

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**EVALUACIÓN DE CRECIMIENTO, SANIDAD Y RESISTENCIA A HELADAS
DE TRES HÍBRIDOS DE *Eucalyptus grandis* CON APLICACIÓN DE BIO
ESTIMULANTES, *Trichoderma harzianum* (Trichosoil®) y Quitosano
(Biorend®), EN PLANTACIÓN**

por

Virginia María OLIVERA COSTA OLIVERA

Deborah Irianella RODRÍGUEZ LALLERA

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

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2014**

Tesis aprobada por:

Director:
Ing. Agr. Graciela Romero

.....
Ing. Agr. Jorge Martínez Haedo

.....
Ing. Agr. Claudine Folch

Fecha: 09 de junio de 2014

Autores:

.....
Virginia María Olivera Costa Olivera

.....
Déborah Irianella Rodríguez Lallera

AGRADECIMIENTOS

Al finalizar esta investigación queríamos agradecer en primer lugar a nuestra tutora de tesis la Ing. Agr. Graciela Romero, por darnos esta oportunidad, por su apoyo, comprensión, entusiasmo, amabilidad y sobre todo por su aporte humano y enseñarnos con cariño que todo se puede. Al Ing. Agr. Juan Pedro Posse, por abrirnos las puertas de la empresa y permitirnos realizar este trabajo allí, al Ing. Agr. Jorge Martínez Haedo, gracias por su apoyo y disposición en todo momento, al supervisor del vivero Michael Rodríguez y a todo el personal del vivero de Weyerhaeuser, por su colaboración y disposición con nosotras en todo momento. Al Ing. Agr. Oscar Bentancur por su asesoramiento, su voluntad y amabilidad para poder culminar este trabajo. Gracias a todos los docente del Departamento Forestal de Facultad de Agronomía, especialmente y con cariño a la Ing. Agr. Carolina Sanz. A la Lic. Sully Toledo de la Dirección General de Bibliotecas y Centro de Documentación. Muchas gracias a todas las personas que de una forma u otra colaboraron y nos ayudaron a sacar adelante esta investigación.

Deborah: Mi tesis la dedico a ti Dios por protegerme durante todo mi camino y darme fuerzas para superar obstáculos y dificultades a lo largo de toda mi vida. A mi querida abuela y madre Rosalía, a pesar de la distancia física siento que estás conmigo siempre y aunque nos faltaron muchas cosas por vivir juntas sé que este momento hubiera sido tan especial para ti como para mí. Simplemente gracias por ser mi pilar de vida, gracias por tanto amor, bondad, valores, sacrificio y sabiduría, que influyeron en mi desde niña para lograr todos los objetivos en la vida, me inspiraste a ser mejor para tí, ahora puedo decir que esta tesis lleva mucho de tí, gracias por estar siempre a mi lado. A una persona muy especial, Juan, gracias por siempre estar a mi lado, brindándome todo tu amor, entrega, dedicación y por sobre todo tenerme mucha comprensión y paciencia durante estos años de mi vida. Gracias por tanto. A mis padres ejemplos de rectitud, honestidad y trabajo sé que están orgullosos de la persona en la que me he convertido. A mi hermana por darme a mis dos sobrinos Gonzalo y Felipe, gracias por llenarme de tanto amor y alegrías. A mis amigas del alma, las quiero mucho y simplemente con esta tesis quiero agradecerles un poco de lo mucho que me han dado. A mi querido amigo y fiel compañero, gracias por el apoyo emocional y por estar en todos los

mementos, Joe. A mi prima Marcela por ser una tercera madre para mí, gracias por tu apoyo y contención en los momentos difíciles, gracias por estar siempre. A mi compañera de tesis Virginia, con quien he compartido momentos difíciles y logros en todo este tiempo de amistad, gracias por ese apoyo siempre. Son muchas las personas que han formado parte de mi vida a las que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en mi corazón, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

“La dicha de la vida consiste en tener siempre algo que hacer, alguien a quien amar y alguna cosa que esperar”. Thomas Chalmers

Virginia: Agradezco a aquellas personas (familia, amigos y Martin) que durante todo este tiempo en que duro la etapa como estudiante estuvieron a mi lado proporcionándome contención, apoyo, aliento y cariño.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	X
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
1.1 OBJETIVOS.....	5
1.1.1 <u>Objetivo general</u>	5
1.1.2 <u>Objetivos específicos</u>	5
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	6
2.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS ESPECIES EVALUADAS ..	6
2.1.1 <u><i>Eucalyptus grandis</i></u>	6
2.1.1.1 Características morfológicas.....	6
2.1.1.2 Distribución natural	6
2.1.1.3 Requerimientos climáticos y edafológicos	7
2.1.1.4 Características de la madera	7
2.1.2 <u><i>Eucalyptus camaldulensis</i></u>	7
2.1.2.1 Características morfológicas.....	7
2.1.2.2 Distribución natural	8
2.1.2.3 Requerimientos climáticos y edafológicos	8
2.1.2.4 Características de la madera	8
2.1.3 <u><i>Eucalyptus tereticornis</i></u>	8
2.1.3.1 Características morfológicas.....	8
2.1.3.2 Distribución natural	9

2.1.3.3	Requerimientos climáticos y edafológicos	9
2.1.3.4	Características de la madera	10
2.1.4	<u><i>Eucalyptus urophylla</i></u>	10
2.1.4.1	Características morfológicas.....	10
2.1.4.2	Distribución natural	11
2.1.4.3	Requerimientos climáticos y edafológicos	11
2.1.4.4	Características de la madera	11
2.2	FITOPATOLOGÍA.....	11
2.2.1	<u>Vivero</u>	12
2.2.1.1	Moho gris	12
2.2.1.2	Enfermedades de los almácigos o “Damping off”	13
2.2.1.3	Mancha foliar por <i>Alternaria</i>	18
2.3	DAÑOS POR FACTORES ABIÓTICOS	19
2.3.1	<u>Heladas</u>	19
2.4	CRECIMIENTO.....	22
2.5	MANEJO INTEGRADO DE ENFERMEDADES.....	24
2.5.1	<u>Control biológico</u>	25
2.5.2	<u><i>Trichoderma harzianum</i></u>	29
2.5.2.1	Factores que afectan el crecimiento y desarrollo.....	32
2.5.2.2	Temperatura	33
2.5.2.3	Humedad	34
2.5.2.4	pH	34
2.5.2.5	Oxígeno	34

2.5.2.6 Disponibilidad de nutrientes	35
2.5.3 <u>Trichoderma</u> como controlador biológico.....	36
2.5.4 <u>Control biológico con Trichoderma en diferentes ambientes</u>	38
2.5.4.1 Control biológico en las semillas	39
2.5.4.2 Control biológico en el suelo	40
2.5.4.3 Control en la superficie aérea (flores, frutos y follaje)	41
2.5.5 <u>Mecanismos de acción directos de Trichoderma spp. como agente de biocontrol</u>	42
2.5.5.1 Competencia.....	43
2.5.5.2 Micoparasitismo	45
2.5.5.3 Antibiosis.....	48
2.5.6 <u>Mecanismos de acción indirectos de Trichoderma spp. como agente de biocontrol</u>	50
2.5.6.1 Efecto promotor del crecimiento en plantas	51
2.5.6.2 Solubilización de nutrientes minerales	52
2.5.6.3 Inducción de resistencia.....	53
2.5.6.4 Peroxidasas en la respuesta de defensa	53
2.5.6.5 Formación de las especies reactivas de oxígeno	56
2.5.6.6 Función de las ERO en la respuesta contra patógenos	57
2.5.7 <u>Trichosoil®</u>	58
2.6 QUITOSANO	59
2.6.1 <u>Obtención del quitosano</u>	60
2.6.2 <u>Acción bioquímica del quitosano</u>	60
2.6.2.1 Actividad bactericida	62

2.6.2.2	Actividad fungicida	64
2.6.2.3	Actividad antiviral	65
2.6.2.4	Estimulación del crecimiento.....	66
2.6.2.5	Inducción de resistencia.....	67
2.6.3	<u>Biorend®</u>	68
2.7	INTERACCIÓN TRICHODERMA HARZIANUM Y QUITOSANO	68
3.	<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	69
3.1	DISEÑO EXPERIMENTAL VIVERO	69
3.1.1	<u>Variable altura</u>	70
3.1.2	<u>Metodología</u>	72
3.2	DISEÑO EXPERIMENTAL A CAMPO	72
3.2.1	<u>Crecimiento en altura y diámetro</u>	73
3.2.2	<u>Sobrevivencia</u>	75
3.2.3	<u>Metodología</u>	76
3.3	PRODUCCIÓN DE PLANTINES	77
3.3.1	<u>Trichosoil® y Biorend®</u>	80
3.3.2	<u>Sustrato y bandejas</u>	80
3.3.3	<u>Riego</u>	81
3.3.4	<u>Fertilización</u>	81
3.4	CARACTERÍSTICAS DEL SITIO DE PLANTACIÓN	82
3.4.1	<u>Suelo 7.2</u>	82
3.4.2	<u>Suelo 7.31</u>	83
3.4.3	<u>Calendario de operaciones</u>	84

3.4.4 Condiciones ambientales durante el ensayo	84
4. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	88
4.1 VIVERO	88
4.1.1 <u>Variable altura</u>	88
4.1.2 <u>Sanidad en vivero</u>	89
4.2 PLANTACIÓN.....	89
4.2.1 <u>Crecimiento</u>	89
4.2.1.1 Variable altura	90
4.2.1.2 Variable diámetro	95
4.3 SOBREVIVENCIA	102
4.3.1 <u>Daños por heladas</u>	106
4.3.1.1 Incidencia.....	106
4.3.1.2 Severidad	110
5. <u>CONCLUSIONES</u>	111
6. <u>RESUMEN</u>	113
7. <u>SUMMARY</u>	115
8. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	116
9. <u>ANEXOS</u>	126

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1. Clasificación taxonómica de <i>Trichoderma harzianum</i>	30
2. Genotipos en la etapa de vivero	69
3. Aplicaciones de Trichosoil® y Biorend®	80
4. Programa de fertilización en vivero.....	82
5. Precipitación acumulada y Precipitación efectiva en mm por mes.....	85
6. Humedad relativa media en % por mes	86
7. Temperaturas Max, Media, Min, y promedio en ° C por mes	87
8. Altura promedio de los plantines, tamaño 1 y 2	90
9. Diámetro promedio de los plantines según genotipos.....	95
10. Daños por heladas genotipo GC514.....	103
11. Daños por heladas genotipo GT529.....	104
12. Daños por heladas genotipo GU8.....	105
13. Escala de severidad.....	107

Figura No.

1. Descripción: <i>T. harzianum</i> (Rifai); a, b. conidióforos de forma Piramidal	31
2. Descripción: <i>T. harzianum</i> (Rifai); c, d. fiálides y conidios	31
3. A) Cepa nativa de <i>Trichoderma harzianum</i> aislada de un escleroto de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> creciendo sobre medio de cultivo TSA. B) Hifas y conidióforos de <i>Trichoderma harzianum</i> (1cm = 20 µm). C) Esquema de conidióforo de <i>Trichoderma harzianum</i>	32
4. Mecanismo de acción de <i>Trichoderma</i>	47
5. Micoparasitismo de <i>Trichoderma</i> sobre <i>Rhizoctonia solani</i>	47
6. Fotomicrografías de interacciones entre <i>Trichoderma harzianum</i> (T.h) y <i>Phytophthora capsici</i> (P.c.).....	48
7. Inducción de respuestas de defensa en plantas	55
8. Croquis del DCA en vivero.....	70
9. Croquis del DBCA en campo	72
10. Ensayo a campo	73
11. Aplicación a campo de segunda dosis de Trichosoil® y Biorend®.....	76
12. Planta muerta (a), planta viva (b).....	77
13. Mapa de vivero	79
14. Genotipos fase de cría.....	79

15. Grupos coneat	83
16. Helada Agrometeorológica.....	84
17. Precipitación acumulada (mm) en función de los meses	85
18. Efecto de <i>Trichoderma harzianum</i> más quitosano, sobre los genotipos y el tamaño para la variable altura	91
19. Efecto del tamaño sobre los genotipos y <i>Trichoderma harzianum</i> Más quitosano, variable altura.....	94
20. Efecto del genotipo sobre el tamaño y aplicación de <i>Trichoderma</i> <i>harzianum</i> más quitosano, variable altura.....	94
21. Efecto de <i>Trichoderma harzianum</i> más quitosano, sobre los genotipos y el tamaño para la variable diámetro.....	96
22. Efecto del tamaño sobre los genotipos y <i>Trichoderma</i> <i>harzianum</i> más quitosano, para la variable diámetro.....	98
23. Efecto del genotipo sobre el tamaño y aplicación de <i>Trichoderma</i> <i>Harzianum</i> más quitosano, variable diámetro.....	99
24. Malezas compitiendo con los individuos de interés.....	111
25. Ápices removidos por ataques de hormigas (C), producción de superbrotación (D y E)	112
26. Tallos múltiples (F), bifurcación (G)	112
27. Probabilidad de sobrevivencia según genotipo, tamaño y aplicación de <i>Trichoderma harzianum</i> más quitosano.....	113
28. Desarrollo del sistema radicular	116

1. INTRODUCCIÓN

En 1990 Uruguay era conocido en el mundo por ser un productor de carne, leche y granos. Hoy es conocido, además, por ser un país forestal, con casi un millón de hectáreas plantadas y una industria que tiene instalados a actores de primer nivel mundial tanto en la fabricación de celulosa, así como madera de calidad, y varios productos.

A partir de la segunda Ley forestal No. 15939, creada el 28 de diciembre de 1987, se impulsó el sector, dada la fuerte promoción de plantaciones con condiciones claramente definidas en lo que respecta a tipos de suelo, especies, densidades, retiros, sanidad y prevención de incendios y establecía instrumentos como subsidios a la plantación, exoneraciones fiscales y una línea de crédito para explotaciones menores a 300 hectáreas. Esos beneficios terminaron, pero no así los condicionamientos. Además esta ley perseguía tres objetivos claros: conservar el bosque nativo, aumentar la superficie de bosques plantados, y promover el desarrollo industrial.

Se puede decir entonces que la forestación en Uruguay se desarrolló como resultado de la interacción entre dos factores: uno, de naturaleza física, la existencia de suelos con aptitud forestal; y el otro, de naturaleza política, resultante de un marco legal específico propicio para incentivar la plantación e industrialización, y un marco legal general que incentivó la inversión y brindó seguridad a los inversores, de cualquier tipo, dentro y fuera del sector agropecuario (Tommasino, 2013).

La actividad forestal en el país ha crecido en forma sostenida en los últimos 20 años. Es un sector relativamente joven. Sin embargo, en estos años se ha multiplicado por 30 la superficie plantada, aproximadamente 950 mil hectáreas en 2010. A esto se le agrega las 750 mil hectáreas de bosque nativo existentes en nuestro país, por lo que la superficie forestada es de 1.700 mil hectáreas, aproximadamente. En total, el área declarada de prioridad forestal alcanza las 4 millones de hectáreas, un 23% del total del área agropecuaria del país, en tanto que las actividades de silvicultura, extracción y elaboración de productos de madera representaron en 2010 el 3,5% del producto bruto interno uruguayo.

El sector está compuesto por distintas actividades que van desde la obtención de semillas y plantines hasta el traslado final de los productos elaborados.

Incluye al menos cuatro cadenas industriales de base forestal:

- ✓ la cadena celulósico-papelera.
- ✓ la de productos de madera elaborada (madera rolliza tratada, madera aserrada, tableros, carpintería de obra, muebles, molduras, etc.).
- ✓ la industria química (resinas, aceites esenciales, bioplásticos, etc.)
- ✓ la energética.

Mientras que las actividades que lo conforman son:

- ✓ Agraria (silvícola), que comprende la producción de material reproductivo y plantines en viveros, la implantación y tratamientos silvícolas intermedios de los bosques, y la cosecha.
- ✓ Actividad industrial
- ✓ Transporte y logística

El gran desafío a nivel nacional de las cadenas forestales, radica en construir un modelo de desarrollo sustentable propio, permitiendo conciliar la conservación de la biodiversidad, el uso sostenible de sus componentes, y la participación justa y equitativa en los beneficios derivados de la utilización de los recursos naturales (Aguirre y Garret, 2008).

Entre los factores que determinan el incremento de productividad, está el uso de plantines de buena calidad considerando buena conformación y sanidad, los cuales se producen en viveros forestales, entendiéndose como aquel *“sitio donde nacen y se crían las plantas forestales, permaneciendo el tiempo necesario para lograr la altura y el vigor indispensables para llevarlas al sitio definitivo de la forestación”* (Cozzo, citado por Irisyti, 1999).

“El objetivo que se persigue es crear un ambiente en el cual se dé un equilibrio entre las condiciones bajo las cuales la especie tiene un crecimiento óptimo y aquellos bajos las cuales tendrá que crecer cuando sea llevada a campo. Con el propósito de producir plantas sanas, resistentes y uniformes” (Irisyti, 1999).

Para lograr este propósito una buena estrategia es el manejo integrado de enfermedades (MI), este introduce una nueva visión respecto a las

poblaciones de patógenos, insectos o malas hierbas, considerándolas componentes del agro-ecosistema; lo que permite reducir el uso de pesticidas, minimizando los efectos sobre el ambiente y la salud humana (Pérez, 2004)

En el control de plagas tradicional, ampliamente dominado por el control químico, las acciones se toman en función directa de la plaga, idealizando su máxima mortalidad o eliminación temporal. En el MIP la plaga es considerada como un constituyente del ecosistema agrícola (o agroecosistema) que mantiene interacciones positivas y negativas con los otros componentes del ecosistema; de modo que mediante el manejo de estos componentes se puede dificultar el desarrollo de las plagas o contribuir a su mortalidad natural. Estos componentes como la resistencia de las plantas, la acción de los controladores biológicos y algunas prácticas agrícolas tienden a tener efectos duraderos y constituyen la base del sistema (Cisneros, 1992).

Dentro del MI, el control biológico es una herramienta, basada en la introducción artificial de agentes de biocontrol en el patosistema (Mondino y Vero, 2006).

El gran interés despertado por el control biológico de patógenos de plantas es una respuesta en gran parte a la creciente preocupación de la sociedad acerca del uso de pesticidas químicos. Los gobiernos de muchos países están cada día más conscientes de la problemática de muchos pesticidas químicos en términos de su impacto sobre el medio ambiente, así como en los productores y consumidores de productos agrícolas (Añón, 2004).

El uso de fungicidas para controlar enfermedades en viveros forestales, presenta problemas de manejo tanto por su toxicidad como por la resistencia de los patógenos. Esto lleva a incrementar la cantidad de aplicaciones o su frecuencia sin lograr el efecto de control deseado para las enfermedades detectadas.

En este contexto se enmarca la aplicación en viveros forestales de *Trichoderma harzianum* como biocontrolador (Ochoa et al., citados por Mondino y Vero, 2006), y como biopromotor del crecimiento vegetal (Añón et al., Benítez et al., citados por Rossi, 2012). Así como también la aplicación de quitosano en algunas de las actividades agrícolas, como bioestimulantes e inductor de resistencia (Lárez, 2008).

Es una realidad que el uso indiscriminado de plaguicidas es la causa directa de la aparición del fenómeno de la resistencia de diferentes organismos, (adaptación de los patógenos a los productos químicos) y por consiguiente de la pérdida de su efectividad.

Ante esta situación, es común que los agricultores aumenten las dosis y preparen mezclas de varios plaguicidas, con frecuencia más tóxicos, por lo que el problema de la resistencia, lejos de solucionarse, se agrava (Pérez, 2004).

Las prácticas de protección vegetal que se basan en el control químico producen otros efectos como brotes de plagas secundarias, reaparición de plagas y disminución de las poblaciones de enemigos naturales.

En este trabajo se hará énfasis en el uso de *Trichoderma harzianum* como agente biocontrolador y como biopromotor del crecimiento vegetal en vivero y a campo, así como también la aplicación de quitosano como bioestimulante e inductor de resistencia.

En este marco, se ha llevado a cabo esta investigación en el departamento de Tacuarembó, en el vivero forestal de la empresa Weyerhaeuser S.A y la implantación de un ensayo en el establecimiento Buena Vista I, en el Depto. de Rivera.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo general

El objetivo general de este trabajo consiste en la evaluación de crecimiento, sanidad y resistencia a heladas de tres híbridos diferentes de *E. grandis* con aplicación de bioestimulantes, *Trichoderma harzianum* (Trichosoil®) y Quitosano (Biorend®), en plantación, considerando la aplicación en dos tamaños de plantas (grandes e intermedios).

1.1.2 Objetivos específicos

- Evaluar el estado sanitario de los distintos genotipos en la etapa de vivero y campo
- Evaluación del crecimiento de los diferentes materiales genéticos, en dos tamaños (grandes e intermedios) a nivel de campo.
- Evaluar resistencia a heladas a nivel de plantación.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS ESPECIES EVALUADAS

2.1.1 Eucalyptus grandis

2.1.1.1 Características morfológicas

Es un árbol de gran porte, de fuste recto y muy buen desrame natural. De corteza caduca en fajas largas, en la porción basal persistente escamosa que va de 1 a 3 metros, con ritidoma gris verdoso a gris blanquecino.

Las primeras hojas son ovales y opuestas, las juveniles son alternas, ovales y pecioladas de ápice agudo y acuminado, base redondeada, de color verde oscuro en el haz y muy discoloras. Las hojas intermedias son alternas, pecioladas, oval- lanceoladas (14-18 x 3-6 cm), de ápice agudo y acuminado, base cuneada, verde oscuras muy discoloras. Las adultas son alternas, pecioladas, lanceoladas (10-18 x 2-3,5 cm), ápice agudo y acuminado, base cuneada, verde oscuras, discoloras y nervaduras secundarias transversales.

Presenta de siete a once flores agrupadas en inflorescencias simples, axilares, sobre pedúnculos achatados (0,8-1,5 cm); con botones florales ovoides o globosos (0,5-0,8 x 0,5-0,6 cm), generalmente glaucos, pedicelos angulosos (0,1-0,4 cm), opérculo cónico o rostrado, de menor tamaño que el hipantio. La floración se da a fines del verano comienzo del otoño y además existe una segunda floración que se da a comienzo de la primavera pero de menor magnitud.

Los frutos son piriformes (0,5-1,1 x 0,4-0,9 cm), contraídos en el orificio y parcialmente en la zona central, pedicelos cortos, disco plano, incluso, orificio deformado por la presencia de 4-5-6 valvas levemente exsertas, curvas, con los ápices convergentes aun cuando han llegado a la madurez.

2.1.1.2 Distribución natural

Originario del este de Australia, en áreas disyuntas de la región norte y centro, costero (sur) y continental (norte), con diferentes altitudes de 0-600 m entre los 25° y 33°S, 500 m a los 21° S y 1100 m entre los 16° y 19° S.

2.1.1.3 Requerimientos climáticos y edafológicos

Con respecto a los requerimientos climáticos esta especie responde a un clima templado al sur a tropical en el norte, con un promedio de temperaturas máximas que van desde los 24-30°C al sur y de 29-32° C al norte, las mínimas de 3-8°C en el sur y 10-17°C al norte, con heladas escasas en lugares alejados de la costa, húmedo con precipitaciones estivales con una media anual de 1000 a 3500 mm (Hall et al., FAO, Boland et al., citados por Brussa, 1994). Prefiere suelos con buena capacidad de retención de agua, profundos, de textura limosa y bien drenados (Kelly et al., Boland et al., citados por Brussa, 1994).

2.1.1.4 Características de la madera

Presentan duramen rosado, moderadamente duro y durable, con una densidad (seco al aire) de 640 (celulosa Argentina, 1977) a 690kg/m³ (Poynton, citado por Brussa, 1994), empleado en carpintería y construcciones en general.

2.1.2 *Eucalyptus camaldulensis*

2.1.2.1 Características morfológicas

Es un árbol de gran porte, de copa abierta y ramas gruesas, de follaje fino y péndulo. La corteza es caduca en fajas cortas, el ritidoma presenta una coloración crema, grisáceo hasta puede verse de color castaño, en ocasiones puede presentar en la base del tronco corteza escamosa.

Las primeras hojas son opuestas de 4-6 pares, las hojas juveniles son alternas con peciolo que va de 1,5 a 3 cm, ampliamente lanceoladas a elípticas de 6-9 por 2,5-4 cm, ápice agudo, de base cuneada de color verde- grisáceo, levemente discoloras. Las intermedias son alterna, pecioladas (2-3 cm), lanceoladas (6-15 por 2-5 cm), de ápice agudo base cuneada, concoloras. Las hojas adultas son alternas, pecioladas (1,5-2,5 cm), lanceoladas a angostamente lanceoladas el tamaño de las mismas varia de 8 a 10 cm por 1 a 2 cm, el ápice es agudo, con base cuneada, concoloras con nervaduras secundarias oblicuas.

Las flores son de 7 a 11 las que están dispuestas en inflorescencias simples, axilares, con pedúnculos delgados y angulosos (1-2 cm). Los botones florales son globosos que van desde 0,5 a 1 por 0,3 a 0,5 cm, presentan un pedicelo que puede variar entre 0,4 a 0,8 cm, el opérculo es rostrado,

ocasionalmente cónico, algo mayor que el hipantio. El néctar de estas flores contribuye a la elaboración de una miel de superior calidad, sabor y apariencia por parte de las abejas. La floración se da principalmente en diciembre y enero.

Los frutos son globosos, de tamaño variable (0,4-0,7 por 0,4-0,9 cm), presenta anillos estaminal y calicinal salientes, con disco exserto y puede tener 3, 4 o 5 valvas muy salientes.

2.1.2.2 Distribución natural

Especie de amplia distribución en Australia (12° 30'-38° S), desde el nivel del mar hasta elevaciones de 700 metros.

2.1.2.3 Requerimientos climáticos y edafológicos

Presenta numerosos ecotipos adaptados a climas desde templados a cálidos, con un promedio de temperaturas máximas de 27-40° C y mínimas de 3-15°C, con heladas desde escasa a 50 por año, subhúmedos a semiáridos (asociados a cursos de agua), con precipitaciones en un rango de 150-600 mm (1250mm), invernales (sur) o estivales (norte) (Hall et al., Boland et al., citados por Brussa, 1994). Se adapta a una gran variedad de suelos, desde arenosos a pesados, soportando inundaciones periódicas (Kelly et al., citados por Brussa, 1994). La procedencia de la península de Eyre tolera suelos calcáreos (Boland et al., citados por Brussa, 1994).

2.1.2.4 Características de la madera

Es empleado en montes de abrigo y sombra, como ornamental y maderero. Presenta duramen rojizo, pesado, durable, la densidad (seco al aire) de 880 kg/m³ (Boland et al., citados por Brussa, 1994) apto para construcciones rurales, durmientes, pisos, carpintería en general y como combustible.

2.1.3 Eucalyptus tereticornis

2.1.3.1 Características morfológicas

Árbol de gran porte, de copa amplia y hojas semi- péndulas, con follaje de textura media. De corteza caduca de fajas cortas, en arboles viejos pueden presentar corteza escamosa hasta 2 o 3 metros en la parte basal, el ritidoma es de color grisáceo, blanquecino y amarillento.

Las primeras hojas son opuestas de 4 a 6 pares, la hojas juveniles están dispuestas de forma alterna, pecioladas (1- 1,5 cm), de forma oval con un tamaño que va desde 5-10 por 2-7 cm, el ápice es mucronado o emarginado, de base amplia y cuneada, los tallos son cuadrangulares de color verde y discoloras. Las hojas intermedias son alternas, pecioladas (2-3 cm), de forma oval- lanceoladas a lanceoladas (10-20 por 3-8 cm), de ápice agudo, base cuneada, de color verde, concoloras. Las adultas se disponen en forma alterna, pecioladas (1-2 cm), lanceoladas, lanceoladas- falcadas o angostamente lanceoladas (8-18 por 1-2,5 cm), de ápice agudo, acuminado, con base cuneada, verdes, concoloras, las nervaduras secundarias oblicuas.

