y combinarlo con otros productos químicos.

2) Benzimidazoles, (p.a.: Benomil, carbendazim, metil tiofanato, tiabendazol). Interfiere en la división nuclear. Tiene un amplio espectro de acción contra asco- y deuteromycotina como *Botrytis cinerea*, *Fusarium spp.*, *Verticillium*, *Rhizoctonia*, también contra *Ceratocystis*, *Septoria*, *Botryosphaeria*, *Mycosphaerella*, *Cladosporium*, etc. Se recomienda utilizar mezclas o alternar con otros sitios de acción.

3) Inhibidores de la síntesis de ergosterol (IBE). No controlan oomycetes ya que absorben el ergosterol del medio que los rodea. No inhiben la germinación de esporas. Presenta alto riesgo de generar resistencia, por lo tanto se recomienda no usarlos repetidamente en la misma estación de crecimiento y alternar con productos de bajo riesgo. Actúan contra *Ascomycetes*, *Basidiomycetes* y *Deuteromycetes*. Fuerte acción contra oidios y royas, hongos que causan manchas foliares (*Alternaria*, *Penicilium*, *Monilia*, etc.). Se divide en 2 subgrupos: inhibidores de la dimetilación y de la isomerasa-reductasa. Los primeros comprende a los triazoles, uno de los químicos utilizados contra *Botrytis cinerea*.

4) Strobilurinas, actúan inhibiendo la respiración en un determinado punto. Afectan la germinación de esporas de *Rhizoctonia Solani*, *Phytophthora infestans*, *Alternaria spp.*, entre otros.

5) Guanidinas, Afectan de manera inespecífica la integridad de la membrana celular. Principalmente utilizado en frutales.

6) Aminopirimidinas, Es muy utilizado en frutales y cereales. Básicamente desarrollado para el control de *Botrytis cinerea*.

7) fenilpirroles, Existe un producto registrado para *Botrytis cinerea* compuesto por 2 principios activos: Cyprodanil + fludioxonil

8) Inhibidores de la síntesis de proteínas, actúan inhibiendo la elongación de la cadena proteica actuando en diferentes sitios.

También encontramos los funguicidas específicos para oomycete, como el grupo de las fenilalamidas, fosetil, cymoxanil, protiocarb y propamocarb y dimetomorf. El primer grupo actúa inhibiendo la formación de ARNr, controlando cuando el micelio comienza a crecer. Tiene alto riesgo de generar resistencia. Dentro de este grupo encontramos el metalaxil, uno de los compuestos utilizados en nuestro país que sirve para el control de *Pythium* y *Phytophthora*. Otro de los grupos importantes es el fosetil Al que estimula las reacciones de defensa y la síntesis de fitoalexinas contra el ataque de oomycetos.

Se han producido ciertos problemas debido al uso de funguicidas como ser, la fitotoxicidad, la toxicidad generada hacia diferentes clases de insectos benéficos como abejas, enemigos naturales de plagas, himenopteros, sapos, pájaros, etc. mamíferos, hasta el propio hombre, a esto se le suma la contaminación de aguas superficiales como las subterráneas. Además se están utilizando productos químicos de gran toxicidad debido a la resistencia generada por los patógenos, como es el caso de *Botrytis*. Por esto, se ha tendido a utilizar medidas alternativas al uso de químicos como medida de control, una de ellas es el control biológico.

## 2.5 CONTROL BIOLÓGICO

La autorregulación que se da en las poblaciones de seres vivos se denomina Control Biológico.

El control biológico se define como la reducción de la suma de inóculo o de las actividades determinantes de la enfermedad provocadas por un patógeno, realizada por uno o más antagonistas. Las actividades determinantes de enfermedades incluyen el crecimiento, infección, virulencia, agresividad y otras propiedades del patógeno o procesos que determinen infección, aparición de síntomas y reproducción (Baker y Cook, citados por Bettiol, 1991).

Por su parte Wilson et al., citados por Mondino y Vero (2006) definen al Control Biológico como toda forma de control que no involucre el uso de plaguicidas de síntesis química. Según estos autores hay tres métodos para llevarlo a cabo: el uso de microorganismos antagónicos, el uso de sustancias naturales y la modificación de resistencia del huésped.

Como ejemplo de control biológico en la naturaleza se pueden citar los llamados suelos supresivos. En estos suelos no se desarrolla enfermedad a pesar de que coincide la presencia de inóculo del patógeno, huésped sensible y ambiente favorable al desarrollo

de la enfermedad. Se demostró que si estos suelos son esterilizados la enfermedad si se desarrolla, lo que nos indica que existe en ellos algún factor biótico que contribuye a la supresión de la enfermedad. Es muy común en estos suelos poder aislar cepas de *Trichoderma spp.* y *Pseudomonas spp.* (Mondino y Vero, 2006).

### 2.5.1 Controladores biológicos

Se han utilizado diferentes microorganismos para el control de patógenos de las plantas. Bacterias, hongos, levaduras y virus han probado ser eficientes controladores biológicos. Un ejemplo es el control ejercido por *Agrobacterium radiobacter* sobre *Agrobacterium tumefaciens* que causa agalla de la corona y, *Pseudomonas cepacia* que controla el moho gris en peras. Dentro de los virus se mencionan bacteriófagos como los que provocan al lisis de *Xanthomonas campestris* causante de mancha bacteriana en tomate y la presencia de micovirus en cepas avirulentas de *Botrytis cinerea*. Dentro de las levaduras hay formulaciones comerciales en base a *Cryptococcus albidus* para controlar patógenos de poscosecha. El hongo filamentoso *Trichoderma spp.* ha sido ampliamente estudiado como excelente controlador de hongos fitopatógenos y como promotor de crecimiento vegetal (Mondino y Vero, 2006).

Para que se de la enfermedad un patógeno debe competir con otros microorganismos para asegurarse un sitio adecuado en una planta susceptible. Los controladores biológicos, deben impedir que el patógeno colonice y comience la infección o deben ser capaces de destruir al patógeno en el lugar de infección para evitar que la enfermedad prospere. Hay varios mecanismos para lograr esto; la competencia con el patógeno, por nutrientes o espacio en el sitio de infección, la inhibición o destrucción del patógeno por producción de sustancias tóxicas en el sitio de acción o la inducción de respuestas a resistencia en la planta.

Cuando se aplican microorganismos previamente seleccionados para controlar algún patógeno, se trata de utilizar cepas nativas de estos microorganismos, de modo que naturalmente formen parte de la microflora presente en los lugares en que debe actuar. Así se asegura una rápida adaptación al lugar donde biocontrolarán.

La interacción entre el antagonista, el patógeno y la planta hospedera es muy específico. El antagonista actúa exclusivamente sobre el patógeno y en el sistema existente, por lo que se debe desarrollar una formulación comercial para cada sistema.

Se ha comprobado que existen bacterias controladoras de enfermedades fúngicas y bacterianas que atacan raíces y parte aérea. También se han utilizado bacterias para el control biológico de enfermedades de post cosecha.

Dentro de estas bacterias podemos nombrar a las bacterias controladoras de la agalla de la corona. Esta enfermedad es causada por la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*, ya mencionada, que actúa transfiriendo información genética a la planta para la producción de fitohormonas (citoquininas y ácido indol acético) que estimulan el crecimiento celular excesivo, produciéndose así tumores en el tallo a nivel del suelo. De plantas sanas de esta enfermedad se aisló una cepa de la bacteria *Agrobacterium radiobacter* que inhibía la enfermedad. Esta inhibición se da por la producción de un antibiótico el Agrocin, la competencia por la fuente de carbono y energía (nopalina) y un sideróforo producido solamente en baja concentración de hierro (Glick, 1995).

Las bacterias promotoras de crecimiento vegetal o PGPR promocionan directamente el crecimiento a través de un aumento de la disponibilidad y captación de nutrientes minerales, o provisión de sustancias estimuladoras del crecimiento, y promocionan indirectamente a través de la supresión de los microorganismos deletéreos de la rizósfera (Podile et al., 2006).

Las más estudiadas son las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal. Estas bacterias actúan como biofertilizantes, favoreciendo la captación de nutrientes (fijadoras de nitrógeno), como fitoestimuladores, o control biológico. Se han aislado estas bacterias de rizósfera, rizoplano (microorganismos pegados a la raíz) y también se han encontrado como endófitas en algunos vegetales. Las rizobacterias no se limitan al control biológico de patógenos radiculares, también pueden controlar patógenos de parte aérea debido a la inducción de resistencia sistémica que llevan a cabo algunas rizobacterias asociadas a la raíz (Benhamou y Nicole, citados por Mondino et al., 2006).

Los bacteriófagos son virus que parasitan bacterias. Estos pueden actuar penetrando a la bacteria y reproducirse dentro de ella induciendo la lisis celular y liberando su progenie, en lo que se llama ciclo lítico. En otros casos incorporan su material genético al ADN celular, es la llamada lisogenia.

Los micovirus son virus que parasitan hongos. Estos tienen etapas de la vida fuera del hongo que los hospeda y no provocan la lisis del hongo. Para que pasen de un hongo a otro es necesario que haya contacto entre los citoplasmas de la cepa que lo transmite y la cepa que lo recibe. El control lo llevan a cabo las cepas fúngicas hipovirulentas que tienen los micovirus. Al ponerse en contacto las hifas de estos hongos con las de hongos virulentos se produciría la transferencia de los micovirus y por lo tanto la aparición de hipovirulencia.

Algunas levaduras también tienen efecto de controlador biológico, en varios estudios se ha demostrado que hay algunas levaduras muy efectivas para controlar la *Botrytis cinerea*. Se han utilizado para el control de poscosecha, así como para el de partes aéreas y en granos almacenados.

Entre los hongos filamentosos efectivos para el control biológico se encuentran el *Trichoderma*, *Gliocladium* y *Ampelomyces quisqualis*. El *Ampelomyces quisqualis* es uno de los pocos agentes de control biológico con efecto curativo, creciendo por encima del hongo patógeno y curando la infección. Se ha mostrado muy efectivo para controlar cualquier tipo de oidio. La formulación comercial de este organismo se llama AQ10.

Según Rey et al. (2000) las especies del género *Trichoderma* son las más utilizadas para el control de enfermedades de plantas causadas por hongos debido a que no afectan las plantas superiores, son fáciles de aislar, cultivar y rápido crecimiento en diversos sustratos. Según Harman et al., citados por Mondino y Vero (2006) *Trichoderma Harzianum*, es un efectivo promotor del crecimiento en raíces de maíz y pepino. Se afirma que controla fitopatógenos de parte aérea mediante la colonización radicular, ya que induce la resistencia sistémica contra ataques en otras partes de la planta. Otros estudios han demostrado que inocular las raíces con determinadas cepas de *Trichoderma* lleva a un aumento localizado en la planta de las enzimas vinculadas a la resistencia a patógenos.

Su comportamiento en el suelo también ha sido estudiado y se demostró su efectividad, contra patógeno de suelo en asociación con la planta como a distancia ya que son capaces de parasitar y destruir formas de resistencia y propagación de hongos patógenos del suelo. Enfermedades que ocurren en la etapa de emergencia también pueden ser controladas por este microorganismo, para lo que se incorpora como recubrimiento de semillas

#### 2.5.2 Mecanismos de biocontrol

Podemos dividir a estos mecanismos en los que actúan directamente sobre el patógeno y los que actúan sobre la planta hospedera.

Dentro de los primeros están el amensalismo, que es la producción de sustancias inhibitorias o tóxicas para otro organismo, como por ejemplo los antibióticos de origen bacteriano y fúngico, las toxinas killer como por ejemplo *Saccharomyces cerevisiae* utilizada en la producción de bebidas fermentadas y las enzimas que degradan pared celular generalmente quitinasas, glucanasas y proteasas (Mondino y Vero, 2006).

La reducción de la virulencia del patógeno puede ser producida mediante la producción de enzimas que degradan las señales de quórum (expresión genética de características regida por la densidad de población) que gobiernan la expresión de factores de virulencia del patógeno y transmisión de hipovirulencia de cepas virulentas.

La competencia no actúa directamente sobre el patógeno pero está relacionado directamente con él. El antagonista eficaz debe adaptarse fácilmente al hábitat donde actuara; lograr una rápida colonización del sitio de acción y poseer alta capacidad de

utilizar nutrientes a bajas concentraciones. La competencia más clásica es la que se da por nutrientes, fuentes de carbono y nitrógeno y por hierro.

El micoparasitismo es la capacidad de un organismo de degradar y asimilar hongos. Se llevan a cabo varias etapas: el quimiotropismo que es el crecimiento del antagonista en dirección al patógeno bajo algún estímulo químico, el reconocimiento, unión y penetración al hongo hospedero y asimilación del contenido celular (Mondino y Vero, 2006).

Los mecanismos que actúan sobre la planta hospedera son la inducción de resistencia; la resistencia sistémica adquirida y la resistencia sistémica inducida.

## 2.6 TRICHODERMA

### 2.6.1. Características

Trichoderma es un hongo que pertenece a la subdivisión *Deuteromycotina*, hongos imperfectos (asexuales). Dentro de estos pertenece a la clase *Hyphomycetes* y al orden *Hyphales (Moniliales)* cuyas esporas asexuales se forman sobre las hifas (o en su interior) y se encuentran expuestas libremente a la atmósfera (Agris, 1999).

Frente a condiciones adversas o desecación se producen otro tipo de estructuras asexuales, denominadas clamidosporas (Lewis y Papavizas, citados por Benítez et al., 1998).

Se ha demostrado que las especies del género *Trichoderma* son derivados clonales de *Hypocrea* (forma perfecta) que han perdido su capacidad de realizar ciclo sexual (Dunc et al., citados por Benítez et al., 2004).

La temperatura óptima de crecimiento para *Trichoderma harzianum* es de 26,8°C, pero este valor varía dependiendo de la cepa.

El rendimiento óptimo se encuentra entre 4 a 6,5 de pH pero pocas especies toleran pH menor a 3.

La humedad es muy influyente en la performance del *Trichoderma*, aunque no se citan valores exactos se observó que afecta negativamente la germinación y el desarrollo.

Es una especie fotosensible por lo que la esporulación se da en guardas concéntricas correspondientes con la alternancia de luz y oscuridad del día. Los conidios se producen solamente de día, pero algunos compuestos químicos (azaguanine,

flouorouracil, el actinomycin, Cicloheximida, phenetyl alcohol, y bromuro de etidio) pueden inhibir la producción de estas estructuras. Se ha demostrado la capacidad de *Trichoderma* de producir clamidosporas en medios fermentados, suelo estéril, extractos de suelo, restos vegetales y suelos naturales modificados.

Los conidios requieren una fuente externa de nutrientes para germinar, y su germinación depende de las condiciones de pH, siendo mayor en condiciones ácidas.

#### 2.6.1.1. Aspectos nutricionales

Es un antagonista capaz de alimentarse tanto de otros hongos, materia orgánica y de secreciones radiculares. La cantidad de nutrientes influye en la cantidad de micelio, pero no en su crecimiento (Knudsen et al., citados por Mondino et al., 2006).

Los requerimientos de carbono y nitrógeno de *Trichoderma* pueden ser satisfechos con monosacáridos y disacáridos, polisacáridos complejos, purinas, pirimidinas y aminoácidos, taninos condensados, aldehídos, ácidos orgánicos especialmente ácidos grasos de cadena larga, e incluso metanol. Las dosis adecuadas de N son de 100 mg. por kg. de suelo, pudiendo sobrevivir en concentraciones menores. Amonio ha demostrado ser la fuente de nitrógeno más usada por este microorganismo en medios buffer, no tolerando la presencia de N nítrico. La mejor fuente de N corresponde a: L-alanina, L-aspartico, ácido L-glutámico y ácido casamino.

El contenido de fósforo varía según la especie, estando en torno a 2 mg. P por kg. de suelo. Estos microorganismos tienen la capacidad de asimilar fosfato (mineral) además de tener la capacidad de mineralizarlo de formas orgánicas, facilitando su absorción para las plantas (Podile et al., 2006).

El efecto del CO<sub>2</sub> varía dependiendo de la cepa de que se trate, la concentración de este y el pH del medio.

No se puede especificar como influyen las sales ya que hay muy pocos trabajos en esta área.

#### 2.6.1.2. Ocurrencia y distribución

*Trichoderma* puede ser encontrado en todo el mundo, en casi todos los suelos y otros hábitats naturales especialmente en los que contengan materia orgánica (hongo saprófito). Frecuentemente es aislado de materia orgánica totalmente descompuesta, lo que indica que es un colonizador secundario. Puede ser encontrado en la superficie de las raíces de muchas plantas, en corteza muerta y en esclerocios u otros propágulos de hongos.

Largos periodos de suelo seco provoca una disminución en la población de *Trichoderma*.

Las diferentes cepas de este hongo tienen distintos requerimientos de temperatura y humedad por ello pueden encontrarse en diferentes climas. Otros factores que determinan la distribución del hongo son: el pH, las propiedades químicas del sustrato, CO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, sales, contenido de materia orgánica y la presencia o ausencia de otros microorganismos (estudios demostraron que la presencia de *Pseudomonas* limitaba la eficacia y establecimiento de *Trichoderma* en suelos con poco hierro).

La habilidad de degradar un amplio rango de sustratos orgánicos en el suelo, su metabolismo versátil y la resistencia que presentan frente a inhibidores microbianos sugiere que *Trichoderma* tiene la habilidad de sobrevivir a muchos nichos ecológicos.

No solamente es un habitante natural del suelo, también tiene la capacidad de sobrevivir en el filoplano y antoplano, UNIVERSIDAD DE ZULIA (VENEZUELA). FA (s.f.) Esto es una característica deseable para el control de enfermedades foliares.

Las concentraciones a nivel aéreo de *Trichoderma* son bajas, pero cepas introducidas para el control tienen la capacidad de sobrevivir por tiempo suficiente de manera de ejercer un eficiente control del patógeno. Algunos de los patógenos aéreos controlados por *Trichoderma* son: *Botryosphaeria*, *Botrytis cinerea*, *Dothiorella sp*, *Plasmopara viticola*, *Pseudoperonospora cubensis*, *Nectria*, *Sclerotinia homoeocarpa*, entre otras UNIVERSIDAD DE ZULIA (VENEZUELA). FA (s.f.)

### 2.6.1.3 Establecimiento en la rizósfera

Aunque *Trichoderma* es un eficiente colonizador del suelo, no es ajeno al fenómeno de fungistasis que presentan algunos suelos. La sensibilidad de este microorganismo depende de varios factores como el pH donde es mayor en suelos neutros o alcalinos que en suelos ácidos. También influye del tamaño del propágulo que se está considerando, siendo más sensibles los más pequeños, o sea las hifas del hongo son más sensibles que los conidios y estos más sensibles que las clamidosporas. Estudios mostraron que también es afectado por la cantidad de amonio presente, en suelos alcalinos el amonio resultó ser fungistático.

Ya se mencionó el amplio rango de nichos en los que se puede encontrar *Trichoderma* debido a sus cualidades como la capacidad de degradar diferentes sustratos orgánicos, su versatilidad metabólica y su resistencia a inhibidores microbianos. Para ser agregado al suelo se debería tener en cuenta que es más factible su éxito en el establecimiento si se agrega como micelio y no como conidio, debido a la poca sensibilidad que presenta el primero a la fungistasis. Otra situación a tener en cuenta es

la aplicación de productos químicos al suelo, ya que esto genera un desbalance microbiológico, y se abre un vacío en el sustrato que puede ser favorable para el establecimiento de *Trichoderma* que podría ocupar el vacío generado.

La eficiencia de *Trichoderma* como control biológico aplicado a la semilla no solo depende de sus características de biocontrolador, sino también de su capacidad de reproducirse en la rizósfera. De esta manera no solo controlara las enfermedades que ataquen la semilla y los cotiledones sino todas las enfermedades de la raíz. Para que ocurra la reproducción deben estar presentes los nutrientes necesarios, ausencia de sustancias tóxicas de los exudados de las raíces y ausencia de microorganismos competidores.

Debido a la resistencia que presenta *Trichoderma* a los compuestos tóxicos que puedan estar presentes en el sustrato, su inoculación al mismo no presenta problemas. En el caso que estos compuestos sean incorporados al sustrato luego de la inoculación con *Trichoderma*, este se recupera rápidamente frente a ellos.

Existen muchos estudios en base a *Trichoderma* como controlador biológico de hongos fitopatógenos y como promotor de crecimiento vegetal. Estudios realizados por Harman et al., citados por Mondino y Vero (2006) para pepino y maíz, describen a *Trichoderma harzianum* (cepa T22) como un hongo promotor de crecimiento. Además comprobaron que induce resistencia sistémica contra ataques en otras partes de la planta.

Se estudio el efecto de productos en base a *Trichoderma spp.* para controlar la enfermedad dulce del sorgo, observándose que se reducía la severidad de la enfermedad.

Según Yedidia et al., citados por Mondino y Vero (2006) *Trichoderma asperelum* provocó un aumento en las enzimas vinculadas a la resistencia a patógenos en plantas de pepino.

Se realizo aislamiento y selección de dos cepas de *Trichoderma viride* que fueron capaces de degradar esclerotos de *Sclerotium cepivoro* en el suelo (Clarkson et al., citados por Mondino y Vero, 2006).

Para impedir enfermedades de emergencia de plantines, se aplico el *Trichoderma* como recubrimiento de semillas observándose una buena protección desde el inicio del cultivo (Eziyyani et al., Harman y Bjorkman, citados por Mondino y Vero, 2006).

#### 2.6.1.4. Aplicación

La eficiencia del biocontrol agregado al suelo con inoculantes sólidos depende de: la temperatura, el tipo de inóculo utilizado, el momento de introducción del antagonista

al suelo en relación al momento de siembra, la densidad de inóculo del antagonista y la densidad de inóculo del patógeno.

Rodríguez (2002) estudió el efecto del agregado de grandes cantidades de *Trichoderma* al suelo junto con sus fuentes necesarias de nutrientes en medios sólidos, encontrando un efectivo biocontrol de patógenos.

La introducción del antagonista en forma de polvo, papilla o pellets mostró una importante capacidad de proliferar y suprimir enfermedades más efectivamente que los conidios desnudos o clamidosporas. La fórmula de estos preparados afecta su vida útil, su supervivencia y proliferación en el suelo, por lo tanto también afecta su eficiencia como biocontrol.

La introducción de *Trichoderma* en la semilla del cultivo a proteger, tiene la gran ventaja de requerir cantidades menores del hongo. La efectividad de esta forma de aplicación del antagonista depende de las cepas que se utilizan, la edad del inóculo de semilla, la temperatura y reacción del suelo al introducirlo, el tipo de suelo y la microbiota que tenga, la riqueza nutricional que pueda aportar el inóculo, la densidad del inóculo en la semilla, el potencial del inóculo del patógeno en el suelo y del momento de plantación. Al igual que cuando se agregan propágulos del hongo al suelo esta forma de introducir el antagonista debe permitir una eficiente proliferación del hongo en el suelo para controlar al patógeno.

La aplicación de *Trichoderma* en partes aéreas para el control de enfermedades no ha sido tan efectiva como la aplicación al suelo o con la semilla. Influye mucho el momento en que se coloca el antagonista, si es previo a la infección con la enfermedad se obtuvieron mejores resultados que al aplicarlo simultáneamente con el agente patógeno.

#### 2.6.2. Mecanismos de acción

Las especies de este género poseen una gran capacidad de colonización, debido a su rápido crecimiento, bajos requerimientos nutricionales y debido a su resistencia frente a condiciones adversas del medio. Muchas de las especies de este género actúan contra un gran número de patógenos (Jacobs et al., citados por Aceves et al., 2008) donde *Trichoderma harzianum rifai*, es la especie que tiene mayor espectro de control, bajo diferentes condiciones ambientales (Migheli et al., citados por Aceves et al., 2008).

*Trichoderma* presenta una gran versatilidad dada su acción triple como: biopesticida, biofertilizante y bioestimulante. Su utilización como agente de biocontrol mayoritariamente es preventiva. Si no existió aún ataque, la planta se encuentra preparada y protegida para impedir una infección, y si ya ocurrió, la acción de

*Trichoderma* proporciona una ayuda para superar dicha infección, pudiendo en ciertos casos a controlar la enfermedad (Craviotto et al., s.f.)

Los mecanismos de acción los podemos dividir según: tengan acción directa contra otros microorganismos o indirecta en forma sinérgica con la planta, Los mecanismos involucrados en la acción directa contra patógenos son: antibiosis, micoparasitismo, competencia por espacio y nutrientes e inactivación de enzimas del patógeno. Los métodos que intervienen sobre la planta y que indirectamente sobre el desarrollo del patógeno son: producción de fitohormonas o sustancias similares, solubilización de nutrientes a formas asimilables por la planta y resistencia inducida la cual será descripta posteriormente (Morera, s.f.).

#### 2.6.2.1. Directos

##### Antibiosis

Es el fenómeno por el cual uno o más metabolitos (enzimas hidrolíticas, metabolitos secundarios y moléculas tóxicas) son excretados por un organismo y tienen efecto dañino sobre otro organismo (Jackson et al., citados por Casimiro, 2001).

La producción de enzimas hidrolíticas, metabolitos secundarios volátiles y no volátiles, representan el mecanismo de antibiosis producido por este hongo. Entre las enzimas hidrolíticas que disuelven los polímeros estructurales de la pared celular encontramos: quitinasas, glucanasas, (Aceves et al., 2008) proteasas y celulasas (Aceves et al., 2008).

Según Madi et al., citados por Aceves et al. (2008) indicaron que hay una correlación positiva entre la cantidad de enzimas y el porcentaje de micoparasitismo con reducción de la enfermedad. Además estos últimos autores llegaron a resultados experimentales que *T. harzianum* (cepas Thzcf-9 y Thzcf-6) debido la producción de quitinasas y de glucanasas tienen efecto contra *Fusarium subglutinans* y *oxysporum*, inhibiendo el crecimiento del micelio.

En cuanto a la producción de metabolitos secundarios encontramos Furanona y Trichorziaminas que son metabolito secundario peptídico con efecto antibiótico. A mayor cantidad de este último mayor inhibición de enfermedades provocadas por basidiomycetes (Horvath et al., citados por Casimiro, 2001).

Uno de los metabolitos secundarios volátiles identificado en *T. harzianum* es aquil pirona, capaz de inhibir gran cantidad de hongos *in Vitro*, entre ellos *R. Solani* (Fravel, citado por Casimiro, 2001). Otro de ellos es el 6 pentil- $\alpha$ -pirona (6PAP), cuya importancia radica en que es uno de los más conocidos y estudiados debido a su

actividad antifúngica. Además controla hongos como *Armillaria*, *Botrytis*, *Phytophthora in vivo como in vitro* (Cutler y Hill, citados por Casimiro, 2001). También redujo el crecimiento de *R. solani*, *F oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Algunos compuestos que produce *Trichoderma* como Trichodermina, Dermadina, Sequisterpeno, Suzukacillina, Alamethicina, Trichotoxina y Acetaldehido presentan propiedades antifúngicas y antibacteriales (Martínez et al.,s.f.)

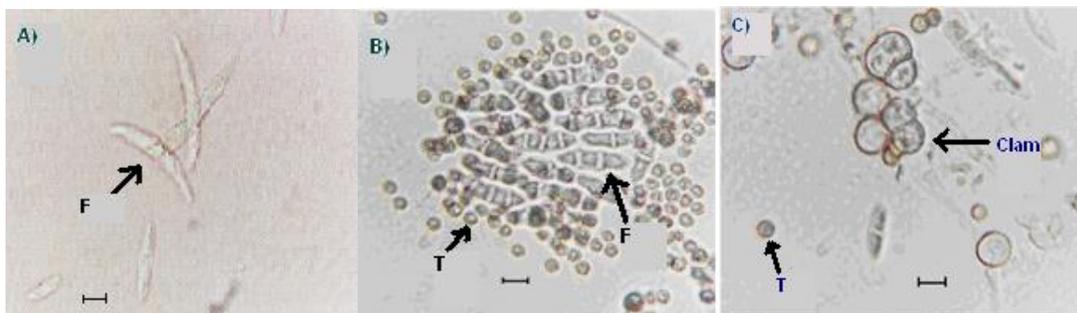
### Micoparasitismo

Ocurre cuando un hongo parasita a otro, donde el hongo antagonista se enrolla y penetra en el micelio del patógeno, creciendo las hifas dentro de las del huésped, provocando pérdida del protoplasma y dejando células vacías. También el antagonista forma estructuras en forma de abrazaderas, ganchos o apresorios que le permiten adherirse provocando lisis y huecos en las células del patógeno.

Existen 2 formas de micoparasitismo según Barnett y Binder, citados por Casimiro (2001): los biótrofos y los necrótrofos. Los primeros tienen un rango restringido de hospedantes y son capaces de obtener nutrientes de la célula viva del hospedero, existiendo pocos casos de biocontrol de este tipo. Los segundos matan a la célula antes o después de la invasión secretan sustancias tóxicas y utilizan sus nutrientes, uno de ellos es *Trichoderma spp*, *Phytium sp*, *Gliocladium sp*.

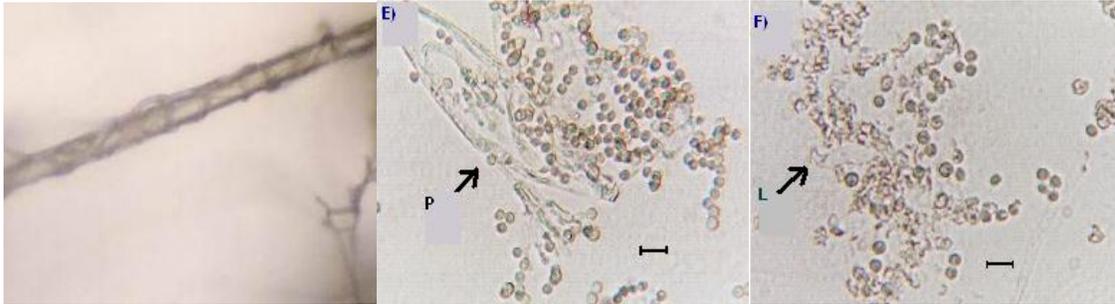
En las siguientes figuras se observan diferentes casos de micoparasitismo hacia diferentes patógenos, figura A: daño causado a los macroconidios de *Fusarium*, figura B: *Trichoderma* (T) rodeando macroconidios de *Fusarium*, figura C: formación de Clamidosporas por el patógeno debido al ataque del antagonista

Figura No.1 Diferente formas de micoparasitismo



Fuente: Quiroz et al. (2008)

En la siguiente figura D) se observa micoparasitismo de *Trichoderma* enrollando a *Rizopus*



Fuente: Quiroz et al. (2008)

En las dos últimas figuras se observan daños causados a las estructuras de *Penicillium*. En E) macroconidios en ausencia de *Trichoderma*, en F) destrucción y lisis de esporas y micelio causadas por el antagonista. Barras 5µm

Al igual que en el proceso de antibiosis el micoparasitismo está relacionado con la producción de enzimas hidrolíticas. Este proceso puede ser dividido en las siguientes fases:

- 1) Crecimiento quimiotrófico, esto se debe a estímulos producidos por el patógeno, donde *trichoderma* crece hasta ponerse en contacto con el patógeno.
- 2) Reconocimiento, en esta etapa se definen fenómenos de especificidad, donde *trichoderma* es específico a algunos patógenos.
- 3) Penetración, posteriormente *trichoderma* se envuelve, adhiere y penetra las hifas cubriéndolo totalmente. (figura D, *Trichoderma* con *Rizopus*). Como consecuencia se engrosan produciendo austorios y desorganización celular.
- 4) Secreción, luego de esto, por medio de la secreción de enzimas micolíticas, se produce la degradación de la pared celular del hongo fitopatógeno
- 5) Lisis, *Trichoderma* puede producir extracelularmente una serie de sustancias que provocan la lisis de la pared celular en los puntos de interacción con el antagonista, provocando una rápida desintegración (Norte, 2006).

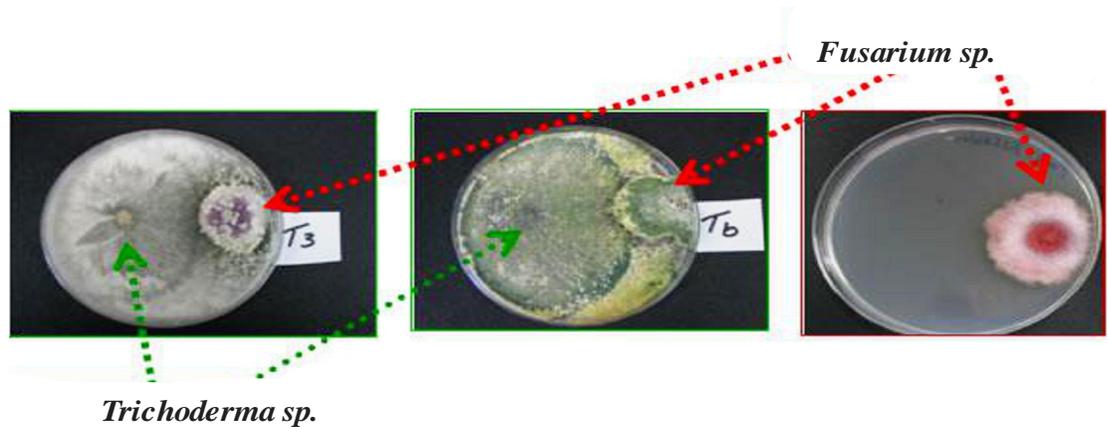
#### Competencia por espacio y nutrientes

Competencia se presenta cuando existe demanda de 2 o más microorganismos por el mismo recurso. Dentro de un nicho ecológico, la secreción de compuestos tóxicos hacia el patógeno le confieren una ventaja competitiva por espacio y nutrientes al antagonista. La causa más común de muerte de microorganismos es por inanición (Garret, citado por Casimiro, 2001) ya que requieren de nutrientes exógenos (donde los principales son: N, Carbono y hierro) para germinar, penetrar e infectar al hospedero (*Tricofung funguicidaí s.f.*).