Las flores están dispuestas en inflorescencias simples de 7 a 11, axilares, con pedúnculos cilíndricos o angulosos (0,7-2 cm). Los botones florales son ovoides (0,8-1,5 por 0,5-0,6 cm), los pedicelos son cilíndricos de 0,2 a 0,7 cm, el opérculo cónico o corniculado, mucho mayor que el hipantio. Florece en octubre y noviembre. El néctar de estas flores contribuye a la elaboración de una miel y buen productor de polen (Penfold et al., citados por Brussa, 1994). Posee frutos globosos (0,6- 0,9 por 0,6-0,9 cm), pedicelados, con disco muy notorio, saliente, convexo, con 4 valvas gruesas y muy excertas.

2.1.3.2 Distribución natural

Crece con mayor amplitud en latitud. Es natural de Papua- Nueva Guinea y de las regiones norte, central-este y sur de Australia (6°-38° S), desde el nivel del mar hasta los 1000 metros de altitud en Australia y 1800 metros en Papua-Nueva Guinea, con abundantes procedencias, de áreas costeras y también continentales.

2.1.3.3 Requerimientos climáticos y edafológicos

Con respecto al clima es variable desde tropical (norte) a templado- frio (sur), con promedio de temperaturas máximas de 24°-36°C y mínimas 1°-19°C, hasta con 30 heladas por año, húmedo a subhúmedo, con precipitaciones anuales de 650 a 3000 mm régimen muy variable: monzónicas en trópicos, estivales, uniformes e invernales (Poynton, FAO, Boland et al., citados por Brussa, 1994). Prefiere suelos aluviales, fértiles, franco arenoso, húmedos, con buen drenaje, adaptándose a una amplia gama (Hall et al., citados por Brussa, 1994). Tolerancia inundaciones temporarias (Kelly et al., citados por Brussa, 1994).

2.1.3.4 Características de la madera

Presenta duramen rojizo o castaño rojizo, duro, pesado y durable. La densidad que es seco al aire es de 950kg/m^3 (Celulosa Argentina, citado por Brussa, 1994) a 1100 kg/m^3 (Boland et al., citados por Brussa, 1994). Es apto para construcciones pesadas, columnas, durmientes, tableros, mueblería y combustible de muy buena calidad.

2.1.4 Eucalyptus urophylla

2.1.4.1 Características morfológicas

Árbol de tronco recto, con follaje verde brillante, de textura gruesa. Corteza persistente en el tronco de altura variable, subfibrosa definiendo placas rectangulares, pardo amarronado, en la parte superior caduca en fajas, con ritidoma grisáceo hasta amarillento.

Las primeras hojas son opuestas de 2- 3 pares, las hojas juveniles son subopuestas, presentan peciolo de 1cm, son ovales u oval-lanceoladas (7-15 por 3-8 cm), con ápice agudo, base ampliamente cuneada, de color verde y discoloras. Las hojas intermedias se presentan de forma alterna, pecioladas (2-3cm), oval-lanceoladas (8-20 por 4-8cm), ápice agudo prolongado en un muy largo acumen, de base amplia, cuneada, de color verde y discoloras. Las hojas adultas alternas, pecioladas de 2 cm, ampliamente lanceoladas (10-16 por 3-5 cm), ápice agudo prolongado en muy largo acumen, base amplia, cuneada, de color verde, discoloras, las nervaduras secundarias oblicuas transversales muy marcadas.

Las flores están dispuestas en inflorescencias simples de 7 a 11, son axilares, con pedúnculos achatados (1-2 cm). Los botones florales son globosos (0,7-1,2 por 0,5-0,9 cm), en pedicelos (0,5-1,2 cm), delgados, cilíndricos o angulosos, opérculo, hemisférico apiculado, más largo que el hipantio. La floración se da en invierno.

Los frutos son globosos- truncados a obcónicos (0,6-1,2 por 0,9-1,5 cm) pedicelados, con cicatriz opercular muy marcada y ancha, con disco plano, incluso, con 4 valvas con ápices a nivel.

2.1.4.2 Distribución natural

Es uno de los únicos eucalyptus que no crece naturalmente en Australia. Forma masas boscosas en islas de Indonesia: Timor, Flores, Adonara, Lomblen, Pantar, Alor y Wetar entre 8°30' y 10° S, en altitudes de 350 a casi 3000 metros sobre el nivel del mar.

2.1.4.3 Requerimientos climáticos y edafológicos

Responde a un clima tropical variable de acuerdo con la altitud, con un promedio de temperaturas máximas de 27°-29°C (400 m) a 17°-21°C (1900 m) sin diferenciación estacional, húmedo con lluvias monzónicas del orden de 1400-2400 mm en 6 a 7 meses con estación seca en el resto del año (Turnbull et al., citados por Brussa, 1994). Crece en suelos profundos, bien drenados, de origen variado y textura franca o franca arcillosa (Kelly et al., citados por Brussa, 1994).

2.1.4.4 Características de la madera

El duramen castaño rojizo durable, fácil de rajar, densidad seco al aire medida en arboles jóvenes 480 kg/m³ (Poynton, citado por Brussa, 1994), es apto para construcciones en general, carpintería de obra, combustible, también es usado para celulosa según Golfari, citado por Brussa (1994).

2.2 FITOPATOLOGÍA

2.2.1 Vivero

El manejo integrado de enfermedades es la forma más práctica y segura en viveros de especies forestales. La detección temprana de enfermedades y el uso coordinado de diferentes técnicas de prevención y manejo evita que los patógenos alcancen niveles que puedan causar daño económico.

Las patologías en vivero, se dan en los primeros meses de vida del plantín y los síntomas se observan generalmente en grupo de plantas y no en plantas aisladas (Lugano, citado por Bóffano y Mosqueira, 2012). El microclima que se genera en un vivero forestal, producto de las diferentes técnicas y métodos de producción, conlleva a la manipulación de las condiciones de densidad, fertilización, entre otras, exponiendo a los plantines a diversas enfermedades, causadas principalmente por hongos. Las cuales han resultado

ser una continua fuente de problemas en los viveros, provocando pérdidas de diversa índole.

Por consiguiente, en nuestro país los principales problemas sanitarios en vivero son causados por enfermedades conocidas como, moho gris, damping-off y manchas foliares (Bóffano y Mosqueira, 2012).

2.2.1.1 Moho gris

Esta enfermedad es causada por un hongo (*Botrytis cinerea*), la cual es muy frecuente en viveros forestales, ocasionando pérdidas económicas importantes, pudiendo provocar mermas de hasta 50% de la producción. Actualmente, el moho gris es considerado una de las patologías muy difíciles de controlar en los viveros. La resistencia de este patógeno al control químico hace que sea prácticamente imposible su erradicación (Bóffano y Mosqueira, 2012).

El agente causal de esta enfermedad es *Botrytis cinérea*, fase sexual *Botryotinia fuckeliana* (= *Sclerotinia fuckeliana*). Es de fácil aislamiento en medios de cultivo como agar papa dextrosa y agar extracto de malta.

Los huéspedes son *E.globulus*, *E. maidenii*, *E.grandis*, *Pino taeda* y *P. ellotii*. Es cosmopolita. Este hongo es muy común frecuente en viveros de ornamentales, frutales, florales y forestales.

Los síntomas que se pueden observar son en el vivero, la plántula comienza a secarse en el ápice, también una podredumbre en la base de tallo, lo que provoca la caída y muerte de la plántula. Se puede observar el micelio algodonoso de color gris. Si se observa el micelio con lupa se puede ver estructuras arborescentes donde se encuentran fructificaciones del hongo.

Botrytis cinérea penetra directamente o indirectamente los tejidos del hospedero, no siendo necesario heridas para su penetración.

Las condiciones predisponentes en el vivero es ambiente húmedo, temperaturas medias, poca ventilación y exceso de fertilización nitrogenada, sumado a escasa clasificación de los plantines, son las condiciones en que se favorece que se multiplique rápidamente la enfermedad. El ciclo de esta enfermedad aparece con condiciones de condensación en los viveros. El manejo con riegos frecuentes y la saturación de humedad posibilitan la aparición del moho.

En plantación no se detecta generalmente, pero puede ocurrir cuando hay temperaturas medias en la etapa del cierre del dosel cuando las plantas se dejan algunos días en pulmón previo a ser plantadas con condiciones de humedad y sombra que favorecen que se desarrolle en brotes tiernos. Así aparecen en las puntas de los plantines recién plantados, necrosamientos que se ven como ápices color beige claro y volcado el ápice.

Es importante erradicar esta patología en vivero antes de ser llevados los plantines a campo, debido a que las plantas infectadas, en plantación se contagian fácilmente en condiciones adecuadas de humedad (Romero, citado por Bóffano y Mosqueira, 2012)

Para un correcto manejo y control se deben de tener en consideración los siguientes aspectos:

- en el vivero eliminar rápidamente las plantas enfermas y hojas caídas.
- dejar que circule el aire entre las plántulas.
- limpiar las herramientas al cambiar de invernáculo.
- eliminar las plantas pasadas de las inmediaciones.
- mantener libre de plantas o restos vegetales el suelo de los invernaderos, para que no sean reservorios de inóculo.
- el control químico debe realizarse con productos como Iprodione, Captan, Maneb, evitando los benzimidazoles. No se indica para plantación, excepto casos aislados cuando los plantines permanecieron en pulmón con días nublados y lluviosos.

El control más eficiente es el uso de biocontrol (*Trichoderma harzianum*) y vigorizantes.

2.2.1.2 Enfermedades de los almácigos o “Damping off”

Es una de las patologías más comunes en los viveros forestales, la cual causa grandes cantidades de daños, y de manera muy rápida, convirtiéndose en un importante gasto de reposición de plantines, incidiendo en la planificación establecida en cuanto a la futura plantación (Romero, citado por Bóffano y

Mosqueira, 2012). Esta enfermedad también es conocida como podredumbre de cuello, mal de semilleros, caída de almácigos.

El Damping off es una de las primeras enfermedades que el viverista encuentra en viveros y camas de crecimiento, y cuando se presenta causa pérdidas que van desde un 15% en casos donde las infecciones no son muy fuertes y del 30% hasta pérdidas totales cuando las infecciones son severas (Peterson, citado por Romero, 2013).

Los agentes causales son más de treinta especies comprenden el complejo de hongos causantes del “Damping off” pero para nuestro país predominan *Phytilium spp.*, *Rhizotocnia solani*, *Fusarium spp.*, *Sclerotium spp.*, etc...

Dentro de los huéspedes se encuentran diferentes especies hortícolas, forestales, frutícolas, ornamentales, con excepciones destacables como los *juniperus* dentro de las coníferas, que se muestran altamente resistentes. Es una enfermedad cosmopolita, común en semilleros; las especies patógenas pueden variar debido a los rangos de temperatura, pero el ataque es frecuente en variedad de lugares.

En lo referente a la sintomatología y etiología para el caso del “Damping off” se puede determinar cinco momentos en el desarrollo de las plántulas con diferente sintomatología.

1) Fallas de germinación

Para este tipo de ataque el patógeno tiene dos alternativas de ubicación:

- a) dentro de la semilla y/o
- b) en el suelo

Si está dentro de la semilla, mediante tratamiento en algunos casos puede lograrse un buen control. En el caso de estar en el suelo, el patógeno penetra junto con el agua al producirse la imbibición de la semilla. La consecuencia de este tipo de ataque es la no emergencia de plántulas, o una emergencia menor a la esperada.

2) Ataque de pre-emergencia

Como en el caso anterior, en este tipo de ataque es la no emergencia, el daño se produce cuando la plántula se abre paso a través del suelo luego de la protrusión. Se pone en contacto con el micelio o esporas de alguno de los patógenos, antes de su emergencia.

3) Ataque post-emergencia

Para este caso la sintomatología es la que caracteriza el daño provocado por “damping off”. Se manifiesta por un estrangulamiento a nivel del cuello de la plántula, que luego se marchita y vuelca, acostándose como quebrada de cuello. La plántula se manifiesta susceptible hasta que se cutiniza luego de 3-4 semanas luego de emergida. Los síntomas con este tipo de ataque se resumen de la siguiente manera:

a) Hidrosis de cuello: aparición a nivel del cuello de exudados más o menos acuosos provocados por patógenos.

b) Epinastia: se caracteriza por una curvatura hacia debajo de la parte superior de la plántula.

c) Marchitamiento y caída de la planta: es el resultado de la penetración de las hifas a niveles vasculares.

El periodo de incubación en este tipo es de 1 o 2 días y se presenta de manera fulminante.

4) Ataque de copas o “top killing”

Se da cuando se hace uso en demasía de materiales de recubrimiento para impedir la desecación del almacigo, con ello se puede estar aportando esporas de patógenos que, al regar y con humedad suficiente, salpican la parte superior de las plantitas y comienza la aparición de micelios que recubren y apelmazan las copas.

5) Podredumbre de raíz “root-rot”

En este caso los síntomas comienzan con una deficiencia de agua que provoca un marchitamiento, pero la planta permanece erecta y toma paulatinamente colores amarillentos parejos. Se da en plantas ya grandes, con

más de 15 cm de altura, pero debido a que no se produce hidrosis de cuello, al tratar de arrancarlas salen enteras y no queda la raíz en el suelo, como es típico en el ataque por “Damping off” de post-emergencia.

Los factores predisponentes al ataque de los distintos hongos que integran el complejo “Damping-off” tienen diferentes exigencias, por ejemplo, la humedad atmosférica alta favorece a *Rhizoctonia* pero no a *Pythium*.

Humedad de suelo alta favorece a algunas especies de *Pythium*, pero a *Rhizoctonia* solo la favorece hasta un 60%.

Alta temperatura del suelo favorece solo a algunas especies de *Fusarium*; sin embargo la temperatura ambiente alta favorece en todos los casos al proceso de infección.

Como al realizar almácigos en suelos de pH 7, o más altos, se corre el riesgo de sufrir ataque, se deben hacer preferentemente en suelos de pH menor a 6. La cantidad de nitrógeno disponible para las plantas se traducirá en un crecimiento vegetativo acelerado, lo cual resulta en un adelgazamiento de las paredes y por lo tanto, en una mayor susceptibilidad física ante el ataque. Insectos y nematodos actúan como transmisores de esporas y/o micelios (Bóffano y Mosqueira, 2012).

Los daños e importancia de esta enfermedad están dado por pérdida de plantas jóvenes y por lo tanto un costo económico en la reposición de las mismas y retraso en la plantación ya planificada.

El género *fusarium* se caracteriza por fructificar a partir directamente de hifas del micelio, en dos formas diferentes: micro-conidios (conidios aseptados, más pequeños, de forma variable pero en general alargados), o con macro-conidios (conidios septados, con número variable de septas, y forma alargada más o menos variable según especie). En condiciones adversas para su crecimiento vegetativo, el género *Fusarium* forma clamidosporas, terminales o intercalares, que conjuntamente con las características de los conidios sirven según su tipo y aspecto para la identificación de la especie.

Fusarium spp. pertenece taxonómicamente a la sub división *Deuteromycotina; Hyphomycete*. *Rhizoctonia* es un género de la sub división *Deuteromycotina; Hyphomycete*, perteneciente a los micelios estériles. Tiene hifas hialinas jóvenes, que al madurar adquieren coloraciones más oscuras y

siempre se ramifican en ángulo recto. Ante condiciones adversas produce esclerocios.

El *Phytium spp.* pertenece a los *Oomycetes, Peronosporales*; presenta micelio con falsos tabiques, con zoosporangios intercalares o terminales, oogonio intercalar o terminal, anteridio de posición lateral y correspondiendo de uno a varios anteridios por oogonio.

Es decir, que se trata hongos cuyos estados en el suelo son clamidosporas (*Fusarium spp*), micelio (*Phytium spp*), esclerocios (*Rhizoctonia*), etc... que se mantienen como saprofitos hasta que, encontrando condiciones adecuadas, o puestos en contacto con exudados radiculares, se activan. En este momento penetran la epidermis del hipocotile, o la parte superior de la raíz. En el caso de tratarse de ataque de *Fusarium spp.*, las hifas producidas por la activación de las clamidosporas penetran intercelularmente hasta los tejidos vasculares.

Una vez que todo el huésped fue colonizado produce abundantes macro-conidios y clamidosporas. En el caso de ser ataque de *Fusarium moniliforme Sheldon, F. oxysporum Schlecht, o F. semitectum Berk. y Rav.* Los macro-conidios son alargados y multicelulares. Este ataque se ve favorecido por la succulencia de los tejidos superficiales, que facilitara la entrada de los patógenos.

Sea cual fuere el agente causal, el daño es producido por la disolución de las laminillas medias debido a la acción de enzimas pectinolíticas. Una vez muerta la planta el hongo continúa como saprofito hasta encontrar nuevamente otro huésped, y cumplir otro ciclo de patogenicidad. Las especies más comunes del genero *Pythium* son *P. debaryanum Hesse* y *P. ultimum Trow*, en *Rhizotocnia, R. solani Khun.*

Los distintos hongos que integran el complejo "Damping off" tienen diferentes exigencias; por ejemplo, la humedad atmosférica alta favorece a *Rhizotocnia* pero no *Phytium*. La humedad del suelo alta favorece a *Phytium*, pero a *Rhizotocnia* solo la favorece hasta un 60%. La temperatura del suelo favorece solo a algunas especies de *Fusarium*, sin embargo, la temperatura alta favorece en todos los casos al proceso de infección.

Sustratos de pH 7, o más altos, son más riesgosos para producir condiciones favorables a infecciones por patógenos del damping. La cantidad de nitrógeno disponible para las plantas se traducirá en un crecimiento vegetativo acelerado, lo que produce un adelgazamiento de las paredes y, por lo tanto, en una mayor susceptibilidad física ante el ataque. Insectos y nematodos actúan como transmisores de esporas y/o micelios.

Como medidas de manejo, una adecuada densidad de siembra y entre plantines en las bandejas, no exagerar en riego y adecuar las dosis de fertilización y las media-sombras son condiciones fundamentales para la prevención del daño. Se debe, entonces, adecuar el medio de crecimiento de los plantines sembrando además a profundidad adecuada, en época conveniente, cubriéndola siembra sin exagerar y evitando las fertilizaciones nitrogenadas en la primera época de crecimiento. De no observarse estas medidas se producirá un debilitamiento de las plántulas, o un desequilibrio en su normal desarrollo, que las sensibilizara ante un eventual ataque. Las fertilizaciones no deben efectuarse a base de nitrógeno, si no las fosfatadas en las etapas cría y enraizamiento en clonales o de cría en los plantines de semilla.

En cuanto al manejo, se puede aplicar control biológico como métodos de control de infecciones y malezas para los sustratos. El manejo químico debe adaptarse según el patógeno actuante.

El control biológico a base de *Trichoderma harzianum* para patógenos del complejo "Damping off" se basa en el antagonismo *Trichoderma con especies del género Fusarium, Rhizotocnia spp o Pythium spp* Se puede usar como curasemilla recubriendo semillas con el antagonista. Contra ataque de *Phytium* se logró efectividad con *Trichoderma harzianum* y *Penicillium spp.* y soluciones de *Pseudomonas*, Shitake y otros agentes de control biológicos están siendo usados con éxitos.

2.2.1.3 Mancha foliar por *Alternaría*

La mancha foliar causada por *Alternaría* es una patología que en vivero es muy significativa, debido a que se ve perjudicado el crecimiento del plantín, producto de una disminución de la capacidad fotosintética, lo que determina un descenso en la producción de materia seca (FAO, 2006).

Según Romero (2013), uno de los agentes causales de esta enfermedad en vivero es *Alternaria tenuísima*, el cual es un patógeno

generalmente de semilla, que luego puede trasladarse a las hojas de forma ascendente.

En general *Alternaria* ataca todas las especies de eucalyptus, produciéndose en los colorados manchas en vivero, jardines clonales y en plantación de eucalyptus colorados, manchas pequeñas irregularmente circulares marrón claro, con reborde borroso, marrón rojizo. Estas manchas se ubican en general en hojas viejas, cuando ocurren deficiencias de macro o micronutrientes. Se encuentra en todas las partes donde se plantan eucalyptus.

El daño que ocasiona defoliación importante en primavera cuando se producen vientos cálidos que favorecen a *Alternaria* en su dispersión. Afecta por la defoliación el crecimiento debido a las pérdidas de área foliar que produce.

Alternaria es frecuente patógeno de semillas y es frecuente su recuperación en análisis sanitario de semillas de eucaliptus. Desde la semilla se mueve como infección de contacto hacia los tejidos de la plántula y permanece infectando así sucesivamente hojas de manera ascendente hasta que con las condiciones favorables produce daños en viveros y en plantación afectando árboles en manchones.

El manejo de esta infección debe hacerse proporcionando adecuado nivel de nutrición en macro y micronutrientes a las plantas en vivero y evitando llevar plantas con infección a la plantación. Una vez en plantación dado que se presentara en manchones se puede planificar una terapia de control selectivo en zonas más afectadas si las condiciones ambientales son favorables para la dispersión de la infección.

2.3 DAÑOS POR FACTORES ABIÓTICOS

2.3.1 Heladas

Para la producción forestal en el Uruguay es un factor muy importante son las heladas las cuales pueden ser una limitante, principalmente para las especies que en su lugar de origen no presentan bajas temperaturas.

En términos meteorológicos, se define helada como la reducción de la temperatura del aire, medida a 1,5 metros de altura a un valor igual o menor que el punto de congelamiento del agua a 0° C a presión ordinaria.

Una definición muy importante para la producción de cultivos es la que se denomina helada agrometeorológica, donde se asocia la ocurrencia de esta con temperaturas menores o iguales a 0°C medidas a 5 cm de la superficie del suelo.

Desde el punto de vista biológico, se considera como helada al descenso de la temperatura que causa daños irreversibles en las plantas.

Las heladas se clasifican en dos tipos dependiendo de las condiciones en las que se originen, las heladas por advección y por radiación.

Las heladas por advección son causadas por factores meteorológicos dinámicos y están en relación con la entrada (invasión) de masas de aire frío (polares y subpolares continentales) en el área afectada. Están acompañadas de vientos fuertes y bajas temperaturas durante la noche y también durante el día.

Las heladas por radiación son causadas por factores meteorológicos locales y están en relación con el enfriamiento de la superficie del suelo o de la cubierta vegetal durante la noche. Son las más comunes en el Uruguay y ocurren normalmente en noches sin viento y cielo despejado (Corsi y Genta, citados por Balmelli, 1993).

También se puede definir a las heladas como blancas y negras, las heladas blancas suceden cuando se forma hielo sobre la superficie de las plantas y objetos expuestos libremente a la radiación nocturna, si la temperatura desciende o iguala el 0°C y la humedad del aire es máxima. Y las heladas negras se dan cuando el descenso de la temperatura por debajo de 0°C no va acompañado de la formación de hielo sobre las superficies, su nombre responde al color negrozco que adquieren al día siguiente luego de haber ocurrido el evento, los órganos verdes y tiernos de los vegetales al ser destruidos por el frío. Las heladas negras son más perjudiciales que las heladas blancas.

Las heladas son menos intensas en la cima de las colinas y en espacios abiertos que en las depresiones topográficas. Árboles densos y arbustos a lo largo de las laderas de las colinas impiden la transferencia de aire frío a las depresiones y reducen la intensidad de las heladas.

Las heladas invernales, aunque alcancen bajas temperaturas y persistentes, son poco temibles porque se producen cuando los cultivos están prestos para la defensa.

Sin embargo tanto las heladas otoñales como las primaverales encuentran a los cultivos todavía en vegetación o iniciando la actividad vegetativa, por lo que estos están más susceptibles a las heladas y por lo tanto los daños son mayores.

El daño causado por las heladas a las plantas, está relacionado con el congelamiento del agua constituyente de los tejidos vegetales. Este congelamiento altera los elementos anatómicos y los procesos fisiológicos de las plantas. El congelamiento provoca la salida del agua de la célula del medio intercelular hacia el medio extracelular, en este caso el daño es indirecto debido a la deshidratación de las células, pudiendo llegar a la muerte cuando el protoplasma no reabsorbe el agua una vez que ocurre el descongelamiento. Cuando la temperatura es muy baja, se congela el agua intercelular, el aumento del volumen provoca la destrucción mecánica de los componentes celulares, siendo letal (Corsi y Genta, citados por Balmelli, 1993).

En la parte exterior de las plantas, los daños pueden ir desde el cambio de color de hojas, muerte de hojas y ramas, rajaduras verticales de la corteza hasta la madera, muerte del tallo, en parte o hasta el suelo, hasta muerte total, incluso las raíces, sin recuperación (FAO, 1981).

Los daños provocados por las heladas es el producto de la interacción de factores ambientales y de características propias de las plantas tanto genéticas como no genéticas (Balmelli, 1993).

En datos de la estación Experimental Regional de Sverdlovsk muestran que la aplicación de fertilizantes potásicos aumenta la resistencia de los tallos de papa a las heladas. Esto se conoce como “endurecimiento” o “rusticidad”, este consiste en una progresiva adaptación de las plantas a las bajas temperaturas que les confiere resistencia a heladas aun cuando estas son intensas.

Se pueden ver características propias de las plantas que afectan su susceptibilidad al frío, las mismas son:

La edad y el desarrollo alcanzado, donde las temperaturas más bajas se dan a nivel del suelo, por lo que las plantas jóvenes o que poseen mal desarrollo son las que estarán más expuestas al frío y sufrirán daños mayores (Prado, citado por Balmelli, 1993).

La lignificación, la que también está relacionada con la edad, disminuye el riesgo de daño en el cambium y por lo tanto aumenta la resistencia al frío (Prado, citado por Balmelli, 1993).

El estado fisiológico, el daño es mayor cuando la planta se encuentra en activo crecimiento. Como se mencionó anteriormente las heladas de otoño y primavera son las más perjudiciales para las plantas (FAO, 1981).

La resistencia genética, cada especie tiene una temperatura por lo que debajo de la misma la helada produce daño, umbral de resistencia (Lacroix, citado por Balmelli, 1993).

La resistencia al frío es una característica genética y por lo tanto se transmite a su descendencia. Se la puede definir como “resistencia”, a la capacidad de supervivencia, ya sea por ausencia del daño como por la recuperación después de sufrido el daño por heladas a través de brotes de yemas axilares o de brotes epicórmicos (FAO, 1981).

2.4 CRECIMIENTO

El crecimiento es el incremento gradual de un organismo, población u objeto en un determinado período de tiempo. El crecimiento acumulado hasta una edad determinada representa el rendimiento a esa edad (Prodan et al., citados por Caamaño y Stirling, 2009).

La estimación de crecimiento es una etapa esencial en el manejo forestal. El concepto básico de recurso renovable se deriva de la propiedad de crecimiento y cualquier planificación encierra el concepto de predicción de crecimiento (Prodan et al., citados por Caamaño y Stirling, 2009).

El crecimiento de un árbol en particular dentro de un bosque depende de su capacidad para expresar su potencial genético a través de su fisiología, dentro del medio al que está expuesto. Además de estos factores, la competencia es un factor muy importante y el más controlable a través del manejo silvicultural (Prodan et al., citados por Caamaño y Stirling, 2009). En

árboles maduros el crecimiento se expresa normalmente en términos de volumen. El volumen cúbico del fuste es un parámetro válido para expresar el crecimiento del árbol (Prodan et al., citados por Caamaño y Stirling, 2009).

Generalmente tienen importancia las tasas de crecimiento relativas de árboles individuales, esta importancia es mayor en el estadio de plántulas, dado que los individuos que crecen con mayor rapidez estarán libres antes de la competencia por parte de malezas y en algunos casos serán menos susceptibles a los insectos plaga y microorganismos patógenos. El crecimiento en altura es uno de los determinantes del crecimiento e incremento de volumen y en consecuencia se usa como criterio de selección relevante en la toma de decisiones.

El incremento en longitud de los brotes es resultado del desarrollo de primordios que comúnmente se mantienen latentes durante cierto periodo en el interior de las yemas, según el momento de inicio y elongación de esos primordios (Cabris, 2012).