Se encontró que *Trichoderma* (T-35) competía con *Fusarium* spp por nutrientes y espacio (Sivan y Chavet, citados por Casimiro, 2001). Según Norte (2006),

*Trichoderma* actúa sobre los patógenos debido a la capacidad de colonizar rápidamente el sustrato.

Figura No.2 Acción de *Trichoderma* frente a un hongo patógeno



En las imágenes podemos apreciar la capacidad antagonista de 2 cepas de *Trichoderma sp* frente a *Fusarium sp.* en medio de cultivo PDA.

#### Inactivación de enzimas del patógeno

*Trichoderma harzianum* posee enzimas llamadas proteasas que degradan las enzimas que poseen los hongos fitopatógenos y que atacan la pared celular de las plantas. Las enzimas que degradan las paredes celulares de las plantas son las enzimas pectinolíticas extracelulares (Elad, citado por Añon et al., 2004). Este es uno de los mecanismos que utiliza *Botytis cinerea* y que es controlado por las proteasas de *Trichoderma* (Morera, 2007).

#### 2.6.2.2. Indirectos

#### Producción de fitohormonas

No están identificados los mecanismos que inciden directamente sobre el desarrollo de la planta, aunque si se conocen los efectos o la respuesta de *Trichoderma* a la colonización de raíces. Los efectos provocados por la producción de fitohormonas o compuestos similares son claramente visibles y como consecuencia se observa una bioestimulación sobre el crecimiento radicular, pues promueve el desarrollo de de las raíces, incrementando la masa radicular y mejorando la asimilación de nutrientes y

humedad aumentando la resistencia frente a situaciones de estrés biótico (Podile y Kishore, 2006).

También promoción del crecimiento vegetal, aumento del poder germinativo de las semillas, inducción de una floración más abundante y temprana, incremento en la producción, aumento en la biomasa, aumento en altura y peso de las plantas . Esto incluye también un incremento en el peso de las plántulas, como un aumento en el peso de las plantas de frijol, en el peso de los brotes de plántulas de plántulas de manzanas más largas y vigorosas aumento en el crecimiento del sistema radicular de plantas de maíz dulce también existe una interacción sinérgica entre el antagonista y un hongo micorrízico en el desarrollo de *citrus reshii* (Mondino y Vero, 2006).

Experimentos realizados con *Trichoderma* por el dpto. de Fitopatología en la Universidad de Colorado, comprobaron el incremento en el crecimiento de plantas de crisantemos, petunias, tomates, pimienta, lechugas, zanahorias, col, pepino, algodón, guisantes, frijoles, etc. UNIVERSIDAD DE ZULIA (VENEZUELA). FA (s.f.)

#### Solubilización y absorción de nutrientes

*Trichoderma* también produce una cierta capacidad de solubilización de metales, como de zinc, manganeso, hierro, cobre, etc, convirtiéndolo en formas asimilables por la planta. Este antagonista necesita para su desarrollo fuentes de carbono difícilmente biodegradables como ligninas y celulosas, por ello es capaz de movilizar nutrientes del suelo mediante la secreción de enzimas extracelulares transformando compuestos nitrogenados orgánicos en inorgánicos, como amonio, compuestos fosforados orgánicos, etc. Esta solución de nutrientes puede ser utilizada por el árbol, incrementando su resistencia (Norte, 2006).

Para el caso del manganeso *Trichoderma* tiene la capacidad de solubilizarlo sin importar el pH del medio ni la disponibilidad del mismo, este microelemento es importante para diferentes funciones fisiológicas de las plantas, como fotosíntesis, metabolismo del nitrógeno, síntesis de compuestos aromáticos como precursores de aminoácidos y hormonas, de fenoles y lignina, por lo tanto tiene un rol importante en el crecimiento y resistencia a enfermedades (Altamore et al., 2006).

#### Biorremediación del suelo

*Trichoderma* tiene enzimas especializadas que contribuye a la simplificación de moléculas complejas como pesticidas. Tiene la capacidad de degradar compuestos clorados, cloro fenoles, y otros insecticidas como el DDT, endosulfán, pentacloronitrobenzeno, aldrin y dieldrin. También herbicidas como trifluralin, y glifosato (Norte, 2006).

### 2.6.3 Inducción de resistencia como mecanismo de biocontrol

En la actualidad, el concepto de inducción es ampliamente aplicado a múltiples reacciones de defensa que se inducen y agrupan tanto a nivel histológico de barrera física como bioquímico con la síntesis de novo de proteínas relacionadas con la patogenicidad (=PR, Protein Related). Todos ellos están gobernados genéticamente.

Los seres vivos inclusive las plantas han desarrollado mecanismos de defensa muy poderosos contra sus invasores. Entonces se puede inducir resistencia, en productos cosechados mediante el uso de luz ultravioleta, compuestos naturales de las plantas como el quitosano (producto de la acetilación de la quitina) y también por el uso de microorganismos antagonistas.

#### 2.6.3.1 Tipos de resistencia inducida

Para realizar la evaluación de la presencia y acción de *Trichoderma* en los plantines de *Eucalyptus*, se analizaron procesos complejos relacionados con la interacción planta-hongo, analizada esta última como una interacción patogénica. Frente a un ataque patogénico, ya sea causado por hongos, bacterias, virus o condiciones ambientales adversas, las plantas reaccionan con una amplia gama de respuestas de defensa que son las mismas que se inducen frente a la interacción con microorganismos saprófitos agentes de biocontrol, entre los que se encuentran los siguientes géneros *Trichoderma*, *Bacillus* y *Pseudomonas* (Ezziymani et al., citados por Negrone et al., 2008).

La interacción planta-patógeno como microorganismos biocontroladores pueden generar mecanismos de resistencia inducida en el hospedero. Esta interacción se encuentra mediada por la teoría gen por gen entre el gen de resistencia de la planta (R) y un gen avirulento en el patógeno (Avr) (Flor, citado por Mondino y Vero, 2006). Estas son de dos tipos:

- 1) compatible
- 2) incompatible.

En el primer caso, los mecanismos de defensa de la planta no se activan rápidamente o porque cualquiera de los dos genes está inactivo o ausente, por lo cual se hace imposible impedir que la enfermedad se produzca. Para el segundo caso estos mecanismos de defensa se activan en tiempo y forma para impedir la enfermedad, o sea los genes R y Avr están presentes en el hospedante y patógeno, los productos del gen R reconocen las señales del gen Avr y disparan una cadena de señales que terminan con la activación de los mecanismos de defensa y detienen el crecimiento del patógeno.

La resistencia de la planta frente a enfermedades producidas por patógenos u organismos saprófitos depende de que la planta sea capaz de reconocerlos al inicio del proceso de infección. En primera instancia se produce una rápida necrosis del tejido en el sitio de infección, fenómeno llamado respuesta hipersensitiva. Esta se caracteriza por:

- Privar al patógeno de fuentes inmediatas de energía y nutrientes
- Liberar moléculas tóxicas
- Confinamiento del crecimiento del patógeno a un área reducida

Cuando las plantas son atacadas por patógenos como ser hongos, bacterias, virus, entre otros factores adversos, el daño generado en estas dependerá del balance entre: la resistencia natural de la planta a ese determinado patógeno y de la virulencia del mismo. Las plantas no poseen mecanismos de resistencia específicos, pero si cuentan con mecanismos de barreras fisicoquímicas preexistentes en las plantas o inducidas tras el contacto con el patógeno.

Cuadro No. 3 Mecanismos de defensa en vegetales

<b>BARRERAS</b>	<b>PREEXISTENTES</b>	<b>INDUCIDAS</b>
<b>FÍSICAS</b>	pared celular	Lignificación
	Cutículas	Muerte de la célula huésped (necrosis)
	Ligninas	Inducción de lipooxigenasa e hidrolasas
	Otros (estomas lenticelas)	Formación de papilas (callosidades)
		Oclusión de vasos
		Glicoproteínas ricas en hidroxiprolina
<b>BIOQUÍMICAS</b>	Componentes antimicrobianos o metabolitos secundarios: Glucósidos Cianogénicos (ac. Hidrociánico)	Formación de fitoalexinas: fenoles, terpenoides, Poliactenos, derivados de los ac. Grasos.
	Terpenoides (saponinas, cucurbitacinas)	Ac. Salicílico (activación de genes)
	Compuestos fenólicos (camarinas, tanino flavonoides, ligninas)	Proteínas relacionadas con la patogénesis de resistencia
	Ac. Hidroxámico	sistémica (PRS)

**Barreras preexistentes:** entre estas encontramos barreras que impiden la entrada de patógenos como ser la pared celular, lignina, cutículas, apertura de estomas, lenticelas, etc. Mucho de los patógenos deben contar con las enzimas hidrolíticas necesarias para destruir estas barreras y poder infectar la planta (peptinasa, cutinasa,

etc). Otra de las barreras bioquímicas es la acumulación de metabolitos secundarios, las cuales tienen propiedades antimicrobianas y actúan en el lugar de infección.

**Barreras inducidas:** éstas constan de la puesta en marcha de mecanismos de defensa local como lignificación, formación de papilas, enriquecimiento de la pared celular con glicoproteínas ricas en hidroxiprolina, oclusión vascular además de la acumulación de sustancias antimicrobianas como fitoalexinas.

Según González (1999), la capacidad de la planta de defenderse en regiones lejanas a la zona de lesión, le llama Resistencia Sistémica Inducida o Adquirida, sin diferenciarlas. Pero la resistencia inducida puede clasificarse en dos tipos:

- Resistencia sistémica adquirida SAR (systemic acquired resistance)
- Resistencia sistémica Inducida ISR (induced systemic resistance)

Ambas difieren en el origen de la señal que las induce, tipo de respuesta y tipo de la señal que coordina la respuesta de resistencia a distancia (Camarena 2006, Mondino y Vero 2006)

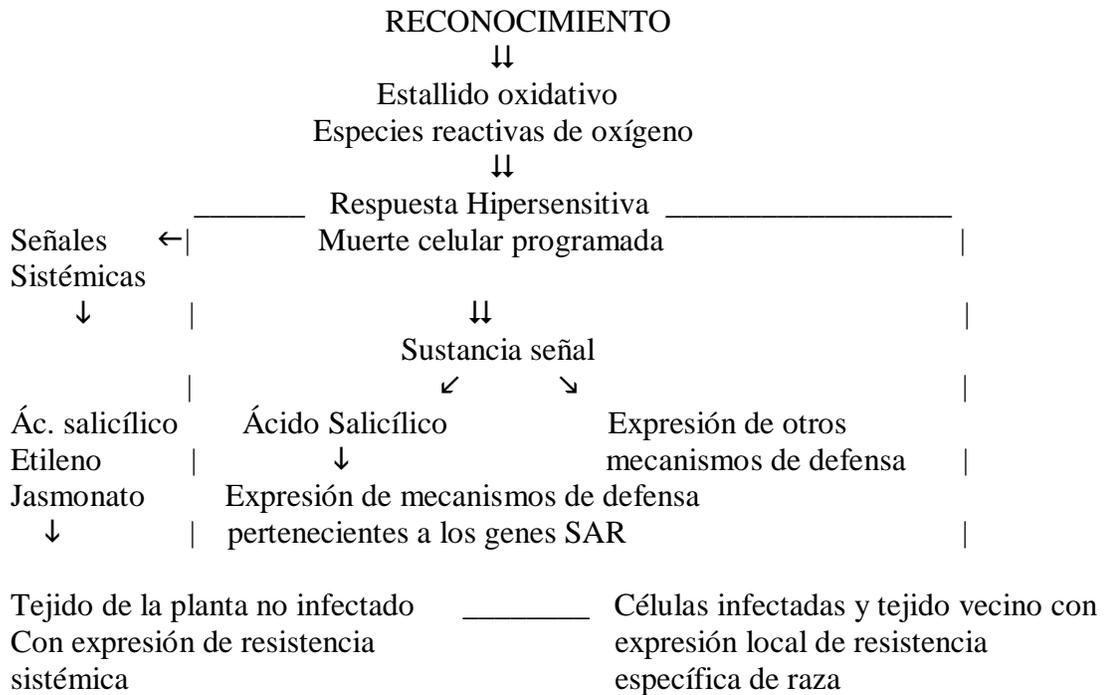
La resistencia sistémica inducida es generada por la presencia en la raíz de rizobacterias promotoras del crecimiento. Las rizobacterias son bacterias que se encuentran en gran cantidad, están asociadas a la superficie de la raíz y se alimentan de los exudados radiculares, a la vez se dice que benefician a la planta ya sea promoviendo su crecimiento o como biocontroladores de patógenos. Existen casos en donde se ha demostrado que estas rizobacterias inducen resistencia a patógenos en lugares alejados de la planta sin dañar al hospedero. Para que ocurra esto debe haber una interacción planta-bacteria mediada con la producción de sideróforos o lipopolisacáridos que provienen de la segunda antes mencionada (Ramamorthy et al., citados por Mondino y Vero, 2006).

Al igual que SAR, la ISR es inespecífica y de amplio espectro. Existen varios experimentos que corroboran esto, por ejemplo la colonización de plantas de tomate con rizobacterias de *Bacillus cereus* indujo resistencia frente a: *Alternaria solani*, *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria*, *Stemphyllium solani* y *Oidium lycopersici*. El efecto que genera en planta es el fortalecimiento de la pared celular además de las alteraciones fisiológicas y metabólicas (por ejemplo inducción de proteínas relacionadas con la patogénesis como quitinasas, peroxidasas, pero en otros casos se evidenció producción de polifenoloxidasas, fitoalexinas, etc.). Estas rizobacterias inducen resistencia mediante procesos que involucran etileno y jasmonato con señales (Compact, citado por Mondino y Vero, 2006).

La resistencia sistémica adquirida es causada por patógenos, respuestas de hipersensibilidad o sustancias químicas naturales como sintéticas que causen daño en la planta. Estas inducen reacciones de resistencia contra subsecuentes infecciones de

patógenos dispersando esta capacidad en toda la planta. Uno de los requisitos esenciales para que se de la SAR es que la primera infección causada por un patógeno genere una lesión necrótica, resultado de una muerte celular programada luego de una interacción incompatible.

Cuadro No. 4 Expresión de la resistencia sistémica adquirida



Fuente: Camarena y Torre (2007).

En la respuesta frente a factores adversos del ambiente o contra patógenos, se observa una rápida producción de ERO (especies reactivas de oxígeno) o ROS (Reactive Oxygen Species), de allí surge el término de estallido oxidativo. La producción de ROS se da cuando existe un reconocimiento del patógeno por el gen de resistencia y se da la activación de las defensas. Las principales ROS son: peróxido H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y anión peróxido O<sub>2</sub><sup>-</sup>. ROS presenta una acción tóxica directa sobre los patógenos o sobre las células en contacto directo sobre ellas, además actúa orquestando el establecimiento de las reacciones de defensa a nivel génico o a través del fortalecimiento de la pared celular, también participa en la respuesta hipersensitiva.

Otra característica es que la SAR es efectiva contra un amplio rango de patógenos y su efecto es a largo plazo. Por ejemplo: se ha demostrado en pepino que una primera infección con *Colletotrichum lagenarium*, que es el agente causal de la

antracnosis, genera una respuesta de resistencia inducida frente al ataque de patógenos ya sea hongos, bacterias como virus (Sticher et al., citados por Mondino y Vero, 2006).

Las primeras reacciones que se producen de SAR en las células más distantes de la planta con respecto a la zona infectada, son la síntesis de proteínas relacionadas con la patogénesis, llamadas PR, dentro de las cuales encontramos enzimas capaces de hidrolizar polímeros constituyentes de las paredes celulares de los hongos; como ser las enzimas  $\beta$ -1,3 glucanasa, endohidrolasas, quitinasas, inhibidores de enzimas como la taumatina, inhibidores de amilasa y proteasas, capaces de hidrolizar las paredes celulares de los hongos, entre otros. Dentro de este grupo encontramos las enzimas peroxidasas cuya función consiste en contribuir a la resistencia fortaleciendo la pared celular (Bradley et al., citados por Camarena y Torre, 2007).

Según Clark et al., citados por Ortiz (2007), en la síntesis proteica, las modificaciones a nivel postraduccionales juegan un rol muy importante en las diferentes cascadas de señalización de respuestas frente a condiciones adversas en la planta. Dichas respuestas desencadenadas por las señales de transducción incluyen la regulación de la expresión genética como la activación de genes, la regulación de una vía metabólica. La señalización a respuestas de estrés en plantas, como la división celular, están mediadas por las MAP quinasas, así como auxinas, ácido abscísico, etileno y citoquininas.

Entre otros de los efectos provocado por los patógenos incompatibles es la acumulación de ácido salicílico y benzoico. La cantidad dentro de la célula del primero está relacionada a la regulación de los niveles de las especies reactivas de oxígeno. Cuando los niveles de ácido salicílico como H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> son altas, los niveles de ERO también lo están, liberando la síntesis de proteínas PR.

Debido a la importante participación de las peroxidasas, ya sea en el fortalecimiento de la pared celular como en la relación con la producción de las especies reactivas de oxígeno en la interacción planta-hongo (*Trichoderma*) se estudiarán a continuación diferentes métodos para la determinación de esta enzima. A través de métodos como tinción histoquímica, electroforesis, etc. Sumado a que esta enzima ha sido estudiada en varias ocasiones como ser: en el estudio de diferentes isoformas de peroxidasa en *Gladiolus sp.* a partir de extractos de hojas, en corrimiento en geles de poliacrilamida (Ortega et al., s.f.). También se ha estudiado dicha isoenzima para la caracterización genética de *Paspalum urvillei* (Calviño, 2006).

Utilizando hojas de plantas de café de 2 a 3 años de edad, de la especie *Coffea arabica*, y de las variedades Típica, Borbón, Catimor, Caturra y otras de la especie *Canephora*, se determinaron las peroxidasas con el uso de tres sustratos diferentes, a saber: benzidina, ortodanisidina y guayacol, y utilizando varios métodos. Como trabajo

de laboratorio para el estudio de la actividad enzimática utiliza la electrofóresis para localizar las isozimas de la peroxidasa en hojas de café.

En un ensayo realizado en el laboratorio de semillas de INTA e INASE (Craviotto et al., s.f.) se estudiaron semillas de distintos cultivares de soja por medio de técnicas en base a Guayacol y Benzidina con objetivo de determinar la actividad de peroxidasas. Se determinó que ambos son eficientes para detectar la actividad de la enzima peroxidasa, donde Benzidina mostró ventajas por su facilidad operativa y rapidez.

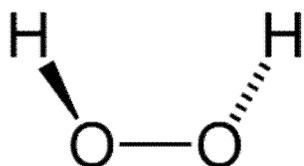
Para medir el número de moléculas de la IgG asociadas a la membrana plaquetaria se estudio la población con púrpura trombocitopenica auto inmune crónica (PTA) que es cuando hay fagocitosis de plaquetas, se uso la técnica de inmuneperoxidasa, se empleo un anticuerpo marcado con peroxidasa donde la actividad enzimática se rebeló con ortodiansidina-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Estudios realizados por Negrone et al. (2008) evaluaron la actividad de la enzima peroxidasa para determinar la posibilidad de que *Trichoderma harzianum* induzca resistencia en plantines de *Pinus taeda*.

#### 2.6.4. Peroxidasas

Las peroxidasas son enzimas oxidorreductasas que están presentes en muchos tipos de células y promueven la oxidación con la transferencia de iones de hidrógeno a peróxido de hidrógeno formando moléculas de agua. Cataliza un amplio número de sustratos orgánicos como inorgánicos utilizando el poder oxidante del peróxido de hidrógeno.

Donante + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>      Donante oxidado + H<sub>2</sub>O



Los peróxidos se forman en pequeñas dosis en procesos de oxidación natural, pero para evitar la acumulación hacia concentraciones que provoquen daños, se utiliza una enzima (peroxidasa) que cataliza el peróxido de hidrógeno y lo transforma en agua y oxígeno elemental.

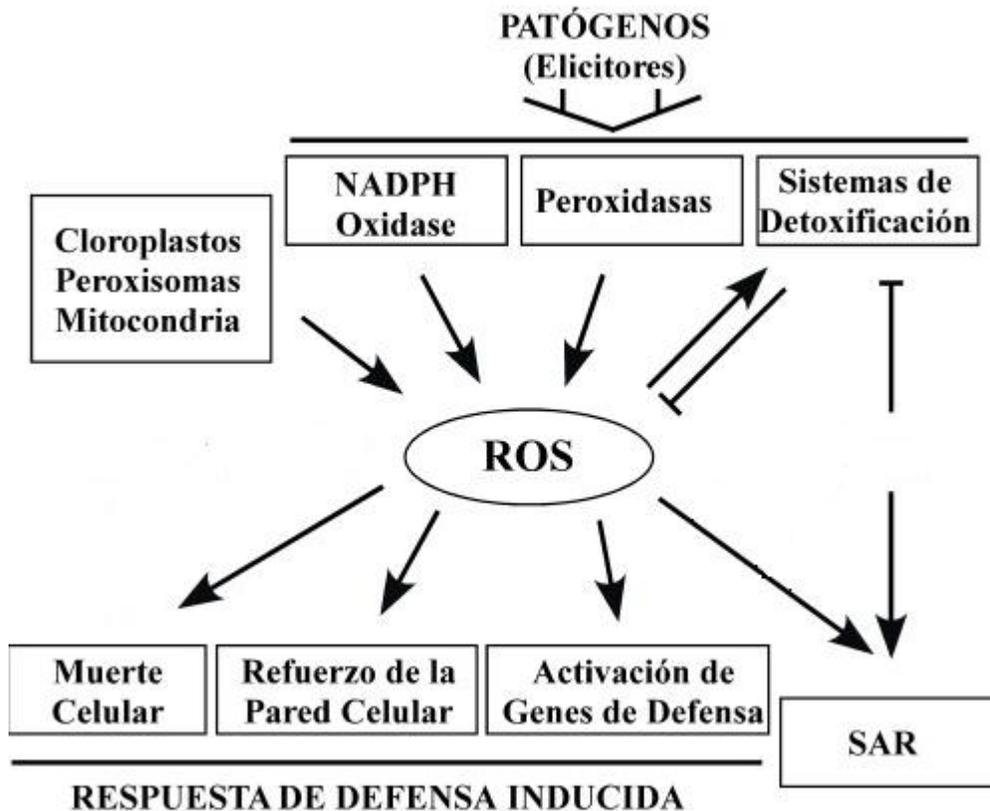
En los vegetales se ha analizado la peroxidasa del rábano, la cual es muy estudiada en técnicas inmunoquímicas por su gran estabilidad y facilidad para detectarla con métodos colorimétricos.

Las peroxidasas forman parte las proteínas relacionadas con la patogénesis (PRP), asociadas al mecanismo de resistencia inducida de la planta (SAR). Estas proteínas incluyen enzimas capaces de hidrolizar polímeros constituyentes de las paredes celulares de los hongos, así como procesos que lignifican las paredes celulares de la planta limitando la entrada de patógenos. Peroxidasa fortalece la pared realizando uniones cruzadas de glicoproteínas ricas en hidroxiprolina (Bradley et al., citados por Camarena, 2007).

Las peroxidasas de la pared celular también contribuyen a la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), en la interacción planta-patógeno. Las ROS, son derivados del oxígeno que actúan en la respuesta de defensa de la planta, entre las cuales se encuentran:

- anión superóxido
- O<sub>2</sub> (oxígeno singlete)
- NO

Cuadro No.5 Producción de ROS y sus funciones en la defensa de la planta



Estos compuestos son altamente reactivos, lo que implica en la planta una producción/detoxificación. Presenta una correlación con el establecimiento de las defensas de la planta, dada por su efecto tóxico directo sobre los patógenos como sobre las células que están en contacto directo con ellos. Actúa a nivel de la expresión génica, o sea activando genes de defensa; fortaleciendo la pared celular; participando en la muerte celular programada contribuyendo a limitar la diseminación del patógeno (Torres, 2007).

Las peroxidasas actúan tanto en la producción como en la detoxificación de ROS, esta última contribuye a mantener la homeostasis en los distintos compartimentos de la célula restringiendo el daño provocado por esta. Este sistema de producción/detoxificación nos permite controlar los niveles de ROS regulando en forma precisa y controlada el mecanismo de defensa de la planta (Torres, 2007).

#### 2.6.5 Métodos de medición de peroxidasas

##### 2.6.5.1 Tinción histoquímica

La metodología consiste en la tinción histoquímica de tejidos para la determinación de la actividad enzimática. Esta metodología mide el efecto cualitativo por cromatografía, el cual puede ser eficiente para detectar la presencia de peroxidasa en especies vegetales, como plantines de *Eucalyptus*<sup>2</sup>

Se utiliza la tinción histoquímica cuando se pretende visualizar a través de la coloración, un producto final específico. Esta metodología nos permite visualizar claramente una enzima de las del resto. Tiene como objetivo poner de manifiesto la presencia de una enzima determinada, por medio de la incubación a 37°C, empleándose el sustrato sobre el cual actúa la enzima. Este medio de incubación debe incluir también la presencia de cofactores necesarios para que se produzca o se favorezca la reacción enzimática (Calviño, 2006).

Una enzima es una proteína con actividad catalítica, que tiene la capacidad de actuar sobre un sustrato, modificarlo y formar un producto. Si conseguimos hacer precipitar el producto en el mismo lugar donde se forma estaremos marcando el lugar donde se encuentra la enzima. Este método detecta selectivamente determinadas enzimas mediante la adición de los sustratos de la reacción bioquímica que catalizan y luego tinción de los productos resultantes.

<sup>2</sup>Pereira, J. 2008. Com. personal

Diferentes usos de las tinciones histoquímicas:

a) Para la demostración de enzimas hidrolíticas:

Fosfatasa

Fosfatasa alcalina

Fosfatasa ácida

Fosfatasa específicas (5' nucleotidasa, IDPasa)

Glucosa 6 fosfato

Esterasa

Esterasa no específicos

Lipasa

Colinesterasa

b-Glucuronidasa

Leucina

Amino peptidasa

b)- Para la demostración de enzimas oxidativas:

Oxidasas

Tirosinasa

Monoaminooxidasa

Citocromo oxidasa

Peroxidasa

Deshidrogenasa

Diaforasa

### Aspectos técnicos

Precauciones: utilizar material de vidrio extremadamente limpio y utilizar soluciones frescas (recién preparadas) a menos que se indique lo contrario.

Hay que tener en cuenta la fijación que se ha llevado a cabo puesto que algunos fijadores pueden interferir o impedir que se produzca la reacción histoquímica que se pretende. Es importante también tener en cuenta el pH y buffer de extracción o tampón de extracción de proteína, ya que éstos pueden inhibir o favorecer la actividad enzimática (Calviño, 2006).

Algunas de las técnicas histoquímicas, principalmente las histoenzimáticas no funcionan bien sobre cortes en parafina, pero si lo hacen bien si los tejidos se procesan por congelación con o sin fijación química (Métodos histoquímicosí s.f.)

### 2.6.5.2 Electroforesis isoenzimática

#### Definición

El término de electroforesis fue creado en el año 1909 por Michaelis y trata sobre la migración de iones a través de un campo eléctrico, en donde las moléculas de carga negativa migran para el polo positivo, y las cargas positivas al polo negativo (Brune y Alfenas, 1998).

En Markert y Moller, citados por González (s.f.) definieron isoenzimas, como las distintas formas moleculares de una misma enzima, las cuales tienen la misma especificidad enzimática y actúan sobre el mismo sustrato, pueden diferir en los aminoácidos presentes. Estas isoenzimas son fácilmente identificables mediante la

técnica de electroforesis, donde varían en su movilidad cuando son sometidas a un campo eléctrico. La suma de las cargas parciales de los aminoácidos presentes determina la carga eléctrica bruta o carga total de la proteína. Las moléculas con cargas positivas migran hacia el polo negativo y las de carga negativa hacia el polo positivo.

Las causas en la variabilidad de una misma enzima (isoenzimas) son: causas genéticas o sea por diferencias en la secuencia de nucleótidos del ADN; o por cambios a nivel postraduccionales (Rossi, 2010).

Es una técnica simple, rápida, de bajo costo, aporta alto valor informativo y actualmente es una de las más usadas. Es utilizada en la identificación y determinación de pesos moleculares de proteínas para estudios taxonómicos, fisiológicos y genéticos y, en la caracterización de moléculas como ácidos nucleicos.

Para el caso de la determinación de isoenzimas, como peroxidasas en plantas, la técnica consiste en colocar un extracto proteico de tejido en un medio de soporte ya sea papel, almidón, poliacrilamida, entre otras, y someterlo a un campo eléctrico. Las diferentes isoenzimas van a migrar en el campo según su carga eléctrica. Luego se coloca el soporte en una matriz de agarosa y solución de coloración (con sustrato, activador(es), coenzima(s), enzima de ligación y reveladores). Posteriormente se observan bandas de colores en el gel.

Calviño (2006) estudió la caracterización genética de *Paspalum urvillei* mediante la técnica de electroforesis isoenzimática de peroxidasas, donde se utilizaron extracto proteico a partir de 80 mg. de macerado de hojas en 300µm de tampón de extracción. La migración se llevó a cabo en una placa de celulosa con un tiempo de migración de ensayo de 25 a 30 min, con un voltaje de 220 v.

### Principios básicos físico-químicos

Al aplicarse un determinado voltaje al sistema, genera una diferencia de potencial entre los polos positivo y negativo del campo, y por ende la intensidad del campo eléctrico. Entonces a mayor voltaje, mayor diferencia de potencial, mayor intensidad de campo eléctrico (leyes fundamentales de la electricidad) y mayor velocidad de migración.

La fuerza iónica de la solución tampón debe mantenerse a un nivel adecuado para garantizar la solubilidad de la muestra y suficiente capacidad amortiguadora. Además el tiempo de corrida cuanto mayor es, favorece una correcta separación de las bandas. Si el tiempo de corrida es muy corto se afecta la dispersión de las muestras y ensanchamiento de las bandas (García, 2000)

Para el caso de la electroforesis de proteínas, algunos aminoácidos de éstas pueden estar ionizados (cargas positivas o negativas), dependiendo del pH del medio donde se encuentran y de la suma de cargas parciales de los aminoácidos presentes en ella (carga eléctrica bruta o total).

### Selección del tejido

La gran variabilidad de las isoenzimas en cuanto a su forma, abundancia y especificidad por tejido o por célula, me permiten la evaluación de materiales genéticos en base al estudio de estas.

Para aislar la sustancia deseada y evitar su descomposición se debe utilizar el tejido y la solución de extracción adecuada. Los tejidos más utilizados, por su facilidad de obtención y extracción, son las hojas, polen, raíces y semillas. Según Wendel y Weeden, citados por Alexandra (2007), se prefiere tejido fresco para el análisis.

### Solución tampón de extracción

La solución tampón o buffer (mantiene el pH dentro de un rango específico) tiene como objetivo controlar los factores ambientales físico químicos capaces de inactivar las enzimas, a las cuales son sometidas durante el proceso de extracción. Estos factores físicos químicos pueden ser: oxidaciones, variaciones de pH y formación de complejos con otros compuestos celulares.

Algunas de las soluciones tampón más utilizadas son Tris HCL, Tris Borato, etc que evitan cambios bruscos en el pH, también se utilizan estabilizadores osmóticos

como sacarosa, manitol, etc, junto con antioxidantes como ser ómercaptoetanol, polivinil pirrolidona. También son utilizadas sustancias estabilizantes de las proteínas como ser glutatión y a veces se necesitan sustancias que rompan los enlaces entre proteína-proteína o lipoproteicos como detergentes no iónicos (Alexandra, 2007).

## 2.7. PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO

### 2.7.1. Microorganismos promotores del crecimiento

#### Biofertilización

En la rizósfera existen interacciones importantes entre la planta, el suelo y los microorganismos, siendo estos últimos determinantes del crecimiento y desarrollo del cultivo. Entre los microorganismos influyentes se encuentran hongos Actinomycetos y bacterias.

Algunas de estas bacterias crecen en la rizósfera de las plantas y varios géneros de ellas promueven el crecimiento de las mismas. A estas bacterias se las denominó rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR por su sigla en ingles). (Kloepper y Schroth, citados por Mondino y Vero, 2006).

Dentro de este grupo de bacterias se encuentran *Azotobacter* spp., *Azospirillum* spp., *Acetobacter* spp., *Pseudomonas* spp., y *Rhizobium* spp.

En la rizósfera de las plantas también habitan hongos con capacidad de promover el crecimiento vegetal, donde se encuentran ascomycetes (*Penicilium*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Phoma*, *Gliocladium*) y oomycetes (*Pythium*, *Phytophthora*). También se incluyen cepas avirulentas o hipovirulentas de patógenos.

Por ejemplo bacterias *Pseudomonas fluorescentes* favorecen el crecimiento de las plantas aportando nutrientes y factores de crecimiento. Por un lado solubilizan el fósforo insoluble (orgánico y mineral) y por otro lado se ha encontrado que estas bacterias pueden producir antibióticos que controlan a otros microorganismos patógenos (hongos y bacterias) o compiten con estos mediante la producción de sideróforos de alta afinidad con el hierro.

Algunos de estos microorganismos rizoféricos tienen la capacidad de fijar nitrógeno en forma libre, y otros lo hacen en forma asociativa con las plantas.

Las Rizobacterias son utilizadas como promotores de crecimiento debido a su agresividad en la colonización de las raíces, rápida multiplicación y por su capacidad de competición con la microflora (Antoun et al., 2005). La fitoestimulación es realizada por la producción de hormonas como por ejemplo auxinas, citoquininas y giberelinas. El biocontrol consiste en la inducción de resistencia a patógenos RSI, (como ya fue mencionada en el capítulo de control biológico), de competencia por espacio y nutrientes, solubilización de nutrientes y producción de metabolitos anti-fúngicos.

La utilización de los PGPR incrementa el rendimiento del cultivo, reduce el uso de fertilizantes químicos como el de pesticidas, protegiendo así el ambiente. Aproximadamente existen 20 productos comerciales formulados en base a: *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Streptomyces* (Blomberg y Lugtemberg, citados por Mondino y Vero, 2006).