El crecimiento de cualquier organismo vivo se adecua a la curva sigmoide, la forma característica de esta curva varía según genotipo y ambiente. La duración del periodo de crecimiento juvenil lento o rápido es importante en aquellas situaciones en las que las plántulas deben superar la competencia de los pastos, daños por enfermedades o fuego (Cabris, 2012).

Existe una cierta periodicidad en el desarrollo, tanto de las raíces, los tallos, las ramas, el follaje como en el crecimiento del brote apical de cada individuo, que es función del genotipo y del ambiente en que se desarrolla. Si se sigue el desarrollo fenológico de un genotipo creciendo en un ambiente dado se puede observar que los brotes, los tallos y las raíces tienen patrones de crecimiento característicos. Los patrones estacionales de crecimiento dependen de la especie, la edad y el ambiente (Cabris, 2012).

El crecimiento en altura ocurre durante un periodo de seis a nueve semanas, gran parte de ese crecimiento depende del número de unidades de crecimiento del tallo con que cuente la yema y de la cantidad de reservas acumuladas en forma de carbohidratos. La magnitud de estos dos factores depende de las condiciones ambientales del año anterior, las condiciones de verano y otoño del año en curso afectaran el almacenamiento de carbohidratos,

la formación de primordios y en consecuencia el crecimiento del año siguiente (Cabris, 2012).

Crecimiento en diámetro la mayor parte del crecimiento ocurre durante un periodo de quince a veinte semanas que se extiende durante todo el verano; por lo tanto influyen las condiciones ambientales y la producción fotosintética del año en curso (Cabris, 2012).

El crecimiento en raíces se suspende durante el invierno, cuando la temperatura del suelo es muy baja o se ha congelado y también se reduce en verano, en especial a los efectos adversos de temperatura y relaciones hídricas (Cabris, 2012).

2.5 MANEJO INTEGRADO DE ENFERMEDADES

El paradigma agroecológico, como alternativa a los problemas causados por el uso no racional de los plaguicidas químicos, entre otros problemas relacionados con la agricultura intensiva, ha adquirido una mayor dimensión en el sector agrario a nivel mundial.

Durante los últimos años se ha incrementado la conciencia acerca de la necesidad de preservar los recursos naturales y el medio ambiente tanto para las generaciones actuales como para las futuras. En este contexto hoy en día los objetivos de la producción agrícola son brindar a los consumidores productos de calidad e inocuidad asegurada, producidos mediante métodos conservacionistas de los recursos naturales, respetuosos del medio ambiente (Mondino y Vero, 2006).

Para dar respuestas a las exigencias actuales de la sociedad, agricultores y técnicos deben implementar complejos sistemas de manejo integrado de las enfermedades, en los que se trata de minimizar el uso de funguicidas recurriendo a técnicas y productos de bajo impacto ambiental, respetando la salud de trabajadores y consumidores.

Se parte del supuesto de que no es posible destruir ni eliminar a las poblaciones de patógenos de plantas, sino que es necesario convivir con ellas manejándolas de tal modo que su interferencia con los cultivos sea menor permitiendo producir en forma comercial.

El control biológico de las enfermedades de plantas aparece como una herramienta indispensable al momento de diseñar y poner en práctica sistemas de manejo integrado. Este surge de la observación, estudio y conocimiento de la naturaleza misma.

Sin embargo, antes que el control biológico llegue a ser un componente importante en el manejo de enfermedades de plantas, éste debe ser efectivo, confiable, consistente y económico. Para alcanzar estos criterios se deben desarrollar cepas superiores, junto con sistemas de aplicación que incrementen la actividad biocontroladora.

2.5.1 Control biológico

El uso de control biológico como parte del manejo de plagas va en ascenso debido al incremento en el número de plagas resistentes a los insecticidas, contaminación del medio ambiente y el incremento de las regulaciones que prohíben el uso de productos químicos (Summy y French, citados por Argueta, 2011). Existe la necesidad de generar conocimientos apropiados sobre el uso, modo de acción y manejo de productos biológicos que ayuden a minimizar las pérdidas que ocasionan las diferentes enfermedades.

También los programas de control biológico clásico continúan siendo necesarios debido a que las plagas exóticas continúan expandiéndose por el mundo debido al auge del comercio, y los enemigos naturales exóticos pudieran ser utilizados para el control de plagas nativas (Hoy, citado por Argueta, 2011).

En los países en desarrollo, donde es altamente elevado el costo de los insecticidas y muy frecuente la resistencia de las plagas a estos, el control biológico tiene una aplicación especial. Por lo tanto, el control biológico constituye para América Latina el método de control de plagas más viable, ecológicamente recomendable y autosostenido (Altieri et al., citados por Argueta, 2011).

El concepto de control biológico, tal como se conoce hoy, fue definido por primera vez por Harry S. Smith (1919) como “el uso de los enemigos naturales, ya sea introducidos a una zona nueva o manipulados con el objetivo de controlar las plagas”.

De Bach, citado por Cabello (2007), aclara la definición y diferencia entre “control natural” y “control biológico”.

Define al control natural como la *“fluctuación de la densidad de población de un organismo, entre unos límites (inferior y superior), durante un periodo de tiempo, motivado por la acción de factores del ambiente, tanto abiótico como biótico”*.

A su vez De Bach define al *“control biológico como la acción de enemigos naturales (parasitoides, depredadores y patógenos) en el mantenimiento de la densidad de otro organismo a un nivel más bajo del que se produciría en ausencia de ellos”*, citado por Cabello (2007).

Diez años más tarde Baker y Cook, citados por Álvarez y Sivila (2013), definen el control biológico como la reducción de la densidad del inóculo o de las actividades productoras de enfermedad de un patógeno o parásito, en su estado activo o durmiente, mediante uno o más organismos, lograda de manera natural o a través de la manipulación del ambiente, del hospedero o del antagonista o por la introducción masiva de uno o más antagonistas.

Más recientemente, Wilson y Wisniewski, citados por Mondino y Vero (2006), se refieren al control biológico como toda forma de control que no involucre el uso de plaguicidas de síntesis química. Existen 3 métodos para llevarlo a cabo: uso de microorganismos antagonistas; uso de sustancias naturales (por ejemplo: extractos de plantas) o modificación de la resistencia del huésped. Esta definición excluye solamente al uso de plaguicidas de síntesis química. Todo otro método de control incluso el manejo mediante la resistencia genética (uso de variedades resistentes a los patógenos) es considerada control biológico (Mondino y Vero, 2006).

Una definición más reciente de control biológico enunciada por Van Driesche y Bellows, citados por Pérez (2004), expresa que *“el control biológico es el uso de parasitoides, depredadores, patógenos, antagonistas y poblaciones competidoras para suprimir una población de plagas, haciendo esta menos abundante y por tanto menos dañina que en ausencia de éstos”*, considerando esta definición bastante amplia y que incluye todos los grupos de organismos con capacidad para mantener y regular densidades poblacionales de organismos plaga a un nivel bajo, por lo tanto todos pueden considerarse agentes de control biológico y estar incluidos en la categoría de enemigo natural.

Asimismo Almodóvar, citado por Bóffano y Mosqueira (2012), menciona que el control biológico aplicado al sistema de manejo integrado, se basa en tratamientos naturales y otros métodos ecológicos como el manejo cultural, el cual complementa la acción de los enemigos naturales. En tal sentido, este autor indica que existen agentes biológicos de control como por ejemplo hongos y bacterias, beneficiosas para los árboles.

Una definición más restringida según la cual el control biológico es la introducción artificial de organismos antagonistas (agentes de control biológico) en el patosistema, para controlar el patógeno y favorecer a la planta, reduciendo el inoculo del patógeno y/o la intensidad de los síntomas posteriores a la infección (Mondino y Vero, 2006).

El éxito de esta alternativa de manejo de plagas depende de los enemigos naturales usados, pues constituyen el recurso fundamental. De lo anterior se origina la importancia de conocer la taxonomía, biología, ecología, y el comportamiento del agente de control de interés (Nicholls, citado por Gutiérrez et al., 2013). Los enemigos naturales se clasifican en: parasitoides, depredadores, y patógenos, en este último se incluyen a hongos, bacterias, virus, nematodos y protozoarios, mientras que los dos primeros grupos se les denomina entomófagos y el ultimo entomopatógenos (Bahena, citado por Gutiérrez et al., 2013).

La prevención es clave en el manejo de enfermedades, por lo que la capacitación adecuada del personal que trabaja en viveros forestales es importante. A los efectos de generar alertas ante posibles indicios de una enfermedad, llevando a que se ejecuten medidas para que la misma no se sigan esparciendo a otros lugares del vivero (Almodóvar, citado por Bóffano y Mosqueira, 2012). Asimismo este autor, señala la importancia del manejo cultural dentro del manejo integrado, es decir la manipulación del ambiente del vivero, mediante diversas prácticas como la poda, la fertilización, la ventilación, la densidad de siembra y el manejo de riego, entre otros, son aspectos claves (Bóffano y Mosqueira, 2012).

Por su parte, el agente biocontrolador se define como el microorganismo (hongo o bacteria) con capacidad de limitar o evitar de manera más o menos selectiva el crecimiento de un hongo patógeno, sin interferir en el crecimiento de la planta.

De los muchos microorganismos que han demostrado ser eficientes como antagonistas de fitopatógenos del suelo, las especies más ampliamente estudiadas y aplicadas como biocontroladores corresponden a los géneros *Trichoderma*, *Gliocladium* y *Penicillium*.

Kovach, citado por Guédez (2009), coordinador del programa del manejo integrado de plagas de frutas del estado de Nueva York, señala que se puede eliminar el uso de fungicidas químicos en el control de *Botrytis cinerea* en fresa, usando *Trichoderma harzianum*, y este hongo se encuentra disponible comercialmente y no tiene efectos negativos. Backman, citado por Guédez (2009), manifiesta que al comparar entre *Trichoderma* granulado y el control químico estandar (Terraclor®) en el control del hongo *Sclerotium rolfsii*, los rendimientos del cultivo de maní fueron similares.

Especies del género *Trichoderma* han manifestado importante actividad antagónica para controlar los géneros *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium*, *Phytophthora* y *Fusarium* (entre otros), en diversos cultivos de importancia económica a nivel de campo. *Trichoderma spp.* también ha demostrado capacidad de promocionar el crecimiento de diversas especies de plantas. Estas características del antagonista, hacen que en la actualidad, a nivel mundial existan diferentes formulados comerciales en base a este hongo, incluso a nivel nacional.

Aislamientos de varias especies, entre las que sobresalen *Trichoderma harzianum* Rifai, *Trichoderma viride* Pers.: Fries, y *Trichoderma hamatum* (Bon.) (Tronsmo y Hjeljord, citados por Pérez, 2004), se han utilizado con éxito en una variedad amplia de cultivos (algodonero, toronja, manzano, vid, fresa, zanahoria, cebolla, tomate, lechuga, pimiento, tabaco), contra patógenos que se transmiten por el suelo y las semillas, patógenos foliares y de los productos almacenados (Chet et al., Inbar, Björkman, Wilson et al., Khetan, citados por Pérez, 2004).

Por lo tanto el control biológico es un componente vital de los sistemas sustentables, ya que constituye un medio económicamente atractivo y ecológicamente aceptable para reducir los insumos externos y mejorar la cantidad y calidad de los recursos internos, mediante la utilización de microorganismos debidamente seleccionados por su alta eficiencia e inocuidad.

2.5.2 *Trichoderma harzianum*

- Taxonomía y genética

La primera delimitación genética de *Trichoderma* spp., la realizó Hartz en 1871, quien enfatizó la importancia y las características microscópicas en la delimitación del género, especialmente por la presencia de fiálides (Bisset, Chen et al., citados por Romero, 2009), desde entonces ha sido ampliamente estudiado dada su importancia como agente de biocontrol.

Trichoderma spp es un hongo anaerobio facultativo microscópico, que se encuentra de manera natural en un número importante de suelos agrícolas y otros tipos de medios. Integran el género más de 30 especies ampliamente distribuidas en el mundo, en diferentes zonas y hábitats.

Trichoderma spp. es cosmopolita en los suelos y sobre materia vegetal y leñosa en descomposición. Las especies del género son frecuentemente componentes dominantes de la microflora del suelo en un amplio rango de hábitats (Samuels, citado por Cárdenas, 2003).

Trichoderma es un género que crece en todas las regiones climáticas, ocurren en casi todos los suelos y otros hábitats naturales, especialmente en aquellos conteniendo o consistiendo de materia orgánica descompuesta (Danielson y Davey, citados por Cárdenas, 2003). También es encontrado sobre las superficies radicales de varias plantas (Parkinson et al., citados por Cárdenas, 2003), sobre la corteza en vía de descomposición, especialmente cuando está dañada por otros hongos y sobre esclerocios u otros propágulos de otros hongos (Davet et al., citados por Cárdenas, 2003). De las especies de *Trichoderma* que frecuentemente se utilizan para el biocontrol, son las especies *harzianum* y *viride*, de las cuales la primera ha sido la más estudiada. *Trichoderma* es un fungicida de amplio espectro de acción. Es eficaz contra diversos organismos; tanto en el suelo contra pudriciones de raíces como *Armillaria*, *Ryzoctonia*, *Phytium*, *Phytophthora*, *Fusarium*, enfermedades que se presentan en numerosas especies tanto anuales como perennes, o bien, contra enfermedades de órganos aéreos como *Botrytis* o *Stereum*.

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de *Trichoderma harzianum*.

División	EUMYCOTA
Subdivisión	DEUTEROMYCOTINA
Clase	HYPHOMYCETALES
Orden	HYPHALES (MONILIALES)
Genero	<i>Trichoderma</i>
Especie	<i>Trichoderma harzianum</i>

Fuente: Agrios (1995).

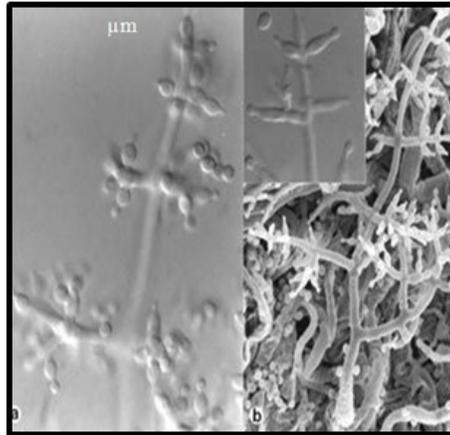
Las cepas pertenecientes a este género se caracterizan por tener una fase asexual, produciendo así esporas asexuales, en forma mitótica y clonal, no presentando una etapa sexual, al menos las cepas que se utilizan con fines de control biológico.

Mientras que las cepas silvestres se adaptan con facilidad y pueden ser heterocarióticas (núcleo de distinto genotipo dentro de un mismo organismo), las cepas comerciales usadas para control biológico pueden ser (o son) homocarióticas (núcleos similares o idénticos). Este aspecto, en conjunto con el control estricto de la variación a través de la deriva genética, permite que las cepas comerciales no presenten mayor variabilidad. *Trichoderma spp* es un organismo que presenta colonias con un rápido crecimiento y ramificación alcanzando las mismas de 7-9 cm de diámetro luego de tres días, en un principio las colonias presentan un color blanquecino y en unos pocos días adquieren una coloración verde intensa.

El micelio es septado e hialino, del cual se originan los conidióforos, el tamaño de los mismos es de 62,5-69 x 3-4,7 μm , son de color verde (Bissett, Hoog, citados por Romero, 2009) de aspecto aterciopelados irregulares, cortos y muy bifurcados. Las ramas principales del conidióforo producen ramas laterales que pueden presentarse en forma verticilada o no; a su vez estas ramas pueden bifurcarse nuevamente. Todas las ramas primarias y secundarias se levantan aproximadamente sobre 90° con respecto al eje principal. En caso que la bifurcación se presente en forma verticilada, el conidióforo toma un

aspecto piramidal (Figura 1a, 1b). En la mayoría de los casos, el conidióforo termina en una o más fiálides con formas cilíndricas o casi subglobosas, que le dan el aspecto de una botella (Gams y Bissett, citados por Donati, 2011).

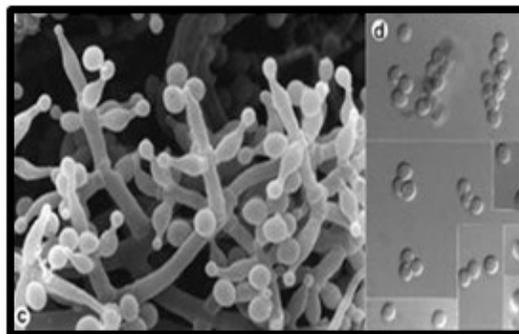
Figura 1. Descripción *T. harzianum* (Rifai) a, b. conidióforos de forma piramidal.



Fuente: Romero et al. (2009).

Las fiálides son largas y delgadas, solitarias a lo largo del eje, asimétricas, con un tamaño de 6,3-15,6 x 2,7-3,4 µm., con verticilos terminales de hasta 4 conidios de un tamaño aproximado de 3,8-4 x 3,1-3,7 µm, con forma citriforme y subglobosos (Figura 2c, 2d, Bissett, Hoog, citados por Romero, 2009).

Figura 2. Descripción *T. harzianum* (Rifai) c, d. fiálides y conidios.



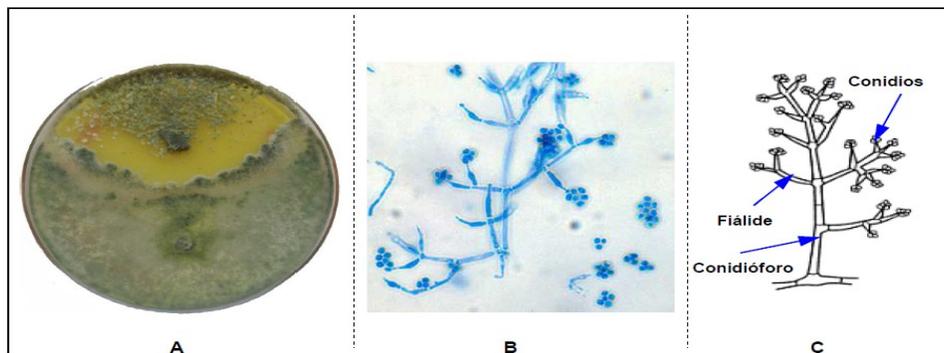
Fuente: Romero et al. (2009).

Sobre las partes terminales de éstas se forman las esporas (conidios) unicelulares y esféricas, de tonalidades verdes (a veces pueden ser hialinas), con paredes lisas o ásperas, que se disponen en forma de racimos globosos (con disposición de gloióspora) que se separan con facilidad (Gams y Bissett, Infante, citados por Donati, 2011).

Este hongo forma estructuras de resistencia denominadas clamidosporas intercalares o terminales en cortas ramificaciones, las cuales son unicelulares, pero pueden fusionarse entre dos o más de forma subglobosa, elipsoidal o periforme, de coloración subhialinas a amarillentas, de 4 a 12 μm de diámetro, con una pared de 1 μm de espesor (Bissett, citado por Cabrera y Tejera, 2002).

Estas son estructuras que permiten sobrevivir y persistir de un año a otro a hongos en el suelo y por su naturaleza representan la forma de propagación más efectiva (Lewis y Papavizas, citados por Cárdenas, 2003).

Figura 3. A) Cepa nativa de *Trichoderma harzianum* aislada de un escleroto de *Sclerotinia sclerotiorum* creciendo sobre medio de cultivo TSA. B) Hifas y conidióforos de *Trichoderma harzianum* (1cm = 20 μm). C) Esquema de conidióforo de *Trichoderma harzianum*.



Fuente: Donati (2011).

2.5.2.1 Factores que afectan el crecimiento y desarrollo

Un buen desarrollo de un agente de biocontrol está condicionado por factores nutricionales y no nutricionales, dentro de estos últimos se encuentran

los factores físicos y químicos tales como temperatura, humedad, pH, concentración de sales, concentración de CO₂, HCO₃, materia orgánica y la presencia de otros microorganismos en el suelo (Papavizas, citado por Cabrera y Tejera, 2002).

2.5.2.2 Temperatura

La temperatura es un factor importante que limita la cantidad y la tasa de crecimiento de estos organismos (Moore-Landecker, citados por Chávez, 2006).

Varios estudios han evaluado el efecto de la temperatura en la germinación de las esporas y el crecimiento del tubo germinal, crecimiento del micelio, habilidades competitivas y producción de metabolitos volátiles y no volátiles en las especies de *Trichoderma*, estableciendo que la temperatura óptima de crecimiento difiere entre especies (Kredics y Col, citados por Chávez, 2006); sin embargo al igual que la gran mayoría de hongos, estos se desarrollan en rangos de temperatura mesofílicos entre 10° y 40° C, pero la mayoría de los casos, la temperatura óptima se encuentra entre 15° y 30° C (Nampoothiri y Col, citados por Chávez, 2006).

Dentro del amplio rango de temperaturas a las cuales las especies de *Trichoderma* se han adaptado, se puede considerar que la mayoría de estas presentan como óptimo de temperatura el intervalo entre los 25 a 30° C (Danielson y Davey, Klein y Eveleigh, citados por Donati, 2011). Especies como *Trichoderma citrinoviride* y *Trichoderma saturnisporum*, parecen tener el óptimo de temperatura más alto (entre 38 y 44° C); *Trichoderma viridae* y *Trichoderma polysporum* con el rango óptimo de temperatura más fresco (entre los 20 a 25° C); y en términos medios, especies como *Trichoderma harzianum* con un rango de temperatura cálido que oscila entre los 22 a 33° C, con una temperatura óptima de 27° C (Danielson y Davey, citados por Donati, 2011).

De este modo el efecto de la temperatura sobre las especies de *Trichoderma spp* en el desarrollo de procesos biológicos es tal que esta puede generar desnaturalización de proteínas, inhibición de enzimas, promoción o supresión de la producción de un metabolito particular, viabilidad y muerte celular (Nampoothiri y Col, citados por Chávez, 2006).

El género *Trichoderma* presenta por lo tanto una plasticidad frente a las diferentes temperaturas, llegando a tolerar un amplio rango.

2.5.2.3 Humedad

Con respecto al contenido de humedad del medio, las diferentes especies del genero *Trichoderma* presentan diversos comportamientos. En términos generales se puede decir que este género exhibe un comportamiento que va desde mesófilo a hidrófilo, con respecto a la actividad del agua (Kubicek-Pranz, citado por Donati, 2011).

La mayoría de las especies de *Trichoderma* pasa de un estado latente a uno activo, a medida que aumenta el contenido de humedad del suelo, desarrollándose óptimamente hasta un 60% de la capacidad de campo del mismo (Donati, 2011). Estudios realizados por Jackson et al., citados por Donati (2011), con las especies *Trichoderma virens*, *Trichoderma citrinoviride* y *Trichoderma viridae* exhibieron que las tasas de extensión de las hifas de las tres especies, se redujeron con el aumento de potencial de agua en el rango -0,7 a -14,0 MOa. El mismo autor trabajando con *Trichoderma harzianum* demuestra que una disminución de la actividad de agua promueve la esporulación del hongo (Donati, 2011).

2.5.2.4 pH

El pH juega un rol importante en la regulación de la producción de enzimas extracelulares. La actividad de *Trichoderma spp* es favorecida en condiciones acidas (Ahmad y Baker, citados por Cabrera y Tejera, 2002). Las diferentes cepas tienen la habilidad de crecer en un amplio rango de pH que va de 2 a 6, presentando un crecimiento óptimo entre 4 y 6,5, y solo unas pocas especies parecen tolerar un pH menor a 3, según Kubicek y Harman, citados por Donati (2011). Según otros autores, Danielson y Davey, citados por Cabrera y Tejera (2002), *Trichoderma harzianum*, presenta un rango óptimo de crecimiento a pH de 3,7 a 4,7.

2.5.2.5 Oxígeno

Dos componentes del aire son esenciales para los hongos: el oxígeno y el dióxido de carbono. *Trichoderma* es un hongo netamente aerobio obligado, si bien se encuentran algunas especies de *Trichoderma*, como anaerobios facultativos, las cuales tienen la habilidad para crecer en hábitats como suelos profundos donde el oxígeno es relativamente insuficiente (Moore-Landecker, citados por Chávez, 2006).

En el caso de incorporar a un sustrato *Trichoderma* como agente de biocontrol en la producción de plantines en vivero, es fundamental considerar las características del sustrato en lo referente a una buena aireación, no solo para el hongo, sino también para el sistema radicular del plantín. Utilizando sustratos con baja proporción de la fase sólida (del orden del 15% del peso seco), o sea buena macroporosidad, se asegura un buen intercambio gaseoso en el sistema sustrato-atmósfera tanto del O₂ como del CO₂ producido (Donati, 2011)

2.5.2.6 Disponibilidad de nutrientes

Como fuentes de carbono *Trichoderma* puede utilizar desde simples, hasta complejas moléculas para su crecimiento. Las fuentes de carbono más comunes incluyen una gama de oligosacáridos, que en términos generales, corresponden a la inulina, melecitosa, rafinosa, y sacarosa. También es común que éste género degrade una variedad de polisacáridos incluyendo celulosa, hemicelulosa, laminarina, pectina, almidón y xilano; además de polímeros relacionados como la quitina (Danielson y Davey, citados por Donati, 2011).

Como fuentes de nitrógeno, *Trichoderma* presenta un amplio espectro de compuestos. Dentro de los inorgánicos, el amonio representa la mayor fuente de nitrógeno, seguida por el nitrato (Danielson y Davey, citados por Kubicek-Pranz, 1998). Según Cabrera y Tejera (2002), otras fuentes inorgánicas corresponden a la urea, y el nitrito (Donati, 2011).

En lo que respecta a las fuentes orgánicas más utilizadas, se encuentran los aminoácidos alanina, ácido aspártico y glutámico (Danielson y Davey, citados por Donati, 2011).

Otros nutrientes demandados por *Trichoderma* bajo la forma de minerales corresponden al fósforo, azufre, hierro y calcio.

Se sabe que la mayoría de las especies de éste hongo son capaces de utilizar fosfato y sulfato inorgánico como fuentes de fósforo y azufre respectivamente. El hierro es un elemento esencial para el crecimiento de *Trichoderma*, pero se requiere en bajas concentraciones; su mayor parte es absorbida del medio bajo la forma de ión férrico, mediante la producción de sideróforos (Kubicek y Pranz, citados por Donati, 2011).

Krystofova et al., citados por Donati (2011), demostraron que el calcio tiene influencia tanto en el crecimiento vegetativo, así como la esporulación del hongo y también se ve involucrado en diferentes mecanismos bioquímicos.

El género *Trichoderma* se caracteriza por ser un grupo de hongos con una notable capacidad de metabolizar una diversidad de sustratos, lo que trae como resultado que éste género de hongos sea dominante sobre la microflora del suelo, y en las más variables condiciones.

Cuando *Trichoderma* es utilizado en viveros forestales como agente de control biológico, su inclusión al sistema sustrato-plantín puede llegar a generar una competencia por nutrientes entre el plantín y el hongo, en el caso de que algunos de los nutrientes se presente bajo una forma poco disponible o en niveles inferiores a los requeridos por ambos organismos.

Por esta razón, es importante manejar los niveles de nutrientes en un rango adecuado una vez que el sustrato es inoculado con *Trichoderma*; prestando especial atención en caso de que el sustrato utilizado sea de tipo inerte (arena, corteza de pino, etc.), donde prácticamente todo el aporte de nutrientes es proporcionado mediante fertilizaciones periódicas.

2.5.3 *Trichoderma* como controlador biológico

Trichoderma muestra diversas ventajas como agente de control biológico, debido a su rápido crecimiento y desarrollo; también produce una gran cantidad de enzimas capaces de degradar a otros organismos, cuya secreción se induce con la presencia de hongos fitopatógenos.

Puede desarrollarse en una amplia gama de sustratos, lo cual facilita su producción masiva para uso en la agricultura.

Su gran tolerancia a condiciones ambientales extremas y hábitats donde otros hongos son causantes de diversas enfermedades, le permiten ser un eficiente agente de control; de igual forma puede sobrevivir en medios con contenidos significativos de pesticidas y otros químicos.

Además, su gran variabilidad se constituye en un reservorio de posibilidades de control biológico bajo diferentes sistemas de producción y cultivos.

Trichoderma extrae nutrientes de los hongos que degrada y de otros materiales orgánicos, ayudando a su descomposición, por lo que se ve favorecido con la adición de materia orgánica y compostaje.

También requiere de humedad para germinar; su velocidad de crecimiento es bastante alta, lo que lo faculta para establecerse en el suelo y controlar enfermedades. Adicionalmente, este hongo presenta aislamientos con poderes antibióticos, los cuales actúan contra varios microorganismos fitopatógenos. Se comporta como saprófito en la rizósfera, por lo que es capaz de destruir residuos de plantas infectadas por patógenos.

Se considera que su acción es antagonista, y es capaz de sacar el mejor provecho dado su alta adaptación al medio y su competencia por el sustrato y espacio.

El agente biocontrolador envuelve al hongo a atacar y penetra sus células, con lo cual le causa un daño extensivo que involucra la alteración de la pared celular, incluyendo su degradación, la retracción de la membrana plasmática de la pared y la desorganización del citoplasma.

Trichoderma también actúa sobre la replicación al inhibir la germinación de esporas y la elongación del tubo germinativo.

La aplicación de formulados de *Trichoderma* se inserta en un plan de manejo preventivo y no paliativo de enfermedades, como es el caso de la agricultura convencional; por esta razón su uso es más generalizado en la agricultura orgánica.

Cruzat y Ionannidis (2008), destacan las siguientes ventajas de *Trichoderma harzianum*:

- ✓ es un agente natural, no agresivo con plantas o suelos.
- ✓ aumenta la capacidad de crecimiento de la planta y le confiere mayor resistencia a condiciones de estrés (mayor desarrollo radicular).
- ✓ carece de toxicidad sobre las partes comestibles de los cultivos, asimismo aminora el daño al medio ambiente por la ausencia de químicos persistentes en el suelo.

- ✓ se aplica fácilmente mediante formulación líquida o sólida, pulverizándolo sobre el terreno o sobre la planta; no requiere de equipamiento especial para su aplicación.
- ✓ compatible con otros fungicidas, como el azufre.
- ✓ bajo costo, comparado con productos alternativos (extractos vegetales).
- ✓ compatible con inoculantes de leguminosas; es posible aplicarlo a semillas que han sufrido un tratamiento fungicida químico.
- ✓ disminuye y, en algunos casos, elimina la necesidad de tratar con fungicidas químicos, con lo cual se reducen los costos y el uso de fertilizantes, pues las plantas tienen más raíces y las utilizan mejor.
- ✓ por ser un habitante natural del suelo, su registro comercial suele ser más fácil que el de un producto químico.
- ✓ es considerado un producto no tóxico ni alergénico, no presenta toxicidad en mamíferos y es inocuo para abejas y abejorros.
- ✓ el control biológico por microorganismos presenta ventajas como: especificidad, permanencia en el tiempo e inocuidad para el ser humano y el medio ambiente, ya que se realiza con organismos presentes naturalmente en los ecosistemas del país.
- ✓ a diferencia del control biológico con insectos depredadores o parásitos, las formulaciones con microorganismos controladores son de más fácil aplicación.

2.5.4 Control biológico con *Trichoderma* en diferentes ambientes

El control con *Trichoderma* puede realizarse en los diferentes ambientes donde se produce el ataque de los patógenos. La selección del método de aplicación se hace teniendo en cuenta los patógenos que se pretenden controlar y el sitio de la planta donde se produce el ataque.

El control se aplica a las semillas; al suelo; en la superficie aérea, a las flores, frutos y hojas y a los productos cosechados, en éstos últimos es muy

difícil lograr un control efectivo y hasta el presente es donde menor desarrollo se ha alcanzado (Tronsmo y Hjeljord, citados por Pérez, 2004).

2.5.4.1 Control biológico en las semillas

El tratamiento de semillas tiene dos objetivos. El primero es la protección; se define como la habilidad del tratamiento para proteger las semillas contra los agentes patógenos que ésta conlleva o de los que habitan en el suelo, para este propósito necesita ser efectivo en un período corto de tiempo que puede ir de 7 a 14 días.

El segundo es la protección en el tiempo de las partes subterráneas de la planta; algunas cepas de *Trichoderma* tienen habilidad para competir en la rizósfera y son capaces de colonizar la raíz y el espacio adyacente a ésta a partir de la semilla tratada (Harman y Björkman, citados por Pérez, 2004), siendo este uno de los métodos más utilizados por las ventajas que ofrece.

En primer lugar facilita el establecimiento de *Trichoderma* en la rizósfera de la planta, se pueden tratar de una vez, cantidades grandes de semillas con mucha eficiencia y la cantidad de *Trichoderma* que se necesita es relativamente pequeña si se compara con la que se adiciona al sustrato para la siembra en semilleros o para la aplicación directa al campo, lo que resulta mucho más económico.

El tratamiento puede realizarse por diferentes métodos: aplicación del producto en forma de polvo seco, usando un ingrediente inerte, como por ejemplo el grafito, para aumentar la adherencia a las semillas; aplicación del biopreparado en forma de pasta en mezcla con un ingrediente que forme una película adherente y la cobertura por peletización (Harman y Björkman, citados por Pérez, 2004).

Un elemento a considerar cuando se tratan semillas es la velocidad con que el patógeno y el antagonista colonizan ésta. Muchas especies de *Trichoderma* tienen una velocidad de germinación lenta respecto de algunos patógenos muy agresivos, por ejemplo *P. ultimum* es capaz de germinar después de dos horas en contacto con los exudados de las raíces, lo cual disminuye el tiempo de colonización de la semilla (Harman y Nelson, citados por Pérez, 2004).

Taylor et al., citados por Pérez (2004), recomiendan en esos casos la doble peletización de la semilla, primero se aplica el antagonista y después un nutriente, cuando la semilla se pone en contacto con la humedad del suelo el nutriente adicionado se disuelve y *Trichoderma* puede germinar rápidamente y colonizar antes que el patógeno sea estimulado por las secreciones de las raíces. Se sugiere tener esto en consideración en el momento de diseñar formulaciones para la protección de las semillas.

2.5.4.2 Control biológico en el suelo

El mayor énfasis en las investigaciones con *Trichoderma* se ha puesto en el control de los patógenos que tienen el suelo como hábitat. Una de las razones fundamentales de esa tendencia es que el ambiente del suelo es mucho más favorable para el establecimiento de un antagonista que otros, como por ejemplo la filósfera. De hecho el control biológico con *Trichoderma* ha sido más exitoso en la rizósfera que en otros ambientes (Khetan, citado por Pérez, 2004).

El control biológico en el suelo y en las semillas está muy relacionado. Una gran parte de las aplicaciones de *Trichoderma* para el control de patógenos que habitan el suelo se realiza a través del tratamiento de semillas tal como se describió anteriormente. Uno de los objetivos de aplicar *Trichoderma* a las semillas es establecer el agente localmente en la rizósfera (Harman y Nelson, citados por Pérez, 2004). Otros métodos para introducir biopreparados de *Trichoderma* en el suelo son la aplicación directa al surco o a voleo, en el momento de la siembra, en estos casos generalmente como gránulos, o incorporado junto con enmiendas orgánicas (Tronsmo y Hjeljord, citados por Pérez, 2004).

Gran parte del éxito que se obtiene con el uso de biopreparados en base a *Trichoderma* dependen del método de aplicación, por esa razón a la mezcla con enmiendas orgánicas se ha prestado tanta atención. La introducción de diferentes enmiendas orgánicas al suelo previo a la siembra y a la aplicación de *Trichoderma* condiciona un ambiente favorable para la multiplicación y colonización de éste. Se ha comprobado que la efectividad es aún mayor si

Trichoderma se incorpora como parte de un compost (Hoitink et al., citados por Pérez, 2004).

Diferentes razas de *T. harzianum* han resultado muy efectivas en el control de *Fusarium*, *Pythium*, *Phytophthora* y *Rhizoctonia* en maíz, algodón, soya, papa, tomate, tabaco, remolacha, frijoles, maní y frutales (Khetan, citado por Pérez, 2004).

2.5.4.3 Control en la superficie aérea (flores, frutos y follaje)

Aunque el control biológico de las enfermedades fungosas en la superficie aérea de las plantas puede ser posible aplicando principios semejantes a los que se aplican para el control de las enfermedades de las raíces éste difiere del último en aspectos esenciales, en primer lugar ha sido menos estudiado -entre otras causas- debido a su efectividad moderada, que con frecuencia es menor del 50 %, a un espectro de acción estrecho y velocidad de acción lenta (Elad, citado por Pérez, 2004); y por otra parte, a la disponibilidad de fungicidas relativamente efectivos contra la mayoría de los patógenos fungosos foliares (Wilson, citado por Pérez, 2004).

La efectividad moderada puede deberse a que el ambiente en la filósfera es un hábitat más hostil para los microorganismos que el suelo. La escasa disponibilidad de nutrientes, las temperaturas extremas, el polvo y la intensidad de la radiación solar son condiciones que dificultan el establecimiento de los antagonistas (Elad, citado por Pérez, 2004), sólo aquellos muy agresivos pueden establecerse por sí mismos antes de la llegada de los patógenos y por tanto ser capaces de frenar el desarrollo de la enfermedad; entre los antagonistas con esas características se encuentran especies pertenecientes al género *Trichoderma* (Elad y Kirshner, Elad, citados por Pérez, 2004).

Las formulaciones diseñadas para aplicaciones en la filósfera generalmente contienen aditivos (nutrientes y adherentes) para facilitar la colonización por *Trichoderma*. Se ha de tener en cuenta que esos aditivos no estimulen al patógeno bajo las condiciones de escasez de nutrientes que existe en ese lugar.

Hasta hace poco tiempo las investigaciones realizadas sobre control biológico de las enfermedades foliares estaban centradas en el control de patógenos bacterianos. El hecho de que en los últimos años se haya incrementado el número de casos de fungo-resistencia, por ejemplo, a los benzimidazoles y dicarboximidias (Wilson, citado por Pérez, 2004), la preocupación por los efectos negativos de los fungicidas sobre el agroecosistema y el elevado costo de obtención de nuevos productos plantea la necesidad de desarrollar estrategias de control alternativas y por tanto se ha incentivado el interés en el control biológico de las enfermedades foliares causadas por hongos.

Inicialmente las investigaciones se concentraron en el uso de *Trichoderma* spp. y *Gliocladium* spp., para el control de *Botrytis cinerea*, en uva y fresa (Wilson y Backman, citados por Pérez, 2004). *B. cinerea* es uno de los patógenos más nocivos para una amplia variedad de cultivos, *T. harzianum* ha sido usado exitosamente en el control de éste en numerosos países (Elad et al., y O'Neill et al., citados por Pérez, 2004).

2.5.5 Mecanismos de acción directos de *Trichoderma* spp. como agente de biocontrol

Los hongos antagonistas resultan importantes para el control biológico de los fitopatógenos. En este sentido, las especies del género *Trichoderma* se destacan entre las más utilizadas para el biocontrol de patógenos fúngicos del suelo. Estas especies presentan diferentes modos o mecanismos de acción que le permiten el control de los fitopatógenos. Entre estos mecanismos se encuentran:

- competencia por el sustrato
- micoparasitismo
- antibiosis
- desactivación de enzimas del patógeno
- resistencia inducida

- tolerancia a situaciones de estrés por favorecer el desarrollo radicular y aéreo de la planta.
- solubilización y secuestación de nutrientes inorgánicos.

Mientras mayor sea la probabilidad de que un aislamiento de *Trichoderma*, manifieste varios modos de acción; más eficiente y duradero será el control sobre el patógeno, aspectos que no poseen los plaguicidas químicos.

2.5.5.1 Competencia

La competencia constituye un mecanismo de antagonismo muy importante.

La presencia de forma natural de *Trichoderma* en diferentes suelos (agrícolas, forestales, en barbechos), se considera una evidencia de la plasticidad ecológica de este hongo y de su habilidad como excelente competidor por espacio y recursos nutricionales, aunque la competencia depende de la especie (Wardle et al., citados por Samuel, 2006). *Trichoderma* está biológicamente adaptado para una colonización agresiva de los sustratos y en condiciones adversas para sobrevivir, fundamentalmente, en forma de clamidosporas. La alta velocidad de crecimiento, abundante esporulación y la amplia gama de sustratos sobre los que puede crecer, debido a la riqueza de enzimas que posee, hacen que sea muy eficiente como saprófito y aún más como agente de control biológico.

Se define como el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento (sustrato, nutrientes), siempre y cuando la utilización de este por uno de los organismos reduzca la cantidad o espacio disponible para los demás. La competencia ocurre, siempre y cuando, haya escasez de algún factor esencial para el desarrollo de los microorganismos involucrados.

Este tipo de antagonismo se ve favorecido por las características del agente de control biológico como plasticidad ecológica, velocidad de crecimiento y desarrollo, y por otro lado por factores externos como tipo de suelo, pH, temperatura, humedad, entre otros. Sin duda, este tipo de mecanismo de acción se ve favorecido por las características intrínsecas del

género *Trichoderma*; algunas de las cuales ya se han mencionado directa o indirectamente: alta velocidad de crecimiento y desarrollo, abundante esporulación, gran capacidad de sobrevivir en condiciones muy extremas (tipo de suelo, pH, temperatura, humedad, presencia de compuestos tóxicos como herbicidas y fungicidas, etc.). Todas estas características referidas al género *Trichoderma*, lo convierten en un excelente competidor por los diversos factores esenciales de crecimiento para los microorganismos, además de ser un eficiente agente de control biológico (Benítez et al., Infante, citados por Donati, 2011).

Las interacciones de competencia entre los microorganismos, puede establecerse en base a diferentes factores entre ellos por espacio físico, luz, oxígeno o nutrientes (Mondino y Vero, 2006).

La competencia por nutrientes puede ser por nitrógeno, carbohidratos no estructurales (azúcares y polisacáridos como almidón, celulosa, quitina, laminarina, y pectinas, entre otros) y microelementos. Esta forma de competencia en los suelos o sustratos ricos en nutrientes no tiene importancia desde el punto de vista práctico. Por ello, cuando se emplea fertilización completa o existe exceso de algunos de los componentes de los fertilizantes e inclusive en suelos con alto contenido de materia orgánica, este tipo de antagonismo es poco eficaz.

La competencia por sustrato o espacio depende de si el mismo está libre de patógenos (sustrato estéril) o si hay una microbiota natural. En el primer caso, la velocidad de crecimiento del antagonista no determina la colonización efectiva de los nichos, sino la aplicación uniforme del mismo en todo el sustrato. Sin embargo, en el segundo caso la velocidad de crecimiento, conjuntamente con otros de los mecanismos de acción del antagonista, es determinante en el biocontrol del patógeno y colonización del sustrato (Donati, 2011).

La competencia puede producirse por tejidos necróticos, exudados de las plantas y sitios lesionados o con heridas. Un ejemplo típico de competencia por tejidos necróticos es el que se presenta entre *Trichoderma* y dos patógenos necrotrofos como *Botrytis spp* y *Sclerotinia spp*. que invaden los tejidos senescentes y muertos de las plantas y de allí pasan a los tejidos sanos. La aplicación de *Trichoderma* sobre la vid durante la floración retarda la colonización por *Botrytis*, por competencia por los tejidos senescentes y

reducen el nivel de la enfermedad en los frutos (Elad y Kirshner, Elad, citados por Pérez, 2004).

El conocimiento de la competencia por el exudado de las plantas entre *Pythium spp.* y *Trichoderma* ha sido utilizado con éxito para establecer un sistema de control biológico de este patógeno (Harman y Bjorkman, citados por Pérez, 2004), diferentes especies de *Pythium* responden muy rápido al exudado de las semillas, los esporangios germinan e infectan estas en unas pocas horas (4-6) después de la siembra en un suelo infestado, el tratamiento de las semillas con *Trichoderma* reduce la germinación de los esporangios (Harman y Nelson, citados por Pérez, 2004), dicha reducción se atribuye a la competencia por los estimulantes de la germinación.

2.5.5.2 Micoparasitismo

Mondino y Vero (2006), definen como micoparasitismo a la capacidad de un organismo de degradar y asimilar hongos. El organismo micoparásito debe ser capaz de colonizar un hongo vivo, degradar sus paredes celulares, asimilar y nutrirse a partir del contenido celular del mismo.

Este mecanismo es una de las estrategias utilizadas por hongos biocontroladores como los pertenecientes a los generos *Trichoderma* y *Gliocladium*.

El micoparasitismo es un proceso complejo el cual se divide en cuatro etapas: crecimiento quimiotrófico, reconocimiento, adhesión y enrollamiento, y actividad lítica, (Figura 4). El desarrollo de cada una de las etapas depende de los microorganismos involucrados, de la acción biotrófica o necrotrófica del antagonista y de las condiciones ambientales (Mondino y Vero, Chet y Benhamou, citados por Infante, 2009).

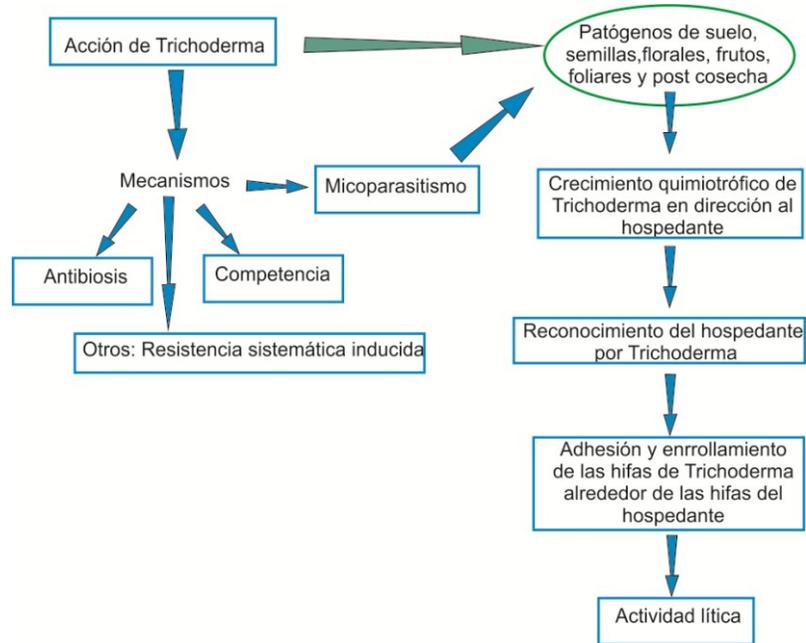
- crecimiento quimiotrófico: el quimiotropismo positivo es el crecimiento del antagonista en dirección hacia el patógeno, bajo el estímulo de algún compuesto químico. Durante la etapa de localización, *Trichoderma* puede detectar al hospedante a distancia y sus hifas crecer en dirección al patógeno como respuesta a un estímulo químico.
- reconocimiento: el reconocimiento entre el hospedero y el micoparásito se realiza a través de interacciones del tipo lecitinas-carbohidratos, entre las paredes de ambos organismos. Las lectinas son

proteínas enlazadas a azúcares o glicoproteínas, las cuales aglutinan células y están involucradas en las interacciones entre los componentes de la superficie de las células y su ambiente extracelular (Chet et al., citados por Infante et al., 2009). El reconocimiento entre cepas de *Trichoderma* y especies de hongos fitopatógenos son efectivas sólo contra patógenos específicos, por lo que el reconocimiento molecular es el evento esencial que precede al proceso antagonista.

- adhesión y enrollamiento: una vez que la respuesta de reconocimiento es positiva, el micoparásito se une al hospedero. En el género *Trichoderma* las hifas del micoparásito se adhieren a las del hospedante mediante la formación de estructuras parecidas a ganchos y apresorios y se enrollan alrededor de estas (Figura 6).

- actividad lítica: en la última etapa del proceso de micoparasitismo, ocurre la producción de enzimas líticas extracelulares, fundamentalmente quitinasas, glucanasas y proteasas, capaces de degradar las paredes celulares del hongo hospedero, que posibilitan la penetración de las hifas del antagonista. Las especies del género *Trichoderma* excretan enzimas (celulasas, glucanasas, lipasas, proteasas y quitinasas) que participan en la lisis de la pared celular de las hifas del hospedante, facilitando la inserción de estructuras especializadas y de sus propias hifas, que absorben nutrientes del interior del hongo fitopatógeno. Finalmente el proceso termina con la pérdida del contenido citoplasmático de la célula del hospedante, el cual se presenta con síntomas de disgregación, lo que disminuye la actividad patogénica del mismo.

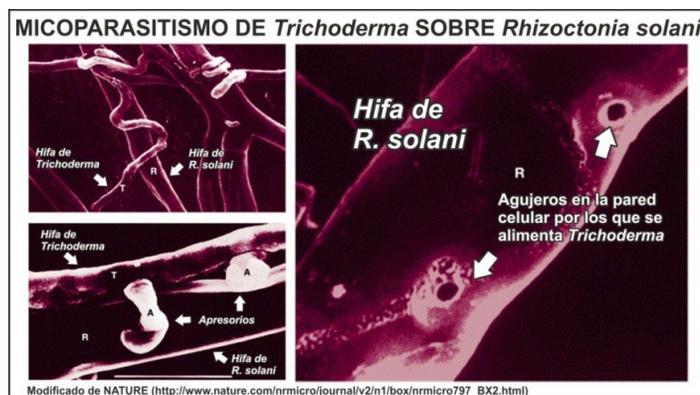
Figura 4. Mecanismo de acción antagónica de *Trichoderma*.



Fuente: Pérez (2004).

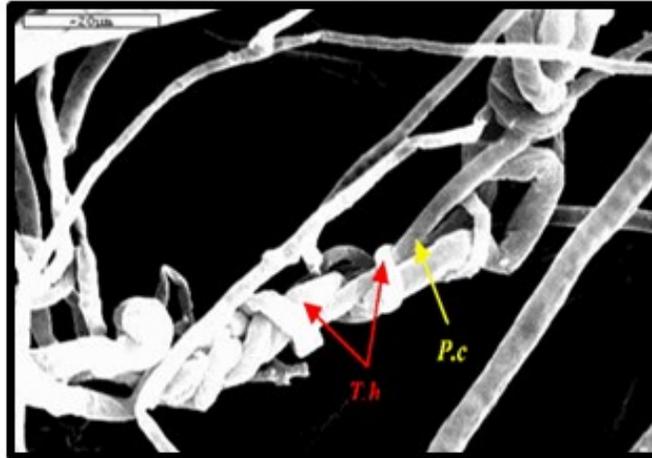
El micoparasitismo no está restringido solamente a la destrucción de hifas; sino que también se puede dar sobre las estructuras de resistencia de diferentes hongos. Es común encontrar poblaciones naturales de *Trichoderma* colonizando esclerotos de *Sclerotinia sclerotiorum* (Mondino y Vero, 2006).

Figura 5. Micoparasitismo de *Trichoderma* sobre *Rhizoctonia solani*



Fuente: Ezziyani et al. (2004).

Figura 6. Fotomicrografías de interacciones entre *Trichoderma harzianum* (T.h.) y *Phytophthora capsici* (P.c).



Fuente: Ezziyyani et al. (2004).

En esta imagen se puede apreciar el enrollamiento masivo de las hifas de *Trichoderma harzianum* (T.h) alrededor de las de P.c. Aspecto del micoparasitismo ejercido por el antagonista, T.h. sobre el patógeno P.c. Vistas en microscopia electrónica de barrido.

2.5.5.3 Antibiosis

La antibiosis es la acción directa de antibióticos o metabolitos tóxicos producidos por un microorganismo sobre otro sensible a estos.

Muchas razas de *Trichoderma* producen metabolitos secundarios volátiles y no volátiles, algunos de los cuales inhiben otros microorganismos con los que no hacen contacto físico, tales sustancias inhibitorias son consideradas antibióticos (Hjeljord y Tronsmo, citados por Pérez, 2004).

Algunos autores opinan que la antibiosis no debe ser el principal mecanismo de acción de un antagonista, ya que existe el riesgo de aparición de cepas del patógeno resistentes al antibiótico. En la práctica uno de los antecedentes ha sido el caso de la aparición de cepas de *Agrobacterium tumefaciens* Smith y Townsend resistentes al Agrosin 84, un antibiótico producido por una cepa de *Agrobacterium radiobacter* (Beijerinck y van Delden, citados por Infante et al., 2009).

Dennis y Webster, citados por Infante et al. (2009), fueron los pioneros en esta temática, con la realización de los trabajos más completos acerca de la función de los antibióticos producidos por hongos del género *Trichoderma* sobre patógenos de las plantas. Ellos relacionaron la actividad antibiótica de *Trichoderma* spp. con compuestos no volátiles, entre los que se encontraban uno identificado como trichodermin y otros metabolitos peptídicos.

En investigaciones posteriores Webster y Lomas, citados por Díaz (2010), determinaron que *Trichoderma* sp. produce dos antibióticos más: gliotoxina y viridina. Más tarde Oliver y Germain, citados por Infante et al., (2009) informaron que *T. harzianum* Rifai produce numerosos antibióticos como son: trichodermina, suzukacilina, alameticina, dermadina, trichotecenos y trichorzianina.

Posteriormente, Dennis y Webster, citados por Pérez (2004), detectaron que la actividad antibiótica de algunos aislamientos se debía también a la producción de compuestos volátiles, y notaron que los aislamientos más activos poseían un fuerte olor a coco, posiblemente relacionado con la actividad antagonista. Los antibióticos volátiles tienen un efecto esencialmente fungistático, debilitando al patógeno y lo hacen más sensible a los antibióticos no volátiles, lo que se conoce como un "hiperparasitismo" de origen enzimático.

Stefanova et al. (1999), informaron la presencia de metabolitos no volátiles con actividad antifúngica en cuatro aislamientos de *Trichoderma* y concluyeron que los mismos reducen el crecimiento micelial de *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan y *R. solani* en medios de cultivo envenenado con filtrados líquidos donde se habían cultivado las cepas antagónicas. Plantean además, que al parecer estos causan a nivel celular: vacuolización, granulación, coagulación, desintegración y lisis. Por otro método, Rivero et al., citados por Infante (2009), evaluaron el efecto de antibiosis de dos aislados de *Trichoderma* en cultivo dual con *A. padwickii*, *B. oryzae*, *C. lunata* y *Phoma* sp., obteniendo inhibición significativa del crecimiento radial de estos patógenos.

Algunas de las enzimas no solo intervienen en el proceso de penetración y lisis, sino que actúan también como antibióticos, tal es el caso de la enzima endoquitinasa (Ech42) que causa hidrólisis en las paredes de *B. cinerea*, y además inhibe la germinación de conidios y el crecimiento de tubos germinativos de varios hongos.

La producción metabólica de los aislamientos de *Trichoderma* presenta, al igual que el micoparasitismo, determinada especificidad. Samuels (2006), informa sobre un grupo de cepas de *Trichoderma* denominado "Q" que produjeron gliotoxina y fueron efectivas frente a *R. solani*, pero no frente a *Pythium ultimum* Trow; mientras que otro grupo de cepas "P", que excretaron gliovirina mostraron resultados opuestos.

No obstante, la máxima eficacia pudiera lograrse con el sistema enzimático completo, inclusive la selección tiene que ser más integral, donde intervengan diferentes modos de acción. Por ejemplo, Infante et al. (2009), observaron al evaluar 59 aislamientos de *Trichoderma*, competencia por el sustrato, micoparasitismo y antibiosis. En casi todos los aislamientos determinaron al menos un tipo de interacción hifal bien definida, y algunos de ello presentaron hasta cuatro tipos de interacción sobre *R. solani*. Esto favorece el control por un lado y disminuye la posibilidad de que surja resistencia en el patógeno al antagonista.

2.5.6 Mecanismos de acción indirectos de *Trichoderma* spp. como agente de biocontrol

Además se conoce que *Trichoderma* presenta otros mecanismos, cuya acción biorreguladora es de forma indirecta sobre los microorganismos patógenos.