Las Rizobacterias más conocidas son las fijadoras de nitrógeno como: *Rizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium* y *Allorhizobium*. Dentro de este grupo se destaca *Rizobium* que es una bacteria fijadora de nitrógeno en simbiosis con las plantas. En simbiosis con las leguminosas induce la formación de nódulos radiculares, en los cuales las bacterias fijan N atmosférico y lo transforman en N amoniacal. Mientras la planta provee de fuentes carbonadas a la bacteria.

Dentro de las bacterias y hongos que promueven el crecimiento, y controlan enfermedades como *Botrytis Cinerea*, *Coletotrichum spp.*, *Fusarium spp.*, tenemos los géneros, *Burkhalderia*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Herbospirillum*, *Acetobacter*, *Rhizobium*, *Azotobacter* y también hongos como *Trichoderma spp.*

### 2.7.2. Mecanismos de promoción de crecimiento

Los mecanismos de acción de los PGPR y PGPF pueden ser directos o indirectos.

a) indirectos: Mediante el control de patógenos de plantas, los PGPR y PGPF pueden suprimir o inhibir el crecimiento de microorganismos perjudiciales para el desarrollo de las plantas, mediante la producción de antibióticos, enzimas líticas (glucanasas, quinasas) o compitiendo con estos por factores de crecimiento (Ej. Competencia por Fe en el suelo por la vía de producción de siderofóros) o induciendo mecanismos de resistencia. Como ya fue mencionado en el capítulo de control biológico.

b) directos: Los PGPR y PGPF (plant growth-promoting fungi) pueden aumentar la disponibilidad de nutrientes minerales solubilizando nutrientes poco solubles como por ejemplo el fósforo, fijando nitrógeno, o favoreciendo la absorción al aumentar el desarrollo radicular.

También estos microorganismos pueden producir fitohormonas como auxinas, citoquininas, o giberelinas, hormonas que estimulan el crecimiento.

Otra manera de estimular el crecimiento vegetal es mediante la producción de enzimas que degradan a los precursores de hormonas inhibitorias del crecimiento como el etileno.

La conjunción de mecanismos directos e indirectos ha dado como resultado la promoción evidente del crecimiento de plantas, donde se ha observado un incremento en la emergencia, el vigor, el peso de plántulas, un mayor desarrollo en sistemas radiculares y un incremento de hasta 30% en la producción de cultivos de interés comercial, tales como papa, rábano, tomate, trigo y soja.

Una función muy importante de las bacterias en suelos ácidos, es la solubilización de fósforo, calcio, hierro y aluminio. La solubilización de fósforo ha sido postulado como uno de los posibles mecanismos de promoción de crecimiento por los PGPR, pues este es uno de los elementos esenciales para las plantas, siendo al mismo tiempo uno de los nutrientes esenciales para las plantas y menos solubles del ambiente, solo el 5% del presente en el suelo es aprovechable por las plantas (Epstein, citado por Dobbelaere et al., 2003).

El uso de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV) en árboles como *Anacardium excelsum*, de origen sudamericano permitió obtener una mayor germinación, mayor crecimiento en plántulas y mayor longitud de tallos y raíces (Barreto et al., 2007).

También fue evaluado el crecimiento *Pino taeda* y *elliottii*, con *Bacillus* de PGPR observándose un incremento en la tasa de germinación de ambas especies, en el número de semillas por rama y en el peso de brotes (Koepler et al., 2004).

Los hongos micorríticos arbusculares también se han usado como agentes de biorregulación de crecimiento, biofertilizantes, y biocontrol. El mecanismo como benefician a las plantas es por medio de la actividad del micelio externo del hongo que determina una mayor capacidad de absorción de nutrientes del suelo mediante la extensa red de hifas que el hongo puede generar. Por lo tanto la actividad del hongo aumenta la superficie de exploración radicular más aun cuando se han agotado los nutrientes de la zona del suelo adyacente.

Los beneficios que brindan estos organismos son mayores en suelos deficientes de fósforo, donde las plantas inoculadas con estos hongos presentan una mayor tasa de crecimiento, beneficiadas por el incremento en la exploración del suelo mas allá de las raíces absorbentes y pelos radicales (Donoso et al., 2008).

Entre los géneros de hongos más importantes que favorecen la nutrición de la planta, ayudando en la promoción del crecimiento encontramos: *Streptomyces*, *Nocardia*, *Thermoactinomyces*, *Frankia*, y *Actinomyces*.

### 2.7.3. Trichoderma como promotor de crecimiento

El género *Trichoderma* ha sido relacionado con la promoción de crecimiento vegetal. Los posibles mecanismos que explican la promoción de crecimiento según Inbar (1994) en *Trichoderma* son:

- Control de patógenos de menor importancia
- Producción de hormonas
- Producción de vitaminas
- Conversión de materiales no utilizables en utilizables (solubilización de minerales)
- Aumento en la absorción de minerales
- Aumento en la traslocación de minerales

La promoción de crecimiento está relacionado con la habilidad que posee para hacer que las raíces sean más robustas. Influye hasta en las raíces que se encuentran a mayor profundidad por lo que son más resistentes en las sequías. En algunos casos las raíces colonizadas con *Trichoderma* spp. necesitan menos nitrógeno que las que no han sido colonizadas (hasta un 40% menos) lo que implica menor gasto en fertilizante, y menos contaminante del ambiente (Donoso et al., 2008).

Los mecanismos de promoción del crecimiento de *Trichoderma* son pocos conocidos pero estarían involucrados mecanismos de control de microorganismos patógenos, que implicarían competencia por sitio, por sustratos en la superficie de la planta, antibiosis y producción de enzimas líticas como se mencionó anteriormente.

En un estudio del crecimiento de plántulas de *Pinus radiata* en vivero con y sin agregado de *Trichoderma harzianum* al sustrato, se pudo demostrar que este hongo indujo un aumento en el desarrollo radicular, de la planta permitiendo un mejor aprovechamiento de los nutrientes disponibles.

Los resultados obtenidos indican que la presencia conjunta de compost y *T harzianum* redundó en un incremento significativo en altura y biomasa de las plantas, así como del desarrollo del sistema radical. Por su parte, la presencia de compost estimula

un incremento poblacional del hongo *T harzianum*, indicando que la inoculación de los sustratos utilizados para producción de plántulas de *P. radiata* con *T harzianum* generaría un incremento significativo en el vigor de las plántulas producidas (Donoso et al., 2008).

Según Rabeendra et al. (2000) *Trichoderma longipile*, y *T. tomentosum* promovieron el crecimiento en plantines de col. En plantas tratadas con estos dos hongos se comprobó un incremento en el área foliar, en el peso seco de yemas y en el peso seco raíz de 58 al 70%, 91 al 102% y 100 al 158% respectivamente.

El uso de *Trichoderma* en pepino y pimiento provocó un incremento respectivamente del 23,8% y 17,2% en peso de semilla, 96,1% y 50% en área foliar, 24,7% y 28,6% en peso seco de la planta comparada con la planta control (Inbar et al., 1994).

Estudios realizados comprobaron en plantas de lechuga que el tiempo de germinación fue menor y el peso a los 31 días después de germinación fue mayor en plantas tratadas con *Trichoderma* spp. comparadas con plantas sin el hongo (Ousley et al., 1993).

También se comprobó que *Trichoderma* spp. promueve el crecimiento en otras especies como: pepino, trigo, Geranium, Guisante, pimiento, frijol, petunia y vincapervinca (De Souza et al., 2007).

Ousley et al. (1993) estudiaron el efecto de 6 razas de *Trichoderma* sobre un experimento realizado en lechuga. Algunas razas fueron capaces de promover el crecimiento, mientras que otras tuvieron un efecto inhibitorio. Se demostró que tanto la promoción como la inhibición del crecimiento de *Trichoderma* sobre las plantas, varía por razas, y a su vez si estas crecieron en un sustrato previamente autoclavado o no. Por ejemplo, las razas TH1 y 8MF2 presentan buenos efectos en la promoción del crecimiento al crecer en un sustrato autoclavado, pero al crecer en un sustrato que no fue autoclavado el efecto de la promoción del crecimiento se redujo sustancialmente. Otra raza como T35 presentó un aumento del 70% en la promoción del crecimiento en peso fresco de los brotes al crecer en un sustrato que no fue previamente autoclavado. Pero este al crecer en uno autoclavado resultó en una disminución del 65% en el mismo parámetro con respecto al control (sin aplicación de *Trichoderma*)

Para el parámetro germinación, aparentemente no depende si ese hongo se aplica en un sustrato que fue previamente autoclavado o no, sino de la raza específica de *Trichoderma*. Diferentes razas parecen estar involucradas con la producción de metabolitos secundarios como con la producción de Phytotoxin viridol se comprobó que puede retrasar la germinación en lechuga. En contraste ácidos grasos y glicerol

demonstron que estimulan el crecimiento cuando fue analizado su efecto en cultivos de trigo.

La adición de *T.harzianum* a un suelo que fue pasado por autoclave incremento la tasa de emergencia de plantines de tomate y tabaco comparado con control (Windham et al., 1986).

Según Norte (2006) la promoción está dada por un mayor desarrollo radicular, dada por la secreción de fitohormonas, esto permite una mejor asimilación de nutrientes y de humedad, aumentando la resistencia frente a estrés biótico.

Se ha visto que al inocular suelo con *Trichoderma* el incremento de materia seca se ha evidenciado, pero esta evidencia se hace más notoria si el suelo ha sido fertilizado

Plantas de tomate creciendo en suelo arenoso-margo fue inoculado con *Trichoderma* T12 y al agregarle nutrientes mostró un incremento significativo en peso de rebrotes y raíces comparado con el control, sin embargo solo el peso de los rebrotes fueron incrementados al usar *Trichoderma*, cuando las plantas no fueron fertilizadas (Windham et al., 1985).

Según Romero et al. (s.f.) se evaluó el efecto promotor del crecimiento para las especies; *Eucalyptus grandis*, *globulus* y *Pinus taeda*, donde se evaluaron diferentes parámetros de calidad de los plantines. Se constató efecto promocional de *Trichoderma* en niveles de 12% a 50% por encima de los valores obtenidos con las técnicas convencionales, para parámetros altura, diámetro, peso fresco y seco radicular y parte aérea. Lográndose también una reducción en el período de preparación del plantín antes de ser llevada a la etapa de campo.

#### 2.7. 4. Formulaciones comerciales

Otras formulaciones a base de *Trichoderma spp.*

Como fue mencionado anteriormente *Trichoderma* posee una diversa gama de especies, las cuales controlan diferentes tipos de hongos fitopatógenos tanto a nivel radicular como aéreo. Esta característica es importante a tener en cuenta al momento de seleccionar el producto en función al patógeno que se desea controlar. Existen numerosas formulaciones a base de *Trichoderma spp.* las cuales se pueden presentar como formulaciones sólidas; polvos mojables (se aplican por aspersión o por riego), polvo seco, gránulos (ambos se aplica directamente al sustrato), capsulas (se aplican como gránulos) o como las formulaciones líquidas (se aplica directamente al sustrato por riego o pulverizaciones aéreas). Las más utilizadas son los materiales en seco. Estos productos generalmente están hechos a base de clamidosporas o conidios ya que las

hifas son pocos resistentes al secado. En las formulaciones sólidas se utilizan como soporte de inoculación sustancias adhesivas, como la goma arábica o carboximetilcelulosa, también se pueden utilizar arcillas o mezclas compuestas por nutrientes y compuestos estructurantes.

Existen actualmente en el mercado gran variedad de productos formulados a base de *Trichoderma* sp., entre las cuales encontramos:

Bio-Fungus, Binab T, RootShield, T-22G, T-22 Planter Box, (Bio-Trek), Promote, Supresivit, Trichodex, Trichopel, Trichoproject, Trichodowels, Trichoseal, IAB-32, Trichol, Trichosoil, Trichoderma 2000, TRI20, TRI25, TRI29, TRI35, TRI39, Mycobac, Tricosav, Tricobiol, Fithan *Trichoderma* spp, entre otros.

#### 2.7.4.1. Fithan *Trichoderma* spp

Es un producto formulado a partir de una mezcla de tres cepas del genero *Trichoderma*.

Controla diversas enfermedades como: pudriciones de maíz, marchitamientos, cancrrosis, desarrollo de fungosis en semillas árboles, arbustos y frutos. Dichas enfermedades provocadas por patógenos como: *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* sp., *Verticillium*, *Pythium* sp., *Phytophthora* sp., *Alternaria* sp., *Colletotrichum*, *Armillaria* sp., *Pseudoperonospora cubensis*, *Sclerotium* sp.

Los diferentes métodos de aplicación son:

- Al suelo, se debe diluir 2 litros de FITHAN en 200 litros de agua, aspersión al suelo 5 días antes de la siembra.  
Aplicar 2 litros de FITHAN por ha.
- A la semilla, se debe diluir 500 mililitros de FITHAN en 1 litro de agua, agregar 2 mililitros de adherente natural, sumergir las semillas 30 minutos antes de la siembra.
- Al momento de trasplante, se debe diluir 1 litro de FITHAN en 20 litros de agua, agregar 2 mililitros de adherente natural por litro de agua empleado, sumergir las plántulas 15 minutos antes de la siembra.
- Al follaje, se debe diluir 2 litros de FITHAN en 200 litros de agua, agregar dos mililitros de adherente natural por litro de agua empleado

Es importante la incorporación de materia orgánica al suelo para asegurar el establecimiento de *Trichoderma* spp., al ser aplicado por cualquiera de los métodos.

Se debe conservar el producto en lugar fresco con temperatura inferior a 20°C y protegido de la luz solar directa.

No es compatible con fungicidas, insecticidas, herbicidas y fertilizantes foliares químicos.

Presenta ventajas como ser compatible en el Manejo Integrado de Plagas, no presenta efectos nocivos para el hombre y no perjudica insectos benéficos.

Está compuesto por: una solución humectable.

- Ingrediente activo: Mezcla de esporas del género *Trichoderma*.
- Concentración:  $1.3 \times 10^{12}$  esporas / mililitro.
- Viabilidad: 95%. (Biosafe í .s.f.)

#### 2.7.4.2. Trichol

Es un preparado a partir de cepas autóctonas especialmente seleccionadas de *Trichoderma sp.*, dicho preparado posee buenas cualidades para el control biológico de algunas enfermedades fúngicas y para la estimulación natural del crecimiento de plantas jóvenes. No produce daños al ambiente, pues tiene toxicidad nula para animales superiores, es inocuo para insectos benéficos y no contamina el agua.

Actúa como agente de control biológico, disminuyendo o eliminando el uso de sustancias químicas, mediante dos mecanismos:

- Antibiosis
- Micoparasitismo

Se aplica directamente en campo, tanto en hortícolas como en extensivos, en aplicaciones directas al suelo y en pulverizaciones sobre parte vegetativa, pues el hongo *Trichoderma* produce un efecto beneficioso tanto por el sistema radicular, como por la parte aérea de la planta. Con esto se consigue el control de enfermedades como la podredumbre gris (*Botrytis cinerea*) en el cultivo de la fresa.

También se están llevando a cabo ensayos en céspedes de jardines, pues se ha comprobado que aparte de ser una barrera protectora contra patógenos de las raíces, y tener eficacia a la hora de suprimir enfermedades como la *Sclerotinia homeocarpa*, *Pythium spp* y *Rhizoctonia spp*, mejora el estado general del césped.

La Formulación de *Trichol* se presenta como polvo mojable y en dosis de 200g.

Concentración:

*Trichol* tiene una concentración mínima de 1000 millones ( $1 \times 10^9$ ) de esporas o conidias por gramo de formulación. Su forma de preparación y presentación permiten que su viabilidad sea del 100%, al no sufrir el hongo ningún deterioro por procesos de formulación. Esto asegura que la dosis que se prepare sea realmente lo que se asperja en el cultivo. Los bioensayos de laboratorio muestran que es patogénico en más del 95%.

## Precauciones

Se recomienda aplicar *Trichoderma* como preventivo, pues en algunos casos, los daños causados por infecciones fúngicas pueden ser irreparables.

Es aconsejable aplicar el producto durante los 6 primeros meses a partir de la formulación. Después de este tiempo, la espora sigue estando activa, pero en algunos casos puede perder eficacia.

El producto debe almacenarse de 4 a 8 °C, bien cerrado y en lugares secos, evitando exposiciones directas al sol durante periodos largos.

Trichol, no necesita ningún tipo de requerimiento especial a la hora de aplicar el producto, pero es aconsejable su aplicación en días poco soleados o en horas de la mañana o tarde y en suelos húmedos, para aplicaciones al follaje debe utilizarse un protector de rayos ultravioleta (Trichol Trichodermaí s.f.).

### 2.7.4.3 Iab 32

Es un preparado a base de cepas autóctonas especialmente seleccionadas de *Trichoderma harzianum*. Dicho preparado posee buenas cualidades para el control biológico de algunas enfermedades fúngicas y para la estimulación natural del crecimiento de plantas jóvenes. No provoca daños al medio ambiente, ya que tiene toxicidad nula para animales superiores, es inocuo para artrópodos útiles, abejas y abejorros y no es posible la contaminación del agua.

Puede ser empleado en rotación con insecticidas, compuestos enraizantes, fertilizantes y la mayoría de fungicidas, con ningún efecto inhibitorio o contraproducente.

Tras la aplicación de este producto, el vegetal está protegido frente al ataque de diferentes hongos patógenos, principalmente de los productores de enfermedades como *Fusarium spp.* y otros fitopatógenos como *Rhizoctonia spp.* y *Pythium spp.*

Dicho preparado se puede presentar tanto en formulación líquida, como en sólida, conteniendo en cualquier caso un mínimo de  $1.0 \times 10^8$  UFC (unidades formadoras de colonias) por gramo de peso seco, o por mililitro de producto.

Existe una mejora en la tolerancia al estrés hídrico, ya que aumenta el crecimiento de las raíces por la secreción de fitohormonas. También mejora la capacidad de solubilización de algunos nutrientes minerales como zinc o fósforo, escasamente solubles o insolubles.

Es efectivo como tratamiento de semillas hortícolas, cultivos extensivos y ornamentales: Aunque no hay que crearse falsas expectativas a la hora de compararse con el nivel de erradicación de enfermedad que posee un fungicida químico, el hongo *T. harzianum* coloniza las raíces, aumenta la salud y masa radicular y consecuentemente se obtienen mayores rendimientos, cosa que no se consigue con un fungicida convencional.

Es efectivo empleado como aditivo a turbas empleadas en semilleros, o aplicada directamente en trasplantes, plantas de maceta o invernaderos: Puede reducir el uso de plaguicidas limitando el ataque de enfermedades de raíz y ofrecer protección a largo plazo para los trasplantes en campo.

También se están llevando a cabo ensayos en céspedes de jardines, pues se ha comprobado que aparte de ser una barrera protectora contra patógenos de las raíces, y tener cierta eficacia a la hora de suprimir enfermedades como la *Sclerotinia homeocarpa*, *Pythium spp* y *Rhizoctonia solani*, mejora el estado general del césped.

IAB 32 es un producto aconsejable para su utilización en Producción Integrada y Agricultura Ecológica, y puede combinarse con la mayoría de fitosanitarios y productos nutricionales presentes en el mercado."(IAB, s.f.)

#### 2.7.4.4 Trico Fung

Composición: *Trichoderma harzianum*: 107 UFC/g y *Trichoderma viride*: 107 UFC/g. Este indica el grado de contaminación microbiológica de un ambiente. Se utiliza para contar las colonias presentes en un área determinada, puede contabilizarse por gramo de suelo seco o por mililitro de producto. Se presenta como polvo mojable para garantizar la máxima viabilidad de las esporas.

*T. harzianum* y *T. viride* tienen una velocidad de crecimiento y colonización similar, aunque un poco más rápida la del segundo, ambos son capaces de crecer en sustratos con niveles nutritivos mínimos. En cuanto a la temperatura, *T. viride* se adapta mejor a suelos y climas fríos, mientras que *T. harzianum* se comporta mejor a temperaturas más elevadas. En TricoFung, la conjunción de ambas cepas hace que el campo de aplicación sea más amplio, geográficamente y en el tiempo, ya que pueden colonizar en un mayor rango de temperaturas, resistiendo mejor tanto los fríos del invierno como los calores estivales.

Así mismo, *T. harzianum* y *T. viride* son resistentes a muchos productos empleados en el control de plagas y enfermedades, con un mínimo de precauciones

pueden entrar en cualquier programa de lucha integrada. Pueden combinarse junto con Cobres, Dimethomorph, Metalaxyl, etc.

Forma de aplicación

TricoFung debe aplicarse directamente al suelo y varía según el tipo de cultivo y momento de la incorporación:

- Semilleros y cultivo en maceta: En el momento de preparar el sustrato para la plantación. Mezclar el producto a razón de 1 Kilo por metro cúbico de sustrato.
- Inoculación directa de las raíces: Espolvorear el producto sobre el cepellón de la planta, previamente humedecido, antes de realizar el trasplante al suelo, regar posteriormente.
- En cultivo establecido: Aplicar a razón de 0,5-1,5 Kg/Ha localizado en la zona del sistema radicular de la planta, diluido en cantidad suficiente de agua para garantizar una aplicación uniforme y homogénea del producto.

Se requiere el uso de materia orgánica como fuente de carbono y nitrógeno, elementos indispensables en el mantenimiento de *Trichoderma* (Morera, s.f.).

#### 2.7.4.5. Trichosoil

Trichosoil es un fungicida biológico producido por Lage y Cía. S.A. a partir de la cepa L1 de *Trichoderma harzianum* aislada de un escleroto de *Sclerotium rolfsii* en un cultivo de ajo.

La formulación es en polvo y se utiliza para mezclar en sustrato o en suspensión en agua.

Esta cepa tendrá  $5 \times 10^8$  elevado a las 8 unidades formadoras de colonia por gramo de producto en 58% y de materia inerte en un 41,2%.

Se recomienda su uso para incorporar al sustrato para las producciones de plantines de cultivos hortícola, forestales y ornamentales.

Dicho producto permitirá un control biológico deteniendo el desarrollo de patógenos y estructuras de resistencia como esclerotos, siendo estructuras a la cual no pueden llegar los productos químicos.

Como características se puede decir que no deja residuos tóxicos, es fácil de aplicar, resultando por tanto un producto amigable con el ambiente.

En cuanto al método de aplicación en sustratos: la dosis de Trichosoil en general se considera de 2 kilogramos por metro cúbico y se realiza la mezcla humedeciendo el sustrato, y adicionalmente se debe cubrir con lona plástica para incubarlo y así promover la germinación de conidios y el desarrollo de micelios de *Trichoderma*.

En canteros: 1) En suelos desinfectados: la aplicación es a razón de 1-2 g/m<sup>2</sup> Contrarresta el vacío generado por la desinfección. Se debe preparar una suspensión y regar con abundante agua, esperar 3 ó 5 días para sembrar.  
2) En suelos sin desinfectar: Al momento de trasplante regar a razón de 2 g/m<sup>2</sup> al cuello de los plantines.

A campo: La dosis es aprox. 10 Kg./ha distribuidos en 3-4 aplicaciones, comenzando a final del invierno. Hasta antes de cosecha.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. LOCALIZACIÓN Y ÉPOCA DE ENSAYO

Fue realizado el ensayo en el vivero òForestal Solísö propiedad de Ismael Tuduri, ubicado en ruta 8, kilómetro 78,900 a la entrada de Solís de Mataojo, durante el año 2007-2008, desde 28 de junio hasta 10 de enero 2008. La etapa de laboratorio se llevo a cabo en la Facultad de Agronomía, en el laboratorio del departamento forestal, la segunda etapa en el laboratorio de Genética, bajo la supervisión del Licenciado en Biología Jorge Pereira y comenzó el 24 de julio de 2008 y finalizó el 31 de octubre de 2008.

#### 3.2. INSTALACIONES

El invernáculo abarca una superficie de 1300 m cuadrados, en cuanto a su estructura es de postes de madera, que para incrementar su duración se les realizo un tratamiento en autoclave. Las mesadas también son de madera y están elevadas aproximadamente un metro del nivel del suelo, estas están sostenidas por tensores de alambre. El recubrimiento es de polietileno, y usa sombrite de 50% de cobertura, de color gris para evitar la excesiva desecación, y los pájaros que se alimentan de semillas. El piso es de tierra, y presenta en algunas partes pedregullo, mientras que el riego es por aspersión, las boquillas son del tipo planas. El agua se deposita en un tanque australiano, y proviene de un arroyo cercano.

#### 3.3. BANDEJAS

Son de poliuretano expandido de 60 x 40 cm, y son de 104 celdas de 50 cc., estas tienen forma cónica, para una extracción fácil del plantin, además presentan estrías para evitar la espiralización de las raíces, pero si estos son muy acentuados pueden ocasionar problemas en la parte baja del sistema radicular.

#### 3.4. SEMILLAS

Las semillas usadas en el caso de *Eucalyptus globulus*, son de origen australiana, también se uso semilla de *Eucalyptus grandis* de procedencia sudafricana. La siembra se realiza con sembradora de aspiración que aspira y suelta 2 a 3 semillas por celda luego el personal las cubre.

La siembra fue realizada el 28 y 29 de junio del 2007 para *E. globulus* y *E. grandis* respectivamente, cabe aclarar que anteriormente fue realizada una siembra anterior que resulto fallida, esto atraso un poco el comienzo del ensayo.

Ese año resulto ser un año con muy bajas temperaturas, aun bajo invernáculo, esto provoco crecimientos muy lentos y desuniformes de los plantines, que nos obligo a mantenerlos hasta el 10 de enero, que fue cuando se efectuó el último muestreo.

### 3.5. TRICHOSOIL

Se aplico Trichosoil mezclado con sustrato en relación 2 Kg. por metro cúbico. Este biofunguicida tiene su origen en el agente de biocontrol *Trichoderma harzianum* cepa L1, con un mínimo de 5x 10 a la 8 ufc/ gr de producto, con una participación del 58,8% y el resto 41,2% son sustancias inertes.

El producto fue elaborado por Lage & cía S.A. La cepa fue seleccionada por ser antagonista de *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia*, *Botrytis cinerea*, además de ser compatible con el funguicida Rovral (Reyna, 2000)

### 3.6. SUSTRATO Y FERTILIZACIÓN

El sustrato usado era de: 60% compost, 40% turba rubia, y como fertilizante se uso 2 Kg. de Osmokote como fertilización lenta, 5 Kg. de fosforita, 1 Kg. de Pegamix, con el riego.

#### Turba rubia natural de Sphagnum

Características:

Humedad 40-55 %

Grado de descomposición (Escala Von Post) H1-H4

Contenido de ceniza 5 %

PH 3.5- 4.5

Granulometría 0-10 Mm. fina

Cuadro No. 6 Composición química de la turba de Sphagnum

Especificación química:		Formas móviles:		Micro elementos:	
Nitrógeno (N), %	0,61 - 1,55	Fósforo (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ), mg/kg	2,41 - 2,50	Cobre (Cu), mg/Kg.	1,4 - 1,6
Potasio (K), %	0,011 - 0,024	Potasio (K <sub>2</sub> O), mg/Kg.	39,78 - 119,16	Zinc (Zn), mg/Kg.	3,8 ó 3,9
Fósforo (P), %	0,019 - 0,035	Nitrogeno amoniacal (NH <sub>4</sub> -N), mg/kg	138,23 - 306,00	Manganeso (Mn), mg/Kg.	10,3 - 14,1
Calcio (Ca), %	0,175 - 0,543	Nitrato (NO <sub>3</sub> -N), mg/kg	5,00 - 5,10	Molibdeno (Mo) mg/Kg.	0,37 - 0,44

Magnesio (Mg), %	0,038 - 0,047			Cobalto (Co), mg/Kg.	0,2 - 2,0
Azufre (S), %	0,076 - 0,213			Boro (B), mg/Kg.	0,076 - 0,213
Hierro (Fe), MG/Kg.	1020 - 3140				

### Compost de siembra

Cuadro No. 7 Compost de cáscara de arroz y turba rubia natural de Sphagnum

Características químicas			
pH	(H <sub>2</sub> O)	4,9	
	(KCl)	4,2	
CEes dS/m		0,67	
		meq/100 g	ppm
Fósforo		-	240
Potasio		1,50	587
Sodio		0,71	163
		%	
Carbono		10,0	
Nitrógeno		0,32	
Relación C/N		31,3	

En cualquiera de los dos casos la fertilización se hace en base a Osmokote de formulación 19-6-10 de 3-4 meses y como starter MAP (fosfato de monoamino)

### 3.7 PLANTINES

Se usaron 40 bandejas para grandis, 20 con tratamiento, y 20 sin tratamiento, para globulus se usaron 20 bandejas, 10 con tratamiento, y 10 sin tratamiento, cada bandeja tenía 104 plantines, y de cada una de ellas se extrajeron 4 que fueron elegidas aleatoriamente, para medirles parámetros morfológicos en el laboratorio del

departamento forestal, también se eligieron otras 4 para medirles altura, y diámetro a nivel de cuello, pero en este caso sin extraerlas.

### 3.8 RIEGO

Se realiza por medio de aspersores fijos, tienen un caudal de 36000 litros por hora, cuyas boquillas son planas. El agua proviene del arroyo Solís de Mataojo, y se almacena en un tanque australiano de 52000 litros, el riego se realiza según necesidad de hidratación que requieran los plantines, dependiendo de época del año.

### 3.9. MEDICIONES REALIZADAS

#### 3.9.1. A campo y en laboratorio del departamento forestal

Se hicieron cuatro muestreos en el vivero el 15 de setiembre, 17 de octubre, 10 de noviembre, 8 de diciembre, donde se midió altura, diámetro a la altura del cuello, de cuatro plantines por bandeja, que fueron seleccionados por sorteo previamente. Se uso para dichas mediciones una regla milimetrada y un calibre.

En el laboratorio se midieron parámetros de calidad de plantin, peso seco, peso fresco de raíz y parte aérea, usando la metodología del I.N.I.A. Esta consiste en poner plantines en bolsas de papel absorbente dentro del microondas, junto a un vaso de bohemia con agua hasta la mitad, para evitar que se incineren las muestras. Luego se secan en dos etapas, la primera dura aproximado 3-4 minutos, y la segunda 1-2 minutos, se debe llegar a peso constante, es decir que no haya variación entre dos pesadas sucesivas. A través de este procedimiento obtengo el peso seco de las muestras.

##### 3.9.1.1. Diseño estadístico

Diseño completamente al azar, con 2 especies, y 2 tratamientos. La unidad experimental es el plantin y los tratamientos son con y sin Trichosoil agregado al sustrato.

##### 3.9.1.2. Análisis estadístico

El efecto de las especies (*E.globulus* y *E.grandis*), y del tratamiento de *Trichoderma*, sobre diámetro, altura y producción en términos de materia fresca y seca a través del tiempo, fue estudiado ajustando modelos lineales generales de comparación de curvas de crecimiento.

El modelo tuvo la siguiente forma general:

$$Y_{ijkl} = \mu_0 + \mu_i + \rho_j + \mu_{ijk} + \beta_{1i} \times d_1 + \beta_{1i} \times \mu_i \times d_1 + \beta_{1j} \times \rho_j \times d_1 + \beta_{1ij} \times (\rho)_{ij} \times d_1 + \beta_{2i} \times d_1^2 + \beta_{2i} \times \mu_i \times d_1^2 + \beta_{2j} \times \rho_j \times d_1^2 + \beta_{2ij} \times (\rho)_{ij} \times d_1^2 + \mu_{ijkl}$$

Donde:

$Y_{ijkl}$  es la variable de respuesta (diámetro, altura, materia fresca o seca)

$\mu_0$  es el intercepto

$\mu_i$  es el efecto del i-ésimo tratamiento

$\rho_j$  es el efecto de la j-ésima especie

$\mu_{ijk}$  es el error entre bandejas

$\beta_{1i}$  es el coeficiente de regresión del componente lineal respecto a los días ( $d_1$ )

$\beta_{1i}$  es el coef. de regresión del componente lineal respecto a los días para cada tratamiento ( $\mu_i$ )

$\beta_{1j}$  es el coeficiente de regresión del componente lineal respecto a los días para cada especie ( $\rho_j$ )

$\beta_{1ij}$  es el coeficiente de regresión del componente lineal respecto a los días para cada combinación tratamiento-especie ( $(\rho)_{ij}$ )

$\beta_{2i}$  es el coeficiente de regresión del componente cuadrático respecto a los días

$\beta_{2i}$  es el coeficiente de regresión del componente cuadrático respecto a los días para cada especie ( $\rho_j$ )

$\beta_{2j}$  es el coeficiente de regresión del componente cuadrático respecto a los días para cada especie ( $\rho_j$ )

$\beta_{2ij}$  es el coeficiente de regresión del componente cuadrático respecto a los días para cada combinación tratamiento-especie ( $(\rho)_{ij}$ )

$\mu_{ijkl}$  es el error entre mediciones (dentro de bandejas)

Este modelo fue ajustado para el promedio de observaciones por bandeja y las curvas se compararon por contrastes.

Se tomó en cuenta la auto correlación entre mediciones consecutivas de una misma bandeja, considerando una estructura de correlaciones simétrica compuesta.

### 3.9.2 Medición de metabolitos

La medición de metabolitos, peroxidasas fue realizada en base a la recolección de plantines en vivero en 3 fechas diferentes. Estas fueron: 17/10/07, 10/11/07, y 10/1/08.

Se recolectaron 2 plantitas por cada especie (*E. globulus* y *E. grandis*) y 2 por cada tratamiento (con y sin *Trichoderma*), o sea 4 plantines por salida

Posteriormente éstos fueron colocados en el freezer a -3°C, durante 1 a 3 meses, según fecha de recolección, y luego se congelaron en freezer a -80°C, para mejorar la

conservación. Todo el material fue correctamente identificado y envuelto en papel de aluminio.