Entre estos se pueden mencionar los que inducen mecanismos de defensa fisiológicos y bioquímicos como es la activación en la planta de compuestos relacionados con la resistencia (Inducción de Resistencia), con la detoxificación de toxinas excretadas por patógenos y la desactivación de enzimas de estos durante el proceso de infección; la solubilización de elementos nutritivos, que en su forma original no son accesibles para las plantas. Tienen la capacidad además, de crear un ambiente favorable al desarrollo radical lo que aumenta la tolerancia de la planta al estrés, efecto promotor del crecimiento en plantas.

En dichos mecanismos sucede una interrelación entre el agente de biocontrol y el hospedero, teniendo su efecto en forma indirecta sobre el patógeno.

Se produce además una regulación del metabolismo de especies reactivas de oxígeno, por parte de las enzimas peroxidasas (Díaz et al., 2010).

Uno de las más rápidas reacciones de defensa en las plantas frente al ataque de patógenos es la explosión oxidativa, la que conduce a la producción transitoria de grandes cantidades de especies reactivas de oxígeno (EROs).

2.5.6.1 Efecto promotor del crecimiento en plantas

Diferentes especies pertenecientes al género *Trichoderma* presentan una relación simbiótica con las raíces de plantas que determinan un aumento considerable en el crecimiento de las mismas, Donati (2011) y por consiguiente una mayor tolerancia a situaciones de estrés.

Para el caso de *Trichoderma* sp., se ha demostrado que diferentes especies pueden mejorar el desarrollo del simbionte micorrízico y que esta interacción tiene influencia sobre el crecimiento de la planta hospedera (Calvet et al., Godeas et al., citados por Rodríguez, 2005).

La actividad simbiote entre las raíces y cepas de *Trichoderma* resulta en una mejora del crecimiento y desarrollo de las plantas. Esta mejoría se ve reflejada por un aumento en el desarrollo de la masa radicular, con un aumento de la formación de pelos radiculares y mayor profundidad de enraizamiento.

Durante el proceso de simbiosis entre la planta y *Trichoderma*, las hifas del hongo deben colonizar a la planta antes de estimular su crecimiento y/o proteger las raíces contra el ataque de fitopatógenos. El proceso de colonización implica la capacidad de adherirse y reconocer las raíces de las plantas, penetrar en la planta, y soportar metabolitos tóxicos producidos por ella en respuesta a la invasión de un organismo extraño, ya sea patógeno o no. Las plantas reaccionan contra la invasión de hongos mediante la síntesis y acumulación de fitoalexinas, dentro de las cuales se encuentran las peroxidadas, flavonoides y terpenoides, derivados fenólicos, agliconas y otros compuestos antimicrobianos (Benítez et al., citados por Donati, 2011).

Una investigación llevada a cabo por Bolaños et al. (s.f.) encontraron que plantas inoculadas con micorriza comercial más *Trichoderma* presentaron valores de peso fresco aéreo y peso fresco radicular mayores que los valores arrojados por las plantas inoculadas con las demás especies de hongos formadores de micorrizas arbusculares y de antagonistas, también presentaron mayores valores de peso seco aéreo y peso seco raíces lo que indica que esta combinación de hongos formadores de micorrizas arbusculares y *Trichoderma* favorece el desarrollo vegetativo de las plántulas de aguacate.

La estimulación de los mecanismos de defensa de las plantas, producto de las aplicaciones de *T. harzianum* junto con los mecanismos de control puede, en alguna medida, explicar la estimulación de crecimiento (Bailey y Lumsden, Kleifeld y Chet, citados por Donoso et al., 2008). Pese a lo anterior, también se ha observado este efecto en cultivos bajo condiciones controladas, donde se han generado ambientes libres de patógenos (Windham et al., Kleifeld y Chet, citados por Donoso et al., 2008).

2.5.6.2 Solubilización de nutrientes minerales

Los nutrientes pueden encontrarse en diferentes formas químicas en el suelo y para que las plantas puedan asimilarlos es necesario que sean solubles en agua. Algunos microorganismos son capaces de transformar las formas no solubles de algunos compuestos en formas asimilables.

Uno de los principales mecanismos empleados por *Trichoderma* spp. para ejercer su acción bioestimuladora es la capacidad de solubilizar nutrientes y minerales del suelo no disponibles para las plantas. Se ha determinado que *Trichoderma* spp. posee la habilidad para solubilizar varios nutrientes de las plantas de su fase insoluble o escasamente soluble. Lo anterior puede llevarse a cabo mediante tres mecanismos: acidificación del medio mediante la liberación de ácidos orgánicos que secuestran cationes y acidifican el medio alrededor de las raíces, producción de metabolitos quelantes (sideróforos) que quelatizan Fe, Fe³⁺ y Cu²⁺ y actividad redox (Tortolero y Pavone, 2012).

Debido a estos mecanismos, es que los fosfatos (principalmente de calcio), Fe₂O₃, MnO₂, Cu y Zn suelen ser más asimilables por las plantas, lo cual genera como consecuencia incrementos en la altura y biomasa de las mismas (Tortolero y Pavone, 2012).

Dentro del género *Trichoderma*, son pocas las especies eficientes en la solubilización de fósforo. En la actualidad, la más reportada ha sido *T. harzianum*, cuya principal característica es su capacidad para crecer a lo largo de las raíces durante su elongación, colonizando todo el sistema radical y beneficiando al cultivo. De este modo, el fósforo una vez que es solubilizado, se almacena en la biomasa de *Trichoderma* para ser liberado muy cerca de las raíces después de la lisis o degradación del micelio por la edad (Tortolero y Pavone, 2012).

En general, al tratar un determinado sustrato con *Trichoderma* spp. ocurre una liberación de nutrientes minerales y materia orgánica al sustrato debido al aumento de la actividad saprofitica de estos organismos en el suelo, también se ve mejorada la absorción de muchos elementos y nutrientes tales como el arsénico, cobalto, cadmio, níquel, magnesio, manganeso, boro, zinc, aluminio y sodio (Tortolero y Pavone, 2012).

Además de su acción solubilizadora de nutrientes y minerales del suelo, el aumento en el crecimiento de las plantas por *Trichoderma* spp. puede llevarse a cabo mediante la disminución de la actividad de organismos perjudiciales de la microflora de la raíz, lo cual es un efecto indirecto que brinda protección a las mismas (tanto en la parte radical como en la parte aérea) contra la infección por patógenos. Este mecanismo conlleva a un aumento en el crecimiento de la raíz, obtención de plantas con sistemas radicales más ramificados, y también plantas con raíces más fuertes y robustas, lo cual puede incrementar la productividad del cultivo debido a que proporciona al sistema radical un mayor alcance y absorción de nutrientes y agua (Tortolero y Pavone, 2012).

2.5.6.3 Inducción de resistencia

Según Agrios (2004), la resistencia se define la capacidad de un organismo para excluir o superar, por completo o en algún grado, el efecto de un agente patógeno o factor perjudicial de otro tipo.

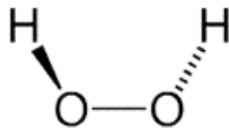
La visión actual de la resistencia sistémica adquirida es que varias moléculas- no necesariamente dañinas a lo patógenos per se- son capaces de inducir respuestas de defensa en las plantas (Sticher et al., citados por Pérez, 2004). Este mecanismo ha sido comprobado en *Trichoderma harzianum* Rifai; enzimas producidas por esa especie han sido identificadas como inductoras de la resistencia sistémica adquirida contra *Botrytis cinérea* Pers.:Fr. en fresas (Martínez et al., citados por Pérez, 2004).

2.5.6.4 Peroxidasas en la respuesta de defensa

Las peroxidasas son un grupo de enzimas que oxidan sustratos (orgánico tanto como inorgánicos) a expensas del peróxido de hidrógeno, pertenecientes al grupo de las reductasas. Se producen dentro de los peroxisoma, organelo celular que está presente en casi todos los tejidos (excepto en el eritrocito maduro).

Tienen como función catalizar la oxidación de ciertos compuestos dadores de hidrógeno (por ejemplo fenoles y aminas aromáticas indoles y sulfonatos) utilizando como sustrato común a peróxidos (incluyendo el peróxido de hidrógeno H_2O_2) que actúan como aceptores de electrones. En las plantas además desempeñan un papel catalítico en el proceso de lignificación del xilema, expresándose también en la epidermis de los órganos aéreos.

Las peroxidasas son enzimas oxido-reductasas 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.



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 (Kurioka, et al., 2013).

Las peroxidasas presentan múltiples formas isoenzimáticas que difieren tanto en la estructura primaria de la proteína, como en sus propiedades químicas. Las peroxidasas se pueden clasificar en dos superfamilias en función de sus diferencias estructurales: la superfamilia de las peroxidasas animales y la superfamilia de las bacterias, hongos y plantas (Donati, 2011).

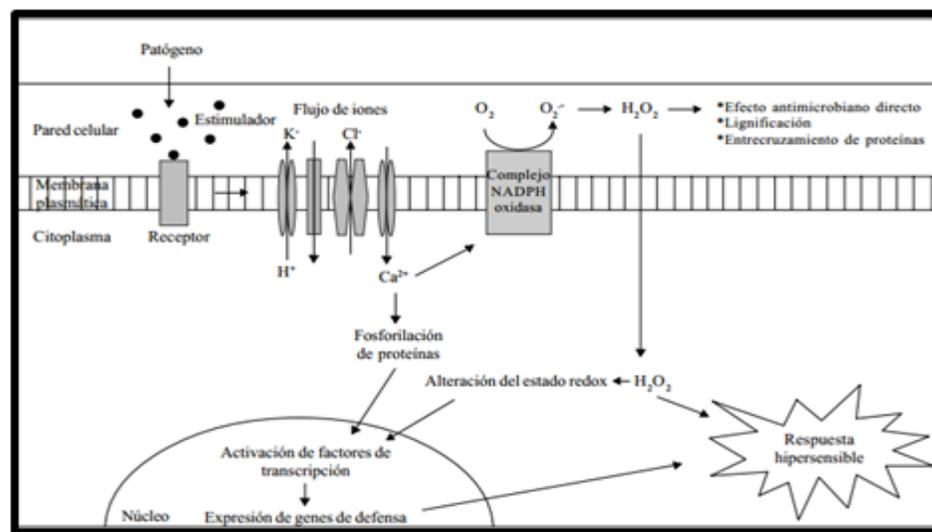
Como es sabido en la naturaleza, las plantas están expuestas al ataque de organismos patógenos diversos como virus, bacterias, hongos, insectos, y herbívoros. Para hacer frente a ellos han desarrollado varios mecanismos de defensa que se desencadenan específicamente luego del reconocimiento del atacante y que deben ser regulados para minimizar los efectos negativos de esta respuesta sobre otros procesos de la célula, como el crecimiento (Díaz et al., 2010).

Se sabe que las peroxidasas desempeñan una función que no está directamente relacionada con la inducción de la resistencia en la planta, pero que contribuyen a la respuesta de defensa en la misma.

Actúan como proteínas relacionadas a la defensa (proteínas PR), participando en la respuesta hipersensitiva de SAR, donde esta reacción hipersensitiva es utilizada por la planta como una estrategia de defensa, en la que las células vecinas a la infección entran a la muerte celular programada para eliminar la fuente más inmediata de energía y nutrientes para el microorganismo invasor (Camarena, citado por Donati, 2011).

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 Kurioka et al., 2013).

Figura 7. Inducción de respuestas de defensa en plantas.



Fuente: Benezzer et al. (2008).

En la Figura 7, se observa que durante el proceso de patogénesis el patógeno libera moléculas que son reconocidas por receptores de la célula, este reconocimiento modifica la función de transportadores de iones, uno de los cuales, el calcio incrementa su concentración intracelular, activando la reacción de fosforilación que estimula la expresión de genes de defensa. El calcio también puede activar la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) a través de la enzima NADPH oxidasa (modificado de Yang et al., citados por Benezzer et al., 2008).

Cuando una célula vegetal detecta la presencia de un patógeno se activa una reacción de defensa inducida. Esta reacción es más severa a nivel local, en el tejido que está directamente en contacto con el patógeno, y más débil a nivel sistémico, en los tejidos no infectados de la planta. Este tipo de reacción permite potenciar las barreras de defensa, tanto químicas como estructurales en el tejido que está siendo atacado. A la reacción local se le llama respuesta de hipersensibilidad (HR) y puede conducir a la necrosis del tejido infectado. La necrosis se produce fundamentalmente por la acumulación abundante de compuestos químicos, entre los cuales se encuentran la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) y las fitoalexinas. Específicamente, el término “especies reactivas de oxígeno” incluye a todas las moléculas derivadas del oxígeno, a los radicales y a los no radicales

Actualmente se sabe que la generación de EROs ocurre en dos fases, una inicial, que sucede minutos después de la adición de un patógeno, y una secundaria, que comienza de una a tres horas después que la fase inicial ha terminado. Aunque ambas fases involucran sustratos y vías de inducción similares, las dos fases se regulan de manera independiente. Esto se debe a que la fase I es una reacción biológicamente no específica que involucra patógenos incompatibles, mientras que la fase II del estallido depende de la expresión *avr* en la interacción patógeno-planta y la expresión del grupo de genes involucrados en la respuesta hipersensitiva (Levine et al., citados por Donati, 2011).

Entre las especies reactivas de oxígeno tenemos al superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), y el radical hidroxilo (OH^-) (Hansberg, citado por Camarena, 2006).

2.5.6.5 Formación de las especies reactivas de oxígeno

Las ERO generadas durante la patogénesis son producidas de manera característica fuera de la membrana plasmática de las células vegetales (apoplasto) (Doke y Ohashi, Levine et al., citados por Benezzer et al., 2008).

Mediante el uso de inhibidores específicos, se han postulado dos mecanismos enzimáticos como los responsables más probables de esta producción en el apoplasto. El primero involucra a la enzima NADPH oxidasa localizada en la membrana plasmática, la cual se considera como la principal fuente de ERO en respuesta a varios patógenos (Torres et al., citados por

Benezer et al., 2008). En plantas, lo mismo que en animales, existe una familia génica de estas oxidasas (llamadas Rboh, Respiratory burst oxidase homologs), al igual que una familia génica de GTPasas rac/rop reguladoras de la actividad de la enzima (Torres y Dangl, citados por Benezer et al., 2008).

El segundo mecanismo está formado por las peroxidasas de la pared celular, las cuales pueden contribuir a la producción apoplástica de ERO en algunas interacciones planta patógeno (Bolwell et al., citados por Benezer et al., 2008). Ambos mecanismos enzimáticos pueden producir ERO en diferentes contextos espacio/temporales (Soylu et al., citados por Benezer et al., 2008), lo cual sugiere una diferencia funcional entre las ERO producidas fuera de la célula vegetal.

2.5.6.6 Función de las ERO en la respuesta contra patógenos

Según Díaz et al. (2010), las EROs desempeñarían al menos tres funciones en la defensa de la planta: (i) crean el ambiente apropiado que promueve el proceso de lignificación y la formación de puentes cruzados en la pared celular (lo que las torna más resistentes al ataque de enzimas fúngicas), (ii) poseen también una acción tóxica directa sobre el patógeno frenando su crecimiento, y (iii) sirven como moléculas señales para inducir la expresión de algunos genes relacionados a la defensa.

La correlación entre la acumulación de ERO y el establecimiento de las defensas sugiere que las ERO podrían tener una función tóxica directa sobre los patógenos, o sobre las células en donde se producen. Las evidencias además indican que las ERO actúan como señales regulando el establecimiento de la reacción de defensa a nivel de la expresión génica o el fortalecimiento de la pared celular vía entrecruzamiento de proteínas de la pared (Apostol et al., Babor, Blechert et al., citados por Benezer et al., 2008).

En rutas de transducción de señales inducidas por patógenos o estimuladores, las ERO participan en la activación de proteínas cinasas activadas por mitógeno (MAPK; Mitogen Activated Protein Kinases), en el cambio en los niveles de Ca^{2+} , y en la modificación del estado redóx celular (Rentel y Knight, citados por Benezer et al., 2008).

En plantas el estado redóx regula a NPR1, un activador esencial de las respuestas de defensa que dependen del ácido salicílico. NPR1 se acumula en el citosol como un oligómero inactivo mantenido así por enlaces disulfuro,

después de la estimulación su reducción libera unidades monoméricas que migran hacia el núcleo e interactúan con el factor de transcripción reducido TGA1, el cual a su vez activa la expresión de genes de defensa dependientes de ácido salicílico (Mou et al., citados Benezzer et al., 2008). Así, la cascada de señalización activada por ERO inicia un cambio global en el transcriptoma para ejecutar programas genéticos apropiados. En células de *Arabidopsis* tratadas con H_2O_2 se observaron cambios en el perfil de expresión de 175 genes (de 11000 analizados). Estos genes codifican para enzimas antioxidantes, proteínas asociadas con la defensa o con funciones de señalización tales como cinasas o factores de transcripción (Desikan et al., citados por Benezzer et al., 2008).

Se ha propuesto que las ERO, en combinación con el ácido salicílico, puedan ser moléculas reguladoras del establecimiento de las defensas sistémicas en contra de patógenos (Bolwell et al., citados por Benezzer et al., 2008).

Por lo tanto la producción de ERO en plantas es esencial para la defensa en contra de la infección por patógenos.

2.5.7 Trichosoil®

Este es un producto comercial, obtenido a partir del programa de investigación y desarrollo de productos biológicos de Lage y Cía. S.A según lo indica en el sitio web de dicho Laboratorio, Trichosoil® está formulado en base a una cepa de *Trichoderma harzianum* aislada de nuestro país.

Según la Lista de Productos Fitosanitarios Autorizados del MGAP al 15/1/2012 este producto es de origen uruguayo, y está registrado con el número 3087 como fungicida en polvo seco, cuya toxicidad es IV.

El agente de control biológico representa una herramienta para ser utilizada en el manejo integrado. Posee una amplia actividad antifúngica contra patógenos de suelo, semillas y foliares, de modo que Trichosoil® detiene el crecimiento del micelio del patógeno y también las estructuras de resistencia de los agentes patogénicos, como los esclerotos, donde los productos químicos no son efectivos.

La formulación de este producto según Lage y Cia S.A es, 58.8% es *Trichoderma harzianum* (cepa L1) y el resto es material inerte (Bóffano y Mosqueira, 2012)

2.6 QUITOSANO

El quitosano es un producto natural, de bajo costo, renovable, abundante y no toxico, se lo ha propuesto como un material atractivo para diversos usos (Azevedo et al., citados por Freddo et al., 2012). Según Arya, citado por Freddo et al. (2012), puede ser una alternativa a los pesticidas químicos en la inducción a la resistencia a enfermedades, puede ser aplicado contra hongos, virus y bacterias, otra de sus propiedades es la de inducir los mecanismos de defensa de las plantas (Zhu Xiao-hong et al., 2010).

El quitosano es la forma N-desacetilada de la quitina, es una modificación de la quitina y posee mejores propiedades en cuanto a reactividad y solubilidad. Se ha lo descrito como un polímero catiónico lineal, biodegradable, de alto peso molecular, de fácil aplicación y ambientalmente amigable (Mármol et al., 2011).

La quitina es la sustancia más abundante después de la celulosa. Es un biopolímero lineal, altamente insoluble en agua, propiedad que limita sus aplicaciones; se disuelve fácilmente en ácidos concentrados, lo que hace que su aplicación sea poco práctica y presenta baja reactividad. Otras propiedades relevantes de este biopolímero son su alto peso molecular y su estructura porosa favoreciendo una elevada absorción de agua (Mármol et al., 2011).

La quitina y sus derivados son efectivos en el control de enfermedades y plagas vegetales antes y después de la cosecha (Mármol et al., 2011).

El quitosano, ha sido objetivo de varios estudios debido a sus excelentes propiedades como la bioactividad, biocompatibilidad, biodegradabilidad, adsorción y propiedades tales como la formación de complejos. Estas excelentes características, combinadas con su buena capacidad de ser "moldeado" para adquirir diferentes formas como películas y esferas, hacen del quitosano un material que puede ser utilizado en varias áreas, como el medio ambiente, la agricultura y la medicina (Mesquita da Silva Pinto, 2005).

2.6.1 Obtención del quitosano

Para el proceso de obtención de la quitina, a los caparazones de mariscos (camarón, cangrejo, etc.), se los limpian, secan, muelen hasta pulverizarse y se someten a un proceso de hidrólisis ácida, utilizando ácido clorhídrico, el cual convierte los carbonatos en cloruros y solubiliza los minerales, básicamente el calcio. Una vez desmineralizado, se aplica una hidrólisis alcalina, lo cual rompe la estructura de la matriz y hace soluble las proteínas, las cuales arrastran consigo las grasas y pigmentos, componentes partes del caparazón. A partir de estos procesos se obtiene quitina en polvo, la cual no es soluble en agua, lo que hace que no sea posible su uso (Mármol et al., 2011). La quitina obtenida en el proceso anterior se somete a un proceso llamado desacetilar que significa sacar de la quitina parte de su estructura, el grupo acetilo, por tratamiento con álcali fuerte a altas temperatura para obtener el quitosano (Mármol et al., 2011), poli [P-(1 → 4)-2-amino-2-desoxi-D-glucopiranosas] (Mesquita da Silva Pinto, 2005).

Las aplicaciones de la quitina y el quitosano son muy amplias, existiendo sectores en los que su aplicación es habitual y conocida, y otros en los que constituyen una fuente de investigación (Mármol et al., 2011).

2.6.2 Acción bioquímica del quitosano

Cuando se aplica quitosano a una planta, este se hidroliza por acción de microorganismos y es degradado a moléculas de bajo peso molecular, oligosacáridos de quitosano soluble en agua, que ingresan a las células de la planta para promover la transcripción de ADN a ARN.

El quitosano provoca que la planta actúe como si estuviera frente a un patógeno estimulando la defensa de la misma.

Las reacciones provocadas en las plantas solamente con la aplicación de quitosano tiene un efecto nulo o mínimo, por lo que es necesario la presencia de microorganismos, estas reacciones están dadas por la coexistencia de microorganismos de la tierra los cuales cooperan uno con el otro para descomponer el quitosano en oligosacáridos de quitosano.

Se ha reportado que el quitosano posee propiedades inductoras en forma de respuesta de defensa de las plantas u órganos vegetales. Las

proteínas relacionadas con la patogenicidad (Pathogenesis Response Proteins, PR- Proteínas) son un grupo heterogéneo de proteínas solubles inducidas en muchas especies de plantas en situaciones de estrés (Rodríguez et al., 2009).

La respuesta de defensa con la aplicación de quitosano es la síntesis de lignina y calosa, inducción de fenilalanina amonio liasa (PAL), biosíntesis de fitoalexinas, producción de inhibidores de proteasas y proteínas relacionadas con la patogenicidad, estas son la quitinasa, glucanasa, peroxidasa (POD), y quitosanasa (Rodríguez et al., 2009).

La biosíntesis y acumulación de fitoalexinas, es un compuesto que las plantas sanas no lo presentan, estas son tóxicas para los patógenos como bacterias y hongos, estas son sintetizadas en células sanas adyacentes a células dañadas, para el caso de que la planta halla estado expuesto a una situación de estrés o con la aplicación de inductores como es el quitosano.

El quitosano es un activador de la síntesis de calosa, una enzima que cataliza la formación de glucanasa $\beta - 1$, la función de la misma es responder en forma rápida, es localizada y efectiva frente a un patógeno o un daño mecánico sufrido por las plantas que fueron tratadas previamente con quitosano.

La calosa es un polímero formado por β glucanos cuyas disposiciones locales en la planta están asociadas a heridas, infección por patógenos y estrés fisiológico. Estimula la síntesis de peróxido (especies reactivas de oxígeno) el que actúa como mensajero secundario activando genes de defensa.

Una de las fitohormonas que se estimula es el ABA y este a su vez el ácido jasmónico que estimula la expresión de genes inducibles por heridas.

La fenilalanina amonio liasa (PAL) es la que cataliza la conversión de L-fenilalanina a ácido transcinámico con liberación de amonio. Además está involucrada en la síntesis directa de ácido salicílico por la vía de ácido benzoico, el cual es considerado una importante señal de amplificación de las respuestas sistémicas defensivas de las plantas (Rodríguez et al., 2009). Cambios de esta enzima es frecuentemente observar en la interacción hospedero- patógeno y en respuesta a la luz, inducción de compuestos químicos, heridas y otras condiciones de estrés (Rodríguez et al., 2009).

Las quitinasas son las responsables de cortar el enlace entre C₁ y C₄ de dos N-acetilglucosaminas consecutivas del polímero de quitina. Es considerada como la enzima de defensa de las plantas contra infección de patógenos. Se ha observado su acumulación alrededor del hongo, estas provocan la lisis de las hifas, reduciendo los daños que estas causan a las plantas (Rodríguez et al., 2009). Estas pueden inducidas mediante el tratamiento con quitooligosacáridos, extractos de hongos y bacterias, estrés físico o químico y por heridas (Rodríguez et al., 2009).

Las quitosanasas catalizan la degradación hidrolítica del quitosano obteniéndose dímeros, trímeros, tetrámeros y oligómeros de quitosano. Estas han sido consideradas como proteínas relacionadas con la patogénesis involucrada en los mecanismos de defensa contra hongos patogénicos (Grenier et al., citados por Rodríguez et al., 2009). Estas son enzimas hidrolíticas presentes en bacterias, hongos y plantas (Rodríguez et al., 2009).

Protege contra enfermedades de cuello y raíz en almácigos y durante los primeros estadios del desarrollo, mejorando la supervivencia después del trasplante o el injerto. Los géneros de hongos del suelo que controla son *Rhizoctonia*, *Fusarium* y otros hongos del complejo “damping off”. También se observó protección en raíces y tallos contra el hongo *Phytophthora*. Esto se vio en especies forestales como eucaliptus y pinos además de otras especies principalmente frutales.

Las propiedades del quitosano según Lárez (2008),

- actividad bactericida
- actividad fungicida
- actividad antiviral
- estimulante del crecimiento
- inducción a la resistencia

2.6.2.1 Actividad bactericida

El quitosano inhibe una amplia variedad de bacterias (Liu et al., Helander et al., Chung et al., Hayes et al., citados por Rodríguez et al., 2009).

La concentración es de gran importancia para su actividad microbiana (Rodríguez et al., 2009).

Se han propuesto algunos mecanismos de acción para explicar situaciones específicas como las que se desarrollaran a continuación, Lárez (2008), propone tres tipos de interacción entre las cargas del quitosano y las cargas de las bacterias (Gram negativas principalmente), la interacción de los grupos NH_3^+ y la interacción de los grupos fosforilos de los fosfolípidos de la membrana celular de las bacterias y por último la interacción selectiva. El quitosano desarrolla una carga positiva en medio ácido debido a la adición de un protón H^+ al grupo amino presente en cada una de sus unidades de glucosamina, que lo hace soluble en medio acuoso, confiriéndole mayor actividad bactericida (Papineau et al., Helander et al., Devlieghere et al., citados por Lárez, 2008).

La interacción electrostática entre la carga positiva del quitosano y algunas bacterias con membranas celulares con cargas negativas como *Echerichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus typhimurium*, etc. altera significativamente las propiedades de barrera de la membrana exterior del microorganismo (Helander et al., citados por Lárez, 2008). Algunos autores han propuesto que la formación del complejo polielectrolito bloquea físicamente la membrana celular externa del microorganismo, impidiendo el flujo normal de nutrientes /desechos, provocando la muerte bacteriana (Chung et al., citados por Lárez, 2008).

El quitosano y la interacción electrostática ente los grupos NH_3^+ y los grupos fosforilos de los fosfolípidos de la membrana celular de las bacterias Gram negativas causa la salida del material intercelular (Liu et al., citados por Lárez, 2008). Chung y Chen, citados por Lárez (2008), determinaron que la salida del material intercelular bacteriano se ve favorecido por los grados de acetilación más altos, tanto en bacterias Gram negativas (*E. coli*) como Gram positivas. Para algunas bacterias Gram positivas como *S.aureus* y *Bacillus cereus*, que carecen de cargas negativas en la membrana, el quitosano ha mostrado una mayor actividad que bacterias Gram negativas (Lárez, 2008).

Sin embargo la actividad antimicrobiana del quitosano depende de los factores que ayuden a acentuar las cargas positivas en la cadena del biopolímero (Lárez, 2008). Entre los factores están el grado de desacetilación, distribución de grupos desacetilados a lo largo de la cadena, longitud de la

cadena, distribución de los pesos moleculares (Terbajevich et al., citados por Lárez, 2008), el pH, fuerza iónica del medio, el contraíon asociado a su forma sal y la temperatura (Lárez, 2008).

2.6.2.2 Actividad fungicida

El quitosano como fungicida ha sido estudiado tanto in vitro (El Ghaouth et al., citados por Lárez, 2008) como in vivo (Li y Yu, Yu et al., citados por Lárez, 2008). El quitosano inhibe una multitud de hongos, exceptuando o siendo menos efectivo en aquellos hongos que lo poseen en la pared (Roller y Covill, Allan y Hardwiger, citados por Lárez, 2008).

Para que este biopolímero sea efectivo se debe de tener en cuenta lo siguiente según Lárez (2008):

- se deberá encontrar una dosis adecuada a cada situación debido a que existe una alta correlación entre la concentración de quitosano aplicada y la inhibición fungicida.

- hay evidencias de que la sensibilidad de los hongos patógenos con respecto al quitosano puede cambiar en los diferentes estadios de su desarrollo. Según Liu et al., citados por Lárez (2008), el quitosano es mejor inhibidor de la germinación de *Penisillium expansum* que de *Botritis cinérea*, se observó lo contrario en el crecimiento del micelio de las mismas. También que el quitosano es más efectivo sobre los conidios que sobre hifas de algunos hongos fitopatogenos (Palma –Guerrero et al., citados por Lárez, 2008).

- también se ha encontrado relación directa entre la actividad fungicida y el peso molecular del quitosano (Hirano y Nagano, Baños et al., citados por Lárez, 2008).

Según Benhamou, citado por Lárez (2008), además de lo mencionado se sabe que la actividad fungicida del quitosano está asociado al carácter catiónico, que la interacción de los grupos aminos libres, cargados positivamente en medio ácidos con los residuos negativos de las macromoléculas expuestas en la pared de los hongos cambian la permeabilidad de la membrana plasmática, con lo que lo que lleva a la alteración de sus funciones. Otra de las posibles explicaciones de la actividad del quitosano como fungicida es la inhibición de las síntesis de algunas enzimas presentes en los hongos (El-Ghaouth et al., citados por Lárez, 2008), o la ocurrencia de

alteraciones citológicas como se ha mencionado en el caso de *Botrytis cinérea*, donde se han observado al microscopio óptico la presencia de vesículas y/o células vacías carentes de citoplasma, después del tratamiento con soluciones acuosas al 1.75% de quitosano (Barka et al., citados por Lárez, 2008).

Según Lárez (2008), considera que el quitosano puede inducir la acumulación de sustancias fungitóxicas en los lugares de aplicación y/o constituirse en una barrera que impida el flujo de nutrientes hacia el patógeno, esto se debe a señales de deterioro que mostraron las células fúngicas que fueron expuestas al quitosano, como por ejemplo la formación anormal de depósitos enriquecidos en quitina entre la membrana plasmática y la pared celular (Benhamou et al., El- Ghaouth et al., citados por Lárez, 2008).

El principal uso como biosida que se le ha dado al quitosano ha sido como fungicida en la protección de semillas y junto a la estimulación del crecimiento ha hecho que el mismo sea muy atractivo para la agricultura. El recubrimiento de semillas mejora su germinación y produce altos rendimientos en la cosecha (Hadwinger et al., citados por Lárez, 2008).

2.6.2.3 Actividad antiviral

Existen varias investigaciones de la actividad antiviral del quitosano, entre las más importantes se encuentran las de Pospieszny et al., citados por Lárez (2008), que encontró que con una solución acuosa 0,1% de quitosano logra controlar completamente la infección local causada por el virus del mosaico de la alfalfa (VMA) en hojas de frijoles. También se obtuvieron resultados similares para otros virus como el virus de la necrosis del tabaco (VMT), el virus del no crecimiento del maní, virus del mosaico del pepino y el virus X de la papa.

También se ha reportado la inhibición de la enfermedad causada por inoculación de hojas de tomate con un viroide que afecta la papa (potato spindle tuber viroid), cuando estas fueron tratadas con quitosano (Pospieszny, citado por Lárez, 2008).

Las principales observaciones de los estudios realizados por Pospieszny, citado por Lárez (2008), son que la eficiencia del quitosano como inhibidor de virus depende pura y exclusivamente de la relación virus/hospedero, la concentración de quitosano y la forma de aplicación. Además que, la mayor protección ocurrió en las partes tratadas, en este caso

las hojas, pero el efecto protector pudo verse en otras partes no tratadas, lo que quiere decir es que el quitosano actúa de forma sistémica.

El quitosano que fue aplicado en los protoplastos del tabaco bloquea completamente la acumulación del VMT aun después de 6-8 horas de haber sido aplicado. Y como conclusión final es que el tratamiento previo con quitosano reduce significativamente la infección viral de varias especies.

2.6.2.4 Estimulación del crecimiento

En estudios realizados se observó que la aplicación del quitosano ha mostrado efectos positivos en el crecimiento de las plantas, tanto en la estimulación de la germinación de semillas como en el crecimiento de partes de la planta como raíces, retoños y hojas.

Según Wanichpongpan et al., citados por Lárez (2008), sus efectos se han observado en plantas florales y en otras especies (Chibu y Shibayama, citados por Lárez, 2008).

Quitosano estimula los procesos fisiológicos en las plantas, donde se incrementa el tamaño de las células lo cual hace más asimilable los nutrientes por la planta aumentando su crecimiento y desarrollo por lo que conlleva a un mayor rendimiento (Falcón et al., citados por Rodríguez et al., 2013).

Con la aplicación de quitosano se produce glucosamina (es un monómero del quitosano) que en el suelo provoca aumento en la masa radicular absorbente por lo tanto un aumento del vigor de la planta (BIOAGRO, s.f.).

En la estimulación del crecimiento se sintetizan fitohormonas como citoquininas las que se encuentran involucradas con el aumento de células y aumento en tamaño de las mismas. Auxinas en desarrollo radicular y en el crecimiento del tallo el etileno.

En investigaciones han mostrado que el origen del quitosano es un aspecto importante, el quitosano procedentes de hongos necesitaron menores dosis para la inducción de la diferenciación de tejidos de plantas de orquídeas que los oligómeros procedentes de caparazones de camarones (Nge et al., citados por Lárez, 2008), debido fundamentalmente a las propiedades físico químicas las que dependen de la fuente de extracción del quitosano, la quitina

obtenida de camarones y cangrejos tiene una estructura cristalográfica α , donde las cadenas principales están ordenadas en agregados antiparalelos lo que les permite formar puentes de hidrogeno intermoleculares muy fuertes, mientras que la procedente de las plumas de calamar tiene estructura β , con cadenas ordenadas en arreglos paralelos y fuerzas intermoleculares más débiles (Tolaimate et al., citados por Lárez, 2008).

Con respecto a la protección de plántulas contra enfermedades causadas por patógenos, en un estudio realizado para la protección de plántulas de uva mostro que el quitosano es efectivo para inhibir el crecimiento de *Botrytis cinerea* en plántulas expuestas a este microorganismo sino que además parece activar mecanismos de defensa y además estimuló el crecimiento de la plántulas (Barka et al., citados por Lárez, 2008). Similar se ha visto en plántulas de tomate en la inducción de resistencia hacia *Fusarium oxysporum* (Benhamou et al., citados por Lárez, 2008).

2.6.2.5 Inducción de resistencia

Se ha comprobado que el quitosano induce reacciones de defensa en algunas plantas (Pearce y Ride, citados por Lárez, 2008), sensibilizándolas para responder más rápidamente al ataque de patógenos. Las sustancias que se ven favorecidas por la presencia de quitina y/o quitosano son: fitoalexinas, proteínas relacionadas a la patogénesis, inhibidores proteicos, ligninas.

Según Barka et al., citados por Lárez (2008) con la presencia de quitosano la sensibilización lo que hace es estimular los mecanismos de defensa ya conocidos, como la producción de quitinasas y glucanasas (Benhamou, citado por Lárez, 2008), la lignificación de hojas dañadas (Pearce y Ride, citados por Lárez, 2008) o intactas (Moerschbacter et al., citados por Lárez, 2008), la generación de peróxido de hidrogeno (Lee et al., citados por Lárez, 2008) o la formación de fitoalexinas en legumbres y solanáceas (Cote y Hahn, citados por Lárez, 2008). Según Lárez (2008), los compuestos que provocan este tipo de respuestas se conocen como inductores, algo importante a tener en cuenta es el peso molecular y su grado de acetilación. El quitosano completamente desacetilado no inducen respuestas defensivas en la mayoría de los sistemas donde han sido ensayados.

Además de las propiedades antes mencionadas el quitosano presenta actividad nemostática, es importante para el control de nematodos fitoparásitos

ya sea como complemento a nemátocidas químicos o como preventivo y protector de raíces.

2.6.3 Biorend®

Según la ficha técnica de este producto obtenida en el sitio web de Bioagro S.A (Chile) el ingrediente activo de este producto comercial es el quitosano, y su concentración es del 2.5%. Es un derivado de la quitina y se obtiene a partir de los caparazones de centolla y centollón en la XII región de Chile.

Este producto es de origen chileno, según la lista de productos fitosanitarios autorizados del MGAP al 15/1/2012 este producto es un concentrado soluble el cual está registrado con el número 3032, como regulador de fertilizante cuya toxicidad es IV.

Biorend actúa estimulando los mecanismos naturales de defensa de las plantas. De modo, que los principales efectos son como, bioestimulante, resistencia sistémica adquirida, fungistático, protección de raíces y control natural de nematodos fitoparásitos, así como también la protección de enfermedades aéreas.

El ingrediente activo, según la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos está aprobado como biopéctida, regulador del crecimiento de las plantas y herbicidas agrícolas.

2.7 INTERACCIÓN TRICHODERMA HARZIANUM Y QUITOSANO

La acción y el espectro de actividad de *Trichoderma spp.* con quitosano se complementan de una forma sinérgica obteniendo una alta y doble eficacia, por lo que además de controlar las plagas mejora la resistencia de los cultivos frente a enfermedades, aumentando así la capacidad de supervivencia en condiciones ambientales adversas y obteniendo mejoras en crecimiento y rendimiento.

La *Trichoderma harzianum* se ve favorecida por presencia del quitosano ya que, este ayuda a la misma a establecerse y por ende favorece la multiplicación. Esto permite control de hongos y estimula el sistema radicular e inmunológico en la planta.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 DISEÑO EXPERIMENTAL VIVERO

Se realizó un diseño completo al azar (DCA) donde la variable aleatoria en estudio fue altura (cm), con 3 tratamientos que consistieron en diferentes genotipos de *E.grandis* (GU8, GT529, GC514), donde se seleccionaron al azar 75 plantines (siendo estos la unidad experimental), realizándose 75 repeticiones.

Se seleccionaron de dos tamaños (grandes e intermedios), y se procedió a medir altura del plantín, mediante el uso de regla.

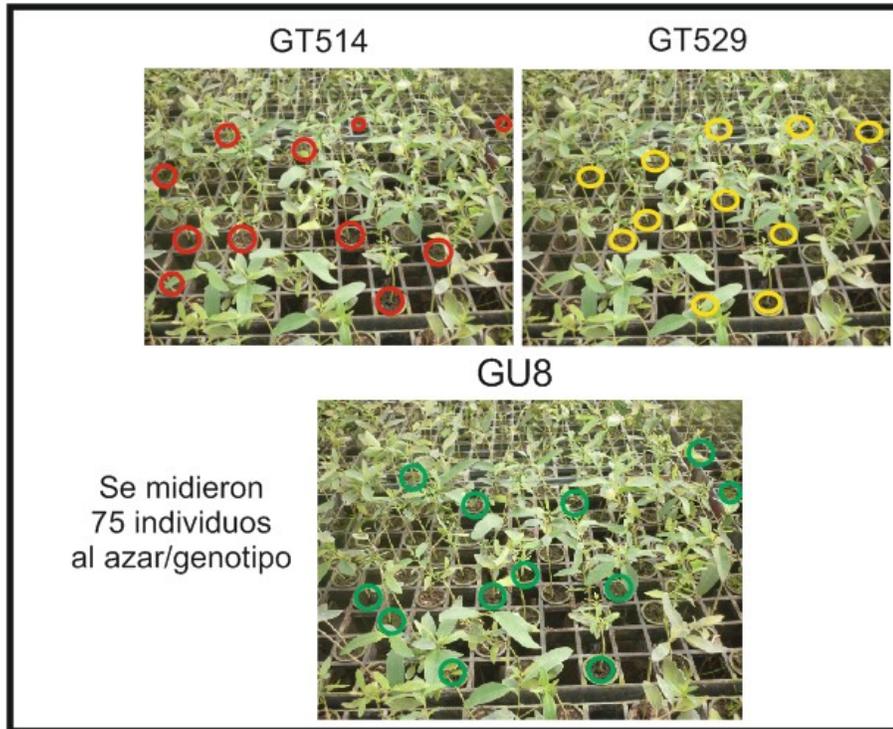
Cuadro 2. Genotipos

GU8	E. grandis x E. urophylla
GT529	E. grandis x E. tereticornis
GC514	E. grandis x E. camaldulensis

Fuente: elaboración propia.

Para este diseño en vivero la única variable a considerar son los efectos genéticos, es decir los diferentes genotipos bajo estudio, ya que el manejo es igual para todos (riego, fertilización, manejo sanitario), además siendo todos coetáneos (febrero 2013).

Figura 8. Croquis del DCA en vivero



Fuente: elaboración propia.

Se tomaron 75 plantines al azar por genotipo y tamaño intermedio y 75 plantines por genotipo y tamaño grande, a los cuales se les midió la variable altura.

3.1.1 Variable altura

El modelo se presenta a continuación:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

Y_{ij} = variable aleatoria en estudio: altura del plantín (cm).

μ : media general.

α_i : genotipos (tamaños visuales).

ε_{ij} : error experimental

Unidad Experimental: plantín

Supuestos el modelo es correcto y aditivo.

Supuestos a los errores experimentales son v.a. i.i.d: $\epsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ para todo i, j .

Por definición $\alpha_i = \mu_i - \mu$.

Las Hipótesis de interés a probar son

Hipótesis biológicas

- H_0 : los plantines que conforman los materiales evaluados presentan igual altura.
- H_a : los plantines que conforman los materiales evaluados presentan diferente altura.

Hipótesis estadísticas

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$
- $H_a: \exists$ al menos una \neq entre media

Hipótesis biológicas

- H_0 : la utilización de las distintas aplicaciones de bio-estimulantes no tiene ningún efecto en la sanidad de los plantines.
- H_a : la utilización de las distintas aplicaciones de bio-estimulante tiene un efecto diferencial en la sanidad de los individuos.

Se realizó un análisis de varianza para la variable altura (ANAVA), donde el criterio de decisión considerado fue:

- si p valor es mayor a 0.05 No rechazo hipótesis nula (H_0) con una probabilidad β de cometer error del tipo II.
- si p valor es menor a 0.05 rechazo hipótesis nula (H_0) con una probabilidad α de cometer error del tipo I.

3.1.2 Metodología

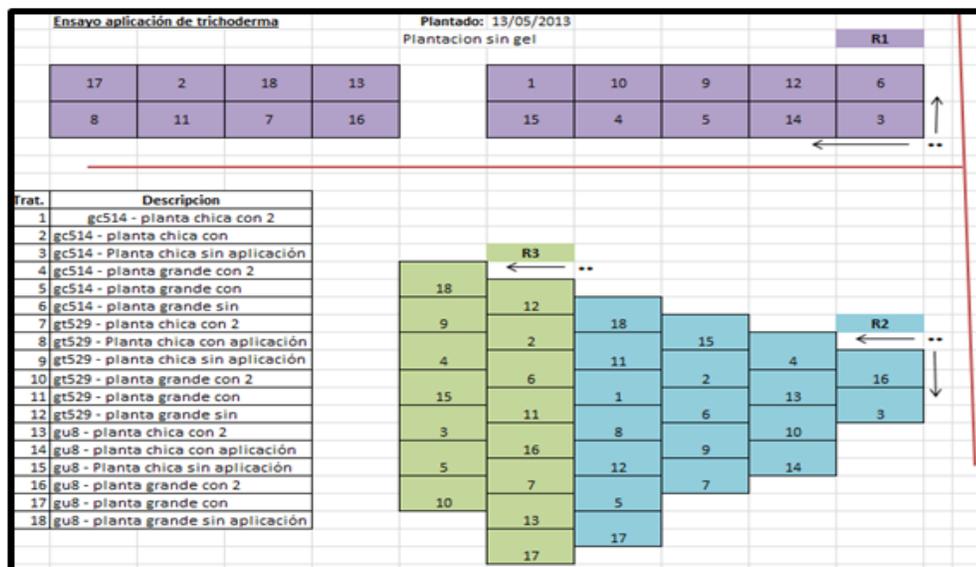
Se procedió a realizar mediciones de alturas con regla a los plantines con el objetivo de poder determinar si efectivamente hay dos tamaños de plantines que será la base de estudio de este trabajo.

Paralelamente se realizaron observaciones generales, a los efectos de determinar de modo general el estado sanitario de los plantines.

3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL A CAMPO

Se realizó un diseño en bloque completo al azar (DBCA) con arreglo factorial, donde los factores evaluados fueron: genotipos (GU8, GT529, GC514), dos tamaños (intermedios y grandes), y aplicación de Trichosoil® más Biorend® (testigo, una y dos dosis extra). Considerado testigo para este trabajo debido a que la totalidad de las plantas usadas presentaban el mismo manejo, cabe destacar que estos ya presentaban una aplicación de *Trichoderma harzianum* más quitosano, como parte de ese manejo en vivero. Resultando en 18 tratamientos (3*2*3) por bloque. Se instalaron 3 bloques de modo de reducir las variaciones, y dentro de cada bloque los tratamientos fueron asignados de manera aleatoria e independiente. Cada plantin es una unidad experimental, plantados a una distancia de 5 x 3.7 m (540 plantas/ha.).

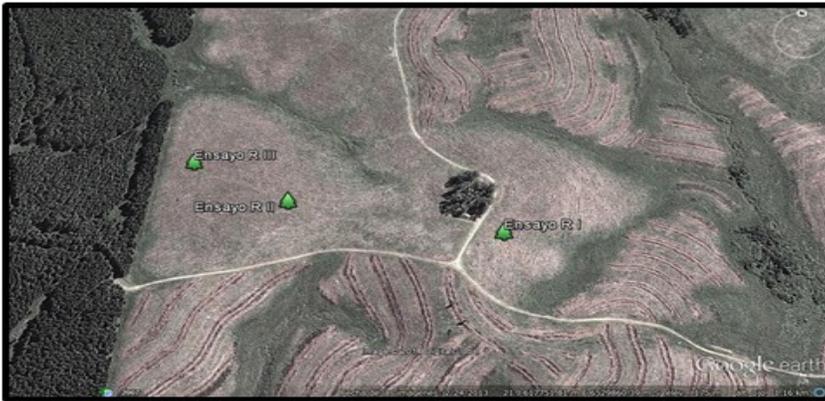
Figura 9. Croquis del DBCA en campo



Fuente: elaboración propia.

Se instaló el ensayo en el Establecimiento Buena Vista I; Paraje Cerro Alegre, ingreso por R5 Km 451⁵⁰⁰, en el departamento de Rivera. Dentro de las coordenadas 31°21'37.65"S, 55°45'38.38"O.

Figura 10. Ensayo a campo



Fuente: Google Earth (2014).

3.2.1 Crecimiento en altura y diámetro

Modelo

$$Y_{ijkl} = \mu + \tau_{ijk} + \beta_l + \varepsilon_{ijkl}$$

$$\tau_{ijk} = \text{Gen}_i + \text{Tri}_j + \text{Tam}_k + (\text{Gen}*\text{Tam})_{ik} + (\text{Gen}*\text{Tri})_{ij} + (\text{Tri}*\text{Tam})_{jk} + (\text{G}*\text{Tri}*\text{Tam})_{ijk}$$

i: 1,2,3 k: 1,2

j: 1,2,3 l:1,2,3

Dónde:

Y_{ijkl} = Variable de respuesta. Efecto de la aplicación de Trichosoil® y Biorend® en el crecimiento

μ = media poblacional

Gen_i = Efecto del i-ésimo Genotipo. Genotipo (GU8, GT529, GC514).

Tri_j = Efecto del j-ésimo nivel de trichoderma (testigo, una dosis, dos dosis)

Tam_k = Efecto del k-ésimo tamaño (grande e intermedio)

Siendo Gen, trichoderma y tamaño los efectos principales

$(Gen*Tam)_{ik}$ = Efecto de la interacción entre el i-ésimo Genotipo y el k-ésimo tamaño

$(Gen*Tri)_{ij}$ = Efecto de la interacción entre el i-ésimo Genotipo y el j-ésimo nivel de trichoderma

$(Tri*Tam)_{jk}$ = Efecto de la interacción entre el j-ésimo nivel de trichoderma y el k-ésimo tamaño.

$(G*Tri*Tam)_{ijk}$ = Efecto de la triple interacción entre el i-ésimo Genotipo, el j-ésimo nivel de trichoderma y el k-ésimo tamaño.

Estos últimos cuatro son los efectos de la interacción.

β_l = Efecto del l-ésimo bloque. 3 bloques.

ε_{ijkl} = error experimental asociado al i-ésimo Genotipo, en el j-ésimo nivel de trichoderma, en el k-ésimo tamaño y el l-ésimo bloque.

Supuestos el modelo es correcto, aditivo y no existe interacción bloque x factor A, bloque x factor B, bloque x factor C, etc

Supuestos a los errores experimentales son v.a. i.i.d: $\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ para todo i, j.

Por definición $\alpha_i = \mu_i - \mu$.

Las hipótesis a probar en la etapa de campo son

Hipótesis biológica

- Ho: la utilización de las distintas aplicaciones de bio-estimulantes no tiene ningún efecto en la sanidad de los plantines.
- Ha: la utilización de las distintas aplicaciones de bio-estimulante tiene un efecto diferencial en la sanidad de los individuos.
- Ho: el crecimiento (altura y diámetro en cm) de los diferentes materiales genéticos es similar.
- Ha: el crecimiento (altura y diámetro en cm) de los diferentes materiales genéticos es diferente.
- Ho: los individuos que reciben aplicaciones no difieren al testigo en cuanto a resistencia a heladas.
- Ha: los individuos tratados tienen mayor resistencia a heladas.

El criterio de decisión considerado fue

- si p valor es mayor a 0.05 No rechazo hipótesis nula (Ho) con una probabilidad β de cometer error del tipo II.
- si p valor es menor a 0.05 rechazo hipótesis nula (Ho) con una probabilidad α de cometer error del tipo I.

3.2.2 Sobrevivencia

La variable sobrevivencia se analizó ajustando un modelo lineal generalizado asumiendo distribución binomial, donde P es la probabilidad de sobrevivencia y $\text{Ln} [P/(1-P)]$ es la función logit de dicha probabilidad.

El modelo $\text{Ln} [p/(1-p)] = B_0 + B_i + G_j + M_k + T_l$

B_0 = Intercepto

B_i = efecto del i-ésimo bloque

G_j = efecto del j-ésimo genotipo

M_k = efecto del k-ésimo tamaño de planta

T_l = efecto del l-ésimo tratamiento de Trichoderma

3.2.3 Metodología

El 13 de mayo los plantines fueron trasplantados a campo, con la primera aplicación de *Trichoderma harzianum* más quitosano ya realizada en la fase de rustificación.

La segunda dosis de Trichosoil® y Biorend® se aplicó el 24 junio de 2013 con mochila, siendo la dosis de 30 gm/Lts. Y 20gm/Lts., respectivamente, como se observa en la Figura 13.

Figura 11. Aplicación a campo de segunda dosis de Trichosoil® y Biorend®



Fuente: elaboración propia.

El 19 de setiembre de 2013 se determinó en cada unidad experimental el número de plantines vivos y no vivos, cuantificando de esta manera la sobrevivencia a campo. Paralelamente se realizaron observaciones generales, con el fin de determinar el estado sanitario y daños por heladas, como se observa en la Figura 18.

La última medición se realizó los días 16 y 17 de diciembre determinándose la altura de todos los individuos con una regla de 3 m y el diámetro a la altura del cuello, con calibre visualizándose además estado sanitario de los individuos.

Figura 12. Planta muerta (A), planta viva (B)



Fuente: elaboración propia.

3.3 PRODUCCIÓN DE PLANTINES

En la Figura 13, se observan las fases pertenecientes al ciclo de producción de plantines mediante la técnica de macropropagación desarrollada en este vivero, donde se apunta a crear un ambiente en el cual se dé un equilibrio entre las condiciones bajo las cuales la especie tiene un crecimiento óptimo (jardín clonal, enraizamiento y cría) y aquellas bajo las cuales tendrá que crecer cuando sea llevada a campo (Rustificación).

En el vivero donde se llevó a cabo parte de la investigación, el ciclo productivo de los híbridos utilizados tuvo una duración aproximada de 3 meses. Este proceso productivo comprende las siguientes fases.

Jardín clonal: en esta fase se encuentran las plantas madres de los híbridos utilizados, las cuales conforman el material base de propagación, a partir de las mismas se obtuvieron las estacas de aproximadamente 10-15cm con dos nudos, para su posterior enraizamiento. Se encuentran ubicadas sobre canaletas de hormigón suspendidas conteniendo gravilla y arena, y un sistema de riego por goteo de pvc.

Enraizamiento: en esta fase se generan un ambiente óptimo para el enraizado de las estaquillas, tales como luminosidad, humedad (90-95), y temperaturas (raíces 25-30°C). En enraizamiento las plantas permanecen de 30 a 40 días en verano y 60 a 80 días en invierno.

Cría: luego de la etapa de enraizamiento, las estquillas pasan a la fase de cría donde se producen una serie de clasificaciones, la primera generalmente se hace transcurrida la primera semana, con el fin de obtener estacas enraizadas y con brotación. Cabe mencionar que las que carecen de raíz son eliminadas. Asimismo, aquellas que no presentan brotación permanecen una semana más, para posteriormente ser reclasificadas con el objetivo de lograr la brotación de las estacas. De esta manera, a los 15 días aproximadamente se obtienen estacas enraizadas y con brotación, comenzando en este momento las primeras mediciones de esta investigación. Las estacas permanecen en esta fase, dependiendo de la necesidad de plantas en el campo y la disponibilidad de lugar, aproximadamente 40 días en primavera-verano y 60-70 días en invierno.

Las condiciones óptimas en esta fase son temperaturas entre 20-30°C, alta luminosidad, régimen de fertilización intensivo. El área de cría posee una superficie total aproximada de 3.500 m², conformados por 9 naves de 40 m x 9.60 m. Cada una de ésta cuenta con una estructura, diseño y tecnología que permiten regular las condiciones ambientales a lo largo del proceso de producción.

Rustificación: los plantines permanecen a la intemperie aproximadamente unos 15 días dependiendo de la demanda presente, para aclimatarlos al campo suministrándole prácticamente solo el riego, donde el máximo de duración se da en verano, unos 60 días.

Esta etapa de la investigación se desarrolla en el período comprendido entre los meses de febrero y mayo (cría y rusificación) de 2013. Mediado de febrero las estquillas pasaron a la fase de cría donde se realizan las clasificaciones de las mismas.

Para este estudio se procedió a seleccionar al azar estaquillas de dos tamaños, intermedios y grandes, el 16 de abril de 2013, donde además se realizaron mediciones de altura y diámetro, con regla y calibre respectivamente, y observaciones para determinar aspectos sanitarios de los tres híbridos de *Eucalyptus grandis*.