Después de permanecer 3 meses en estas condiciones, el 24/6/08, se procedió a la medición de los niveles de peroxidasas en dichos plantines conservados comparándolas con hojas frescas de *E. globulus* y *E. grandis*, colectadas del parque de la Facultad de Agronomía. Esto se realizó con el fin de:

- 1) Calibración de la metodología para *Eucalyptus spp.*, diferenciando la actividad de peroxidasa en los plantines conservados, comparándolas con el estudio de plantas frescas y por lo tanto sin tratamiento de *E. globulus* y *E. grandis*,
- 2) Identificar en los plantines conservados la actividad de peroxidasa adjudicada a los plantines que fueron tratados con *Trichoderma*.

#### 3.9.2.1. Método 1 de medición de metabolitos: Tinción histoquímica de tejidos para la determinación de enzimas

##### Materiales utilizados

Todo el material utilizado estaba correctamente limpio y esterilizado con alcohol y además todo el análisis de laboratorio fue realizado con guantes de cirugía. Los materiales fueron los siguientes:

- Cubeta de espumaplast de 10cm de ancho x 20cm de largo y 8cm de profundidad
- Hielo
- Probetitas, tubos eppendorf de 1,5 ml.
- Barrita homogeneizadora
- Tijera entomológica
- Placa de Petri
- Vaso de Bohemia con alcohol
- Micropipetas
- Picos para micropipeta
- Servilletas de papel
- Pinzas
- Balanza de precisión
- Microcentrifugadora
- Cámara de temperatura controlada a 37° C.
- Tampón de extracción de proteínas:
  - 200 ml de solución final
  - Tris-HCl 50 mM pH 7,6      1,211 g.
  - KCL 10 mM                      149 mg.
  - Mgcl2 6H2O 10 mM            406 mg.

- EDTA 1mM 74,44 g.
- Beta mercapto-etanol 14 mM.
- Se tiene solución preparada sin  $\beta$ -mercapto-etanol
- Se toman 10 ml de solución y se agregan 9,8  $\mu$ l de  $\beta$ -mercapto-etanol (11-14,3 moles).
- Solución para coloración peroxidasa:
  - Solución final 10 ml.
  - 9 ml acetato de sodio 0,2 M pH 5,0
  - 200  $\mu$ l CaCl<sub>2</sub> 0,1 M
  - 25  $\mu$ l H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%)
  - Agarosa 0,24 en 200ml de agua
  - Amino etil carabazol punta de espátula (15 mg.)
  - 1 ml dimetilformamida (DMF)

### Calibración de la metodología

1) En primera instancia se procedió a la extracción de las muestras del freezer de -80°C rápidamente para no perder la buena conservación de material. Se preparó una cubeta de espuma plast con abundante hielo para colocar dentro el material a utilizar durante la etapa de análisis

Figura No. 3 Extractos de muestras de los distintos tratamientos



2) Se procedió a colocar un trozo de hoja por especie por tratamiento en cada una de los 12 tubos identificados numéricamente y pesados cuidadosamente en la balanza de precisión.

3) A partir de la determinación del peso de cada una de las muestras de hoja perteneciente a cada tubo, se procedió al cálculo de la cantidad de sustancia buffer correspondiente a cada peso, en base a la siguiente relación: 100 microlitros de sustancia buffer por cada 50 mg. de materia seca. Se obtuvieron los siguientes datos:

Cuadro No. 8 Contenido de cada uno de los tubos eppendorf a calibrar

<b>TUBOS EPPENDORF</b>	<b>ESPECIE</b>	<b>TRATAMIENTO</b>	<b>ORIGEN</b>	<b>FECHA</b>	<b>PESO gr.</b>	<b>BUFFER microlt</b>
1	<i>E. Grandis</i>	con	Congelado	17/10/2007	0,0237	47
2	<i>E. Grandis</i>	sin	Congelado	17/10/2007	0,0306	61,2
3	<i>E. Globulus</i>	sin	Congelado	17/10/2007	0,0151	30,2
4	<i>E. Globulus</i>	con	Congelado	17/10/2007	0,0178	35,6
5	<i>E. Grandis</i>	con	Congelado	10/11/2007	0,0261	52,2
6	<i>E. Grandis</i>	sin	Congelado	10/11/2007	0,0235	47
7	<i>E. Globulus</i>	sin	Congelado	10/11/2007	0,0262	52,4
8	<i>E. Globulus</i>	con	Congelado	10/11/2007	0,0169	33,8
9	<i>E. Globulus</i>	con	Congelado	10/1/2008	0,0166	33,2
10	<i>E. Globulus</i>	sin	Congelado	10/1/2008	0,0336	67,2
11	<i>E. Globulus</i>	sin	Fresco	24/06/2008	0,049	98
12	<i>E. Grandis</i>	sin	Fresco	24/06/2008	0,024	48

Figura No. 4 Foto de determinación de pesos de las muestras



A partir de los datos obtenidos se procedió a colocar la cantidad de sustancia buffer correspondiente por medio de una micropipeta.

4) Preparación del extracto proteico a partir del macerado de un trozo de hoja hasta que se forme una pasta homogénea. Como precaución se utilizó una barrita homogeneizadora para picar por tubo, desinfectada con alcohol y luego secada con papel.

5) Posteriormente se colocaron todos los tubos durante aproximadamente 30 segundos en la microcentrifugadora con el objetivo de homogeneizar bien el material.

6) Luego se procedió a la siembra del extracto proteico obtenido sobre una placa de Petri con la solución para la coloración ya gelificada. Se sembraron en la placa 2 dosis diferentes: 1 y 1,5 ml por tubo. Se identificó correctamente cada uno de los materiales.

Figura No. 5 Foto de siembra de extracto proteico



7) Finalmente se llevó la placa de petri a la cámara con condiciones controladas de temperatura a 37°C (temperatura óptima para la reacción de la peroxidasa y el colorante) durante poco más de 1 hora.

Debido a que este método no pudo detectar la presencia de peroxidasa en materiales congelados, se procedió a la metodología de electroforesis de isoenzimas.

### 3.9.2.2. Método 2 de medición de metabolitos, electroforesis de isoenzimas

#### Materiales utilizados

En cuanto a la higiene del material se tuvieron los mismos cuidados y precauciones que en el método anterior. En cuanto a los materiales utilizados fueron los siguientes:

- Kit de aplicación Helena: - Placa de aplicación con 12 pocillos
  - Aplicador
  - Placa de alineamiento
- Placa de Acetato de celulosa.
- Cubeta de espuma plast de 10 cm de ancho x 20 cm de largo y 8 cm de profundidad
- Hielo
- Probetitas, tubos eppendorf de 1,5 ml.
- Barrita homogeneizadora
- Tijera entomológica
- Placa de Petri
- Vaso de Bohemia con alcohol
- Micropipetas
- Picos para micropipeta
- Servilletas de papel
- Pinzas
- Balanza de precisión
- Microcentrifugadora
- Cámara de temperatura controlada a 37°C.
- Tampón de extracción de proteínas:
  - 200 ml de solución final
  - Tris-HCl 50 mM pH 7,6      1,211 g.
  - KCl 10 mM                      149 mg.
  - MgCl<sub>2</sub> 6H<sub>2</sub>O 10 mM          406 mg.
  - EDTA 1mM                      74,44 g.
  - Beta mercapto-etanol 14 mM.
  - Se tiene solución preparada sin β-mercapto-etanol
  - Se toman 10 ml de solución y se agregan 9,8 µl de β-mercapto-etanol (11-14,3 moles).
- Solución para coloración peroxidasa:
  - Solución final 10 ml.
  - 9 ml acetato de sodio 0,2 M ph 5,0
  - 200 µl CaCl<sub>2</sub> 0,1 M
  - 25 µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%)

- Agarosa 0,24 en 200ml de agua
- Amino etil carabazol punta de espátula (15 mg.)
- 1 ml dimetilformamida (DMF)

#### A) Electroforesis I

##### Procedimiento

##### 1) Preparación de la placa de acetato, la cuba y la placa de imbibición:

Esta etapa consiste en la preparación de los materiales a utilizar ya sea, extracto proteico macerado como la preparación de la solución para la coloración en la placa de petri. Estos procedimientos son los mismos que los realizados en el método 1.

##### 2) Aplicación -depósito- de las muestras a partir de los extractos proteicos.

Esta etapa consiste en aplicar con la micropipeta 3 ml de cada una de las soluciones ya preparadas y homogeneizadas nuevamente en cada uno de los 12 casilleros de la placa de aplicación. Luego con el aplicador se saca una muestra del extracto proteico y se transfiere el contenido a la placa de acetato de celulosa. Este último procedimiento se repite 2 o 3 veces más, cuidando el sentido de la aplicación para no mezclar los extractos. El aplicador se utiliza para transferir material en forma homogénea.

Figura No. 6 Foto de alineación de muestras sobre pca de acetato de celulosa



### 3) Revelado

Luego se coloca cuidadosamente la placa de acetato de celulosa sobre la placa de petri, ya que esta contiene todos los materiales anteriormente mencionado para que se produzca un adecuado revelado. Debemos tener precaución de no formar burbujas de aire entre la placa y el gel.

Posteriormente esta es llevada a cámara controlada a una temperatura de 37°C durante aproximadamente 30 minutos.

Los resultados de esta técnica no mostraron migración de bandas en materiales congelados, por el contrario fueron muy claras para los materiales frescos, por ello se decidió sembrar nuevamente utilizando la misma técnica.

### B) Electroforesis II

En un bandeja para crecimiento de plantas, se sembraron 4 celdas con semillas de *Eucaliptus globulus*, 3 celdas con semillas de *E. grandis* en un sustrato que contenía *Trichoderma*. Además se sembraron 4 celdas con semillas de *E. globulus* y 2 celdas con *E. grandis* pero en este caso en un sustrato con ausencia de *Trichoderma*. Esta bandeja se mantuvo en una cámara de crecimiento a 23 grados centígrados y con 16 horas de luz por día durante 6 semanas. En ese tiempo se desarrollaron suficientes hojas para ser analizadas electroforéticamente.

Preparación de muestras: De cada planta a analizar se extrajo una cantidad igual de hoja (30 mg) (asumiéndose que estaban en las mismas condiciones fisiológicas). Con este material se preparó un extracto proteico, a partir del macerado de cada muestra de hoja, en tubos ðeppendorf de 1,5 ml con varillas de vidrio y tijera entomológica, bajo temperatura controlada (aprox. 5°C) con 100 l de tampón de extracción (De Souza y Chies, 1992).

Análisis isoenzimático. Las migraciones electroforéticas de las muestras analizadas se realizaron en placas de acetato de celulosa (94 X 76 mm, Helena Laboratorios). La migración se desarrolló a temperatura ambiente en cubas horizontales de plásticos. El kit de aplicación (Helena) consiste de un aplicador, una placa de depósito de muestra, y una placa de alineamiento (figura 1). Previo al ðsembrado (depósito de muestras) en la placa de acetato mediante el kit de aplicación, la misma se somete a un paso de imbibición con el tampón de migración. Los parámetros referentes a la dilución del tampón de migración para la imbibición, el voltaje y el tiempo de migración, se pusieron a punto de manera de obtener los mejores resultados para cada sistema isoenzimático particular y el material vegetal a estudio. El tiempo de imbibición de la placa de acetato previo a la electroforesis fue de 20ø El tiempo de migración varió según el ensayo entre 30ø 35ø y el voltaje fue de 200 V. Durante la migración se

controló la resistencia del sistema, de modo que la misma no excediera los 10 mA, para evitar el recalentamiento de la placa.

El posterior revelado de las placas de electroforesis se efectuó inmediatamente terminada cada migración, sobre matriz de agarosa al 1,2 % (w/v), con los reactivos necesarios para la coloración específica. Se analizó el siguiente sistema isoenzimático: Peroxidasa.

Cuadro No. 10 Esquema de Siembra en la Bandeja de Crecimiento de Semillas de variedades de *Eucaliptus* y los tratamientos con *Trichoderma* aplicados

Especies	Con Trat.	Sin Trat.
<i>E. globulus</i>	1	5
<i>E. globulus</i>	2	6
<i>E. globulus</i>	3	7
<i>E. globulus</i>	4	8
<i>E. grandis</i>	9	12
<i>E. grandis</i>	10	13
<i>E. grandis</i>	11	

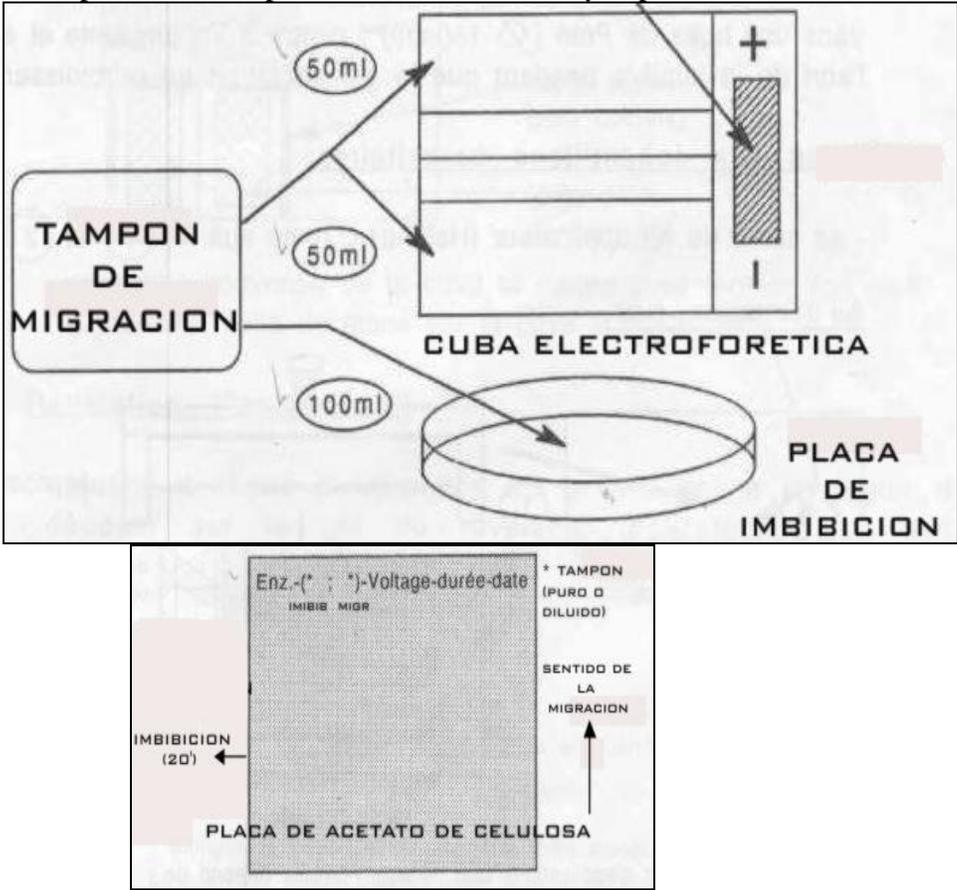
Cuadro No. 11 Detalle de cantidades de tejido fresco utilizado por muestra y volumen de buffer de extracción de proteínas empleados para la obtención de los homogeneizados de tejido de cada muestra

Variedad/ tratamientos	No. de pocillo.	Hojas (mgr.)	Buffer extracc. (ml)
<i>E.glob/con t</i>	2	0.02	67
<i>E.glob/con t</i>	4	0.03	100
<i>E.glob/sin t</i>	5	0.04	123
<i>E.glob/sin t</i>	7	0.03	100
<i>E.gran/cont</i>	9	0.02	67
<i>E.gran/cont</i>	10	0.03	100
<i>E.gran/sin t</i>	12	0.02	67
<i>E.gran/sin t</i>	13	0.02	67

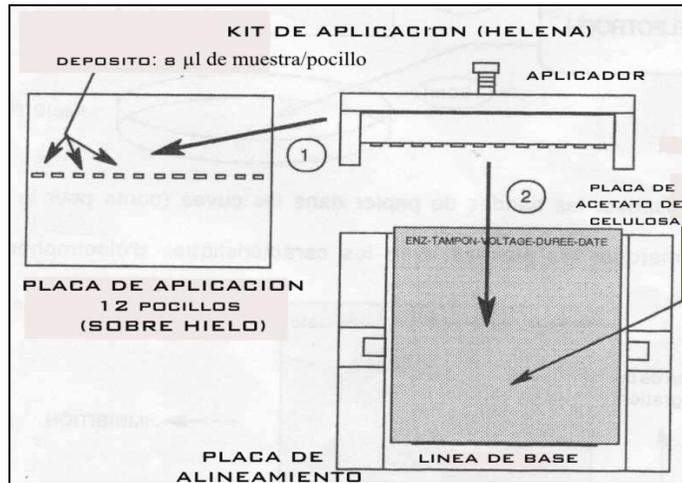
Tras la aparición de bandas se detiene la reacción (el tiempo depende de cada sistema isoenzimático, variando entre 10ø y 30ø). Se fija la coloración, colocando la placa en una solución de ác. acético 5 % (10 minutos). Posteriormente se enjuaga la placa con agua destilada y se deja secar a temperatura ambiente. Las placas pueden ser almacenadas indefinidamente a temperatura ambiente sin ninguna precaución especial.

Figura No. 7 Esquema de las etapas del desarrollo de la electroforesis de isoenzimas en placas de acetato de celulosa

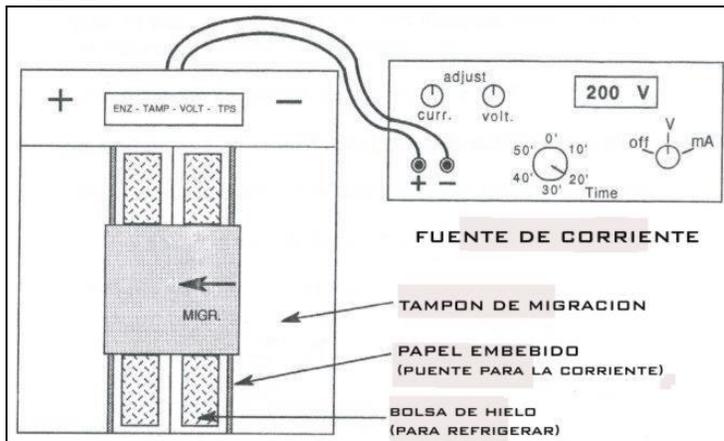
1) Preparación de la placa de acetato, la cuba y la placa de imbibición



2) Aplicación ó depósito- de las muestras a partir de los extractos proteicos



### 3) Preparación del dispositivo de electroforesis y conexión de la cuba a la fuente de corriente



Se coloca la placa sobre la cuba con la superficie donde se han hecho los depósitos hacia abajo, de manera que contacte los dos puentes de papel en cada polo. Sobre la placa se coloca un vidrio para asentar la misma, se pone la tapa de la cuba para cerrar el circuito y se enciende la fuente de corriente

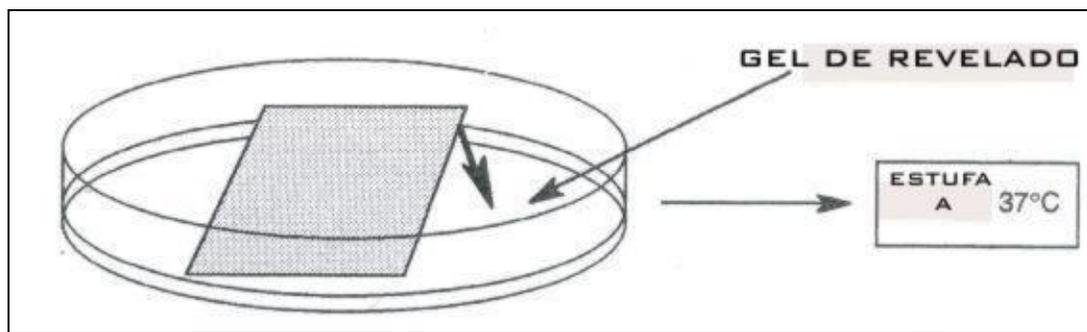
### 4) Preparación de matriz de agarosa y soluciones de coloración

Preparación de agarosa a 1.2 %: se pesan 0,12 gr de agarosa y disuelven en 10 ml H<sub>2</sub>O mQ (50 seg. en el microondas). Solución de coloración: contiene el sustrato, activador(es), coenzima(s), enzima de ligación, reveladores. Volumen final: 10 ml. Se mezcla la agarosa con la solución de coloración y vierten en una placa de petri (Ø 140

mm), dejando gelificar (aprox. 10 min) a temperatura ambiente ó y en oscuridad, dependiendo de la enzima ensayada

#### 5) Revelado

Finalizado el tiempo de migración, se retira la placa y se deposita suavemente sobre el gel de revelado de manera de evitar la formación de burbujas de aire entre la placa y el gel.



#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Considerando que el valor de P que surge del análisis estadístico es la probabilidad de cometer error de Tipo 1, o sea de rechazar la hipótesis nula, en este caso que no hay diferencias en la variable en estudio.

Se toman los siguientes criterios:

- si  $P < 0,01$  es altamente significativa la diferencia
- si  $0,011 < P < 0,05$  la diferencia es significativa
- si  $0,051 < P < 0,10$  existe una tendencia hacia que la diferencia es significativa
- si  $P > 0,11$  tenemos una alta probabilidad de equivocarnos al aceptar la hipótesis.

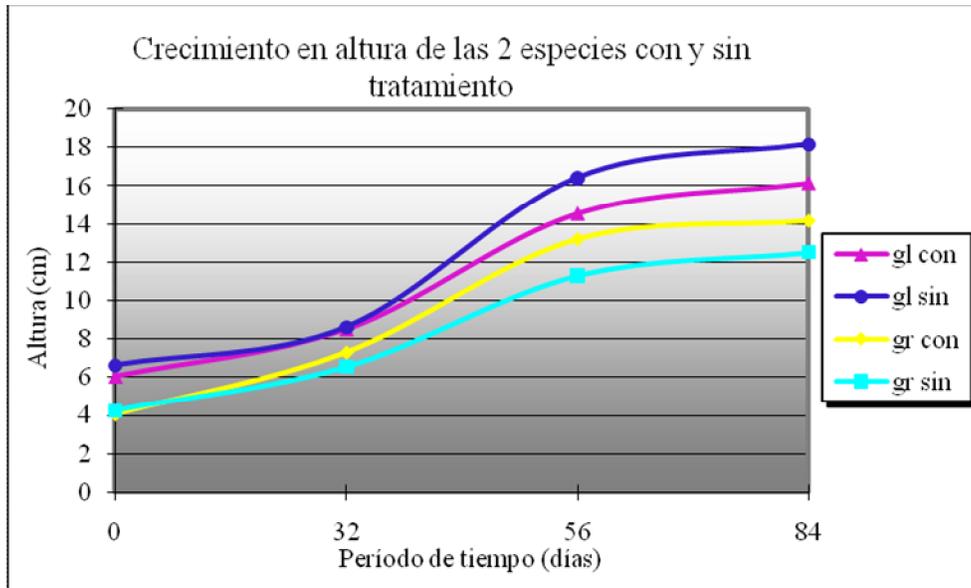
##### 4.1. VARIABLE ALTURA

En el análisis estadístico para la primera medición se vieron diferencias importantes de altura entre las dos especies, y una diferencia de altura entre los tratamientos, no detectándose influencia de la interacción entre especie y tratamiento. En las siguientes tres mediciones se detectaron diferencias importantes de altura entre especies no se vieron diferencias de altura entre los tratamientos, es decir con y sin aplicación de *Trichoderma*, con una probabilidad de error muy alta ( $P=0,1720$ ,  $P=0,9666$  y  $P=0,6640$  respectivamente).

En las dos últimas mediciones se detecto la existencia de una diferencia altamente significativa en la interacción ( $P < 0,0001$ ) favoreció a *E. grandis* sobre *E. globulus*. Se observo desde la tercera medición una tendencia superior en la variable altura de *E. grandis* con tratamiento con respecto a sin tratar, mayor altura que se hace estadísticamente significativa en las dos últimas mediciones (56 y 84 días de comenzadas las mediciones), siendo observadas en el grafico siguiente. Para el caso de *E. globulus* las últimas dos fechas en que se realizaron el ensayo no mostraron lo esperado.

Como consecuencia de este resultado se obtendrán plantines más grandes que aseguran mayor porcentaje de prendimiento y crecimiento, como fue mencionado en el punto calidad de plantin de la revisión bibliográfica (Hansen y Lugano, 1997). Esto es un resultado positivo de la aplicación de *Trichoderma* como promotor del crecimiento. (ver anexo cuadro No. 1)

Gráfico No.1



Fuente: elaboración propia.

#### 4.2. VARIABLE MATERIA FRESCA PARTE AÉREA

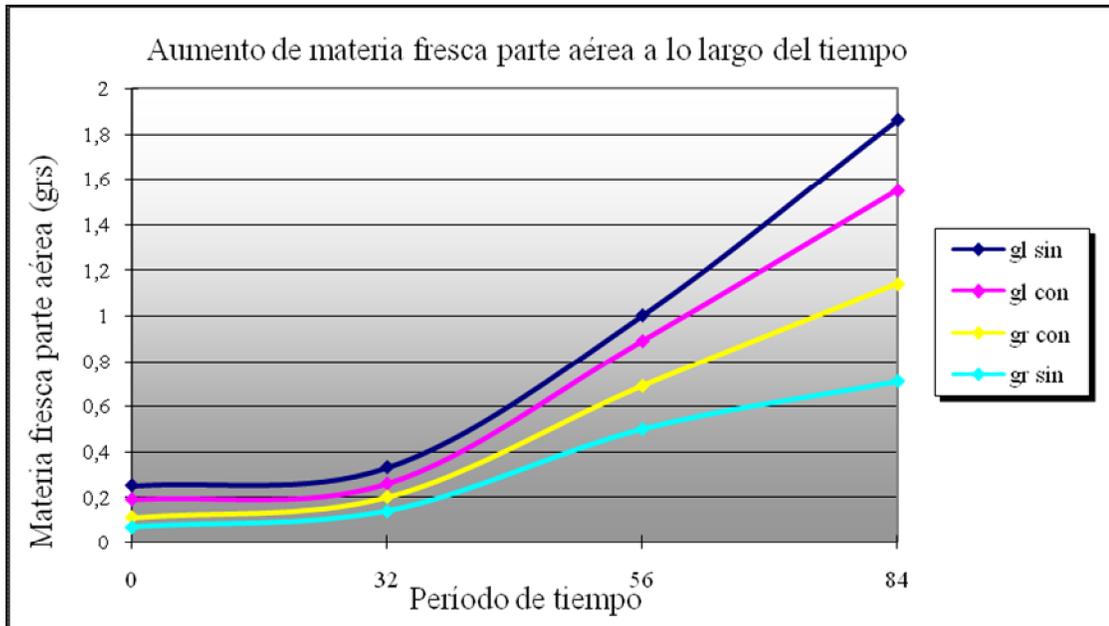
Al realizarse el primer análisis estadístico, se observó una diferencia altamente significativa entre especies ( $P < 0,0001$ ).

Con referencia a la interacción especie-tratamiento se encontró una diferencia significativa positiva para *E. grandis* y negativa para *E. globulus* ( $P < 0,0001$ ) que se observa en el gráfico. Esto implicaría una mayor área foliar que se traducirá en una mayor área fotosintética y por lo tanto en un aumento en la productividad. Este efecto positivo del tratamiento se da con *E. grandis* pero no así con *E. globulus*.

Al primer día 0 y a los 56 y 84 días de haber empezado las extracciones se observó una diferencia altamente significativa de mayor producción de masa foliar para *globulus* que para *grandis*. La interacción especie-tratamiento reveló diferencias significativas ( $P < 0,0016$ ) en *E. grandis* a favor de aquellos que habían sido tratados con *Trichoderma* pero no en *E. globulus*. (ver anexo cuadro No. 2)

En la variable materia fresca aérea mostró un incremento en peso (61% para última fecha) al ser tratado con *Trichoderma* Para el caso de *E. grandis*. En *E. globulus* los resultados no fueron los esperados

Gráfico No.2

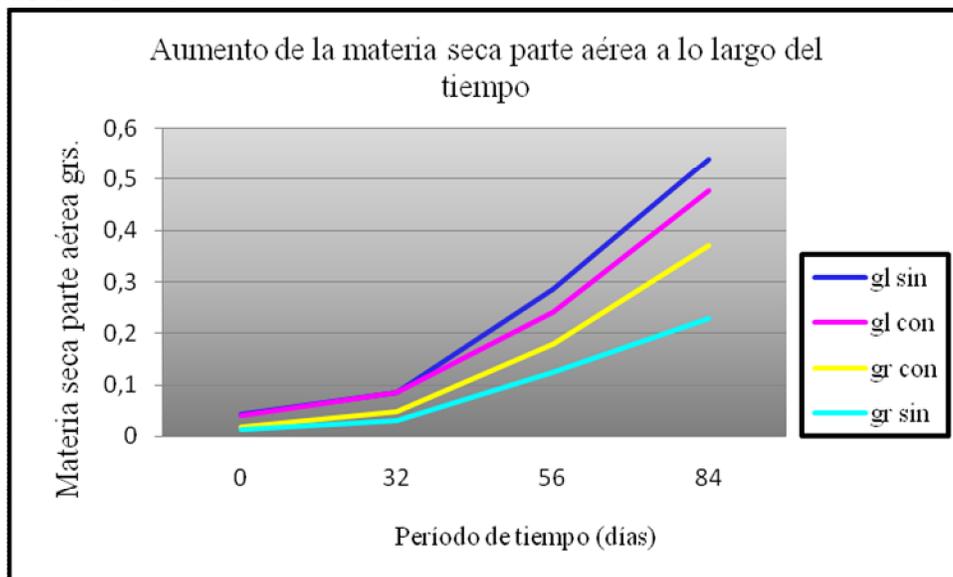


Fuente: elaboración propia

#### 4.3. VARIABLE MATERIA SECA PARTE AÉREA

Existen diferencias significativas entre las especies en todas las fechas ( $P < 0,0001$ ). En todas las fechas de muestreo las interacciones en *E. globulus* (con y sin *Trichoderma*) no mostraron diferencias significativas. Para el caso de *E. grandis* en las tres primeras fechas se observó una tendencia mayor en la materia seca parte aérea para los plantines tratados con el producto, pero para la última medición se encontró una diferencia altamente significativa y positiva para los plantines de *E. grandis* con *Trichoderma*. O sea que a medida que se incrementaba el tiempo desde el momento de la aplicación del producto se puede observar en el gráfico que la diferencia en el crecimiento de *E. grandis* tratado con *Trichoderma* es cada vez mayor. Por lo tanto en *E. Grandis*, *Trichoderma* pudo haber provocado un mayor crecimiento en el follaje de los plantines tratados. Este crecimiento mayor implicaría que el efecto del hongo podría mantenerse e incrementarse en el tiempo.

Gráfico No. 3



Fuente: elaboración propia.

#### 4.4 VARIABLE DIÁMETRO

En la primera medición se encontraron diferencias altamente significativas entre las especies y en los tratamientos. Para el caso de la interacción especie-tratamiento hubo diferencias significativas en el caso de *E. globulus*, donde los plantines no inoculados presentaron un diámetro mayor.

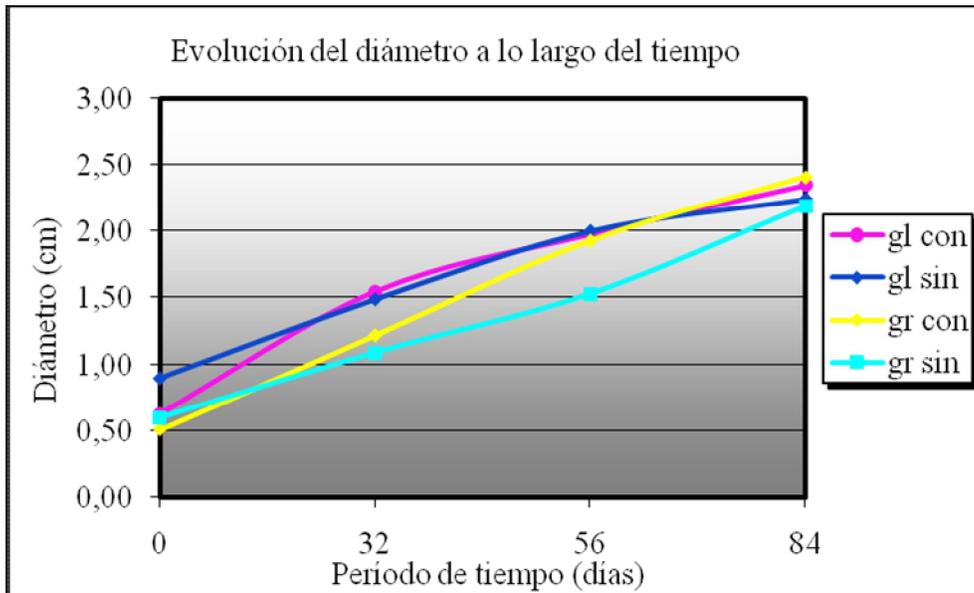
A los 32 días de la primera evaluación se observaron diferencias altamente significativas en la variable especie, es decir *E. globulus* tuvo mayor diámetro que *E. Grandis*, por el contrario, para la variable tratamiento no se encontraron diferencias. Gráficamente se observó un leve incremento en el diámetro de ambas especies tratadas con respecto a las no tratadas con el tratamiento con *Trichoderma*.

En cambio en la tercer y cuarta fecha de medición existieron diferencias significativas tanto entre especie como en tratamiento. Aquí se vio un mayor diámetro para *E. grandis* con tratamiento, no se observó lo mismo para el caso de *E. globulus*.

En ambas fechas se vieron que los diámetro de *E. grandis* con tratamiento igualaron a los de *E. glóbulos* con y sin tratamiento. El menor diámetro fue de *E. grandis* sin *Trichoderma*.