En la fase de rustificación el 4 de mayo de 2013 recibieron la primera aplicación de *Trichoderma harzianum* más quitosano.

Los plantines permanecieron entre la fase de cría y rustificación un periodo de tiempo de dos meses y medio.

Figura 13. Mapa del vivero



Fuente: elaboración propia.

Figura 14. Genotipos en fase de cría



Fuente: elaboración propia.

3.3.1 Trichosoil® y Biorend®

A continuación se presentan las aplicaciones de los productos comerciales utilizados en las fases de cría y rusificación.

Cuadro 3. Aplicaciones de Trichosoil® y Biorend®

Fases	Biorend®	Trichosoil®	Aplicación
Jardín clonal	20gm/Lts	30gm/Lts	1 vez por semana
Enraizamiento	20gm/Lts	30 gm/Lts.	1 vez por semana
Cría	No se aplica	No se aplica	
Rustificación	No se aplica	No se aplica	

Fuente: elaboración propia.

Como se observa en el Cuadro 3 la dosis aplicada de Trichosoil® fue de 30 gramos por litro de agua y de Biorend® 20 gramos por litro de agua, aplicados solo en las fases de Jardín clonal y enraizamiento.

Cabe mencionar que al final de la fase de rustificación, se prepararon los materiales de modo que cada bandeja tuviera un tratamiento de los estudiados, por lo que se obtuvieron 18 tratamientos total.

Bandejas con los tres genotipos evaluados, GU8, GT529 y GC514, con los dos tamaños, grandes e intermedios, y los tratamientos aplicados, testigo, una dosis y dos dosis extra de Trichosoil® y Biorend®.

3.3.2 Sustrato y bandejas

Sustrato de origen brasilero, con fertilizante de liberación lenta incluido. La composición del mismo es la siguiente: turba de Sphagno (turba rubia), vermiculita expandida, calcáreo dolomítico, yeso agrícola.

En la fase de cría, se utilizan bandejas de pvc constituidas por 150 cavidades, las cuales contienen tubetes de sección circular con una capacidad aproximada de 96 cm³. A los efectos de mejorar la circulación de aire y disminuir la incidencia de enfermedades causada principalmente por hongos, y

a su vez mejorar las condiciones para el desarrollo vegetal, se utilizan al 50% de su capacidad.

En relación a las bandejas utilizadas en la fase de rustificación, las mismas contienen 126 cavidades, construidas de tergopor, en las cuales se utilizaron al 100% de capacidad.

3.3.3 Riego

Este vivero cuenta con un sistema de riego que se realiza por aspersión, el cual está calibrado de forma tal que se asegure una adecuada distribución y homogeneidad del agua a todos los plantines.

Además mediante éste se realiza la fertilización, aplicación de *Trichoderma harzianum* más quitosano, y en caso de ser necesario la aplicación de insecticidas o funguicidas.

3.3.4 Fertilización

Se utiliza Osmocote, un fertilizante de liberación controlada el cual está compuesto de pequeños gránulos de nutrientes solubles al agua, diseñado para ayudar a producir plantas más verdes y grandes, en un período más corto de tiempo.

La dosis aplicada en verano es de 2 kg de superfosfato simple más 1,5 kg de Osmocote 19-06-10 por m³ de sustrato y para invierno: 3 kg de Osmocote 19-06-10 más 1,5 kg de superfosfato simple por m³ de sustrato.

Las fertilizaciones se realizan de manera conjunta con el riego, y las dosis de los fertilizantes varían en función de las exigencias de los plantines. En todos los casos, se pretende un buen desarrollo radical y aéreo, para lo cual el agregado de nutrientes al sistema planta-sustrato-microorganismo es fundamental.

El programa de fertilización es un aspecto muy importante desde el ciclo del plantín, debido a que la supervivencia de *Trichoderma* spp. va a depender del nivel de elementos nutritivos en el sustrato. Cabe mencionar que este agente no solo va a competir por nutrientes con otros patógenos, sino que

también con la planta. Es por ello, que el manejo de la fertilización es fundamental para disminuir la posibilidad de que existan deficiencias nutricionales en los plantines (Bóffano y Mosqueira, 2012).

Cuadro 4. Programa de fertilización en vivero

Fases	Días	Dosis fertilizantes
Jardín clonal	Lunes, Miércoles,Viernes	4 Kg Nutrigold (18-18-18)/nave + 1 Kg Urea/nave
Cría	Lunes, Miércoles,Viernes	3 Kg Nutrigold/nave + 1 Kg de Urea /nave.N P K (0-52-34)
Rustificación	1 vez por semana	4Kg Nutrigold/nave Fertyacil

Fuente: elaboración propia.

3.4 CARACTERÍSTICAS DEL SITIO DE PLANTACIÓN

Los grupos coneat presentes en el ensayo pertenecen a grupos de prioridad forestal, y dentro de estos a los suelos 7.2 y 7.31.

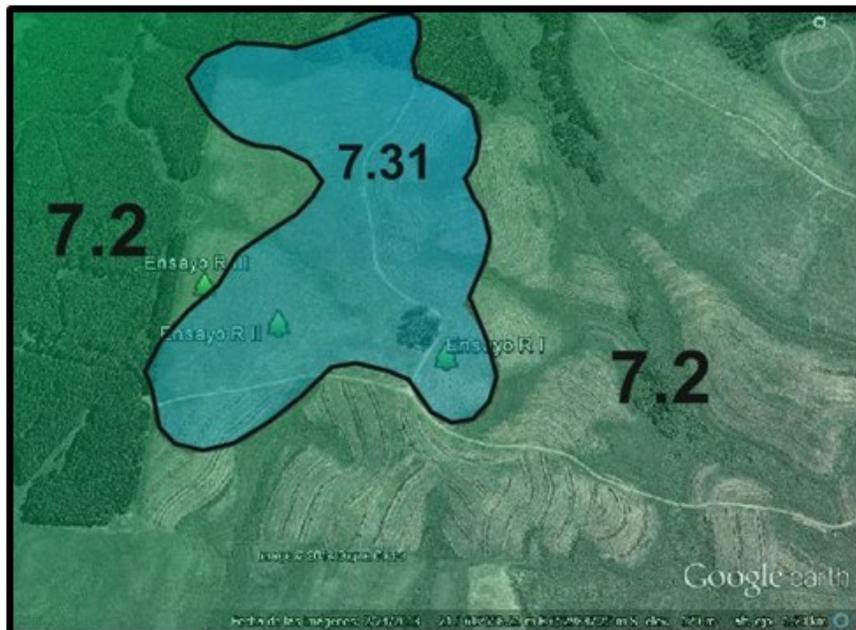
3.4.1 Suelo 7.2

Se localiza en toda el área de areniscas de Tacuarembó, ocupando las zonas de relieve más fuerte. El relieve lo forman colinas sedimentarias no rocosas con pendientes de 10 a 15%. El material geológico está constituido por areniscas de Tacuarembó. Los suelos dominantes son Inceptisoles Melánicos/Úmbricos (Regosoles) moderadamente profundos, de textura franco arenosa, color pardo muy oscuro, fertilidad muy baja y bien drenados. Asociados se encuentran Luvisoles Ócricos/Melánicos Abrúpticos/ Típicos (Praderas Arenosas gris amarillentas), muy profundos de color pardo amarillento oscuro, textura arenoso franca, bien drenados y fertilidad muy baja. La vegetación es la normal de la zona. No acepta agricultura. Este grupo integra, como asociado, las unidades Tacuarembó y Rivera de la carta a escala 1:1.000.000 (D.S.F.). Índice de Productividad 61(MGAP. SA, s.f.).

3.4.2 Suelo 7.31

Se localiza en los alrededores de la ciudad de Rivera, sobre las rutas 5, 27 y 30, hasta Tranqueras. El material geológico lo forman areniscas rojas, poco litificadas, apoyadas sobre areniscas de Tacuarembó. El relieve está constituido por colinas sedimentarias no rocosas, con pendientes de 6 - 10%. Los suelos dominantes son Acrisoles Ócricos Típicos (Praderas Arenosas rojas) muy profundos, de color pardo rojizo, textura arenoso franca, bien drenados y fertilidad extremadamente baja. Asociados, aparecen Acrisoles Ócricos Albicos muy profundos de color pardo oscuro, textura franco arenosa, bien drenados y fertilidad extremadamente baja. La vegetación es la normal de la zona; se puede hacer agricultura con medidas muy intensas de conservación, largas rotaciones con praderas y cuidando la toxicidad de aluminio. Actualmente se hacen cultivos especiales (tabaco y sandía) y de verano (maíz). Asimismo hay excelentes montes de eucaliptos. Este grupo integra la unidad Rivera de la carta a escala 1: 1.000.000 (D.S.F.). Índice de Productividad 66 (MGAP. SA, s.f.).

Figura 15. Grupos de Suelos Coneat



Fuente: Google Earth (2014).

3.4.3 Calendario de operaciones

Las primeras actividades llevadas a cabo en el sitio donde se estableció el ensayo, tuvieron como objetivo preparar el terreno para la repoblación forestal con los híbridos de *Eucalyptus grandis* utilizados en esta investigación.

Fines de marzo (2013) se aplicó herbicida a toda el área a plantar usándose Glofosato, dosis 4.5 L/ha.

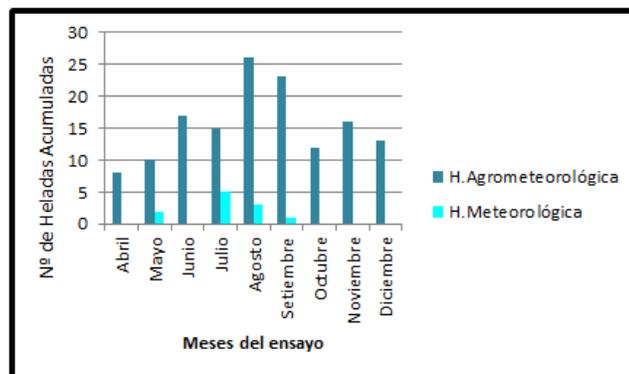
Fines de abril de 2013 se realizó un control sistemático de hormigas, aplicando 5kg/ha de Fipronil.

Antes de la plantación se aplicó Goal a razón de 3L/ha en fajas de 1,5 m de ancho. El trasplante de los híbridos se realizó el 13 de mayo de 2013 y durante el periodo evaluado (7 meses), no se realizó control de malezas, pero sí de hormigas con cebo tóxico.

3.4.4 Condiciones ambientales durante el ensayo

Para el desarrollo de las enfermedades tres condiciones deben darse simultáneamente, planta huésped susceptible, agente patógeno virulento y condiciones ambientales adecuadas para la enfermedad. Con respecto a esta última es clave, y se presentarán datos de heladas, precipitaciones, humedad y temperaturas medias, entendiéndose que estos factores inciden en el sistema planta-patógeno-ambiente, lo que determinan las condiciones para el crecimiento y desarrollo de los plantines en el campo.

Figura 16. Helada agrometeorológica y helada meteorológica acumuladas por mes



Fuente: INIA. GRAS (2014).

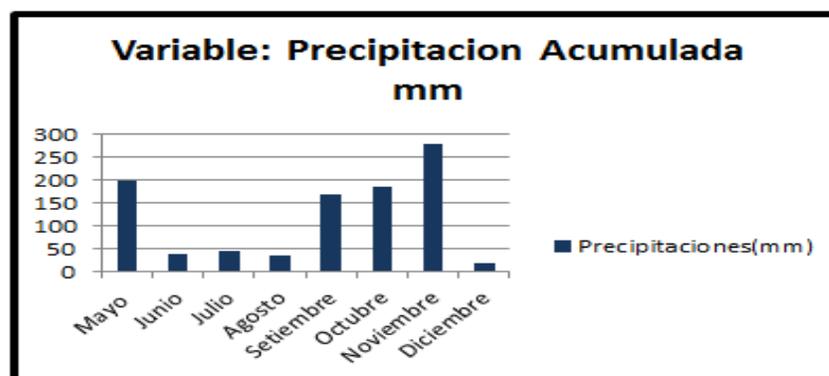
En este cuadro se aprecia el número de heladas acumuladas por mes, que se suscitaron durante los meses en que duro este trabajo.

Cuadro 5. Precipitación acumulada y Precipitación efectiva en mm por mes

	Precipitación Acumulada (mm)	Precipitación Efectiva (mm)
Período		
Abril	80.5	67.4
Mayo	200	130.8
Junio	38.4	38.3
Julio	46.3	44.8
Agosto	36	35.8
Setiembre	167.8	111
Octubre	185	146.9
Noviembre	279.1	205.7
Diciembre	18.5	18.3

Fuente: INIA. GRAS (2014).

Figura 17. Precipitación acumulada (mm) en función de los meses



Fuente: INIA. GRAS (2014).

En el Cuadro 5 se presentan los valores de precipitaciones acumulada y efectiva (fracción de la precipitación total que es aprovechada por las plantas, esta depende de muchos factores como la intensidad de la precipitación, el clima, y también de otros como la inclinación del terreno, contenido en humedad

del suelo o velocidad de infiltración), en el mismo se muestra que en los meses de mayo, setiembre y octubre presentan precipitaciones de 200, 167.5 y 185 mm respectivamente, el mayor valor lo presenta en noviembre con 279 mm. En los meses donde se registró mayores valores de precipitaciones acumuladas también se registraron los mayores valores de precipitaciones efectivas. El menor registro de precipitaciones se dio en el mes de diciembre y por ende el menor valor de precipitaciones efectiva.

Cuadro 6. Humedad relativa media en % por mes

Período	Humedad relativa media (%)
	Promedio
Abril	83.43
Mayo	87.87
Junio	85.17
Julio	86.16
Agosto	81.06
Setiembre	80.17
Octubre	87.13
Noviembre	86.63
Diciembre	70.87

Fuente: INIA. GRAS (2014).

Aquí se presentan los datos de Humedad relativa media, la humedad está considerada como el parámetro ambiental de más influencia en la distribución de *Trichoderma spp* en el suelo (Danielson y Davey, 1973). Como se puede observar los niveles fueron altos de humedad relativa, entre 70 % y 80 %.

La germinación conidial de *Trichoderma* es sensible a la humedad y *Trichoderma* coloniza la filósfera con mayor eficacia cuando ésta es alta (Elad y Kirshner, Gullino, citados por Pérez, 2004).

Cuadro 7. Temperaturas Max, Media, Min, y promedio en ° C por mes

Periodo	Temperatura Max °C	Temperatura Media °C	Temperatura Min °C	Temperatura Promedio
	Promedio	Promedio	Promedio	Promedio
Abril	23.66	16.89	10.61	17.16
Mayo	18.19	13.17	8.47	13.35
Junio	17.28	11.59	6.18	11.75
Julio	17.36	11.3	5.82	11.61
Agosto	17.45	10.61	4.81	11.16
Setiembre	20.88	14.7	9.09	15
Octubre	23.05	17.1	11.39	17.24
Noviembre	25.72	20.58	15.66	20.7
Diciembre	31.44	24.74	17.66	24.57

Fuente: INIA. GRAS (2014).

En el Cuadro 7 se presentan los valores de temperatura máxima, media, mínimo y el promedio para los meses en que se realizó el ensayo. En el mismo se puede ver que las temperaturas máximas se dan en los meses de abril, octubre, noviembre y diciembre. Presentando las mínimas en los meses de julio y agosto.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este estudio se basó en la utilización de un software R Development Core Team, para evaluar los datos y así obtener los resultados. El mismo utilizó como nivel de significancia en el caso de estudio efecto de *Trichoderma harzianum* más quitosano, sobre los genotipos y el tamaño para la variable altura 0.13 m en adelante, para el caso del efecto del genotipo sobre el tamaño y aplicación de *Trichoderma harzianum* más quitosano, variable altura 0.19 m.

Mientras que para el caso del efecto de *Trichoderma harzianum* más quitosano, sobre los genotipos y el tamaño para la variable diámetro utilizo como nivel de significancia 0.25 cm en adelante y para efecto del genotipo sobre el tamaño y aplicación de *Trichoderma harzianum* más quitosano, variable diámetro 0.25 cm.

En las dos etapas de esta investigación se formularon diferentes hipótesis biológicas y estadísticas a los efectos de aceptar o rechazar cada una según corresponda.

En el caso de la etapa de vivero se utilizaron los datos obtenidos de la medición de los plantines en la etapa de cría.

En la etapa de campo se realizaron dos evaluaciones en distintos momentos, en el mes de setiembre se evaluó sobrevivencia y daños por heladas. En el mes de diciembre se evaluó solo crecimiento (altura y diámetro).

4.1 VIVERO

En esta etapa se parte de dos tamaños (grandes e intermedios) diferentes de plantines como base para el estudio posterior a campo.

4.1.1 Variable altura

En el análisis de varianza para la variable en estudio (ANAVA) se observó que el p valor ($2e-16$) para los genotipos en estudio es menor que el α considerado, por lo que se rechaza H_0 con una probabilidad α de cometer error de tipo I, por lo que significativamente existen dos tamaños de plantines diferentes (grandes e intermedios).

4.1.2 Sanidad en vivero

En lo referente a las enfermedades comunes presentes en vivero tales como *Alternaria*, damping off, *Botrytis cinerea* no se observaron síntomas, por lo que se puede decir que *Trichoderma harzianum* más quitosano ejercieron un control positivo sobre dichas enfermedades.

4.2 PLANTACIÓN

En Uruguay no hay datos de investigación en la que se haya estudiado *Trichoderma harzianum* y quitosano en forma conjunta por un periodo prolongado de tiempo en híbridos de Eucalyptus, si bien Bóffano y Mosqueira (2012), estudiaron un periodo de tiempo de 2 meses post-plantación el efecto en el crecimiento de usar *Trichoderma harzianum* más quitosano. Debido a la poca información a nivel nacional e internacional en torno a los efectos en el crecimiento de la aplicación conjunta *Trichoderma harzianum* más quitosano en especies forestales, es necesario establecer nuevas investigaciones, por lo que este estudio abarca un periodo de 7 meses donde se evaluó crecimiento (altura, diámetro) y sobrevivencia.

4.2.1 Crecimiento

Como se mencionó en la revisión el crecimiento de los árboles, es el resultado de la modificación de variables como: diámetro, altura, área basal y volumen, las cuales, biológicamente, cambian debido a la actividad de los meristemos primarios, que se encargan del crecimiento longitudinal, como la altura y los meristemos secundarios, que dan lugar al crecimiento en diámetro (Diéguez et al., García, citados por Lozano, 2012). El crecimiento de un árbol, puede presentar variaciones en sus dimensiones, debido a factores genéticos de las especies, por influencia de los factores climáticos, como: temperatura, precipitación, viento, iluminación; por las características físicas, químicas y biológicas de los suelos; por la topografía del sitio; por las diferentes enfermedades o plagas que se presenten; o por la propia competencia con otros árboles y otros tipos de vegetación (Imaña y Encinas, citados por Lozano, 2012).

En esta etapa de la investigación el crecimiento de los árboles se evaluó mediante dos variables, midiendo la altura desde el nivel del suelo hasta el ápice terminal, y diámetro del cuello de los individuos.

4.2.1.1 Variable altura

Mediante la variable altura se evaluó la respuesta al crecimiento de tres híbridos de *E.grandis*, sin, una y dos aplicaciones de *Trichoderma harzianum* más quitosano. A continuación se presentan los tamaños promedios que presentaron los plantines en fase de cría.

Cuadro 8. Altura promedio de los plantines, tamaño 1 y 2

Genotipos	Tamaño 1 (cm)	Tamaño 2 (cm)
GC514	20	11
GT529	16	12
GU8	16	11

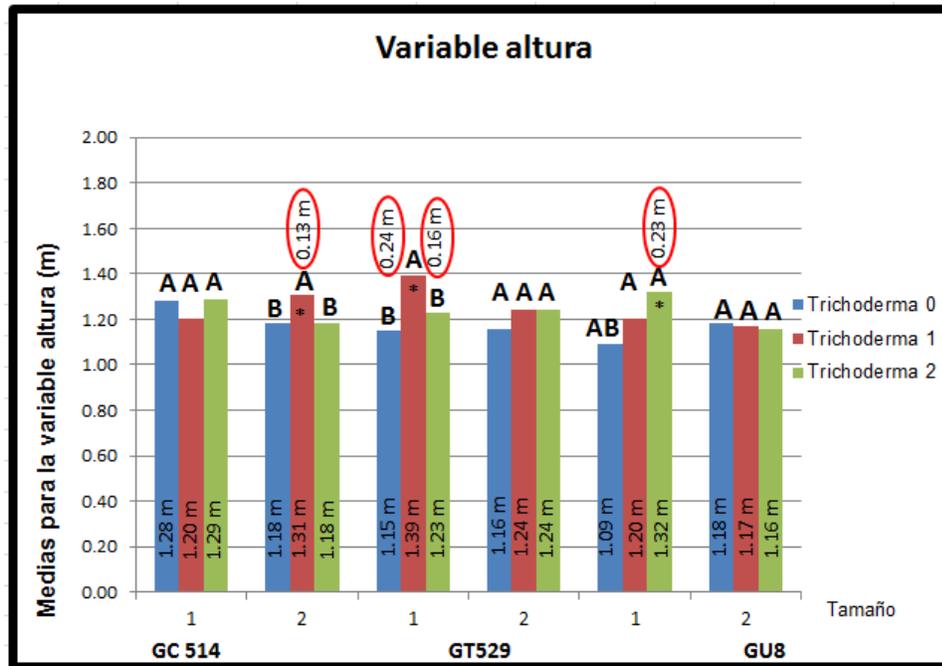
Fuente: elaboración propia.

El análisis de varianza mostro que las interacciones significativas fueron las siguientes: bloque, genotipo, gen:tam , gen:trich, tam:trich,y la triple interacción gen:tam:trich.

Debido a que es un diseño factorial y en este buscamos estudiar las interacciones entre factores, el análisis de varianza se comenzó a visualizar de abajo hacia arriba; comenzando por la interacción triple ($p=0.0001757$), el resto de las interacciones, dobles y efectos simples, pierden importancia frente a esta. La interacción triple fue estudiada desde tres puntos de vista desde la aplicación de *Trichoderma harzianum* más quitosano, desde el tamaño y desde el genotipo.

Efecto desde el punto de vista de *Trichoderma harzianum* y quitosano, sobre el genotipo y el tamaño.

Figura 18. Efecto de *Trichoderma harzianum* más quitosano, sobre los genotipos y el tamaño para la variable altura



Fuente: elaboracion propia. *nivel de confianza de 0.05.

Para el genotipo GC514 tamaño grande (1) se observó que las aplicaciones 1 y 2 de *Trichoderma harzianum* más quitosano no mostraron diferencias frente al testigo.

Para el tamaño intermedio (2) se observó que hubo una respuesta mayor en la variable altura con una aplicación donde el incremento fue de 0.13 m con respecto al testigo y dos aplicaciones. Un estudio realizado por Donoso et al. (2008), sobre el efecto de *Trichoderma harzianum* y compost sobre el crecimiento de plántulas de *Pinus radiata* en vivero, encontraron que la altura de las plantas mostraron el mayor valor en el tratamiento perlita + compost + *T. harzianum* (29.3 cm), diferenciándose tanto del control (22.6 cm) como de los otros tratamientos, los que no mostraron diferencias significativas entre ellos.

Genotipo GT529 tamaño 1, con una aplicación de *Trichoderma harzianum* más quitosano, el incremento en altura fue de 0.16 m con respecto a dos aplicaciones y de 0.24 m frente al testigo, si se compara los resultados obtenidos en este caso con los obtenidos por Soto (2002), el que observó que

las plantas sembradas con *T.harzianum* presentaron diferencias notorias en el crecimiento (altura, follaje, y florecimiento), a las diez semanas de cultivo para los belenes y para las esquévolas, respecto a las plantas control. Se observó un mayor crecimiento (altura) de los belenes al sembrarlo con 10^5 y 10^6 Unidades Formadoras de Colonias cada un gramo de suelo (UFC/g de suelo), 16 cm y 15 cm respectivamente con respecto al cultivo control cuyo crecimiento fue de 9 cm. El mayor número de hojas se observó con 10^5 y 10^6 UFC/g de suelo (36 y 38 hojas respectivamente) respecto de las plantas control que desarrollaron 20 hojas. A las 10 semanas el control no presento botones, las plantas con $10^5, 10^6, 10^7$, UFC/g presentaron 2, 4 y 1 botones respectivamente. Mientras que para las esquévolas se observó un mayor crecimiento (altura) al sembrarlas con 10^6 UFC/g de suelo (50cm) con respecto al cultivo control cuyo crecimiento fue de 37 cm. El mayor número de hojas se observó con 10^5 y 10^6 UFC/g de suelo (40 y 36 hojas respectivamente) respecto de las plantas control que desarrollaron 29 hojas. A la cuarta semana plantas con concentración de 10^6 UFC/g presentaron 20 flores en comparación con el testigo 7 flores.

Genotipo GT529 tamaño 2, se observó que no hubo diferencias significativas entre las aplicaciones de *Trichoderma harzianum* más quitosano

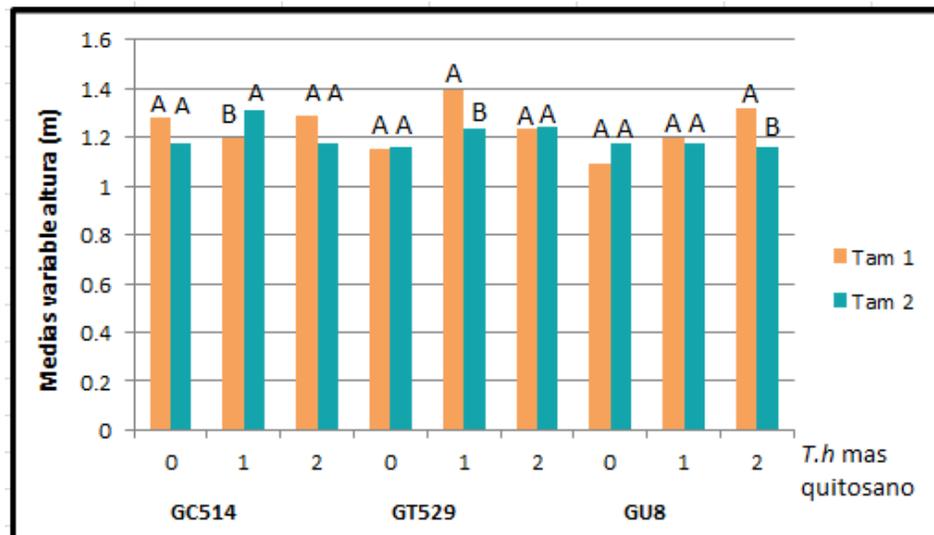
Genotipo GU8 tamaño 1, con dos aplicaciones se observó un incremento en altura de 0.23 m con respecto al testigo. Un estudio, en diferentes especies hortícolas, revela que la altura de las plantas tratadas con *T. harzianum* en todos los ensayos fue mayor y con diferencias significativas entre tratamientos. Comparando el tratamiento con *T. harzianum* con el testigo, este aumento representó un 36% más en tomate, un 17% en pimiento y un 6% en pepino, (Galeano s.f.). Arros (2011), en su estudio en maíz dulce detecto diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las medias de los distintos tratamientos. Las alturas más altas las presentaron los tratamientos 7 (con inoculaciones en la semilla, al suelo, y en el camellón) y 6 (con inoculaciones al suelo y al camellón) con valores de 93,4 cm. y 89,92 cm., respectivamente. El tratamiento 8 (testigo) presentó la media más baja 39,41cm. Esto confirma lo señalado por Wildman et al. (1986) el cual señala que *Trichoderma harzianum* (una de las tres cepas que contiene el biocontrolador) podría incrementar el crecimiento de las plantas por medio de un factor regulador del crecimiento, el cual aumentaría la tasa de germinación de semillas y el peso seco de plantas.