Se observó claramente una respuesta positiva de *E. grandis* a la aplicación de *Trichoderma* para este parámetro. Este parámetro es importante por la relación que presenta con la sobrevivencia de los plantines

Gráfico No. 4



Fuente: elaboración propia

#### 4.5. VARIABLE MATERIA SECA DE RAÍZ

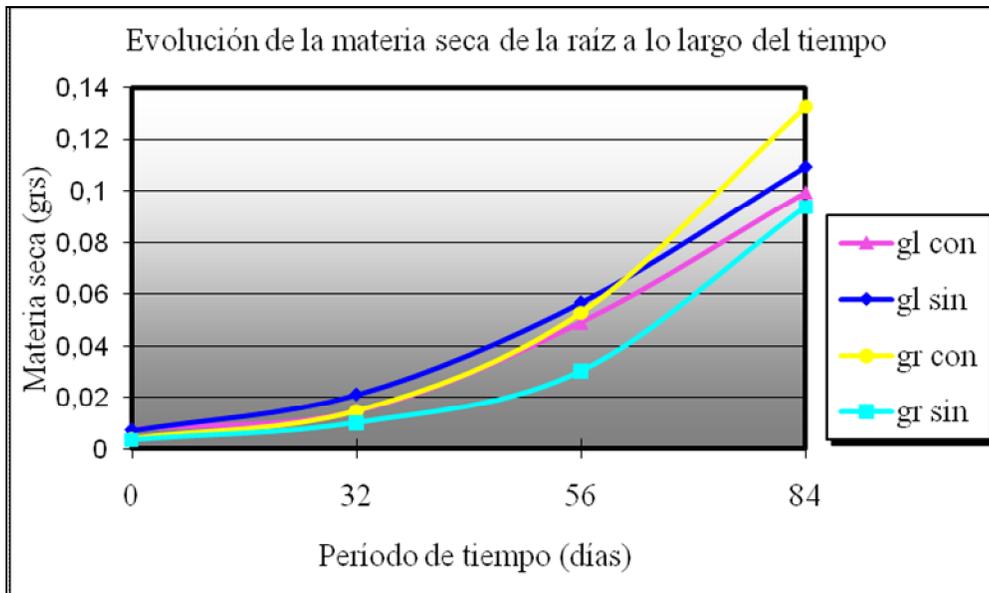
Para las dos primeras fechas no podemos afirmar que no existieron diferencias significativas para tratamiento, si se vieron diferencias para especie presentando mayor medias en *E. globulus* que *E. grandis*.

Por lo tanto en estas dos primeras fechas los pesos secos de raíces con y sin *Trichoderma* se vieron sin diferencia para *E. grandis*, en *E. globulus* no se detecto diferencia con el tratamiento.

En las dos últimas fechas el efecto especie e interacción fue significativo. En cuanto al tratamiento, se vio que presentó mayor efecto en la última fecha, donde las diferencias de peso seco fueron mayores a favor de *E. grandis* con *Trichoderma*, se puede ver en el grafico claramente esta tendencia de incremento a medida que pasa el tiempo.

Se logró por lo tanto un aumento del 41,5% en la M.S.R. en relación al no tratado (última fecha). Para *E. globulus* no hubo diferencias.

Gráfico No. 5



Fuente: elaboración propia.

#### 4.6. MATERIA FRESCA DE RAÍZ

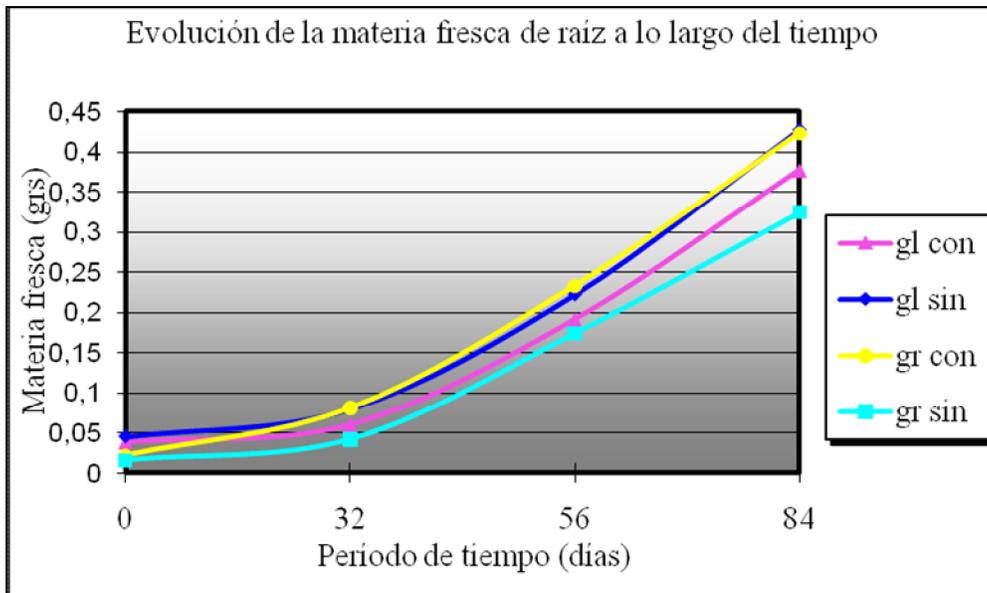
Para primera fecha se encontraron diferencias significativas para variable especie y para la interacción, no viéndose para tratamiento

En *E. grandis* no se vieron efectos de aplicación de *Trichoderma*. En *E. globulus* la media de materia fresca fue mayor para sin tratamiento.

En la segunda y tercer fecha no se vieron diferencias significativas para especie y tratamiento, si se hallaron en la interacción. La interacción presenta diferencias altamente significativas y negativas del *E. globulus* sin *Trichoderma* respecto al *E. globulus* con *Trichoderma*

Los plantines de *E. grandis* con *Trichoderma* resultaron con mayor peso de raíz fresca, presentando de mayor o igual peso que *E. globulus* con y sin *Trichoderma*. En la última fecha no hubo efectos de tratamientos ni de especies, por lo tanto las medias resultaron ser iguales estadísticamente. Gráficamente se puede observar una tendencia mayor sobre *E. grandis* con *Trichoderma* hacia el final del período.

Gráfico No. 6



Fuente: elaboración propia.

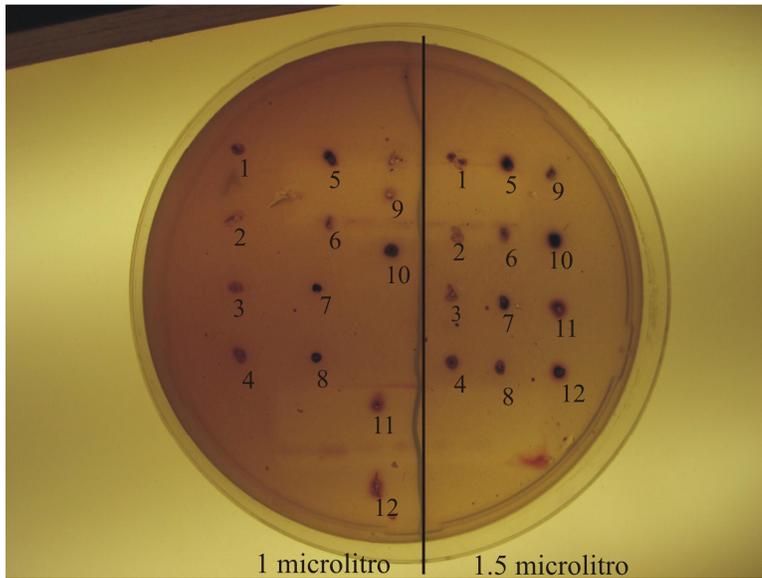
#### 4.7. RESULTADO DEL ANÁLISIS DEL LABORATORIO DE GENÉTICA

##### 4.7.1. Método 1 Tinción histoquímica

La actividad de la peroxidasa es determinada por la tinción del material sembrado a tonalidades de color rojo. Esto nos muestra que:

- 1) Esta metodología utilizada no mostró un resultado muy claro y eficiente para determinar la actividad de la peroxidasa tanto en plantas de *E. grandis* y *E. globulus*.
- 2) Se detectó un cambio hacia un color rojo tenue para *E. grandis* y *E. globulus* fresco recientemente colectado (tubos 11 y 12)
- 2) Se observa el mismo resultado para ambas dosis de extracto proteico 1ml y 1,5 ml.
- 3) No se detectó actividad para ninguno de los plantines conservados en freezer.
- 4) Al detectarse niveles de peroxidasa en plantas no tratadas con *Trichoderma*, se asumiría que estos árboles habrían sufrido algún tipo de estrés ya sea por una interacción patógeno-planta.

Figura No. 8 Foto de los resultados de la actividad de peroxidasa sobre la placa de petri



#### 4.7.2. Método 2 electroforesis

Las causas en la variabilidad de una misma enzima (isoenzimas) son: causas genéticas o sea por diferencias en la secuencia de nucleótidos del ADN; o por cambios a nivel postraduccionales, cuando el ARN mensajero es traducido al lenguaje proteico a nivel de citoplasma, donde se producen cambios en los aminoácidos que el ARN de transferencia ha agregado al formar la proteína

Figura No. 9 Foto de la migración obtenida de la migración en dilución 1/3

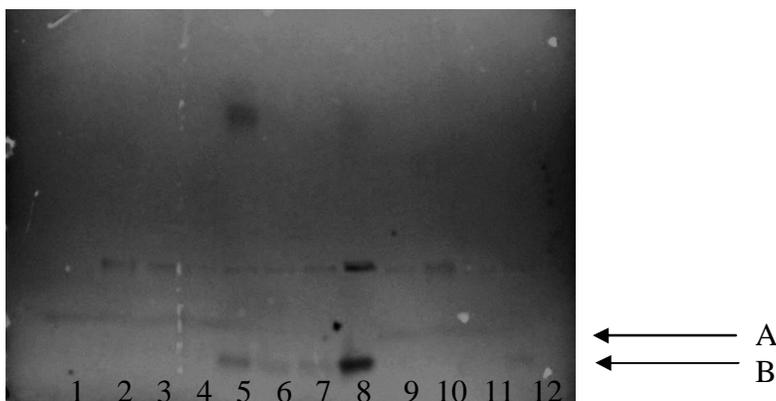


Fig. 2. Foto de placa donde se visualizan bandas de primer corrida electroforética. (Condiciones de migración: Tampón III SP diluido 1/3, tiempo: 30ø)

Esquema que representa la placa de depósitos de muestras 1/3

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
GLC T No. 2	GLC T No. 4	GLS T No. 5	GLS T No. 7	GRC T No. 9	GRS T No. 10	GRC T No. 12	GRS T No. 13	GLC T No. 2	GLC T No. 4	GLS T No. 5	GRS T No. 7

Nota: los números de la parte inferior se refieren a la ubicación del pocillo de la bandeja de crecimiento. Referencias: GLST (glob sin trat), GLCT(glob con trat), GRST(grand sin trat), GRCT(grand con trat)

En la migración electroforética de las dos especies de *Eucalyptus* se pudo detectar migración diferencial. Esto es coherente con los materiales que se están estudiando (dos especies diferentes, que pueden tener diferencias en sus cadenas de aminoácidos y por lo tanto migrar diferente en el campo eléctrico).

En la fig. 2, se observa en los números 5, 6, 7, 8 y 12, bandas más electropositiva que coincide con la especie *E. Grandis*, identificado como zona B; y números: 1, 2, 3, 4, 9, 10 y 11 que corresponden a *E. globulus* (zona A). De esta manera se detectan variaciones en la secuencia de nucleótidos que codifican para esta proteína debido a cambios genéticos. Esto fue claramente identificado con dilución 1/3 y tiempo de migración: 30 min.

La fuerza iónica de la solución tampón debe mantenerse a un nivel adecuado para garantizar la solubilidad de la muestra y suficiente capacidad amortiguadora. Además el tiempo de corrida cuanto mayor es, favorece una correcta separación de las bandas. Si el tiempo de corrida es muy corto se minimiza la dispersión de las muestras y ensanchamiento de las bandas. Por ello se modificó la dilución y aumento el tiempo de corrida para obtener una mayor claridad en las bandas (García, 2001)

Figura No. 10 Foto de la migración obtenida de la migración en dilución 1/10

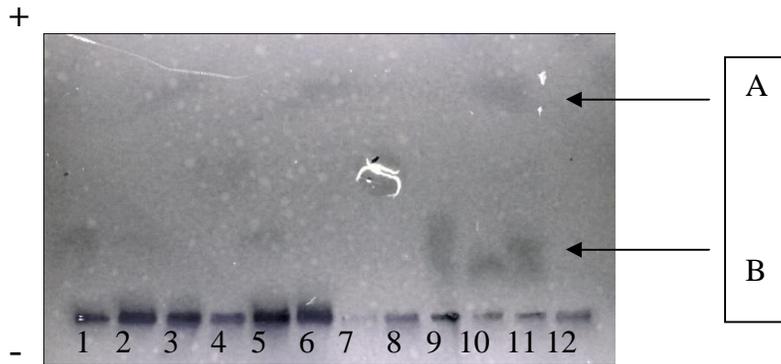


Fig. 3. Foto de placa donde se visualizan bandas de segunda corrida electroforética (Condiciones de migración: Tampón III SP diluido 1/10, tiempo: 35ø)

Esquema que representa la placa de depósitos de muestras 1/10

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
GLS T No.1	GLS T No. 3	-	GLS T No. 4	GLC T No.5	GLC T No.8	GRS T No.9	GRS T No. 10	GRS T No. 11	GRC T No. 12	GRC T No. 13	GLS T No. 4

Nota: los números de la parte inferior se refieren a la ubicación del pocillo de la bandeja de crecimiento. Referencias:GLST (glob sin trat), GLCT(glob con trat), GRST(grand sin trat), GRCT(grand con trat)

Se observaron en ambas diluciones bandas que migran más hacia el polo positivo en algunas plantas con tratamiento (zona A) y menos migración de bandas en plantas sin tratamiento (zona B). Pero hay plantas con tratamiento tanto para *E. globulus* como *E. grandis* que migraron al mismo nivel que las plantas sin tratamiento (zona B). Las bandas más cercanas al polo positivo son más electronegativas (indicado con flecha).

Las diferencias en la composición de la cadena de aminoácidos determinan la carga neta de la proteína, donde si se sustituyen aminoácidos de cargas positivas, negativas o neutras por otra contraria, modificarían la carga de la proteína generando una migración diferencial en el campo eléctrico.

Estas bandas más electronegativa (zona A) podría explicarse por cambios en los aminoácidos que codifican para dicha proteína (peroxidasa) a nivel postraduccional en la síntesis proteica, ya que es la única etapa que se encuentra influenciada por el ambiente, por la incorporación de *Trichoderma*. Estos producirían cambios en el metabolismo de las plantas, que conducirían a un mayor crecimiento meristemático, donde están involucradas las peroxidasas.

A través de este resultado se podría concluir que *Trichoderma* estaría afectando la síntesis proteica de peroxidasa, enzima que está involucrada en mecanismos de defensa de la planta (como ya se mencionó anteriormente en la bibliografía). Actuando directamente en la producción como en la detoxificación de R.O.S. (especies reactivas de oxígeno), donde éstas activan la muerte celular programada, biosíntesis de fitoalexinas, activación de cascadas MAPK, actividad antimicrobiana, movilización de Ca<sup>++</sup> y transporte de iones, fortalecimiento de la pared celular como en la activación de genes de defensa, resistencia sistémica inducida como ya se mencionó en la revisión.

## 5. CONCLUSIONES

1)- Según los resultados de nuestro ensayo se concluyó que existen respuestas diferenciales a la aplicación de *Trichoderma* al sustrato dependiendo de la especie en cuestión. (*Eucalyptus globulus* o *Eucalyptus grandis*)

2) Para la especie *E. grandis* en las dos últimas fechas de medición, todos los parámetros estudiados generaron una respuesta positiva y estadísticamente significativa para los plantines que fueron tratados con *Trichoderma*, se observó mayor crecimiento en los plantines.

3) *E. Globulus* no se observó respuesta al agregado de *Trichoderma* al sustrato, se observaron respuestas negativas en comparación con el sustrato sin tratar. Se buscaron las posibles causas de este resultado:

- A. Temperaturas medias ambientales bajas registradas para ese año en dicha zona fueron muy bajas, las cuales afectaron el crecimiento y desarrollo de *Trichoderma*. (Se adjunta anexo de temperaturas diarias mensuales 2007) ya que los agentes de biocontrol están afectados por cambios de temperatura, humedad, rocío, lluvia, viento y radiación, la concentración de nutrientes como aminoácidos, ácidos orgánicos, azúcares, exudados y heridas afectan la eficacia y supervivencia de los antagonistas
- B. Otra posible explicación de estos resultados pueden ser causados por la competencia con el resto de la microfauna presente en la rizoosfera. Entre ellas la interacción entre microorganismos antagonistas. Como es conocida la interacción negativa entre diferentes agentes de biocontrol. (por ej *Pseudomona* y *Trichoderma*)

4) Los resultados obtenidos en el análisis de isoenzimas peroxidada constataron diferencias asociadas a la presencia de *Trichoderma harzianum*, lo cual verificaría la sobrevivencia y colonización en el tiempo.

## 5.1. RECOMENDACIONES

1) Sería recomendable el uso de diferentes mezclas de cepas de *Trichoderma* para poder ampliar el rango de condiciones ambientales en las que actúa. También se podría utilizar diferentes tipos de biocontroladores para aumentar los nichos ecológicos a colonizar. Para formular estas mezclas se deben realizar análisis de compatibilidad

2) Otros posibles mecanismos para poder determinar la presencia de *Trichoderma* a través de la medición de peroxidasa es mediante el uso de otros sustratos diferentes como Benzidina, Ortodianisidina y Guayacol, que se explicarán a continuación: La actividad de peroxidasa puede ser determinada por estas tres reactivos, comúnmente son utilizadas en la medicina animal como vegetal. Estos indicadores difieren en su sensibilidad, donde Guayacol se caracteriza por ser el menos sensible, este cambia de color en presencia de peróxido de hidrógeno (un compuesto de color diferente)

El Guayacol es un sustrato que puede ser catalizado por la peroxidasa, donde es oxidado a un compuesto coloreado de tetraguayacol. El cambio de color a rojo puede ser usado como una medida de la actividad enzimática por lecturas espectrofotométricas de las absorbancias en relación con el tiempo

Según un estudio realizado en la Universidad de Valencia por Castello et al. (s.f.) donde se compararon diferentes reactivos entre ellos Benzidina. El objetivo fue determinar la presencia de peroxidasa, se concluyó que este es uno de los mejores reactivos para determinar la peroxidasa de origen vegetal, siendo su afinidad específica por especie.

## 6. RESUMEN

El aumento en el uso de productos químicos en el área agrícola, ha incrementado los efectos negativos sobre el ambiente y la salud humana. Como consecuencia de ello los estudios de organismos biocontroladores y biopromotores de crecimiento han comenzado a tener mayor difusión en nuestro país. Existen varios antecedentes que citan a *Trichoderma* un agente promotor de crecimiento para numerosas especies vegetales. El ensayo consistió en la aplicación de *Trichoderma harzianum* (Trichosoil) en plantines de *Eucalyptus globulus* y *grandis*, llevándose a cabo en dos etapas: en primera instancia en un vivero òForestal Solísö, ubicado en Solís de Matajojo, donde se midieron parámetros morfológicos. La segunda etapa fue realizada en el laboratorio de genética en la facultad de agronomía. El ensayo fue realizado sobre dos especies *Eucalyptus globulus* y *grandis*, con y sin aplicación de *Trichoderma harzianum* (dos tratamientos), las mediciones de parámetros morfológicas se realizaron en cuatro diferentes fechas en la etapa de vivero. En la segunda instancia se procedió al análisis de peroxidasa a través de técnicas de tinción histoquímica y electroforesis. En ambas técnicas se utilizó extracto proteico proveniente de dos orígenes: de plantines congelados obtenidos del vivero, en cuatro fechas y, de plantines frescos sembrados en el laboratorio de genética. La incorporación de *Trichoderma harzianum* tuvo un efecto de promoción de crecimiento solamente para *Eucalyptus grandis* en las últimas etapas de crecimiento, dicho efecto no se evidencio para *Eucalyptus globulus*. En el análisis de electroforesis los extractos de plantines no tratados con Trichosoil mostraron una migración menor, mientras que algunos de los extractos que fueron tratados presentaron una mayor migración, pudiéndose asociar a la existencia de peroxidasa relacionada directamente a la presencia de *Trichoderma harzianum*.

Palabras clave: Plantines; Biopromotor; Biocontrolador; *Trichoderma harzianum*;  
*Eucalyptus grandis*; *Eucalyptus globulus*; Peroxidasa.

## 7. SUMMARY

The side effects in health and environment raised due to the increase in the use of chemicals in Agriculture. As a result, in our country the studies in biocontrol organisms and growth biopromoters started to spread. Several studies refer to *Trichoderma* as a growth promote agent for several species. The procedure of applying *Trichoderma harzianum* (Trichosoil) in *Eucalyptus globulus* and *grandis* seedlings was carried away in two phases; firstly morphological parameters were measured in ðForestal Solisö a nursery located in Solis de Mataojo. The second phase was done in the Genetics Laboratory of University of Agriculture. The trials were done in two species; *Eucalyptus globulus* and *grandis*, trying with and without applying *Trichoderma harzianum* (two procedures), in four different dates during nursery stages, morphological parameters were measured. Secondly, by histochemical staining techniques and electrophoresis, the analysis of peroxidase was done. The protein extract used in both cases came from two sources; frozen seedlings collected in the nursery in four different dates and fresh seedlings grown in the genetics laboratory. While in *Eucalyptus grandis*, the application of *Trichoderma harzianum* showed a growth promote effect in the final stages, in *Eucalyptus globulus* this effect was unnoticed. Some of the Trichosoil treated extracts migrated more than those that were not applied with Trichosoil in the electrophoretic analysis; this could be due to the presence of peroxidase which is related directly to the presence of *Trichoderma harzianum*.

Key words: Baby plants; Biopromoter; Biocontroller; *Trichoderma harzianum*;  
*Eucalyptus grandis*; *Eucalyptus globulus*; Peroxidase.

## 8 BIBLIOGRAFÍA

1. ABAD, M. s.f. Los materiales utilizados como sustrato en horticultura. Los cultivos sin suelo. (en línea). Valencia, Universidad Politécnica. pp. 1-3. Consultado jun. 1998. Disponible en <http://www.horticom.com/fitech1/mabad.html>
2. ACEVES, M.; OTERO, M.; MARTÍNEZ, R.; ARIZA, R.; BARRIOS, A.; REBOLIEDO, A. 2008. Control biológico in vitro de enfermedades fungosas en tomate *Lycopersicon esculentum* Mill. Avances de Investigación Agropecuaria. 12(3):55-68.
3. AGRIOS, G.N. 1996. Fitopatología. México, Limusa. 838 p.
4. ALABOUVETTE, C.; LEMANCEAU, P. s.f. Natural suppressiveness of soil in management of Fusarium wilts. In: Agriculture Canada Research Station Summerland. Management of soil borne diseases. New Delhi, Kalyani. pp. 301-321.
5. ALEXANDRA, V.; SCHMIDT, H; MORELA F.; FRANCIA, F. 2007. La electroforesis. Principios y aplicaciones en el cultivo de la yuca. (en línea). Revista Digital del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias.14: 1-19. Consultado nov. 2010. Disponible en <http://www.ceniap.gov.ve/pbd/RevistasTécnicas/ceniaphoy/index.htm>
6. ALMANCA, M.A.C.; SILVA, A.C.F.; RODRIGUEZ, J.A.; BRUM, E.V.P. 2001. Isolamento, seleção e antagonismo in vivo de isolados de trichoderma spp. Visando o controle de Sclerotinia sclerotiorum em plantas de feijão Phaseolus vulgaris). In: Reuniao de Controle Biologico de Fitopatogenos (7º., 2001, Bento Gonçalves, Rio Grande do Sul). Anais. Santa Maria, EMBRAPA. p. 102.
7. ALTAMORE, C.; NORVELL, W. A.; BJORKMAN, T.; HARMAN, G.H. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and fungus Trichoderma Harzianum Rifai 1295-22. Applied and Environmental Microbiology. 65(7): 2926-2933.
8. ANTOUN, H; PREVOST, D. 2005. Ecology of plant growth promoting Rhizobacteria, PGPR, Biocontrol and biofertilization. Québec, Springer. 38 p.
9. AÑÓN, D.; LEVITAN, A.; TARINO, E. 2004. Evaluación de diferentes dosis de fertilización en la producción de plantines de *Pinus taeda* L. creciendo en

sustrato colonizado por *Trichoderma Harzianum*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 161 p.

10. ASENSIO, M. 1979. Patrones de peroxidasa de diferentes variedades de café. Bogotá. (en línea). Bogotá, s.e. 10 p. Consultado 6 may. 2010. Disponible en <http://orton.catie.ac.cr/cgi-in/wxis.exe/?IsisScript=CAFE.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=016126>
11. AVILA SALAZAR, J.; ROMO, LOPEZ, I.G.; AVILA MIRAMONTES, J.A. 2002. *Trichoderma harzianum*; un potencial biológico para el combate de las enfermedades de las plantas. In: Seminario de Horticultura (7º, 2002, s.l.). Trabajos presentados. s.n.t. pp. 22-29.
- 12 BALDINI, A.; PANCEL, L. 2002. Agentes de daño en el bosque nativo.(en línea). Santiago de Chile, Universitaria. 408 p. Consultado feb. 2009. Disponible en [http://books.google.com.uy/books/about/Agentes de Da%C3%B1o en El Bosque Nativo.html?id=hHVmFxBKYAacC](http://books.google.com.uy/books/about/Agentes_de_Da%C3%B1o_en_El_Bosque_Nativo.html?id=hHVmFxBKYAacC)
13. BARKA, E.A.; BELARDI, A.; HACHET, C.; NOWAK, J.; AUDRAN, J. C. 2000. Enhancement of in vitro growth and resistance to gray mould of *Vitis vinifera* co-cultured with plant growth-promoting rhizobacteria. (en línea). Federation of European Microbiological Societies. 186: 91-95. Consultado 31 jul.2010. Disponible en <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1574-68.2000.tb09087.x/pdf>
14. BARRETO, D; VALERO, N; MUÑOZ, A; PERALTA, A. 2007.Efecto de microorganismos rizosfericos sobre germinación y crecimiento temprano de *Anacardium Excelsum*. (en línea). Zona Árida. 11 (1):240-250. Consultado 6 nov. 2010. Disponible en <http://www.lamolina.edu.pe/zonasaridas/za11/pdfs/ZA11%2000%20art18.pdf>
15. BASHAM, Y.; DE-BASHAM, L. E. 2002. Reduction of bacterial speck (*Pseudomonas syringae* pv. Tomato) of tomato by combined treatments of plant growth-promoting bacterium, *Azospirillum brasilense* streptomycin sulfate, and chemo-thermal seed treatment. *European Journal of Plant Pathology*. 108: 821-829.
16. BENITEZ, T.; RINCON, A.M.; LIMON, M.C.; CODON. 2004. Biocontrol mechanism of *Trichoderma* strains. (en línea). *International Microbiology*. 7: 249-260. Consultado 20 jul. 2010.

Disponible en  
<http://www.im.microbios.org/0704/0704249.pdf>

17. BETTIOL, W. 1991. Controle biológico de doenças de plantas. Brasília, Centro Nacional de Pesquisas de Agropecuarias. 387 p.
18. BIOAGRO s.f. Control biológico-*Beauveria Bassiana* - BTI -*Trichoderma* sp - *Pseudomonas aurantiacas*. (en línea). s.l., Departamento Técnico de Bioagro. s.p. Consultado 4 abr. 2009. Disponible en [http://www.ucla.edu.ve/Bioagro/Rev14\(1\)/2.%20Micobiota%20del%20suelo.pdf](http://www.ucla.edu.ve/Bioagro/Rev14(1)/2.%20Micobiota%20del%20suelo.pdf)
19. \_\_\_\_\_. 2006. Presentación de nuevos desarrollos, control biológico. (en línea). s.n.t. s.p. Consultado 4 abr. 2009. Disponible en <http://www.bioagrosa.com.ar-esp-magesProductoEnDesarrollo .pdf.url>
20. BIO INSUMOS NATIVA. s.f. Métodos de control. (en línea). s.n.t. s.p. Consultado 4 abr. 2009. Disponible en [http://www.bionativa.cl/pdf/tricodermo/metodos\\_de\\_control\\_trico.pdf](http://www.bionativa.cl/pdf/tricodermo/metodos_de_control_trico.pdf)
21. BIOSAFE. s.f. Agroproductos bio-rationales; Fithan *Trichoderma*. (en línea). Culiacán. pp. 1-2. Consultado 4 abr. 2009. Disponible en <http://www.biosafe.com.mx/productos/FITHAN.pdf>
22. BRUNE, W.; ALFENAS, A.1998. Electroforesis de isoenzimas. Modalidades da eletroforese. (en línea). In: Alfenas, A.C. ed. Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins. Fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. pp. 25 ó 84. Consultado jun. 2010. Disponible en [http://www.ceniap.gov.ve/pbd/RevistasTecnicas/ceniaphoy/articulos/n14/pdf/a\\_schmidt.pd](http://www.ceniap.gov.ve/pbd/RevistasTecnicas/ceniaphoy/articulos/n14/pdf/a_schmidt.pd)
23. CABRERA, R.I. 1995. Fundamentals of container media management; part. 1 phisical properties. New Jersey, Rutgers Cooperative Extension Factsheet. 4 p.
24. \_\_\_\_\_.; TEJERA, R. 2002. Evaluación de diferentes dosis de fertilización en la producción de plantines de *Eucalyptus grandis* w. Hill ex maideni creciendo en sustrato colonizado por *Trichoderma harzianum*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 156 p.

25. CALVIÑO, M. 2006. Caracterización genética de *Paspallum urvillei*, una gramínea con potencial forrajero. Tesis Biólogo. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía/Facultad de Ciencias. 31 p.
26. CAMARENA, G. 2006. Especies reactivas de oxígeno en defensa de las plantas contra patógenos. (en línea). Revista Chapingo. 12 (1): 25-30. Consultado 24 abr. 2008. Disponible en <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/html/629/62912103/62912103.html>
27. \_\_\_\_\_; DE LA TORRE, A. 2007. Resistencia sistémica en plantas; estado actual. (en línea). Revista Chapingo. 13 (002): 157-152. Consultado 5 set. 2008. Disponible en <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/629/62913209.pdf>
28. CARDENAS, D. 2003. Evaluación de diferentes sustratos colonizados con el antagonista (*Trichoderma Harzianum* Fr.) sobre la calidad de plantines de *Eucalyptus grandis* w. *Hill ex Maideni*, *Eucalytus globulus* spp *globulus* Labill. Y *Pinus taeda* L. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 198 p.
29. CASIMIRO, A. 2001. Cepas nativas de *Trichoderma* spp. Euascomycetes; hipocreales, su antibiosis y micoparasitismo sobre *Fusarium subglutinans* y *F. oxysporum*. (Hyphomycetes, Hyphales). (en línea). Tesis para obtener Doctorado en Ciencias: Área Biotecnología. Colima, México. Universidad de Colima. 176 p. Consultado 5 abr. 2009. Disponible en [http://digeset.ucol.mx/tesis\\_posgrado/Pdf/Alejandro%20Casimiro%20Michel%20Aceves.PDF](http://digeset.ucol.mx/tesis_posgrado/Pdf/Alejandro%20Casimiro%20Michel%20Aceves.PDF).
30. CORNELL UNIVERSITY (USA). Using bees to disseminate *Trichoderma* to strawberries for the control of *Botrytis* fruit rot. New York. 3 p.
31. CORREA, LIMA, L.H.; LISBOA, DE MARCO, J.; QUEIROZ, PR; ULHOA, C.J.; FELIX, C.R. 2001. Purificação de uma endoquitinase de *Trichoderma harziaum* com atividade sobre a parede celular de fungos fitopatogenicos. In: Reuniao de Controle Biologico de Fitopatogenos (7º., 2001, Bentos Gonçalves, Rio Grande do Sur). Anais. Santa Maria, EMBRAPA. p. 118.
32. CRAVIOTTO, R.M.; ARANGO, M.; MONTERO, M.; GALLO, C.; MORENO, M.; ALMOÑO, A. s.f. Prueba de Benzidina; una herramienta eficaz para la identificación varietal de la soja. (en línea). Buenos Aires, INTA. s.p. (Ficha técnica). Consultado may. 2010. Disponible en <http://www.cosechaypostcosecha.org/data/articulosindice.asp#cali>

33. CHUN, Y.; CHANG, Y.; BAKER, R.; KLEIFERD, O.; CHET, I. 1986. Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma Harzianum*. *Plant Disease*. 70: 145-147.
34. DE SOUZA, J.T.; BAILEY, B.A.; POMELLA, A.W. V.; ERBE, E.F.; MURPHY, C.A.; BAE, H.; HEBBAR, P.K. 2008. Colonization of cacao seedlings by *Trichoderma stromaticum*, a mycoparasite of the witches' broom pathogen, and its influence on plant growth and resistance. (en línea). *Biological Control*. 46: 36-45. Consultado 12 jul. 2010. Disponible en <http://www.worldcocoafoundation.org/scientific-research/research-library/documents/DeSousa2008.pdf>
35. DICKINSON, K.; CARLILE, W.R. 1995. The storage properties of wood-based peat-free growing media. (en línea). *Acta Horticulturae*. no. 401:89-96. Consultado feb. 2009. Disponible en [http://www.actahort.org/books/401/401\\_10.htm](http://www.actahort.org/books/401/401_10.htm)
36. DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. 2003. Plant growth-promoting effects of Diazotrophs in the rhizosphere. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 22 (2): 107-149.
37. DONOSO, E.; LOBOS, G.A.; ROJAS, N. 2008. Efecto de *Trichoderma Harzianum* y compost sobre el crecimiento de plántulas de *Pinus radiata* en vivero. (en línea). *Bosque*. 29(1): 52-57. Consultado 16 mar. 2009. Disponible en [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-92002008000100006&lng=pt&nrm=&tlng=es](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-92002008000100006&lng=pt&nrm=&tlng=es) (11 de 11)16/03/2009 15:38:00
38. ESCUELA SUPERIOR TECNICA DE CHIMBORAZO. s.f. 2005. Evaluación del empleo de solarización y *Trichoderma harzianum* rifai para el control de *Rhizoctonia Solani* en papa (*Solanum tuberosum*) en Chimborazo. (en línea). Riobamba, s.e. pp. 1-21. Consultado may. 2009. Disponible en <http://www.quito.cipotato.org/PRESENTACIONES/Microsoft%20PowerPoint%20-%20Castro.pdf>
39. EZZIYYANI, M.; SANCHEZ, P.; SID AHMED, A.; REQUENA, M.E.; CANDEA, M.E. 2004. *Trichoderma Harzianum* como biofunguicida para el Biocontrol de *Phitophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annum*. L). (en línea). *Anales de Biología*. 26: 34-45. Consultado 1 nov. 2009. Disponible en

<http://www.um.es/analesdebiologia/numeros/26/PDF/05-TRICHODERMA.pdf>

40. \_\_\_\_\_.; REQUENA, M.; CANDELA, M. 2005. Producción de proteínas-PR en la inducción de resistencia a *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum anum* L.) tratadas con *Trichoderma harzianum*. (en línea). Anales de Biología. 27: 143-145. Consultado 1 nov. 2009. Disponible en <http://www.um.es/analesdebiologia/numeros/27/PDF/17-PRODUCCION.pdf>
41. GARCÍA, M.; GONZÁLEZ, H. 2005. Sustratos para la producción de mudas hortícolas; guía de clase. Montevideo, Facultad de Agronomía. 6 p.
42. GARCÍA, H. 2000. Electroforesis en geles de poliacrilamida. Fundamentos, actualidad e importancia. (en línea). Universo Diagnóstico.1(2):31-41. Consultado jun. 2012. Disponible en [http://bvs.sld.cu/revistas/uni/vol1\\_2\\_00/uni07200.pdf](http://bvs.sld.cu/revistas/uni/vol1_2_00/uni07200.pdf)
43. GEPP, V.; MONDINO, P. 2002. Apuntes sobre fungicidas. Montevideo, Facultad de Agronomía. 6 p.
44. GLICK, B.R.; PELROSE, D. M. 2004. The use of ACC deaminasa-containing plant growth-promoting bacteria to protect plants against the deleterious effects of ethylene.(en línea). Plant Surface Microbiology. 8: 133-144. Consultado jun. 2009. Disponible en [http://sutlib2.sut.ac.th/sut\\_contents/H119782.pdf](http://sutlib2.sut.ac.th/sut_contents/H119782.pdf)
45. GONZÁLEZ, F. s.f. Caracterización mediante isoenzimas. Valladolid, Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Agrícola I.N.E.A. pp.219-233.
46. GONZALEZ, SALGADO, C.H.; RODRIGUEZ, LAURAMENDI, L.; ARJONA, C.; PUERTAS, A.; FONSECA, M. 1999. Efecto de la aplicación de *Trichoderma Harzianum* R. sobre la composición cuantitativa de bacterias, hongos y actinomicetos de la rizosfera de solanáceas y su influencia en el crecimiento vegetativo. Investigación. Agropecuaria: Producción Protección Vegetal. 14 (1-2): 297-306.
47. HANSEN, N.; LUGANO, L.1997. La calidad de los plantines para forestación. (en línea). Forestar en Patagonia. Hoja Divulgativa Técnica. 18:1-4. Consultado mar. 2009. Disponible en <http://www.vet-uy.com/articulos/forestacion/pdfs/hdt18.pdf>

48. HARMAN, G.E. s.f. *Trichoderma harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. hamatum* (Deuteromycetes: Moniliales). Biological control; a guide to natural enemies in North América. (en línea). Geneva, Cornell University. 3 p. Consultado ago. 2009. Disponible en <http://www.biocontrol.entomology.cornell.edu/pathogens/trichoderma.html>
49. \_\_\_\_\_. 1996. *Trichoderma* for Biocontrol of plant pathogens: from basic research to commercialized products. (en línea). In: Conferencia on Biological Control (1996, Genove, NY). Proceedings. Genove, Cornell University Community. 6 p. Consultado 8 feb. 2003. Disponible en <http://www.nysaes.cornell.edu/ent/bcconf/talks/harman.html>
50. HOITINK, H.A.J.; STONE, A.G.; HAN, D.Y. 1997. Supresión de enfermedades mediante el uso de compost. Manejo Integrado de Plagas. 43: 31-39.
51. HUMERES, C. 2004. Evaluación de la capacidad biocontroladora de dos cepas nativas de *Trichoderma* spp. sobre aislados de hongos Basidiomycetes asociados a muerte de brazos de kiwi. (en línea). Tesis Ing. Agr. Talca, Chile. Universidad de Talca. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de Agronomía. 43 p. Consultado 5 abr. 2009. Disponible en <http://www.bionativa.cl/pdf/tesis/trichonativa/t37.pdf>
52. IAB. s.f. Ficha técnica producto formulado *Trichoderma Harzianum* IAB-32. (en línea). Valencia, Investigaciones y Aplicaciones Biotecnológicas. s.p. Consultado 5 abr. 2009. Disponible en [http://www.iabiotec.com/trichod\\_ficha.htm](http://www.iabiotec.com/trichod_ficha.htm)
53. INBAR, J.; ABRAMSKY, M.; COHEN, D.; CHET, I. 1994. Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma Harzianum* in vegetable seedlings grown under commercial conditions. European Journal of Plant Pathology. 100: 337-346.
54. IRISITY, F. 1999 El vivero forestal. Montevideo, Facultad de Agronomía. 25 p.
55. JALIL, C.; APALAZA, G.; NORERO, A. 1996. Efecto de la temperatura sobre el crecimiento micelial de *Trichoderma harzianum* T-39 y la relación interbiótica con *Botrytis cinérea* procedente de tomate. (en línea). Simiente. 67(1): 68-95. Consultado 1 nov. 2009. Disponible en <http://alerce.inia.cl/sochifit/VI.html>

56. JOSEPH, W.; MIN, R.; ZHANG, S. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology*. 94(11): 1259-1266.
57. LORENZO, O.; SOLANO, R. 2005. Señalización de ácido jasmónico e interacciones con otras hormonas. (en línea). *Biojournal Net*. no. 1: 1-16. Consultado 28 mar. 2009. Disponible en <http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Jasmonico.pdf>
58. LUCON, C.M.M.; NASCIMENTO, L.M.; CORREA, C.K. 2001. Tratamento em pos-colheita de mamao, Carica papaya, com isolados de *Trichoderma* sp. *In*: Reuniao de Controle Biologico de Fitopatogenos (7º., 2001, Bentos Gonçalves, Rio Grande do Sur). *Anais*. Santa Maria, EMBRAPA. p. 91.
59. MARTINEZ, A.; ROLDÁN, A.; LLORET, E.; PASCUAL, J. 2008. Formulación de *Trichoderma harzianum* rifai en la producción ecológica de plántulas de melón en semillero para el control de fusariosis vascular. (en línea). Murcia, Campus Universitario de Espinardo. 10 p. Consultado 4 abr. 2009. Disponible en [http://www.agroecologia.net/recursos/publicaciones/publicaciones-online/2009/eventos-seae/cds/congresos/actas-bullas/seae\\_bullas/verd/posters/10%20P%20SV/11.pdf](http://www.agroecologia.net/recursos/publicaciones/publicaciones-online/2009/eventos-seae/cds/congresos/actas-bullas/seae_bullas/verd/posters/10%20P%20SV/11.pdf)
60. MARTINEZ TELLEZ, J; OJEDA BARRIOS, D.; RUIZ ANCHONDO, T.; s.f. Pudrición texana; alternativas de control y manejo integrados. (en línea). Chihuahua, s.e. Consultado oct. 2011. Disponible en [http://www.microflora.com.mx/info-tecnica/pudricion\\_Texana.pdf](http://www.microflora.com.mx/info-tecnica/pudricion_Texana.pdf)
61. MELO, F.M.P. 2001. Metabolitos secundarios produzidos por *Trichoderma* spp. CG709. *In*: Reuniao de Controle Biologico de Fitopatogenos (7º., 2001, Bentos Gonçalves, Rio Grande do Sur). *Anais*. Santa Maria, EMBRAPA. p. 109.
62. Métodos histoquímicos; su aplicación al estudio de los tejidos. (en línea). s.n.t. s.p. Consultado 21 ago. 2008. Disponible en <http://servet.uab.es/histologia/docencia/HMA2005/temasteoria/tema4/t4index.html>
63. MICHEL, A.; OTERO, M.; REBOLLEDO, O. 2007. Producción y efecto antagónico de quitinasas y glucanasas por *Trichoderma* spp. , en la inhibición de *fusarium subglutinans* y *F. oxysporum* in vitro. (en línea). *Revista*

- Chapingo. Serie Horticultura. 11(002): 273-278. Consultado 4 abr. 2009.  
Disponible en  
<http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/609/60911213.pdf>
64. MONDINO, P.; VERO, S. 2006. Control biológico de patógenos. Montevideo, Facultad de Agronomía. 158 p.
65. MORALES, D.; GALLO, L. 2006. Plataforma de proteómica. Métodos físicos-químicos en biotecnología. (en línea). Cuernavaca, Universidad Autónoma de México. pp. 1-49. Consultado 6 ago. 2008.  
Disponible en  
[http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/plataformas\\_de\\_proteomica.pdf](http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/plataformas_de_proteomica.pdf)
66. MORERA J. 2007. TRICOFUNG; producto biológico a base de *Trichoderma* spp. (en línea). Valencia, s.e. 5 p. Consultado 18 set. 2009.  
Disponible en  
[http://www.fitoca.com/doc/es-tricofung\\_dossier-1.pdf](http://www.fitoca.com/doc/es-tricofung_dossier-1.pdf)
67. NAKKEERAM, S.; DILANTHA FERNANDO, W.S.; SIDDIQUI, Z. A. 2005. Plant growth promoting rhizobacteria formulations and its scope in commercialization for the management of pest and diseases. In: Siddiqui, Z. A. ed. PGPR; biocontrol and biofertilization. Manitoba, Canada. Department of Plant Science. cap. 10, pp. 257-296.
68. NEGRONE, C.; LEÓN, M.; VILLALBA, N. 2008. Evaluación del comportamiento de *Pinus taeda* L. con y sin aplicación de fertilización starter creciendo en sustrato con *Trichoderma Harzianum*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 56 p.
69. NELSON, D.L.; COX, M.M. 2008. Lehninger; principios de bioquímica. Barcelona, Omega. pp. 1044-1068.
70. NIRANJAN, RAJ, S.; SHETTY, H.S.; REDDY, M. S. 2005. Plant growth promoting rhizobacteria: potential green alternative for plant productivity. In: Siddiqui, Z. A. ed. PGPR; biocontrol and biofertilization. Manitoba, Canada. Department of Plant Science. pp. 197-216.
71. NORTE, A. 2006. Trichoderma. (en línea). s.n.t. s.p. Consultado 26 ago. 2009.  
Disponible en [http://www.spainbonsai.com/tricho\\_es.html](http://www.spainbonsai.com/tricho_es.html)

72. ORTIZ, M. 2007. Caracterización funcional de MAP quinasas del subgrupo C1 de plantas. Tesis de doctorado en farmacia. Valencia, España. Universidad de Valencia. 201 p.
73. OUSLEY, M.A.; LYNCH, J.M.; WHIPPS, J.M.; 1993. Effect of Trichoderma on plant growth; a balance between inhibition and growth promotion. *Microbial Ecology*. 26: 277-285.
74. PAPAIVIZAS, G. C. 1985. Trichoderma and Gliocladium; biology, ecology and potential for biocontrol. *Annual Review of Phytopathology*. 23: 23-54.
75. PODILE, A. R.; KISHORE, G. K. 2006. Plant-associated bacteria. Plant growth-promoting rhizobacteria. s.l., Springer. pp.195-230.
76. QUIROZ, V.; FERRERA, R.; ALARCÓN, A.; LARA, M. 2008. Antagonismo in vitro de cepas de *Aspergillus* y *Trichoderma* hacia hongos filamentosos que afectan el cultivo del ajo. (en línea). *Revista Mexicana de Micología*. 26: 27-34. Consultado 9 set. 2008. Disponible en <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/883/88302605.pdf>
77. QUIROZ, I.; GARCIA, E.; GONZALEZ, M.; CHUNG, P.; SOTO, H. 2009. Vivero forestal; producción de plantas nativas a raíz cubierta. (en línea). Concepción, Chile, s.e. 119 p. Consultado mar. 2010. Disponible en <http://www.ctpf.cl/.../122-quiros-et-al-2009-produccion-de-plantas-nativas>
78. RABEENDRAN, N.; MOOT, D. J.; JONES, E.E.; STEWART, A. 2000. Inconsistent growth promotion of cabbage and lettuce from *Trichoderma* isolates. (en línea) *In: Soil, Plant and Ecological Science (53<sup>rd</sup>, 2000 Canterbury, New Zealand)*. *Proceedings. New Zealand Plant Protection*. 563: 143-146. Consultado 22 may. 2010. Disponible en <http://www.hortnet.co.nz>
79. RAMOS, MARIANO, R.D.; 2001. Potencial de bacterias endofitas para utilização na agricultura. *In: Reuniao de Controle Biologico de Fitopatogenos (7<sup>o</sup>, 2001, Bentos Gonçalves, Rio Grande do Sur)*. *Anais. Santa Maria, EMBRAPA*. pp. 7-24.
80. REINA, R. 2000. Evaluación de métodos biológicos y químicos para el control de *Botrytis cinerea* en viveros de *Eucalyptus globulus*. Tesis de Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 73 p.

81. REY, M.; DELGADO, J.; RINCON, A; LIMON, M; BENITEX, T. 2000. Mejora de cepas de *Tichoderma* para su empleo como biofunguicida. (en línea) Revista Iberoamericana de Micología. 17: S31-S36. Consultado 4 abr. 2009. Disponible en <http://www.reviberoammicol.com/2000-17/S31S36.pdf>
82. RICARD, J.; HYGHLEY, T.L. 1988. Biocontrol of decay or pathogenic fungi in wood and trees. In: International Trichoderma / Gliocladium Workshop (2º., 1987, Salford, UK). Proceedings. Madison, USDA. Forest Service. Henry Doubleday Research. pp. 9-15 (Trichoderma Newsletter no. 4).
83. RICHARDSON, B.J.; BAVERSTOCK, P.R.; ADAMS, M. 1986. Allozyme electrophoresis. Electrophoresis methods. San Diego, Academic Press. 410 p.
84. RODRIGUEZ, V. 2002. Efecto antagonico y biocontrolador de algunos microorganismos saprofiticos contra *Rhizoctonia solani* in fitopatogeno causante del (damping off)en plantas de tomate. Tesis Magister Microbiología. Lima, Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. 105 p.
85. ROMERO, G. 2005. Enfermedades forestales en el Uruguay. Montevideo, Facultad de Agronomía. 47 p.
86. ROMO, I.; ÁVILA, J. 2000. *Trichoderma* spp como agente de control biológico (parte 1). (en línea). Avances Agropecuarios. dic.:s.p. Consultado 4 abr. 2009. Disponible en [http://www.daugus.uson.mx-publicaciones-Diciembre\\_Agro\\_2000.pdf.url](http://www.daugus.uson.mx-publicaciones-Diciembre_Agro_2000.pdf.url)
87. ROSSI, C. 2010. Evaluación de *Trichoderma harzianum* como agente biopromotor y de biocontrol en plantines de *Eucalyptus dunnii* y *maidenii*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 120 p.
88. SANFUENTES VON STOWASSER, E.; ALVEZ PEREIRA, F. 1997. Evaluation of fungi *Botrytis cinerea* biocontrol in *Eucalyptus* suspended nurseries. Revista *Árvore*. 21(1): 147-153.
89. SILVEIRA, A.C.; GEPP, V.; PEREZ, E. 2001. Aislamiento y seleccion de hongos antagonistas de *Sclerotinia sclerotiorum*. . In: Reuniao de Controle Biologico de Fitopatogenos (7º., 2001, Bentos Gonçalves, Rio Grande do Sur). Anais. Santa Maria, EMBRAPA. p. 95.

90. SILVESTRI, P.; DA SILVA, RIVEIRO, R.T.; MONTEIRO, DE BARROS, N.; VALDEBENITO, SANHUEZA, R.M. 2001. Manejo integrado de *Rhizoctonia solani* no morangueiro com *Trichoderma viride* T15 e T15E e aveia preta, em casa-de vegetação. In: Reuniao de Controle Biologico de Fitopatogenos (7º., 2001, Bentos Gonçalves, Rio Grande do Sur). Anais. Santa Maria, EMBRAPA. p. 96.
91. SMITH, K.T.; BLANCHARD, R.O.; SHORTLE, W.C. 1981. Postulated mechanism of biological control of decay fungi in red maple wounds treated with *Trichoderma Harzianum*. *Phytopathology*. 71 (5): 496-498.
92. SOBRINO, R. 2005. Control biológico de *Fusarium oxysporum f.sp. melonis* RAZA 1.2 con antagonistas; trabajo final. (en línea). Ciudad Real, Escuela Universitaria de Ingeniería e Tecnología Agrícola. pp. 1-52. Consultado 5 abr. 2009. Disponible en <http://www.uclm.es/profesorado/porrasysoriano/.../Raquel%20Sobrinoppt>
93. SOSA, RODRIGUEZ, T.; SANCHEZ, NIEVES, J.; MORALES, GUTIERREZ, E.; CRUZ, CORTES, G. 2006. Interacción micorrizas arbusculares- *Trichoderma harzianum* (moniliaceae) y efectos sobre el crecimiento de *Brachiaria decurrens* (Poaceae). *Acta Biológica Colombiana*. 11(1): 43-54.
94. TORRES, M. 2007. Especies reactivas de oxígeno en la respuesta contra patógenos en plantas. (en línea). *Biojournal Net*. no. 5: 10-17. Consultado 5 set. 2008. Disponible en <http://www.biojournal.net/pdf/24.pdf>
95. TRICOFUNG funguicida Microbial-Polvo mojable. Uso agrícola. (en línea). s.f. Valencia. s.p. Consultado abr. 2009. Disponible en [http://www.fitoca.com-doc-es-trichofung\\_dossier-1.pdf.url](http://www.fitoca.com-doc-es-trichofung_dossier-1.pdf.url)
96. TRICHOL *Trichoderma* sp.( en linea) s.f. s.n.t. s.p. Cosultado abr. 2009. Disponible en [https://www.google.com.uy/search?q=trichol&oq=trichol&aqs=chrome..69i57j0l5.2756j&sourceid=chrome&espv=210&es\\_sm=122&ie=UTF8#es\\_sm=122&q=trichol+trichoderma](https://www.google.com.uy/search?q=trichol&oq=trichol&aqs=chrome..69i57j0l5.2756j&sourceid=chrome&espv=210&es_sm=122&ie=UTF8#es_sm=122&q=trichol+trichoderma)
97. UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS (PERÚ). FACULTAD DE ENTOMATOLOGIA s.f. Láminas histológicas. (en línea). Lima. 17 p. Consultado jun. 2008. Disponible en <http://www.slideshare.net/azanero33/laminas-histologicas-preparacion>

98. UNIVERSIDAD DE ZULIA (VENEZUELA). FACULTAD DE AGRONOMÍA s.f. Ecología en la red. Trichoderma en el control biológico de enfermedades. (en línea). s.n.t. s.p. Consultado 1 nov. 2009. Disponible en [http:// www.oocities.com/ecologialuz/trichoderma3.htm](http://www.oocities.com/ecologialuz/trichoderma3.htm)
99. URUGUAY. MINISTERIO DE GANADERÍA, AGRICULTURA Y PESCA DIRECCIÓN FORESTAL. 2005. Estadísticas. (en línea). Montevideo. s.p. Consultado 30 ene. 2008. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/Sitios/SitiosdelMGAP.htm>
100. VALDEBENITO SANHUEZA, R.M. 2001. Controle biológico de doenças de fruteiras de clima temperado. *In*: Reuniao de Controle Biologico de Fitopatogenos (7º., 2001, Bentos Gonçalves, Rio Grande do Sur). Anais. Santa Maria, EMBRAPA. pp. 61-64.
101. WASHINGTON STATE UNIVERSITY (U.S.A.).GARDENING IN WESTERN WASHINGTON. 1993. Gray mold (Botrytis blight). (en línea). Western Washington. 3 p. Consultado ene. 2008. Disponible en <http://gardening.wsu.edu/library/vege002/vege002.htm>
102. WIKIPEDIA. s.f. Unidad formadora de colonia. (en línea). s.l. s.p. Consultado 19 abr. 2010. Disponible en [http://es.wikipedia.org/unidad\\_formadora\\_de\\_colonias](http://es.wikipedia.org/unidad_formadora_de_colonias)
103. WINDHAM, M T.; ELAD, Y.; BAKER, R. 1986. A mechanism for increased plant growth induced by Trichoderma spp. *Phytopathology*. 86 (76): 518-521.

## 9. ANEXOS

### Datos de parámetros morfológicos realizados a campo y laboratorio

esp	trat	fecha	día	mfpa	mfraiz	mspa	msraiz
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1472	0,0434	0,029	0,007
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,134	0,0282	0,0227	0,0073
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0923	0,0201	0,0164	0,0052
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1289	0,0225	0,0244	0,0046
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0962	0,0233	0,0134	0,0029
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0934	0,0219	0,0128	0,0027
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0547	0,0048	0,0052	0,001
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0294	0,0046	0,0038	0,0006
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1057	0,0262	0,0149	0,0035
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1349	0,025	0,0084	0,0039
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0599	0,0065	0,0202	0,001
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1719	0,0299	0,0242	0,0025
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1495	0,0253	0,0246	0,0059
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1176	0,0114	0,0182	0,003
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0713	0,0094	0,0108	0,0036
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1002	0,0186	0,0131	0,0055
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0436	0,0086	0,0096	0,0037
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1043	0,0268	0,0182	0,0059
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1012	0,0156	0,018	0,0067
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1335	0,0191	0,0237	0,0045
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,2083	0,0393	0,0317	0,0049
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,2506	0,0224	0,0354	0,0059
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0973	0,0317	0,0154	0,0026
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1514	0,0197	0,0214	0,0037
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1629	0,0361	0,024	0,0058
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0951	0,0156	0,0122	0,0022
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0584	0,0186	0,0076	0,0019
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1318	0,0201	0,0182	0,0032

E.grandis	con	15/09/2007	0	0,247	0,0326	0,044	0,0083
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1273	0,029	0,0194	0,0062
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1426	0,025	0,0258	0,0056
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1419	0,0188	0,0241	0,0039
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0644	0,0073	0,0127	0,003
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,071	0,0112	0,0118	0,0031
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0577	0,0134	0,0115	0,0036
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1299	0,0218	0,0221	0,0054
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1208	0,011	0,0209	0,0033
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1068	0,009	0,014	0,0029
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0979	0,015	0,0193	0,0039
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,2108	0,0207	0,0319	0,0027
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1398	0,0305	0,0275	0,0062
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0694	0,0063	0,0099	0,0037
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,206	0,0158	0,0284	0,0022
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1104	0,0291	0,0171	0,0047
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0793	0,0147	0,0087	0,0034
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0596	0,0116	0,0103	0,0016
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0464	0,0094	0,0132	0,0025
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0735	0,0059	0,0114	0,0021
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0268	0,0162	0,0042	0,0036
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0274	0,0056	0,055	0,0019
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0458	0,0123	0,0083	0,0029
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0717	0,0194	0,0131	0,0039
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,022	0,053	0,0043	0,0029
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0422	0,0221	0,01	0,0044
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0359	0,0087	0,0071	0,0048
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0548	0,0082	0,0114	0,0039
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0352	0,0076	0,0088	0,0033
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0531	0,0129	0,0129	0,0043
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0362	0,0019	0,0079	0,0018
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0392	0,0095	0,0085	0,0036
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1048	0,038	0,0185	0,0125
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1125	0,031	0,0191	0,0025
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,172	0,0378	0,0295	0,0052
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1647	0,0293	0,025	0,0042
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1884	0,0248	0,0267	0,0052
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1561	0,0337	0,0218	0,004

E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0663	0,0165	0,0139	0,0037
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1317	0,0365	0,0193	0,0049
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,71	0,0089	0,0108	0,0031
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,2663	0,0518	0,0395	0,0086
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,041	0,0061	0,0081	0,0023
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0906	0,0183	0,0157	0,0065
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1688	0,0394	0,0281	0,0053
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,118	0,027	0,0182	0,0033
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1047	0,0738	0,0184	0,01
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,1654	0,0271	0,027	0,0048
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0455	0,0115	0,0062	0,0029
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,21	0,0583	0,0387	0,0097
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0909	0,0305	0,0104	0,0038
E.grandis	con	15/09/2007	0	0,0681	0,0215	0,0143	0,003
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,2052	0,0482	0,0297	0,0064
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,1433	0,048	0,0194	0,0072
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0993	0,0167	0,0215	0,003
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,2088	0,0302	0,023	0,0034
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0893	0,0227	0,0156	0,0075
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,1191	0,0465	0,0203	0,0051
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,1216	0,0301	0,0216	0,0036
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0583	0,0252	0,011	0,0063
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0689	0,0152	0,0125	0,0027
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,164	0,0315	0,0261	0,0052
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,1563	0,0261	0,0223	0,003
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,1158	0,0167	0,0173	0,0021
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0996	0,0162	0,0177	0,0019
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,1268	0,0169	0,0222	0,0022
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0472	0,0077	0,0081	0,0026
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0836	0,0158	0,0144	0,0039
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0545	0,0099	0,0096	0,001
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,1148	0,0308	0,0188	0,0015
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0754	0,0106	0,0107	0,0048
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,1082	0,015	0,0179	0,0036
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,1157	0,0208	0,0221	0,0055
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0823	0,0164	0,0159	0,0044
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0811	0,0175	0,0142	0,0042
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0395	0,0083	0,0073	0,004

E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0961	0,0214	0,0159	0,0028
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0697	0,0169	0,0116	0,0026
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0273	0,0048	0,0089	0,0006
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0573	0,0095	0,0038	0,0017
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,1256	0,0305	0,0244	0,0073
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,083	0,0221	0,0171	0,0065
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0729	0,0147	0,0146	0,0048
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0555	0,0091	0,0127	0,0037
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0297	0,0051	0,0117	0,002
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0349	0,0059	0,0071	0,0013
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0621	0,0221	0,0118	0,0051
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0458	0,0063	0,0087	0,0024
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0366	0,0093	0,0048	0,0013
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0322	0,0053	0,0054	0,0007
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0715	0,013	0,0125	0,0019
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0702	0,0211	0,0114	0,0032
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0724	0,0224	0,0153	0,0063
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0627	0,0137	0,0147	0,0053
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,1	0,0155	0,0172	0,0051
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0749	0,015	0,015	0,0049
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0516	0,0103	0,0108	0,0031
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0837	0,0207	0,0148	0,0058
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0601	0,0168	0,0122	0,0053
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0579	0,0091	0,0109	0,0038
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0489	0,0078	0,0086	0,0021
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0285	0,012	0,0051	0,0015
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0552	0,0089	0,0108	0,0026
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0069	0,0017	0,005	0,0009
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,028	0,0065	0,0058	0,0018
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0267	0,0077	0,0085	0,0027
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0391	0,0112	0,0085	0,0024
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0329	0,0087	0,0069	0,0036
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0321	0,0166	0,0056	0,0023
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0426	0,0051	0,0054	0,0014
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0153	0,0049	0,0018	0,0015
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0361	0,0035	0,0052	0,0022
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,081	0,0204	0,014	0,003
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0776	0,0237	0,012	0,0034

E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0263	0,0022	0,0037	0,0009
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0443	0,0051	0,0063	0,0023
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,1059	0,0241	0,0179	0,0054
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0991	0,0264	0,0189	0,0068
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0751	0,0276	0,0154	0,0073
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0681	0,0187	0,0151	0,0066
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0982	0,0203	0,0197	0,0044
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,1006	0,0246	0,017	0,0051
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0881	0,0106	0,0161	0,0029
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0712	0,0057	0,0119	0,0023
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0774	0,0106	0,0139	0,0041
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0319	0,005	0,0054	0,0029
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0549	0,0126	0,0117	0,004
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0239	0,0012	0,0045	0,0014
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0124	0,0328	0,0193	0,0062
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,01332	0,0341	0,0256	0,0068
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,0632	0,0129	0,014	0,0051
E.grandis	sin	15/09/2007	0	0,1208	0,0181	0,022	0,0068
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,1522	0,0197	0,0318	0,0039
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,2289	0,0754	0,0548	0,0146
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,2521	0,0622	0,0578	0,012
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,1854	0,0303	0,0403	0,0065
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,2465	0,0762	0,0534	0,0145
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,1142	0,015	0,0208	0,0034
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,1774	0,0409	0,0351	0,0071
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,06	0,0068	0,0111	0,0021
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,1462	0,0241	0,0293	0,0062
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,1519	0,0468	0,0331	0,0082
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,2236	0,0405	0,0436	0,0078
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,2153	0,0396	0,0472	0,009
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,1305	0,0281	0,0233	0,0047
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,1743	0,0467	0,0356	0,0078
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,2122	0,0363	0,0372	0,0062
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,1351	0,0306	0,0229	0,0054
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,2703	0,0338	0,0537	0,0074
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,1407	0,0184	0,0276	0,0041
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,1834	0,0226	0,0317	0,0024
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,3161	0,0368	0,0619	0,0065

E.globulus	con	15/09/2007	0	0,1222	0,0153	0,0222	0,0048
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,1892	0,0159	0,0368	0,0049
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,0856	0,005	0,016	0,0007
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,1954	0,0328	0,0356	0,0063
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,3238	0,0562	0,0712	0,0098
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,2664	0,0505	0,0527	0,0079
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,1328	0,0396	0,0306	0,0087
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,1955	0,0288	0,0397	0,0089
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,2181	0,0344	0,042	0,0067
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,3002	0,0687	0,0625	0,0146
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,1351	0,0162	0,0221	0,0069
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,184	0,0258	0,0348	0,0047
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,2737	0,0822	0,0563	0,014
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,189	0,0337	0,0382	0,0089
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,1555	0,0383	0,0259	0,0071
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,2584	0,0479	0,0542	0,0093
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,1309	0,0358	0,0247	0,0046
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,1762	0,051	0,031	0,0069
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,3216	0,056	0,0672	0,0104
E.globulus	con	15/09/2007	0	0,1958	0,041	0,0356	0,0086
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,2467	0,0574	0,0515	0,0099
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,1436	0,076	0,0327	0,0111
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,3573	0,0887	0,0654	0,0117
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,4527	0,0571	0,0711	0,0083
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,2066	0,0378	0,0356	0,006
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,1878	0,0322	0,0321	0,0055
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,2221	0,0247	0,0345	0,0036
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,1871	0,0691	0,039	0,0103
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,2897	0,0508	0,0379	0,0073
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,2418	0,0392	0,0356	0,0057
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,3223	0,0432	0,0519	0,0064
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,2307	0,0749	0,043	0,0121
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,3395	0,0519	0,0478	0,0074
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,2486	0,0484	0,0448	0,0081
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,4451	0,056	0,0733	0,0088
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,2205	0,0403	0,037	0,0069
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,2516	0,0359	0,0421	0,0063
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,1543	0,0309	0,028	0,0047

E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,1907	0,0454	0,0414	0,0071
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,2801	0,0312	0,0494	0,0057
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,1708	0,0206	0,0318	0,0028
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,0947	0,0448	0,0176	0,0078
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,4136	0,0353	0,0839	0,0057
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,2012	0,0335	0,0393	0,0086
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,189	0,0325	0,0309	0,0054
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,0898	0,0293	0,0177	0,0058
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,1878	0,0302	0,033	0,005
E.globulus	sin	15/09/2007	0	0,2389	0,0351	0,0505	0,0067
E.globul	sin	15/09/2007	0	0,1402	0,0473	0,0279	0,0079
E.globul	sin	15/09/2007	0	0,177	0,0344	0,0357	0,0075
E.globul	sin	15/09/2007	0	0,2418	0,0439	0,0493	0,0082
E.globul	sin	15/09/2007	0	0,137	0,0228	0,022	0,0049
E.globul	sin	15/09/2007	0	0,2052	0,0314	0,0334	0,0052
E.globul	sin	15/09/2007	0	0,2661	0,0739	0,0525	0,011
E.globul	sin	15/09/2007	0	0,1576	0,0323	0,0292	0,0043
E.globul	sin	15/09/2007	0	0,2805	0,0459	0,0592	0,0094
E.globul	sin	15/09/2007	0	0,158	0,0449	0,0268	0,0067
E.globul	sin	15/09/2007	0	0,311	0,0641	0,0579	0,0092
E.globul	sin	15/09/2007	0	0,9103	0,0621	0,0457	0,0095
E.globul	sin	15/09/2007	0	0,0883	0,0329	0,0193	0,0055
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,2218	0,0795	0,0468	0,0221
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,3171	0,0826	0,065	0,021
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,3299	0,111	0,0815	0,031
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,1037	0,0518	0,0265	0,0146
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,1997	0,0644	0,0462	0,0125
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,2519	0,1621	0,0551	0,0293
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,4083	0,1716	0,0864	0,0337
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,3194	0,1043	0,0653	0,0254
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,3138	0,1582	0,0647	0,0289
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,1358	0,0328	0,0272	0,0068
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,4712	0,1885	0,1126	0,0406
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,2555	0,0623	0,058	0,0149
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,3066	0,1337	0,0687	0,0294
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,1085	0,0384	0,0222	0,0075
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,1593	0,0736	0,0361	0,0147
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,2644	0,048	0,0623	0,0177

E.grandis	con	17/10/2007	32	0,1671	0,0685	0,0384	0,0145
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,4289	0,16	0,1067	0,0359
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,0757	0,0149	0,0142	0,0079
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,1054	0,0446	0,02	0,0043
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,3094	0,1401	0,074	0,0262
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,258	0,0628	0,0528	0,0116
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,464	0,2002	0,1117	0,0426
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,3238	0,1246	0,0749	0,0254
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,1883	0,0686	0,0421	0,0131
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,0968	0,0135	0,0162	0,0015
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,2334	0,0851	0,055	0,0147
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,257	0,0515	0,0557	0,0138
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,1117	0,0181	0,0276	0,0065
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,0749	0,0126	0,021	0,0044
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,1602	0,0377	0,043	0,0089
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,1253	0,0403	0,0316	0,0069
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,1843	0,0481	0,0504	0,00135
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,1192	0,0245	0,0309	0,0092
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,211	0,0434	0,0536	0,0145
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,0776	0,0101	0,0174	0,0041
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,455	0,1358	0,1018	0,0316
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,5752	0,123	0,1491	0,0308
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,1943	0,059	0,0411	0,0141
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,1243	0,0492	0,0231	0,0125
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,2688	0,072	0,0604	0,0162
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,0722	0,0115	0,0169	0,0038
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,181	0,0497	0,0442	0,0119
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,1347	0,269	0,0336	0,0083
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,1137	0,032	0,03	0,0065
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,167	0,0464	0,0405	0,0102
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,1176	0,0292	0,0302	0,0076
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,195	0,0291	0,0489	0,0088
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,0621	0,0259	0,0133	0,0053
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,0526	0,0086	0,0105	0,0021
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,0563	0,0076	0,0118	0,0026
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,0616	0,0075	0,0127	0,0011
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,0916	0,0213	0,0194	0,0029
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,0427	0,0072	0,0187	0,0025

E.grandis	con	17/10/2007	32	0,0152	0,0008	0,0013	0,0006
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,015	0,002	0,0015	0,0005
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,0202	0,0049	0,0057	0,0022
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,0549	0,0108	0,0149	0,0039
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,0204	0,0056	0,0057	0,0011
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,0481	0,006	0,0021	0,0026
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,1356	0,03	0,0273	0,0059
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,1244	0,0257	0,0252	0,0054
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,1453	0,00462	0,0324	0,01
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,0953	0,0239	0,02	0,0069
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,5006	0,1317	0,112	0,032
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,238	0,0562	0,051	0,0123
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,089	0,0246	0,0151	0,0041
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,0769	0,0202	0,0141	0,0038
E.grandis	con	17/10/2007	32	1,0407	0,33	0,2296	0,073
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,2169	0,044	0,0527	0,013
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,3283	0,13	0,0813	0,0294
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,0932	0,0224	0,0234	0,0065
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,18	0,1249	0,0427	0,0218
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,27	0,1587	0,0627	0,0341
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,2154	0,1045	0,0521	0,0203
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,2175	0,1142	0,0472	0,0196
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,3145	0,1525	0,0768	0,032
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,2417	0,1343	0,0635	0,0255
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,2971	0,948	0,0698	0,0201
E.grandis	con	17/10/2007	32	0,1691	0,0575	0,0462	0,0125
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,216	0,0591	0,05	0,0126
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,2136	0,0699	0,0543	0,02
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,3039	0,0998	0,0722	0,0224
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,4872	0,3175	0,1202	0,0773
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0848	0,0287	0,0366	0,0181
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,087	0,0208	0,03	0,0117
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,1274	0,025	0,0427	0,014
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,1089	0,0254	0,0415	0,0146
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,1449	0,0271	0,0308	0,0069
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0528	0,009	0,0109	0,0021
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,809	0,0221	0,0161	0,0053
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,26	0,0619	0,0589	0,0171

E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,2725	0,0663	0,0625	0,0166
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,2359	0,09	0,0525	0,0199
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,1847	0,0937	0,0426	0,0185
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,1489	0,0553	0,0325	0,0102
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,1688	0,0743	0,0416	0,0121
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,3595	0,0948	0,0924	0,00257
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,2734	0,112	0,06	0,023
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,1981	0,0741	0,05	0,0156
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,2484	0,0972	0,058	0,0243
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,1333	0,0273	0,0275	0,0061
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0408	0,009	0,0179	0,0026
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,1529	0,0382	0,0334	0,0087
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0547	0,0067	0,0132	0,0036
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0759	0,0129	0,0207	0,0042
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0445	0,0055	0,0122	0,0002
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0565	0,0116	0,0168	0,0034
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0129	0,0004	0,0046	0,0004
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0195	0,0002	0,0055	0,0005
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0233	0,0012	0,0069	0,0011
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0382	0,002	0,0099	0,0015
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0982	0,0305	0,0212	0,0072
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0304	0,0023	0,0063	0,0017
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0865	0,0273	0,019	0,0061
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0941	0,0279	0,0206	0,0058
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0805	0,0105	0,0167	0,0029
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0982	0,017	0,0194	0,004
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0961	0,0176	0,0189	0,0045
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0926	0,0182	0,0167	0,0049
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,1429	0,0282	0,0288	0,0064
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,119	0,0406	0,0283	0,0098
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,1069	0,0201	0,0249	0,0058
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,1916	0,0439	0,0482	0,0102
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0886	0,0151	0,0186	0,0002
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0662	0,0155	0,015	0,0047
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,14	0,0364	0,0326	0,0087
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,1352	0,03	0,0291	0,0069
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,074	0,0187	0,0156	0,0036
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0809	0,0169	0,019	0,0042

E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0716	0,011	0,0186	0,0018
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,1307	0,0306	0,027	0,0074
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0191	0,0027	0,0026	0,0005
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,1503	0,0678	0,0303	0,0125
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,2013	0,0774	0,0425	0,013
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,194	0,0565	0,0418	0,101
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0584	0,01	0,0124	0,0024
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0195	0,0019	0,0042	0,0014
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0282	0,0047	0,0063	0,002
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0487	0,0056	0,0107	0,0012
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,064	0,0106	0,0132	0,0022
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,05	0,0136	0,0089	0,0031
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,07	0,0124	0,015	0,0028
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,1355	0,0237	0,0287	0,0058
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0528	0,01	0,0088	0,0013
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0915	0,0343	0,021	0,0043
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0391	0,0013	0,001	0,0001
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,1362	0,0425	0,031	0,007
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,15	0,0749	0,031	0,0145
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0915	0,0369	0,0184	0,005
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0594	0,0069	0,009	0,0027
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0757	0,0865	0,0576	0,02
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,4869	0,16	0,11	0,0341
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,1936	0,094	0,0424	0,0161
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,19	0,0419	0,04	0,0091
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,05	0,0225	0,01	0,0032
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,3603	0,1042	0,0961	0,0201
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,2149	0,0786	0,0541	0,0128
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,2929	0,1252	0,0824	0,0203
E.grandis	sin	17/10/2007	32	0,0709	0,0282	0,0173	0,0039
E.globul	con	17/10/2007	32	0,3219	0,1083	0,0793	0,0246
E.globul	con	17/10/2007	32	0,3639	0,0983	0,0949	0,0249
E.globul	con	17/10/2007	32	0,2176	0,0253	0,06	0,0068
E.globul	con	17/10/2007	32	0,2834	0,0751	0,0722	0,0204
E.globul	con	17/10/2007	32	0,3319	0,0444	0,0822	0,0124
E.globul	con	17/10/2007	32	0,1919	0,0495	0,0569	0,0108
E.globul	con	17/10/2007	32	0,3219	0,059	0,088	0,0133
E.globul	con	17/10/2007	32	0,1119	0,0188	0,032	0,004

E.globul	con	17/10/2007	32	0,244	0,0471	0,0618	0,01
E.globul	con	17/10/2007	32	0,252	0,055	0,0654	0,0149
E.globul	con	17/10/2007	32	0,2445	0,04	0,06	0,011
E.globul	con	17/10/2007	32	0,2722	0,08	0,0761	0,02
E.globul	con	17/10/2007	32	0,4132	0,084	0,1082	0,0248
E.globul	con	17/10/2007	32	0,1126	0,0274	0,0299	0,0068
E.globul	con	17/10/2007	32	0,1584	0,0312	0,0451	0,0089
E.globul	con	17/10/2007	32	0,2822	0,067	0,0749	0,0176
E.globul	con	17/10/2007	32	0,5551	0,1004	0,138	0,0263
E.globul	con	17/10/2007	32	0,1507	0,0238	0,0363	0,0062
E.globul	con	17/10/2007	32	0,2587	0,0695	0,0648	0,0164
E.globul	con	17/10/2007	32	0,1973	0,0326	0,0565	0,00077
E.globul	con	17/10/2007	32	0,2849	0,1247	0,073	0,0309
E.globul	con	17/10/2007	32	0,2833	0,0744	0,077	0,0195
E.globul	con	17/10/2007	32	0,2313	0,0851	0,0584	0,0193
E.globul	con	17/10/2007	32	0,1658	0,0487	0,0467	0,0137
E.globul	con	17/10/2007	32	0,2387	0,0649	0,627	0,015
E.globul	con	17/10/2007	32	0,3651	0,1172	0,0947	0,0234
E.globul	con	17/10/2007	32	0,3355	0,11	0,0789	0,0173
E.globul	con	17/10/2007	32	0,3702	0,0743	0,0977	0,0169
E.globul	con	17/10/2007	32	0,3093	0,069	0,0863	0,0189
E.globul	con	17/10/2007	32	0,1929	0,033	0,0414	0,0072
E.globul	con	17/10/2007	32	0,3113	0,0937	0,0836	0,0215
E.globul	con	17/10/2007	32	0,1625	0,0225	0,045	0,0068
E.globul	con	17/10/2007	32	0,313	0,0699	0,0865	0,0184
E.globul	con	17/10/2007	32	0,189	0,0393	0,0438	0,0094
E.globul	con	17/10/2007	32	0,346	0,0768	0,0997	0,0187
E.globul	con	17/10/2007	32	0,088	0,0157	0,0246	0,0045
E.globul	con	17/10/2007	32	0,2116	0,0224	0,065	0,0056
E.globul	con	17/10/2007	32	0,3657	0,0641	0,0992	0,0165
E.globul	con	17/10/2007	32	0,2125	0,0413	0,0565	0,0105
E.globul	con	17/10/2007	32	0,2151	0,0334	0,0518	0,0074
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,2076	0,0638	0,0536	0,014
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,3345	0,0975	0,0867	0,0249
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,1944	0,0464	0,0462	0,0091
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,3477	0,093	0,0971	0,0217
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,6852	0,0982	0,1833	0,0237
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,3619	0,0957	0,1051	0,0193

E.globul	sin	17/10/2007	32	0,3253	0,0721	0,0974	0,0166
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,3375	0,0605	0,0846	0,0102
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,2259	0,0817	0,0586	0,0164
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,6848	0,1245	0,1795	0,0295
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,4025	0,0442	0,1105	0,0182
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,614	0,1863	0,1543	0,0414
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,3386	0,113	0,0873	0,0211
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,4855	0,0851	0,1375	0,0216
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,1905	0,0762	0,0519	0,0127
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,3612	0,0784	0,1023	0,0157
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,3409	0,1152	0,095	0,0241
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,4245	0,0749	0,1112	0,0196
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,3502	0,0855	0,0718	0,0179
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,4238	0,0893	0,107	0,0202
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,2554	0,0281	0,0665	0,0034
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,0729	0,0324	0,0397	0,0043
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,1623	0,0319	0,0176	0,0058
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,2488	0,1103	0,0579	0,0167
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,2544	0,0536	0,0588	0,0101
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,4355	0,1275	0,1095	0,0311
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,3843	0,0676	0,0971	0,0167
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,3425	0,1054	0,0828	0,02
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,3326	0,0847	0,0776	0,0177
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,3692	0,0862	0,0904	0,0164
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,2283	0,0448	0,0553	0,0103
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,2989	0,0978	0,0766	0,0173
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,2056	0,0631	0,0479	0,0133
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,1265	0,0562	0,0295	0,0122
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,3299	0,0986	0,0852	0,024
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,3114	0,0642	0,0719	0,0146
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,3109	0,0674	0,0506	0,0189
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,1912	0,0425	0,0754	0,0093
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,3026	0,0577	0,0773	0,16
E.globul	sin	17/10/2007	32	0,3611	0,0905	0,0879	0,0269
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,8769	0,2625	0,2983	0,0619
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,5986	0,1965	0,1229	0,0479
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,6254	0,2246	0,1549	0,0556
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,6271	0,1785	0,1863	0,0465

E.grandis	con	10/11/2007	56	0,9047	0,33	0,2813	0,0691
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,4724	0,1886	0,1478	0,039
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,6119	0,2231	0,1661	0,0525
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,8999	0,2424	0,261	0,0514
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,3139	0,0913	0,0522	0,0159
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,9174	0,3198	0,2676	0,061
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,4287	0,1622	0,1778	0,0282
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,7676	0,2797	0,252	0,0518
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,7797	0,2853	0,2333	0,0529
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,6062	0,2467	0,2012	0,0499
E.grandis	con	10/11/2007	56	1,2487	0,4565	0,3748	0,0944
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,706	0,2534	0,2131	0,0483
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,3818	0,1131	0,11	0,0358
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,7097	0,253	0,0263	0,0551
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,8736	0,2768	0,0266	0,0705
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,9107	0,278	0,027	0,7
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,4244	0,1134	0,1292	0,0201
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,475	0,1288	0,1219	0,024
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,2382	0,1797	0,091	0,0287
E.grandis	con	10/11/2007	56	1,1727	0,3239	0,2866	0,0576
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,1347	0,0137	0,0272	0,0018
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,3051	0,1104	0,0894	0,0255
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,4787	0,1554	0,1376	0,0409
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,4933	0,1725	0,1127	0,037
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,6358	0,2495	0,1843	0,0354
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,7624	0,3454	0,2352	0,0566
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,7168	0,3009	0,2168	0,0431
E.grandis	con	10/11/2007	56	1,1007	0,4324	0,3049	0,0717
E.grandis	con	10/11/2007	56	1,0874	0,4656	0,3272	0,1018
E.grandis	con	10/11/2007	56	1,3231	0,5423	0,3747	0,1158
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,543	0,2766	0,1575	0,0522
E.grandis	con	10/11/2007	56	1,1118	0,3673	0,3173	0,084
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,4851	0,1375	0,124	0,0265
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,9165	0,2555	0,2472	0,0609
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,7806	0,2699	0,2309	0,061
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,8476	0,3209	0,2343	0,0688
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,4945	0,188	0,1405	0,0163
E.grandis	con	10/11/2007	56	1,1527	0,3606	0,3223	0,0607

E.grandis	con	10/11/2007	56	0,2766	0,0619	0,0722	0
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,4522	0,086	0,1093	0,0025
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,1225	0,0121	0,021	0
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,1354	0,0201	0,03	0,0093
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,2116	0,0224	0,065	0,0056
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,2198	0,0298	0,065	0,0248
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,3273	0,0908	0,0731	0,0151
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,2422	0,0742	0,0559	0,0141
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,2952	0,0502	0,0686	0,0115
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,4957	0,1284	0,1118	0,0276
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,3536	0,092	0,0261	0,0263
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,771	0,3109	0,0271	0,0252
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,8824	0,3775	0,0265	0,08
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,7681	0,1685	0,0264	0,0449
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,2866	0,1008	0,0735	0,0186
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,3319	0,0936	0,0819	0,0281
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,1234	0,0304	0,0317	0,0186
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,5926	0,2184	0,1726	0,0086
E.grandis	con	10/11/2007	56	1,8195	0,5995	0,4549	0,0494
E.grandis	con	10/11/2007	56	1,2209	0,3216	0,3563	0,0995
E.grandis	con	10/11/2007	56	1,1422	0,4184	0,2921	0,0538
E.grandis	con	10/11/2007	56	2,2069	0,763	0,6274	0,1249
E.grandis	con	10/11/2007	56	1,057	0,2366	0,2802	0,0429
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,8288	0,293	0,223	0,0368
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,3113	0,07	0,0447	0
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,1566	0,1211	0,0159	0
E.grandis	con	10/11/2007	56	1,0228	0,3901	0,385	0,0784
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,5554	0,1245	0,135	0,0364
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,7004	0,2452	0,2004	0,0409
E.grandis	con	10/11/2007	56	1,4258	0,5658	0,49	0,1286
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,7528	0,2353	0,2073	0,0525
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,18	0,0381	0,049	0,0094
E.grandis	con	10/11/2007	56	1,0933	0,3645	0,3188	0,082
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,9524	0,2337	0,2492	0,0541
E.grandis	con	10/11/2007	56	1,2364	0,4301	0,3599	0,0832
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,8315	0,2783	0,2288	0,0553
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,5097	0,1063	0,129	0,0238
E.grandis	con	10/11/2007	56	0,6889	0,2385	0,1927	0,0432

E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,5942	0,1635	0,1836	0,0454
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,211	0,0431	0,0581	0,0148
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,4449	0,175	0,143	0,0447
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,5618	0,129	0,151	0,0414
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,7048	0,2469	0,1976	0,0366
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,6392	0,1872	0,1522	0,034
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,3309	0,079	0,0718	0,0218
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,6809	0,2253	0,1705	0,0372
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,5947	0,1236	0,1722	0,0388
E.grandis	sin	10/11/2007	56	1,7392	0,5952	0,5634	0,1593
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,4422	0,1006	0,1194	0,0326
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,6459	0,2679	0,2127	0,0757
E.grandis	sin	10/11/2007	56	1,0167	0,2656	0,2329	0,0492
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,6742	0,2658	0,1622	0,0428
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,2641	0,1358	0,046	0,0231
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,6891	0,072	0,1546	0,0016
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,3309	0,0273	0,0773	0,0399
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,2181	0,0442	0,0333	0,0149
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,5409	0,158	0,1308	0,0428
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,304	0,1666	0,0858	0,0459
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,2909	0,1408	0,064	0,013
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,9426	0,25	0,2676	0,0418
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,4329	0,1737	0,1036	0,0178
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,8358	0,3834	0,2426	0,0549
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,5035	0,2047	0,1589	0,0476
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,4845	0,3047	0,14	0,0655
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,7008	0,1317	0,1992	0,039
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,4764	0,16	0,1421	0,0418
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,5624	0,255	0,1861	0,0309
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,6451	0,2152	0,1524	0,0226
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,1875	0,0418	0,0335	0
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,6211	0,2958	0,1609	0,0421
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,5079	0,2985	0,1611	0,0678
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,612	0,1543	0,182	0,0459
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,5938	0,2649	0,174	0,059
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,81	0,3079	0,2494	0,0629
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,9825	0,2836	0,2324	0,0513
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,814	0,302	0,2211	0,056

E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,3806	0,1617	0,0811	0,0189
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,9111	0,2772	0,2507	0,0516
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,8156	0,479	0,17	0,069
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,3936	0,143	0,0926	0,0136
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,7374	0,3053	0,1997	0,0159
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,6632	0,1228	0,1309	0,0518
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,0956	0,012	0,0047	0
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,203	0,0519	0,0245	0
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,4	0,1473	0,0951	0,0115
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,23	0,0973	0,0372	0
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,5076	0,1744	0,1205	0,0248
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,2985	0,1167	0,0531	0,0052
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,2891	0,0997	0,0462	0,0057
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,5209	0,1764	0,1324	0,026
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,244	0,0809	0,0412	0,008
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,4615	0,1776	0,0474	0,0309
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,2747	0,1708	0,057	0,0302
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,429	0,1058	0,1048	0,0167
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,9524	0,2321	0,2633	0,0357
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,5511	0,2049	0,1408	0,033
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,5048	0,232	0,1332	0,0229
E.grandis	sin	10/11/2007	56	1,3049	0,4279	0,3465	0,0784
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,336	0,1359	0,0748	0,0298
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,4022	0,1454	0,0694	0,0325
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,411	0,1817	0,0958	0,0299
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,2737	0,1664	0,0599	0,0446
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,0843	0,0216	0,0339	0
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,0789	0,0991	0,0029	0
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,28	0,099	0,0258	0,036
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,1335	0,0399	0,0461	0
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,0179	0	0	0
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,3311	0,1731	0,0816	0,01
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,2285	0,0862	0,0325	0
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,3123	0,0723	0,0485	0
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,3623	0,1043	0,0748	0
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,3671	0,1115	0,0672	0,01
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,3899	0,1529	0,1055	0,0155
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,2169	0,0676	0,0408	0,0005

E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,3089	0,0774	0,0563	0
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,4311	0,1753	0,1054	0,0195
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,6013	0,2111	0,14	0,0236
E.grandis	sin	10/11/2007	56	0,6404	0,1956	0,1679	0,025
E.globul	con	10/11/2007	56	0,9294	0,1832	0,2752	0,0636
E.globul	con	10/11/2007	56	1,1317	0,1708	0,3254	0,0563
E.globul	con	10/11/2007	56	0,8393	0,1652	0,2404	0,0463
E.globul	con	10/11/2007	56	0,543	0,1189	0,1631	0,0339
E.globul	con	10/11/2007	56	0,6915	0,2053	0,22	0,0474
E.globul	con	10/11/2007	56	1,1243	0,22	0,3384	0,0609
E.globul	con	10/11/2007	56	0,6806	0,2134	0,1678	0,0529
E.globul	con	10/11/2007	56	0,6352	0,1504	0,1465	0,0366
E.globul	con	10/11/2007	56	0,8814	0,2741	0,2499	0,0557
E.globul	con	10/11/2007	56	0,7589	0,2056	0,2146	0,058
E.globul	con	10/11/2007	56	1,1401	0,2337	0,31	0,0434
E.globul	con	10/11/2007	56	0,8878	0,3278	0,2177	0,0467
E.globul	con	10/11/2007	56	1,5229	0,346	0,3676	0,0842
E.globul	con	10/11/2007	56	1,3647	0,2407	0,3362	0,0568
E.globul	con	10/11/2007	56	0,6929	0,1	0,1596	0,0265
E.globul	con	10/11/2007	56	1,23	0,2506	0,3274	0,062
E.globul	con	10/11/2007	56	0,2543	0,07	0,0693	0,0269
E.globul	con	10/11/2007	56	0,5308	0,1583	0,1442	0,0374
E.globul	con	10/11/2007	56	0,8508	0,1683	0,2339	0,042
E.globul	con	10/11/2007	56	0,4691	0,0195	0,1286	0,019
E.globul	con	10/11/2007	56	1,1145	0,2526	0,3177	0,0483
E.globul	con	10/11/2007	56	0,9443	0,2111	0,2419	0,0554
E.globul	con	10/11/2007	56	0,6986	0,205	0,2076	0,062
E.globul	con	10/11/2007	56	0,2634	0,1122	0,0768	0,024
E.globul	con	10/11/2007	56	0,8943	0,1556	0,2559	0,0433
E.globul	con	10/11/2007	56	1,1001	0,2106	0,2976	0,0565
E.globul	con	10/11/2007	56	0,8566	0,1314	0,1983	0,0338
E.globul	con	10/11/2007	56	0,8355	0,1345	0,2449	0,0365
E.globul	con	10/11/2007	56	0,8253	0,2051	0,2489	0,0446
E.globul	con	10/11/2007	56	0,9384	0,2009	0,239	0,0521
E.globul	con	10/11/2007	56	0,517	0,1377	0,1513	0,0323
E.globul	con	10/11/2007	56	1,4942	0,33	0,4575	0,086
E.globul	con	10/11/2007	56	1,2104	0,2119	0,3037	0,0549
E.globul	con	10/11/2007	56	0,4759	0,044	0,1553	0,0143

E.globul	con	10/11/2007	56	0,9822	0,1635	0,236	0,0446
E.globul	con	10/11/2007	56	1,3758	0,2079	0,4035	0,0597
E.globul	con	10/11/2007	56	1,0203	0,2612	0,2667	0,0699
E.globul	con	10/11/2007	56	0,8699	0,2164	0,2087	0,0587
E.globul	con	10/11/2007	56	0,9895	0,2208	0,3049	0,0681
E.globul	con	10/11/2007	56	0,9174	0,2134	0,2192	0,0609
E.globul	sin	10/11/2007	56	0,738	0,1613	0,1672	0,04
E.globul	sin	10/11/2007	56	1,0917	0,1961	0,2892	0,048
E.globul	sin	10/11/2007	56	0,2453	0,0308	0,0515	0,0104
E.globul	sin	10/11/2007	56	0,9236	0,1394	0,278	0,0412
E.globul	sin	10/11/2007	56	1,21	0,2055	0,3686	0,0584
E.globul	sin	10/11/2007	56	0,6298	0,09	0,1741	0,0261
E.globul	sin	10/11/2007	56	0,5599	0,1233	0,1456	0,0332
E.globul	sin	10/11/2007	56	0,89	0,282	0,2696	0,07
E.globul	sin	10/11/2007	56	1,464	0,35	0,46	0,0898
E.globul	sin	10/11/2007	56	1,34	0,4221	0,3971	0,1
E.globul	sin	10/11/2007	56	1,023	0,24	0,2993	0,06
E.globul	sin	10/11/2007	56	1,2924	0,2433	0,3639	0,0627
E.globul	sin	10/11/2007	56	0,6224	0,126	0,1542	0,0341
E.globul	sin	10/11/2007	56	0,5609	0,1474	0,1642	0,0355
E.globul	sin	10/11/2007	56	0,5922	0,1061	0,1495	0,0256
E.globul	sin	10/11/2007	56	0,61	0,1812	0,1659	0,0401
E.globul	sin	10/11/2007	56	0,4966	0,0738	0,1396	0,0231
E.globul	sin	10/11/2007	56	0,8309	0,1263	0,2354	0,0381
E.globul	sin	10/11/2007	56	0,8963	0,1619	0,2568	0,0465
E.globul	sin	10/11/2007	56	1,0168	0,2636	0,2924	0,0774
E.globul	sin	10/11/2007	56	1,0773	0,1694	0,2713	0,0415
E.globul	sin	10/11/2007	56	0,3656	0,0567	0,0823	0,0143
E.globul	sin	10/11/2007	56	1,1177	0,2767	0,2914	0,0758
E.globul	sin	10/11/2007	56	0,5114	0,12	0,1214	0,0336
E.globul	sin	10/11/2007	56	2,0931	0,4843	0,6362	0,1225
E.globul	sin	10/11/2007	56	1,4883	0,31	0,4472	0,07
E.globul	sin	10/11/2007	56	1,0505	0,2729	0,3097	0,068
E.globul	sin	10/11/2007	56	1,3572	0,373	0,3954	0,0876
E.globul	sin	10/11/2007	56	0,8114	0,1625	0,1947	0,0332
E.globul	sin	10/11/2007	56	1,1876	0,237	0,3497	0,0532
E.globul	sin	10/11/2007	56	1,7078	0,483	0,5755	0,1151
E.globul	sin	10/11/2007	56	0,2911	0,1712	0,0769	0,0296

E.globul	sin	10/11/2007	56	1,2442	0,29	0,3364	0,0739
E.globul	sin	10/11/2007	56	1,1696	0,3044	0,3469	0,0769
E.globul	sin	10/11/2007	56	1,2709	0,3046	0,3495	0,0744
E.globul	sin	10/11/2007	56	0,7934	0,2052	0,2234	0,0527
E.globul	sin	10/11/2007	56	0,9469	0,1895	0,3062	0,0565
E.globul	sin	10/11/2007	56	1,1497	0,2114	0,2847	0,0613
E.globul	sin	10/11/2007	56	1,8675	0,3469	0,5581	0,0982
E.globul	sin	10/11/2007	56	1,3996	0,252	0,431	0,0717
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,2172	0,4032	0,241	0,1324
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,8656	0,6946	0,6319	0,211
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,537	0,2169	0,1381	0,0565
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,5935	0,1259	0,1801	0,0478
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,8008	0,334	0,2709	0,1035
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,987	0,6396	0,6686	0,2
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,698	0,7855	0,46	0,2348
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,552	0,7069	0,5932	0,2043
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,2146	0,5746	0,384	0,14
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,2104	0,4228	0,4265	0,1229
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,8846	0,4293	0,2747	0,1156
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,21	0,4689	0,364	0,1265
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,379	0,4649	0,4788	0,1504
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,347	0,4147	0,4746	0,1547
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,6956	0,1887	0,2197	0,0743
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,4987	0,4892	0,5523	0,1832
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,9108	1,3055	0,5386	0,2329
E.grandis	con	08/12/2007	84	2,2779	1,2939	0,7385	0,3508
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,9915	0,639	0,3139	0,1626
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,9443	0,4827	0,3076	0,1196
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,1082	0,3555	0,3711	0,0967
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,8357	0,4652	0,2533	0,1061
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,2806	0,356	0,39	0,1081
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,9056	0,3322	0,28	0,0866
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,9695	0,3974	0,1772	0,1385
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,4249	0,1361	0,3436	0,047
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,435	0,2191	0,1354	0,0624
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,5113	0,2768	0,1384	0,0847
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,7764	0,4913	0,5866	0,1966
E.grandis	con	08/12/2007	84	2,8275	1,4872	0,9727	0,483

E.grandis	con	08/12/2007	84	1,6892	0,5619	0,6107	0,1975
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,8826	0,3502	0,2965	0,1266
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,123	0,6717	0,343	0,1615
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,2935	0,6163	0,4196	0,1517
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,9412	0,3328	0,2782	0,1045
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,3554	0,1366	0,0988	0,0378
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,3952	0,2412	0,1172	0,0592
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,8497	0,9389	0,6322	0,2349
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,9689	0,2233	0,3304	0,0653
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,833	0,7564	0,6065	0,2015
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,2155	0,3419	0,4006	0,099
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,079	0,3808	0,325	0,0964
E.grandis	con	08/12/2007	84	2,3169	0,6729	0,7085	0,1891
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,3643	0,4948	0,4832	0,135
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,5504	0,1849	0,1604	0,0468
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,6191	0,1874	0,173	0,0393
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,3674	0,121	0,1126	0,0312
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,4707	0,2147	0,1492	0,0499
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,7901	0,2756	0,2051	0,0766
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,711	0,3193	0,2252	0,0601
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,6292	0,21	0,1701	0,0494
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,5108	0,1962	0,1526	0,0489
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,8419	0,4304	0,2873	0,1249
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,3377	0,1523	0,0964	0,0434
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,6066	0,2798	0,1934	0,0773
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,2207	0,3649	0,4008	0,1174
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,8642	0,1967	0,3055	0,0774
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,464	0,1002	0,1563	0,0396
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,4406	0,1182	0,1471	0,391
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,5504	0,129	0,1912	0,0483
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,1564	0,3626	0,4099	0,1171
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,8864	0,5707	0,6673	0,1725
E.grandis	con	08/12/2007	84	3,3138	1,2695	1,1951	0,3412
E.grandis	con	08/12/2007	84	2,1003	0,6637	0,7582	0,2062
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,5752	0,3106	0,1968	0,0857
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,0246	0,3189	0,3428	0,103
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,3598	0,381	0,4003	0,1302
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,619	0,2249	0,2163	0,0772

E.grandis	con	08/12/2007	84	0,7313	0,1389	0,2676	0,065
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,6443	0,4399	0,6488	0,1643
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,394	0,0783	0,1329	0,0298
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,334	0,3531	0,5341	0,1522
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,2414	0,3511	0,4365	0,1257
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,4173	0,3824	0,5375	0,1367
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,3381	0,1038	0,1244	0,0342
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,5489	0,3915	0,5999	0,1493
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,2967	0,4235	0,4332	0,1314
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,636	0,167	0,1662	0,384
E.grandis	con	08/12/2007	84	1,7963	0,7367	0,6427	0,1896
E.grandis	con	08/12/2007	84	0,8651	0,3413	0,2903	0,0969
E.grandis	sin	08/12/2007	84	1,0116	0,8103	0,3413	0,1983
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,3715	0,1274	0,1169	0,0438
E.grandis	sin	08/12/2007	84	1,1193	0,4689	0,3257	0,1247
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,6286	0,2943	0,1858	0,0823
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,5639	0,3559	0,1731	0,0751
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,851	0,2848	0,2597	0,0794
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,8774	0,5741	0,2817	0,1323
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,3885	0,1599	0,1126	0,0447
E.grandis	sin	08/12/2007	84	1,0203	0,48	0,3149	0,1435
E.grandis	sin	08/12/2007	84	1,0118	0,4466	0,3995	0,1361
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,9441	0,3402	0,3012	0,1004
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,6506	0,1943	0,2222	0,0857
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,8627	0,4249	0,3446	0,1164
E.grandis	sin	08/12/2007	84	1,2209	0,5933	0,2793	0,6117
E.grandis	sin	08/12/2007	84	1,0188	0,5501	0,365	0,1413
E.grandis	sin	08/12/2007	84	1,1431	0,5002	0,4639	0,1521
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,302	0,1868	0,0729	0,0741
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,8865	0,3239	0,2917	0,0423
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,3386	0,3101	0,0748	0,0828
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,7073	0,1093	0,2276	0,027
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,426	0,1354	0,1403	0,0599
E.grandis	sin	08/12/2007	84	1,8057	1,0685	0,6383	0,3232
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,7379	0,3313	0,2661	0,1047
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,5891	0,2929	0,2164	0,083
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,8434	0,321	0,2274	0,0817
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,6703	0,3026	0,2291	0,0803

E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,8071	0,3502	0,2434	0,0912
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,6992	0,3777	0,203	0,0876
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,9106	0,2826	0,2734	0,0717
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,8	0,5226	0,2346	0,1517
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,5632	0,3572	0,145	0,0977
E.grandis	sin	08/12/2007	84	1,4789	0,6692	0,4577	0,1648
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,7891	0,3655	0,2476	0,102
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,475	0,241	0,1826	0,0515
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,3676	0,2443	0,1116	0,0996
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,6313	0,3935	0,2333	0,0718
E.grandis	sin	08/12/2007	84	1,2552	0,5846	0,443	0,1674
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,5589	0,4201	0,2255	0,1032
E.grandis	sin	08/12/2007	84	1,2243	0,6486	0,3515	0,1502
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,6014	0,2877	0,2919	0,0734
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,8636	0,2947	0,2948	0,0956
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,9948	0,3628	0,374	0,1105
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,8197	0,3154	0,3044	0,1163
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,5942	0,1614	0,2133	0,0711
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,3272	0,241	0,0942	0,0451
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,5049	0,2454	0,1345	0,0487
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,482	0,2972	0,1492	0,0601
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,5092	0,1503	0,1397	0,0381
E.grandis	sin	08/12/2007	84	1,2433	0,4029	0,4155	0,1159
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,7942	0,2455	0,2391	0,0624
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,4441	0,161	0,144	0,0468
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,7798	0,2696	0,2638	0,0758
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,7413	0,2558	0,2498	0,0869
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,8895	0,3227	0,2699	0,1
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,9477	0,4525	0,3321	0,1192
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,5847	0,1991	0,1994	0,0763
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,8303	0,3516	0,2943	0,1196
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,7003	0,2149	0,2256	0,0754
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,5938	0,1563	0,1982	0,064
E.grandis	sin	08/12/2007	84	1,1969	0,5097	0,4367	0,1692
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,3764	0,2616	0,1067	0,0402
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,7924	0,4699	0,2657	0,1002
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,7014	0,4624	0,191	0,0841
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,461	0,4451	0,1313	0,0771

E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,3884	0,1559	0,1189	0,046
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,3826	0,1342	0,1211	0,0397
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,1283	0,0401	0,0335	0,0134
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,2958	0,0962	0,0972	0,0313
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,3519	0,0712	0,0713	0,021
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,3814	0,1718	0,1042	0,0347
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,2694	0,1231	0,0247	0,0067
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,3631	0,1262	0,1137	0,0296
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,3094	0,1214	0,0903	0,0329
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,9396	0,414	0,3008	0,089
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,5699	0,2568	0,1701	0,051
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,2963	0,1079	0,0751	0,0252
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,6391	0,2047	0,2433	0,0812
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,5769	0,2628	0,1696	0,0787
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,5599	0,2592	0,1716	0,0768
E.grandis	sin	08/12/2007	84	0,7854	0,383	0,2779	0,1303
E.globul	con	08/12/2007	84	1,1359	0,2618	0,3119	0,079
E.globul	con	08/12/2007	84	0,5614	0,1553	0,1419	0,0438
E.globul	con	08/12/2007	84	1,2259	0,4007	0,333	0,1035
E.globul	con	08/12/2007	84	1,3869	0,2718	0,4481	0,07
E.globul	con	08/12/2007	84	0,7698	0,1619	0,281	0,0523
E.globul	con	08/12/2007	84	1,911	0,5202	0,6654	0,1386
E.globul	con	08/12/2007	84	1,3137	0,3841	0,4225	0,102
E.globul	con	08/12/2007	84	1,2041	0,1859	0,3957	0,0625
E.globul	con	08/12/2007	84	1,2975	0,2639	0,3775	0,0874
E.globul	con	08/12/2007	84	2,0885	0,3933	0,665	0,1152
E.globul	con	08/12/2007	84	1,6616	0,3408	0,533	0,0999
E.globul	con	08/12/2007	84	1,0495	0,2343	0,2909	0,0792
E.globul	con	08/12/2007	84	0,7984	0,2888	0,1908	0,0668
E.globul	con	08/12/2007	84	1,3724	0,4282	0,3816	0,1016
E.globul	con	08/12/2007	84	2,3123	0,3207	0,6988	0,1959
E.globul	con	08/12/2007	84	2,3191	0,1015	0,925	0,025
E.globul	con	08/12/2007	84	1,5218	0,4739	0,4194	0,0958
E.globul	con	08/12/2007	84	2,0839	0,767	0,6266	0,181
E.globul	con	08/12/2007	84	1,9203	0,3441	0,573	0,0879
E.globul	con	08/12/2007	84	1,8089	0,4557	0,4901	0,1099
E.globul	con	08/12/2007	84	1,8933	0,6779	0,5581	0,14
E.globul	con	08/12/2007	84	1,5047	0,5705	0,4338	0,12

E.globul	con	08/12/2007	84	1,4723	0,3973	0,4159	0,0895
E.globul	con	08/12/2007	84	1,3912	0,2994	0,5656	0,0899
E.globul	con	08/12/2007	84	1,3034	0,318	0,3799	0,0909
E.globul	con	08/12/2007	84	1,2046	0,327	0,3519	0,1028
E.globul	con	08/12/2007	84	1,7984	0,1627	0,499	0,0634
E.globul	con	08/12/2007	84	0,9489	0,2337	0,2537	0,0732
E.globul	con	08/12/2007	84	2,1204	0,4304	0,6032	0,1006
E.globul	con	08/12/2007	84	1,8184	0,3012	0,5944	0,0818
E.globul	con	08/12/2007	84	1,1087	0,226	0,342	0,0536
E.globul	con	08/12/2007	84	1,6596	0,3358	0,5317	0,0918
E.globul	con	08/12/2007	84	1,7955	0,3798	0,6381	0,1061
E.globul	con	08/12/2007	84	1,2529	0,4	0,3908	0,2249
E.globul	con	08/12/2007	84	1,9044	0,5109	0,633	0,083
E.globul	con	08/12/2007	84	1,6905	0,5576	0,5975	0,0835
E.globul	con	08/12/2007	84	1,5865	0,4817	0,434	0,1069
E.globul	con	08/12/2007	84	1,1569	0,3659	0,3675	0,1147
E.globul	con	08/12/2007	84	2,7582	0,9668	0,8119	0,1312
E.globul	con	08/12/2007	84	1,778	0,3699	0,567	0,1355
E.globul	sin	08/12/2007	84	2,2401	0,4099	0,6481	0,1137
E.globul	sin	08/12/2007	84	1,0142	0,213	0,2712	0,0542
E.globul	sin	08/12/2007	84	2,5876	0,4222	0,7834	0,1094
E.globul	sin	08/12/2007	84	1,6433	0,4905	0,4791	0,1343
E.globul	sin	08/12/2007	84	1,3187	0,3161	0,4195	0,0853
E.globul	sin	08/12/2007	84	0,879	0,2097	0,2817	0,0464
E.globul	sin	08/12/2007	84	1,853	0,413	0,5449	0,1011
E.globul	sin	08/12/2007	84	1,3126	0,3497	0,3783	0,0965
E.globul	sin	08/12/2007	84	1,7129	0,4445	0,5254	0,1019
E.globul	sin	08/12/2007	84	2,47	0,5862	0,8497	0,1479
E.globul	sin	08/12/2007	84	1,568	0,4312	0,4737	0,0971
E.globul	sin	08/12/2007	84	1,644	0,2737	0,5339	0,0806
E.globul	sin	08/12/2007	84	0,8826	0,1103	0,2404	0,0366
E.globul	sin	08/12/2007	84	1,051	0,384	0,301	0,1057
E.globul	sin	08/12/2007	84	1,9759	0,1936	0,5719	0,0589
E.globul	sin	08/12/2007	84	1,2883	0,3941	0,4073	0,1379
E.globul	sin	08/12/2007	84	0,972	0,0947	0,244	0,0341
E.globul	sin	08/12/2007	84	1,299	0,3765	0,3843	0,0757
E.globul	sin	08/12/2007	84	1,4877	0,2147	0,4326	0,0661
E.globul	sin	08/12/2007	84	1,3248	0,2436	0,3818	0,0773

E.globul	sin	08/12/2007	84	3,1087	0,7782	0,9293	0,1928
E.globul	sin	08/12/2007	84	1,5765	0,2938	0,4703	0,0708
E.globul	sin	08/12/2007	84	1,5075	0,2048	0,5112	0,062
E.globul	sin	08/12/2007	84	1,6904	0,3765	0,4972	0,1025
E.globul	sin	08/12/2007	84	2,2286	0,8985	0,749	0,1197
E.globul	sin	08/12/2007	84	2,2528	0,5149	0,5363	0,1287
E.globul	sin	08/12/2007	84	2,0062	0,4818	0,414	0,0901
E.globul	sin	08/12/2007	84	2,6099	0,749	0,6824	0,132
E.globul	sin	08/12/2007	84	2,6426	0,6112	0,8552	0,1263
E.globul	sin	08/12/2007	84	2,3092	0,2863	0,7019	0,0808
E.globul	sin	08/12/2007	84	1,4451	0,4383	0,4565	0,0937
E.globul	sin	08/12/2007	84	2,5596	0,6346	0,895	0,1565
E.globul	sin	08/12/2007	84	2,4368	0,518	0,6961	0,1936
E.globul	sin	08/12/2007	84	1,628	0,4273	0,755	0,1266
E.globul	sin	08/12/2007	84	1,4271	0,3894	0,6705	0,105
E.globul	sin	08/12/2007	84	1,2386	0,5402	0,8489	0,1625
E.globul	sin	08/12/2007	84	3,52	0,821	1,1792	0,2251
E.globul	sin	08/12/2007	84	1,3014	0,2365	0,0937	0,0822
E.globul	sin	08/12/2007	84	3,1125	0,4801	0,1012	0,1737
E.globul	sin	08/12/2007	84	3,3029	0,8093	0,4078	0,1897

### **ANAVA para parámetro altura**

Análisis	de	la	varianza				
día	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj	CV	
0.00	alt	120	0.54	0.52	20.02		
Cuadro	de	Análisis	de	la	Varianza	(SC	tipo
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor		
Modelo	128.47	3	42.82	44.59	<0.0001		
esp	123.98	1	123.98	129.10	<0.0001		
trat	4.29	1	4.29	4.47	0.0366		
esp*trat	1.22	1	1.22	1.27	0.2624		
Error	111.41	116	0.96				
Total	239.88	119					
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.36614					
Error:	0.9604	gl:	116				
esp	Medias	N					
E.globulus	6.33	40	A				

E.grandis	4.18	80	B					
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)			
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.35552						
Error:	0.9604	gl:	116					
trat	Medias	N						
sin	5.46	60	A					
con	5.05	60	B					
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)			
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.68217						
Error:	0.9604	gl:	116					
esp	trat	Medias	n					
E.globulus	sin	6.64	20	A				
E.globulus	con	6.03	20	A				
E.grandis	sin	4.27	40	B				
E.grandis	con	4.08	40	B				
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)			
día	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj	CV		
32.00	alt	240	0.19	0.18	23.26			
Cuadro	de	Análisis	de	la	Varianza	(SC	tipo	
F. V.	SC	gl	CM	F	p-valor			
Modelo	165.58	3	55.19	18.25	<0.0001			
esp	141.92	1	141.92	46.92	<0.0001			
trat	5.68	1	5.68	1.88	0.1720			
esp*trat	10.27	1	10.27	3.39	0.0667			
Error	713.79	236	3.02					
Total	879.37	239						
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.45945						
Error:	3.0245	gl:	236					
esp	Medias	N						
E.globulus	8.56	80	A					
E.grandis	6.93	160	B					
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)			
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.44611						
Error:	3.0245	gl:	236					
trat	Medias	N						
con	7.91	120	A					
sin	7.59	120	A					
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)			
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.85601						
Error:	3.0245	gl:	236					
esp	trat	Medias	n					
E.globulus	sin	8.62	40	A				
E.globulus	con	8.51	40	A				
E.grandis	con	7.32	80	B				

E.grandis	sin	6.55	80	B			
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		
día	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj	CV	
56.00	alt	240	0.31	0.30	20.39		
Cuadro	de	Análisis	de	la	Varianza	(SC	tipo
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor		
Modelo	777.02	3	259.01	35.04	<0.0001		
esp	557.93	1	557.93	75.48	<0.0001		
trat	0.01	1	0.01	1.8E-03	0.9666		
esp*trat	193.68	1	193.68	26.20	<0.0001		
Error	1744.46	236	7.39				
Total	2521.48	239					
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.71825					
Error:	7.3918	gl:	236				
esp	Medias	N					
E.globulus	15.49	80	A				
E.grandis	12.25	160	B				
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.69741					
Error:	7.3918	gl:	236				
trat	Medias	N					
con	13.88	120	A				
sin	13.86	120	A				
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=1.33821					
Error:	7.3918	gl:	236				
esp	trat	Medias	n				
E.globulus	sin	16.43	40	A			
E.globulus	con	14.54	40	B			
E.grandis	con	13.21	80	B			
E.grandis	sin	11.29	80	C			
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		
día	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj	CV	
84.00	alt	240	0.30	0.29	21.19		
Cuadro	de	Análisis	de	la	Varianza	(SC	tipo
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor		
Modelo	974.95	3	324.98	33.92	<0.0001		
esp	781.07	1	781.07	81.51	<0.0001		
trat	1.81	1	1.81	0.19	0.6640		
esp*trat	182.66	1	182.66	19.06	<0.0001		
Error	2261.41	236	9.58				
Total	3236.35	239					
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.81778					
Error:	9.5822	gl:	236				

esp	Medias	N					
E.globulus	17.16	80	A				
E.grandis	13.33	160	B				
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.79405					
Error:	9.5822	gl:	236				
trat	Medias	N					
sin	15.34	120	A				
con	15.15	120	A				
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=1.52364					
Error:	9.5822	gl:	236				
esp	trat	Medias	n				
E.globulus	sin	18.18	40	A			
E.globulus	con	16.14	40	B			
E.grandis	con	14.17	80	C			
E.grandis	sin	12.50	80	D			
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		

### **ANAVA para parámetro materia fresca parte aérea**

Columna1	Columna2	Columna3	Columna4	Columna5	Columna6	Columna7	Columna8
Análisis	de	la	varianza				
día	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj	CV	
0.00	mfpa	240	0.37	0.36	61.53		
Cuadro	de	Análisis	de	la	Varianza	(SC	tipo
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor		
Modelo	0.98	3	0.33	46.59	<0.0001		
esp	0.85	1	0.85	121.79	<0.0001		
trat	1.6E-03	1	1.6E-03	0.22	0.6368		
esp*trat	0.12	1	0.12	17.06	0.0001		
Error	1.66	236	0.01				
Total	2.64	239					
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.02213					
Error:	0.0070	gl:	236				
esp	Medias	N					
E.globulus	0.22	80	A				
E.grandis	0.09	160	B				
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.02149					
Error:	0.0070	gl:	236				
trat	Medias	N					
sin	0.16	120	A				
con	0.15	120	A				

Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.04123					
Error:	0.0070	gl:	236				
esp	trat	Medias	n				
E.globulus	sin	0.25	40	A			
E.globulus	con	0.19	40	B			
E.grandis	con	0.11	80	C			
E.grandis	sin	0.07	80	D			
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		
día	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj	CV	
32.00	mfp	240	0.20	0.19	62.14		
Cuadro	de	Análisis	de	la	Varianza	(SC	tipo
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor		
Modelo	1.06	3	0.35	20.13	<0.0001		
esp	0.81	1	0.81	46.31	<0.0001		
trat	2.7E-04	1	2.7E-04	0.02	0.9023		
esp*trat	0.22	1	0.22	12.79	0.0004		
Error	4.14	236	0.02				
Total	5.20	239					
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.03500					
Error:	0.0175	gl:	236				
esp	Medias	N					
E.globulus	0.30	80	A				
E.grandis	0.17	160	B				
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.03398					
Error:	0.0175	gl:	236				
trat	Medias	N					
sin	0.23	120	A				
con	0.23	120	A				
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.06521					
Error:	0.0175	gl:	236				
esp	trat	Medias	n				
E.globulus	sin	0.33	40	A			
E.globulus	con	0.26	40	B			
E.grandis	con	0.20	80	B	C		
E.grandis	sin	0.14	80	C			
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		
día	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj	CV	
56.00	mfp	240	0.22	0.21	49.07		
Cuadro	de	Análisis	de	la	Varianza	(SC	tipo
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor		
Modelo	8.12	3	2.71	22.17	<0.0001		

esp	6.37	1	6.37	52.16	<0.0001		
trat	0.09	1	0.09	0.75	0.3889		
esp*trat	1.24	1	1.24	10.17	0.0016		
Error	28.83	236	0.12				
Total	36.95	239					
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.09233					
Error:	0.1222	gl:	236				
esp	Medias	N					
E.globulus	0.94	80	A				
E.grandis	0.60	160	B				
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.08966					
Error:	0.1222	gl:	236				
trat	Medias	N					
con	0.79	120	A				
sin	0.75	120	A				
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.17203					
Error:	0.1222	gl:	236				
esp	trat	Medias	n				
E.globulus	sin	1.00	40	A			
E.globulus	con	0.89	40	A			
E.grandis	con	0.69	80	B			
E.grandis	sin	0.50	80	C			
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		
día	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj	CV	
84.00	mfpa	240	0.40	0.39	43.78		
Cuadro	de	Análisis	de	la	Varianza	(SC	tipo
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor		
Modelo	41.93	3	13.98	51.95	<0.0001		
esp	32.36	1	32.36	120.27	<0.0001		
trat	0.20	1	0.20	0.75	0.3889		
esp*trat	7.49	1	7.49	27.85	<0.0001		
Error	63.49	236	0.27				
Total	105.42	239					
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.13703					
Error:	0.2690	gl:	236				
esp	Medias	N					
E.globulus	1.70	80	A				
E.grandis	0.93	160	B				
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.13305					
Error:	0.2690	gl:	236				
trat	Medias	N					

con	1.35	120	A				
sin	1.28	120	A				
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.25530					
Error:	0.2690	gl:	236				
esp	trat	Medias	n				
E.globulus	sin	1.86	40	A			
E.globulus	con	1.55	40	B			
E.grandis	con	1.14	80	C			
E.grandis	sin	0.71	80	D			
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		

### ANAVA de parámetro materia seca parte aérea

Análisis	de	la	varianza				
día	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj	CV	
0.00	mspa	240	0.5418	0.5359	45.3855		
Cuadro	de	Análisis	de	la	Varianza	(SC	tipo
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor		
Modelo	0.0327	3	0.0109	93.0066	<0.0001		
esp	0.0317	1	0.0317	270.5932	<0.0001		
trat	0.0001	1	0.0001	0.4308	0.5122		
esp*trat	0.0007	1	0.0007	5.9886	0.0151		
Error	0.0277	236	0.0001				
Total	0.0604	239					
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.00286					
Error:	0.0001	gl:	236				
esp	Medias	N					
E.globulus	0.0401	80	A				
E.grandis	0.0157	160	B				
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.00278					
Error:	0.0001	gl:	236				
trat	Medias	N					
con	0.0284	120	A				
sin	0.0274	120	A				
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.00533					
Error:	0.0001	gl:	236				

esp	trat	Medias	n					
E.globulus	sin	0.0414	40	A				
E.globulus	con	0.0388	40	A				
E.grandis	con	0.0180	80	B				
E.grandis	sin	0.0134	80	B				
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)			
día	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj	CV		
32.00	mspa	240	0.1798	0.1694	87.4911			
Cuadro	de	Análisis	de	la	Varianza	(SC	tipo	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor			
Modelo	0.1154	3	0.0385	17.2450	<0.0001			
esp	0.1059	1	0.1059	47.4904	<0.0001			
trat	0.0026	1	0.0026	1.1590	0.2828			
esp*trat	0.0038	1	0.0038	1.6829	0.1958			
Error	0.5265	236	0.0022					
Total	0.6419	239						
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.01248						
Error:	0.0022	gl:	236					
esp	Medias	N						
E.globulus	0.0837	80	A					
E.grandis	0.0391	160	B					
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)			
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.01212						
Error:	0.0022	gl:	236					
trat	Medias	N						
con	0.0649	120	A					
sin	0.0579	120	A					
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)			
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.02325						
Error:	0.0022	gl:	236					
esp	trat	Medias	n					
E.globulus	sin	0.0844	40	A				
E.globulus	con	0.0830	40	A				
E.grandis	con	0.0468	80	B				
E.grandis	sin	0.0315	80	B				
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)			
día	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj	CV		
56.00	mspa	240	0.2193	0.2093	58.0757			
Cuadro	de	Análisis	de	la	Varianza	(SC	tipo	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor			
Modelo	0.8050	3	0.2683	22.0927	<0.0001			
esp	0.6527	1	0.6527	53.7433	<0.0001			
trat	0.0013	1	0.0013	0.1102	0.7402			
esp*trat	0.1253	1	0.1253	10.3208	0.0015			

Error	2.8663	236	0.0121				
Total	3.6713	239					
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.02911					
Error:	0.0121	gl:	236				
esp	Medias	N					
E.globulus	0.2635	80	A				
E.grandis	0.1529	160	B				
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.02827					
Error:	0.0121	gl:	236				
trat	Medias	N					
con	0.2107	120	A				
sin	0.2057	120	A				
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.05424					
Error:	0.0121	gl:	236				
esp	trat	Medias	n				
E.globulus	sin	0.2853	40	A			
E.globulus	con	0.2418	40	A			
E.grandis	con	0.1796	80	B			
E.grandis	sin	0.1261	80	B			
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		
Día	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj	CV	
84.00	mspa	240	0.2895	0.2805	49.3446		
Cuadro	de	Análisis	de	la	Varianza	(SC	tipo
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor		
Modelo	3.2054	3	1.0685	32.0590	<0.0001		
esp	2.3292	1	2.3292	69.8881	<0.0001		
trat	0.0851	1	0.0851	2.5530	0.1114		
esp*trat	0.5496	1	0.5496	16.4893	0.0001		
Error	7.8654	236	0.0333				
Total	11.0707	239					
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.04823					
Error:	0.0333	gl:	236				
esp	Medias	N					
E.globulus	0.5093	80	A				
E.grandis	0.3003	160	B				
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.04683					
Error:	0.0333	gl:	236				
trat	Medias	N					
con	0.4248	120	A				
sin	0.3848	120	A				
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)		

Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.08986				
Error:	0.0333	gl:	236			
esp	trat	Medias	n			
E.globulus	sin	0.5401	40	A		
E.globulus	con	0.4785	40	A		
E.grandis	con	0.3710	80	B		
E.grandis	sin	0.2296	80	C		
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)	

### ANAVA de parámetro materia fresca raíz

Análisis	de	la	varianza			
día	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj	CV
0.00	mfraiz	240	0.381	0.373	52.781	
Cuadro	de	Análisis	de	la	Varianza	(SC
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	0.028	3	0.009	48.360	<0.0001	
esp	0.026	1	0.026	134.362	<0.0001	
trat	4.5E-05	1	4.5E-05	0.234	0.6292	
esp*trat	0.002	1	0.002	10.328	0.0015	
Error	0.046	236	1.9E-04			
Total	0.074	239				
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.00368				
Error:	0.0002	gl:	236			
esp	Medias	N				
E.globulus	0.041	80	A			
E.grandis	0.019	160	B			
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)	
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.00358				
Error:	0.0002	gl:	236			
trat	Medias	N				
sin	0.031	120	A			
con	0.030	120	A			
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)	
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.00686				
Error:	0.0002	gl:	236			
esp	trat	Medias	n			
E.globulus	sin	0.045	40	A		

E.globulus	con	0.038	40	B		
E.grandis	con	0.022	80	C		
E.grandis	sin	0.016	80	C		
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)	
día	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj	CV
32.00	mfraiz	240	0.052	0.040	116.836	
Cuadro	de	Análisis	de	la	Varianza	(SC
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	0.074	3	0.025	4.356	0.0052	
esp	0.004	1	0.004	0.726	0.3950	
trat	0.005	1	0.005	0.948	0.3311	
esp*trat	0.046	1	0.046	8.167	0.0046	
Error	1.331	236	0.006			
Total	1.404	239				
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.01984				
Error:	0.0056	gl:	236			
esp	Medias	N				
E.globulus	0.070	80	A			
E.grandis	0.061	160	A			
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)	
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.01926				
Error:	0.0056	gl:	236			
trat	Medias	N				
con	0.071	120	A			
sin	0.061	120	A			
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)	
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.03696				
Error:	0.0056	gl:	236			
esp	trat	Medias	n			
E.grandis	con	0.081	80	A		
E.globulus	sin	0.080	40	A		
E.globulus	con	0.060	40	A	B	
E.grandis	sin	0.042	80	B		
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)	
día	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj	CV
56.00	mfraiz	240	0.046	0.034	57.253	
Cuadro	de	Análisis	de	la	Varianza	(SC
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	0.156	3	0.052	3.781	0.0112	
esp	0.001	1	0.001	0.040	0.8425	
trat	0.010	1	0.010	0.718	0.3976	
esp*trat	0.106	1	0.106	7.756	0.0058	
Error	3.238	236	0.014			
Total	3.394	239				

Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.03095				
Error:	0.0137	gl:	236			
esp	Medias	N				
E.globulus	0.207	80	A			
E.grandis	0.204	160	A			
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)	
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.03005				
Error:	0.0137	gl:	236			
trat	Medias	N				
con	0.212	120	A			
sin	0.198	120	A			
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)	
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.05766				
Error:	0.0137	gl:	236			
esp	trat	Medias	n			
E.grandis	con	0.233	80	A		
E.globulus	sin	0.222	40	A	B	
E.globulus	con	0.191	40	A	B	
E.grandis	sin	0.174	80	B		
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)	
día	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj	CV
84.00	mfraiz	240	0.041	0.028	57.383	
Cuadro	de	Análisis	de	la	Varianza	(SC
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	0.483	3	0.161	3.335	0.0202	
esp	0.043	1	0.043	0.890	0.3465	
trat	0.032	1	0.032	0.660	0.4173	
esp*trat	0.294	1	0.294	6.105	0.0142	
Error	11.380	236	0.048			
Total	11.863	239				
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.05801				
Error:	0.0482	gl:	236			
esp	Medias	N				
E.globulus	0.402	80	A			
E.grandis	0.373	160	A			
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)	
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.05633				
Error:	0.0482	gl:	236			
trat	Medias	N				
con	0.400	120	A			
sin	0.375	120	A			
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)	
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.10809				
Error:	0.0482	gl:	236			

esp	trat	Medias	n			
E.globulus	sin	0.427	40	A		
E.grandis	con	0.423	80	A		
E.globulus	con	0.377	40	A		
E.grandis	sin	0.324	80	A		
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<= 0.05)		

### **ANAVA para parámetro materia seca raíz**

Análisis	de	la	varianza			
día	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj	CV
0.00	msraiz	240	0.32892	0.32039	45.41039	
Cuadro	de	Análisis	de	la	Varianza	(SC
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	0.00061	3	0.00020	38.55707	<0.0001	
esp	0.00060	1	0.00060	113.63904	<0.0001	
trat	0.00001	1	0.00001	0.98372	0.3223	
esp*trat	2.1E-06	1	2.1E-06	0.40293	0.5262	
Error	0.00125	236	0.00001			
Total	0.00186	239				
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.00061				
Error:	0.0000	gl:	236			
esp	Medias	N				
E.globulus	0.00731	80	A			
E.grandis	0.00395	160	B			
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<= 0.05)		
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.00059				
Error:	0.0000	gl:	236			
trat	Medias	N				
con	0.00578	120	A			
sin	0.00547	120	A			
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<= 0.05)		
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.00113				
Error:	0.0000	gl:	236			
esp	trat	Medias	n			
E.globulus	con	0.00736	40	A		
E.globulus	sin	0.00725	40	A		
E.grandis	con	0.00420	80	B		
E.grandis	sin	0.00369	80	B		
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<= 0.05)		
día	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj	CV

<b>32.00</b>	msraiz	240	0.05587	0.04387	105.01571	
Cuadro	de	Análisis	de	la	Varianza	(SC
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	0.00318	3	0.00106	4.65551	0.0035	
esp	0.00146	1	0.00146	6.39539	0.0121	
trat	0.00005	1	0.00005	0.23473	0.6285	
esp*trat	0.00168	1	0.00168	7.37217	0.0071	
Error	0.05381	236	0.00023			
Total	0.05699	239				
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.00399				
Error:	0.0002	gl:	236			
esp	Medias	N				
E.globulus	0.01786	80	A			
E.grandis	0.01264	160	B			
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)	
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.00387				
Error:	0.0002	gl:	236			
trat	Medias	N				
sin	0.01575	120	A			
con	0.01475	120	A			
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)	
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.00743				
Error:	0.0002	gl:	236			
esp	trat	Medias	n			
E.globulus	sin	0.02117	40	A		
E.grandis	con	0.01494	80	A	B	
E.globulus	con	0.01456	40	A	B	
E.grandis	sin	0.01033	80	B		
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)	
día	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj	CV
<b>56.00</b>	msraiz	240	0.04658	0.03446	109.14575	
Cuadro	de	Análisis	de	la	Varianza	(SC
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	0.02831	3	0.00944	3.84347	0.0103	
esp	0.00677	1	0.00677	2.75559	0.0982	
trat	0.00295	1	0.00295	1.20016	0.2744	
esp*trat	0.01221	1	0.01221	4.97127	0.0267	
Error	0.57945	236	0.00246			
Total	0.60776	239				
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.01309				
Error:	0.0025	gl:	236			
esp	Medias	N				
E.globulus	0.05291	80	A			
E.grandis	0.04164	160	A			

Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)	
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.01271				
Error:	0.0025	gl:	236			
trat	Medias	N				
con	0.05099	120	A			
sin	0.04356	120	A			
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)	
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.02439				
Error:	0.0025	gl:	236			
esp	trat	Medias	n			
E.globulus	sin	0.05676	40	A		
E.grandis	con	0.05293	80	A	B	
E.globulus	con	0.04906	40	A	B	
E.grandis	sin	0.03036	80	B		
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)	
día	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj	CV
84.00	msraiz	240	0.05268	0.04064	64.54346	
Cuadro	de	Análisis	de	la	Varianza	(SC
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	0.06646	3	0.02215	4.37485	0.0051	
esp	0.00404	1	0.00404	0.79805	0.3726	
trat	0.01123	1	0.01123	2.21782	0.1378	
esp*trat	0.03168	1	0.03168	6.25586	0.0131	
Error	1.19497	236	0.00506			
Total	1.26143	239				
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.01880				
Error:	0.0051	gl:	236			
esp	Medias	N				
E.grandis	0.11315	160	A			
E.globulus	0.10445	80	A			
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)	
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.01825				
Error:	0.0051	gl:	236			
trat	Medias	N				
con	0.11605	120	A			
sin	0.10154	120	A			
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)	
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.03502				
Error:	0.0051	gl:	236			
esp	trat	Medias	n			
E.grandis	con	0.13259	80	A		
E.globulus	sin	0.10938	40	A	B	
E.globulus	con	0.09952	40	A	B	
E.grandis	sin	0.09371	80	B		

Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)
--------	-----------	---------	-------------	--------------------	-------

### ANAVA para diámetro

Análisis	de	la	varianza		
día	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj
0.00	diam	120	0.36	0.35	28.11
Cuadro	de	Análisis	de	la	Varianza
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2.04	3	0.68	22.07	<0.0001
esp	1.13	1	1.13	36.74	<0.0001
trat	0.88	1	0.88	28.38	<0.0001
esp*trat	0.23	1	0.23	7.59	0.0068
Error	3.58	116	0.03		
Total	5.63	119			
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.06565			
Error:	0.0309	gl:	116		
esp	Medias	N			
E.globulus	0.76	40	A		
E.grandis	0.56	80	B		
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.06374			
Error:	0.0309	gl:	116		
trat	Medias	N			
sin	0.75	60	A		
con	0.57	60	B		
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.12231			
Error:	0.0309	gl:	116		
esp	trat	Medias	n		
E.globulus	sin	0.90	20	A	
E.globulus	con	0.63	20	B	
E.grandis	sin	0.60	40	B	
E.grandis	con	0.51	40	B	
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)
Día	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj
32.00	diam	240	0.14	0.12	35.72
Cuadro	de	Análisis	de	la	Varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	7.71	3	2.57	12.35	<0.0001
esp	7.01	1	7.01	33.68	<0.0001
trat	0.47	1	0.47	2.25	0.1347
esp*trat	0.05	1	0.05	0.25	0.6173
Error	49.11	236	0.21		
Total	56.82	239			
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.12052			
Error:	0.2081	gl:	236		
esp	Medias	N			
E.globulus	1.52	80	A		
E.grandis	1.16	160	B		
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.11702			
Error:	0.2081	gl:	236		
trat	Medias	N			
con	1.38	120	A		
sin	1.29	120	A		
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.22454			
Error:	0.2081	gl:	236		
esp	trat	Medias	n		
E.globulus	con	1.55	40	A	
E.globulus	sin	1.49	40	A	
E.grandis	con	1.22	80	B	
E.grandis	sin	1.09	80	B	
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)
día	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj
56.00	diam	240	0.20	0.19	22.53
Cuadro	de	Análisis	de	la	Varianza
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	9.91	3	3.30	19.74	<0.0001
esp	3.50	1	3.50	20.91	<0.0001
trat	1.88	1	1.88	11.20	0.0010
esp*trat	2.41	1	2.41	14.38	0.0002
Error	39.52	236	0.17		
Total	49.43	239			
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.10811			
Error:	0.1675	gl:	236		
esp	Medias	N			
E.globulus	1.99	80	A		
E.grandis	1.73	160	B		
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.10497			

Error:	0.1675	gl:	236		
trat	Medias	N			
con	1.95	120	A		
sin	1.77	120	B		
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.20142			
Error:	0.1675	gl:	236		
esp	trat	Medias	n		
E.globulus	sin	2.00	40	A	
E.globulus	con	1.98	40	A	
E.grandis	con	1.93	80	A	
E.grandis	sin	1.53	80	B	
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)
día	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj
84.00	diam	240	0.05	0.03	18.66
Cuadro	de	Análisis	de	la	Varianza
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2.06	3	0.69	3.74	0.0118
esp	2.1E-03	1	2.1E-03	0.01	0.9153
trat	1.41	1	1.41	7.66	0.0061
esp*trat	0.13	1	0.13	0.73	0.3953
Error	43.39	236	0.18		
Total	45.45	239			
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.11327			
Error:	0.1838	gl:	236		
esp	Medias	N			
E.grandis	2.30	160	A		
E.globulus	2.29	80	A		
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.10999			
Error:	0.1838	gl:	236		
trat	Medias	N			
con	2.38	120	A		
sin	2.22	120	B		
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)
Test:Tukey	Alfa=0.05	DMS=0.21105			
Error:	0.1838	gl:	236		
esp	trat	Medias	n		
E.grandis	con	2.41	80	A	
E.globulus	con	2.35	40	A	B
E.globulus	sin	2.24	40	A	B
E.grandis	sin	2.19	80	B	
Letras	distintas	indican	diferencias	significativas(p<=	0.05)