En un estudio realizado por BIOAGRO (2007), con aplicación de Biorend en plantación nueva de Arándanos, se obtuvo que, cuando se realizó aplicación de Biorend en el contenedor más riego se observó mayor crecimiento de la ramilla con un 113% superior que el testigo, mientras que cuando se realizó solamente riego fue de 99% superior al testigo. También se estudió vía riego el crecimiento en altura sobre los dos centímetros de bifurcación del eje, para la altura se obtuvo un 160% superior al testigo al realizar aplicación.

Genotipo GU8 tamaño 2, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos, es decir que la respuesta en crecimiento fue la misma al aplicar o no las dosis extra de *Trichoderma harzianum* más quitosano.

Efecto desde el punto de vista del tamaño sobre el genotipo y *Trichoderma harzianum* más quitosano.

Figura 19. Efecto del tamaño sobre los genotipos y *Trichoderma harzianum* más quitosano, variable altura



Fuente: elaboración propia. *nivel de confianza de 0.05.

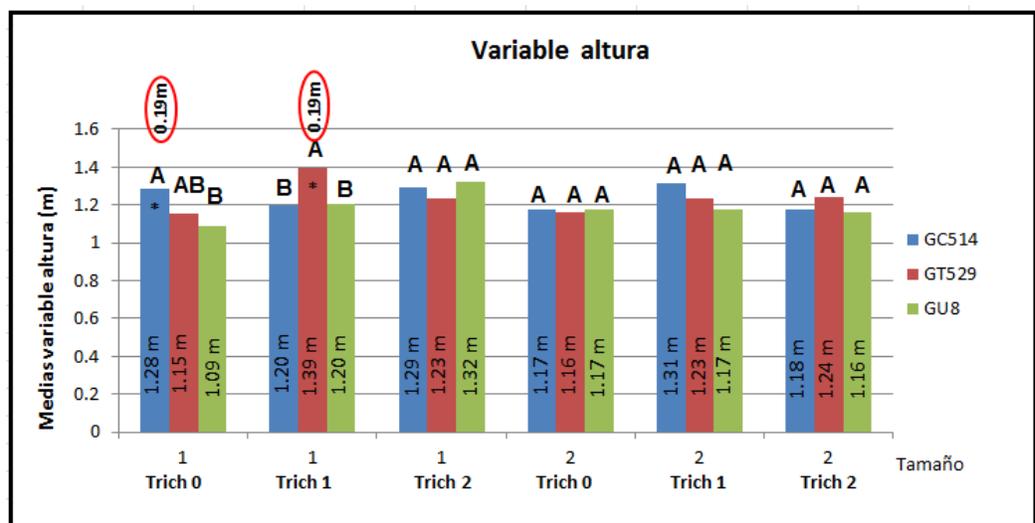
Para el genotipo GC514 los testigos no evidenciaron diferencias entre los tamaños. Cuando se realizó una aplicación el tamaño 2 respondió mejor que el tamaño 1. Mientras que con dos aplicaciones no hubieron diferencias entre los tamaños.

Genotipo GT529, testigos no evidenciaron diferencias significativas entre los dos tamaños evaluados. Al realizar una aplicación, quien respondió de mejor manera fue el tamaño 1, en cambio cuando se realizaron dos aplicaciones no hubo diferencias entre tamaños.

Genotipo GU8, los testigos se comportaron de la misma manera. Con una aplicación no hubo diferencias entre los tamaños. Para el caso de dos aplicaciones el tamaño 1 se comportó mejor.

Efecto desde el punto de vista del genotipo sobre tamaño y *Trichoderma harzianum* más quitosano.

Figura 20. Efecto del genotipo sobre el tamaño y aplicación de *Trichoderma harzianum* más quitosano, variable altura



Fuente: elaboración propia. *nivel de confianza de 0.05.

Para los testigos caso tamaño 1 los genotipos que se comportaron mejor fueron el GC514 y el GT529. Se observaron diferencias significativas entre los genotipos GU8 y GC514 con un incremento de 0.19 m para el genotipo GC514. Para el tamaño 2 los genotipos evaluados no presentaron diferencias entre ellos.

Con una aplicación de *Trichoderma harzianum* y quitosano para el tamaño 1 el genotipo que se destacó fue el GT529, éste presentó un incremento en altura de 0.19 m superior al genotipo GC514 y un incremento

de 0.18 m superior al genotipo GU8. Los genotipos GU8 y GC514 se comportaron igual. Para el tamaño 2 el comportamiento de los genotipos fue el mismo.

Con 2 aplicaciones de *Trichoderma harzianum* y quitosano tanto para el tamaño 1 como para el tamaño 2, los genotipos no presentaron diferencias significativas entre ellos.

4.2.1.2 Variable diámetro

Mediante la variable diámetro se evaluó la respuesta al crecimiento de tres híbridos de *E.grandis*, sin, una y dos aplicaciones de *Trichoderma harzianum* más quitosano.

A continuación se presentan los diámetros promedios que presentaron los plantines en fase de cría.

Cuadro 9. Diámetro promedio de los plantines según genotipos

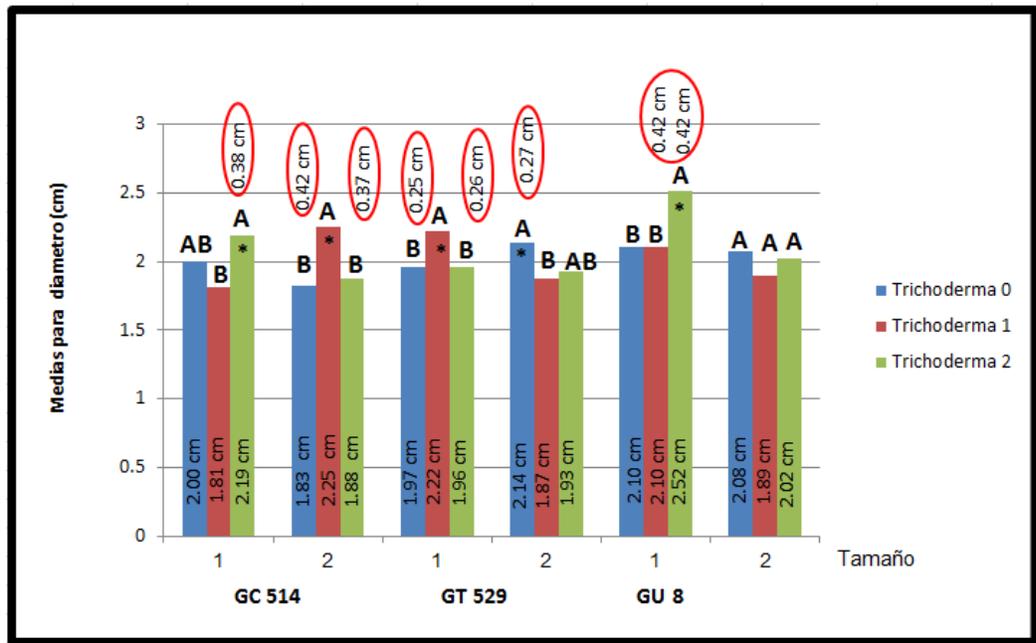
Genotipos	Tamaño 1 (mm)	Tamaño 2 (mm)
GC514	2.2	1.74
GT529	2.69	1.93
GU8	2.71	2.05

Fuente: elaboración propia.

Al igual que en el caso de altura, como dio la triple interacción (1.358E-08) nos enfocaremos en ella y sera estudiada desde tres puntos de vista desde la aplicación de *Trichoderma harzianum* más quitosano, desde el tamaño y desde el genotipo.

Efecto desde el punto de vista de *Trichoderma harzianum* y quitosano, sobre el genotipo y el tamaño para la variable diámetro.

Figura 21. Efecto de *Trichoderma harzianum* más quitosano, sobre los genotipos y el tamaño para la variable diámetro



Fuente: elaboración propia. *nivel de confianza de 0.05.

Para el caso del Genotipo GC514 tamaño 1, se observó que hubo diferencias significativas para 1 y 2 aplicaciones, resultando en un incremento de diámetro de 0.38 cm al realizar 2 aplicaciones.

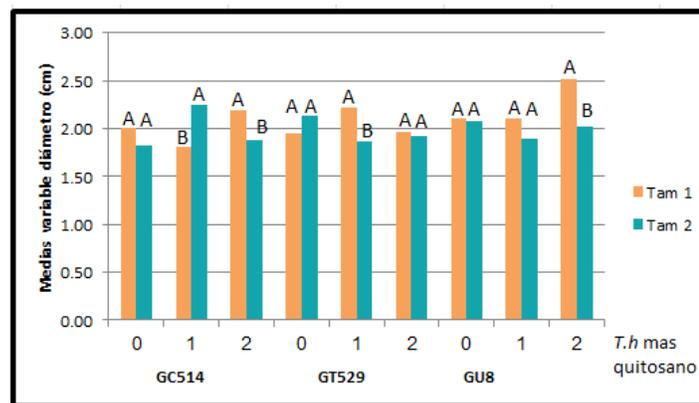
Para el tamaño 2, se visualiza que el crecimiento en diámetro respondió de mejor manera ante la aplicación de una sola dosis de *Trichoderma harzianum* más quitosano, obteniéndose crecimientos de 0.42 cm y 0.37 cm superior al testigo y dos aplicaciones respectivamente. Además se observa que no hubo diferencias significativas entre testigo o aplicar dos dosis. Según CORFO (2002), al aplicarse quitosano exógeno a semillas de diversas especies anuales, se supuso que esto induciría a una respuesta de defensa frente a un patógeno no presente, que al traducirse en cambios bioquímicos, citogenéticos y estructurales se manifestó en sistemas radiculares de mayor desarrollo, tallos más gruesos y mayor lignina en las paredes celulares, en este sentido se estaría produciendo un efecto bioestimulante que incrementaría el potencial del rendimiento de la especie al presentar un mejor comportamiento frente a un estrés ambiental (CORFO, 2002).

Para el Genotipo GT529 tamaño 1, sucede lo mismo que en el caso anterior, hay una respuesta diferencial y superior ante la aplicación de una sola dosis de *Trichoderma harzianum* más quitosano, de 0.25 cm con respecto al testigo y 0.26 cm frente a dos aplicaciones. Se observa que no hay diferencias significativas entre testigo o aplicar dos dosis. En un estudio realizado por BIOAGRO (2007), con aplicación de Biorend en plantación nueva de Arándanos, se obtuvo que, cuando se estudió vía riego el crecimiento en diámetro con aplicación fue 92,8% superior al testigo.

Para el Genotipo GT529 tamaño 2, al no aplicar *Trichoderma harzianum* más quitosano, el crecimiento en diámetro respondió mejor (0.27 cm) que al realizar una aplicación. Entre testigo y dos aplicaciones no se observaron diferencias significativas al igual que con dos y una aplicación.

Para el caso del Genotipo GU8 tamaño 1, al realizar dos aplicaciones de *Trichoderma harzianum* más quitosano se observó un incremento en diámetro de 0.42 cm con respecto al testigo y una aplicación. Genotipo GU8 tamaño 2, no hay diferencias significativas entre los tratamientos, es decir que el efecto conseguido en el crecimiento en diámetro con y sin aplicación extra de *Trichoderma harzianum* más quitosano, fue el mismo para todos los tratamientos.

Figura 22. Efecto del tamaño sobre los genotipos y *Trichoderma harzianum* más quitosano, para la variable diámetro



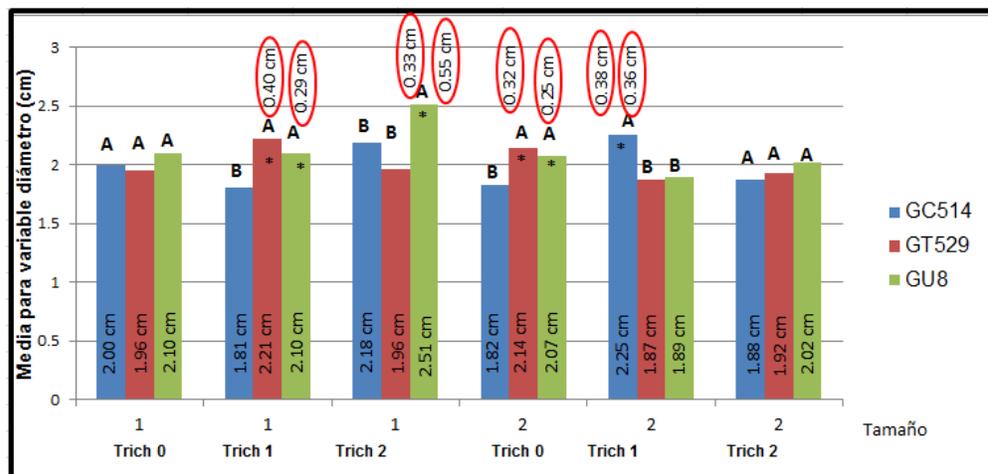
Fuente: elaboración propia. *nivel de confianza de 0.05.

Para el genotipo GC514 los testigos no evidenciaron diferencias entre los tamaños. Cuando se realizó una aplicación el tamaño 2 respondió mejor que el tamaño 1. Mientras que con dos aplicaciones el tamaño 1 se comportó mejor.

Genotipo GT529, testigos, no se observaron diferencias entre los dos tamaños evaluadas. Al realizar una aplicación la respuesta en crecimiento en diámetro fue mayor para el tamaño 1, mientras que al realizar dos aplicaciones no evidenciaron diferencias significativas entre los tamaños.

Genotipo GU8, testigos y una aplicación extra no evidencio diferencias significativas entre los dos tamaños. Con dos aplicaciones quien se comportó mejor fue el tamaño 1.

Figura 23. Efecto del genotipo sobre el tamaño y aplicación de *Trichoderma harzianum* más quitosano, variable diámetro



Fuente: elaboración propia. *nivel de confianza de 0.05.

Con respecto al tamaño 1, en los testigos no se observaron diferencias significativas entre los genotipos. Para el caso del tamaño 2, los genotipos que se comportaron mejor fueron GT529 con incrementos de 0.32 cm y GU8 con 0.25 cm, con respecto al genotipo GC514.

Para una aplicación de *Trichoderma harzianum* más quitosano tamaño 1, los genotipos GT529 y GU8 no presentaron diferencias entre ellos, siendo GT529 0.40 cm y GU8 0.29 cm superiores al genotipo GC514 con quien si presentaron diferencias estadísticas.

En el caso del tamaño 2, quien se destaco fue el genotipo GC514, con 0.38 cm y 0.36 cm por encima de los genotipos GT529 y GU8 respectivamente, donde estos últimos no presentaron diferencias significativas entre ellos.

Para dos aplicaciones, tamaño 1 se observó que el genotipo GU8 presento una mayor respuesta en crecimiento en diámetro presentando un valor de 0.33 cm por encima del genotipo GC514, y de 0.55 cm por encima del genotipo GT529. Para los genotipos GT529 y GC514 no mostraron diferencias significativas entre ellos. Para el caso del tamaño 2 los tres genotipos se comportaron de igual manera.

Las hipótesis que fueron planteadas como forma de explicar los resultados obtenidos para la variable crecimiento (altura y diámetro) fueron menor masa radicular, lo que afecto directamente a la sobrevivencia y el crecimiento.

Competencia con malezas en el periodo (primavera) de mayor crecimiento para los híbridos.

El control de malezas es una de las actividades claves para la sobrevivencia, crecimiento y uniformidad de una plantación de eucaliptos. Durante los primeros 3 a 6 meses de la plantación, el efecto de la competencia se evidencia en menores tasas de sobrevivencia, obligando al replante, mientras que después de este período hay una disminución del crecimiento debido al efecto en el sistema radicular lateral de las plantas por la pérdida de nutrientes y humedad, dicho efecto puede reflejarse durante los dos primeros años de la plantación (Albano y Dávila, 2012).

Evaluaciones realizadas en Chile, indican un efecto negativo de las malezas en la altura total, el diámetro basal, el área foliar, el peso seco y el contenido total de nutrientes en plantas de eucalipto con disminuciones que variaron entre un 29% y un 77% (Albano y Dávila, 2012).

En situaciones de elevada competencia de malezas el efecto puede ocasionar la pérdida de la plantación o aumentar la mortandad. La eliminación de las malezas en las plantaciones es importante, dado que es determinante de la sobrevivencia de la plantación; según Sánchez (1997), el 75 a 90 % de la mortalidad potencial puede ser explicada por la intensidad del control de malezas (Villalba, 2010).

El ensayo bajo estudio no presento control de malezas, para la evaluación del crecimiento de los individuos, tener presente en el ensayo una gran cantidad de malezas, puede estar afectando el crecimiento en altura y diámetro, dado la competencia por nutrientes, espacio, luz, etc, esta competencia puede estar explicando en parte además de las heladas, el incremento en los individuos muertos.

Figura 24. Malezas compitiendo con los individuos de interés



Fuente: elaboración propia.

Otra de las hipótesis manejadas fue el daño por hormigas que conlleva a un menor crecimiento de las variables estudiadas.

En todos los individuos del ensayo se observó ataque de hormigas cortadoras, los síntomas que se detectaron fueron ápices removidos, superbrotación, bifurcación y tallos múltiples, ver figura 25 y 26. Como se sabe las hormigas cortan fragmentos de hojas y brotes de los árboles lo cual provoca retraso en el crecimiento y produce mal formaciones. A campo se apreciaron plantas con fuerte defoliación no superando los 50 cm de altura, mientras que los que no sufrieron daños presentaron en promedio 1.2 m de altura. Según reportes de Achinelli (2013), pueden presentarse daños directos como mortalidad de plantas, reducción de crecimiento, defoliación del fuste, así como daños indirectos tales como crecimiento desparejo en el rodal, y en un futuro necesidad de podas de formación.

Figura 25. Ápices removidos por ataques de hormigas (C), producción de superbrotación (D y E)



Fuente: elaboración propia.

Figura 26. Tallos múltiples (F), bifurcación (G)



Fuente: elaboración propia.

Como síntesis final se puede decir que se observó una correspondencia entre la variable altura y diámetro para los siguientes casos, genotipo GC514

tamaño 2 con una aplicación extra de *Trichoderma harzianum* más quitosano el crecimiento en altura fue de 0.13 m superior al testigo y a los individuos que presentaron dos dosis, mientras que el crecimiento en diámetro fue de 0.42 cm y 0.37 cm superior al testigo y dos dosis respectivamente.

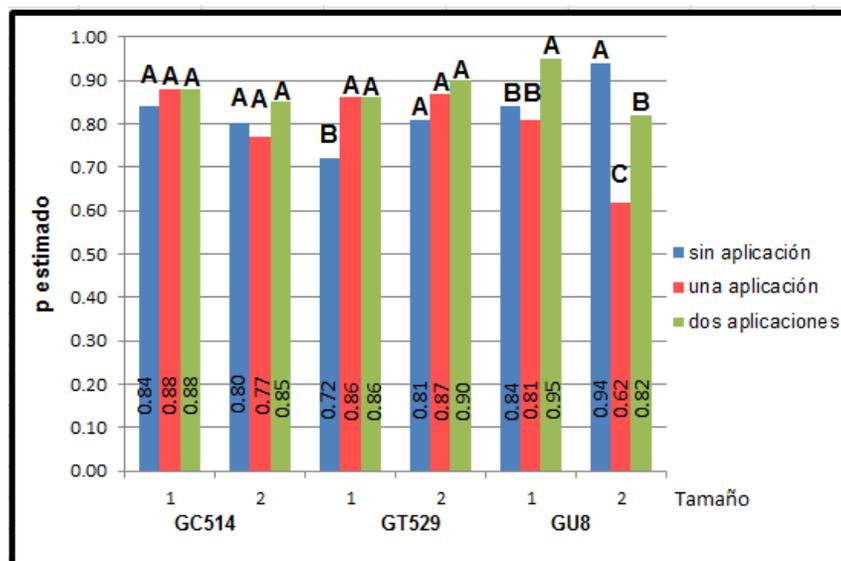
Genotipo GT529 tamaño 1 con una aplicación extra se obtuvo un incremento en altura de 0.24 m y 0.16 m superior al testigo y dos dosis respectivamente; para el caso de la variable diámetro el incremento fue de 0.25 cm y 0.26 cm superior al testigo y dos dosis.

Genotipo GU8 tamaño 1 con dos aplicaciones extra de *Trichoderma harzianum* más quitosano el incremento en altura fue de 0.23 m superior al testigo y una dosis extra, mientras que el incremento en diámetro fue de 0.42 cm superior al testigo y una dosis.

4.3 SOBREVIVENCIA

Se determinó la sobrevivencia en plantación de los tres híbridos de *Eucalyptus grandis*, mediante un modelo lineal generalizado asumiendo una distribución binomial de la variable aleatoria.

Figura 27. Probabilidad de sobrevivencia según genotipo, tamaño y aplicación de *Trichoderma harzianum* más quitosano



Fuente: elaboración propia. *nivel de confianza de 0.10.

Genotipo GC514 tamaño 1 y tamaño 2, no presentaron diferencias significativas entre aplicar dosis extra *Trichoderma harzianum* más quitosano o no aplicar.

Los resultados de sobrevivencia obtenidos por Bóffano y Mosqueira (2012), para el genotipo GC514 cuando se aplicó tratamiento fue de 0.90 mientras que sin el mismo fue 0.93, ellos realizaron ese estudio en un solo tamaño (tamaño grande). En otros cultivos como en plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) tratadas con quitosano mostraron un porcentaje mayor de sobrevivencia no registrándose pérdidas al no sufrir deshidratación apreciables. A los 30 días de haberlas trasplantados existió un mayor desarrollo respecto al testigo, un mayor número de hojas en el cultivo (20% más), con respecto a la materia seca en gramos se observó que el peso promedio del tallo y hojas fue 2.64 veces superior al testigo y el de la raíz 1.39 veces superior al testigo (CORFO, 2002).

Genotipo GT529 tamaño 1 no se observaron diferencias significativas entre aplicar una o dos dosis presentando la mejor respuesta (probabilidad de sobrevivencia de 0.86), frente al testigo (probabilidad de sobrevivencia de 0.72).

Para el caso del tamaño 2, no mostraron diferencias significativas entre aplicar dosis extra o no aplicar *Trichoderma harzianum* más quitosano. Lo obtenido se asemeja con lo que obtuvo Bóffano y Mosqueira (2012), para este mismo genotipo donde no se encontraron diferencias significativas para la sobrevivencia con y sin aplicación de *Trichoderma harzianum* más quitosano. En investigaciones realizadas por (BIOAGRO, 2007) encontraron que el quitosano, al conferir resistencia a la pared celular vegetal, permite a las plantas tratadas resistir en mejor forma el stress hídrico, tanto el exceso como la falta de agua y, por tal motivo, se han observado buenos resultados en arroz y en plantas creciendo bajo condiciones de sequía, en plantaciones y cultivos en suelos rojo-arcillosos, en plantas creciendo en suelos con poca disponibilidad de agua, etc. En este mismo sentido, el quitosano protege a las raíces de las plantas tratadas de las pérdidas de agua o deshidrataciones normales al momento del trasplante, permitiendo un mejor y rápido crecimiento radicular de las plantas tratadas en suelos con bajo nivel de agua. Esta puede ser la una de las posibles explicaciones de porque los plantines del tamaño 2 presentaron una respuesta con respecto al porcentaje de sobrevivencia muy similar a los plantines del tamaño 1.

Genotipo GU8 tamaño 1, no hubo diferencias significativas entre una aplicación y el testigo. Con dos aplicaciones se observó la mejor respuesta (probabilidad de sobrevivencia de 0.95). No habiendo diferencias significativas para dos aplicaciones y el testigo.

Genotipo GU8 tamaño 2, presento diferencias significativas entre los tratamientos realizados (sin, una y dos aplicaciones extra) se comportó mejor el testigo con una probabilidad de sobrevivencia de 0.94 y cuando se le aplicaron 2 dosis con una probabilidad de 0.82. Al realizar una aplicación la probabilidad de sobrevivencia fue de 0.62, presentando el menor valor de los genotipos, tamaños y aplicaciones (sin, una y dos extra) que fueron evaluadas. En la investigación realizada por Bóffano y Mosqueira (2012), observaron que para la sobrevivencia con una dosis extra de *Trichosoil* (*Trichoderma harzianum*) y Biorend (quitosano) fue positivo. Dado que la proporción de sobrevivientes obtenida fue de 0.94, mientras que sin el tratamiento, fue de 0.80.

Cabe destacar que entre tamaños 1 y 2 no se encontraron diferencias significativas entre los porcentajes de sobrevivencia para los genotipos GC514 y GT529, con excepción del caso GC514 con una aplicación extra de *Trichoderma harzianum* más quitosano donde la probabilidad de sobrevivencia fue mayor para el tamaño 1.

No es la misma situación para el genotipo GU8, donde el porcentaje de sobrevivencia (0.94) del testigo en el tamaño 2 fue mayor. Con una aplicación el tamaño 1 presento una mayor probabilidad de sobrevivencia (0.81) con respecto al tamaño 2 (0.62). Mientras que con dos aplicaciones la probabilidad de sobrevivencia de los individuos fue mejor para el caso del tamaño 1 (0.95) con respecto al tamaño 2 (0.82).

Los valores de sobrevivencia (0.62) observados en el genotipo GU8 tamaño 2 puede deberse a que al momento del trasplante a campo el sistema radicular de los plantines era escaso o casi nulo (ver figura 28), esa es una de las hipótesis que se mencionaba anteriormente para darle explicación a tan baja sobrevivencia, ya que en el caso del tamaño 1 los porcentajes de sobrevivencia no fueron bajos y además respondieron a la aplicación conjunta de *Trichoderma harzianum* más quitosano de forma favorable, por lo que se descarta un efecto de toxicidad.

El quitosano presenta una buena alternativa en el uso de árboles forestales (Pino y Eucalyptus), cítricos, vides, paltos, carozo, pepita, olivo, etc. con la consiguiente protección contra enfermedades del cuello y la raíz en almacigueras y durante los primeros estados de desarrollo de las plantaciones comerciales, mejorando la sobrevivencia después del trasplante o injerto (BIOAGRO, 2007).

Figura 28. Desarrollo del sistema radicular



Fuente: elaboración propia. Plantas intermedias 1, 3 5 y plantas grandes 2,4, 6.

4.3.1 Daños por heladas

En todos los meses que duro este ensayo (abril-diciembre) se presentaron heladas agrometeorológicas, registrándose el mayor número en los meses de agosto y setiembre, mientras que para el caso de heladas meteorológicas se registraron más en los meses de julio y agosto.

El daño provocado por estas heladas (principalmente en estos meses) se cuantifico mediante la determinación de cantidad de plantas vivas y plantas afectadas, brotes afectados, hojas afectadas, ápices y brotes muertos.

Se cuantifico este daño mediante los parámetros incidencia y severidad.

4.3.1.1 Incidencia

$$\text{Incidencia: } \frac{\text{Plantas afectadas}}{\text{Plantas totales}} \times 100$$

Cuadro 10. Daños por heladas genotipo GC514

Gen	Tam	T.harzianum y quitosano	Plantas vivas	Brotes afectados (%)	Hojas afectadas (%)	Ápices y brotes muertos (%)
GC514	1	0	75	13,3	9,3	8,0
GC514	1	1	79	3,8	11,4	5,1
Gc514	1	2	79	2,5	6,3	8,9
GC514	2	0	71	11,3	14,1	5,6
GC514	2	1	70	8,6	-----	10,0
GC514	2	2	53*	9,4	18,9	13,2

*Parcela faltante bloque III. *Porcentajes referidos al total de plantas vivas.

Fuente: datos relevados a campo.

Para el tamaño 1, los daños provocados por heladas en los brotes fue de 2.5%, en las hojas de 6.3% y en los ápices y brotes muertos de 8.9%. Se

puede decir que para el tamaño 1 con dos aplicaciones es donde se observaron menos daños por heladas esto puede ser explicado por la aplicación de *Trichoderma harzianum* más quitosano, en estudios realizados anteriormente se ha observado ciertos mecanismos de defensa de las plantas tratadas con quitosano en condiciones de bajas temperaturas, confiriéndole a las células vegetales una mejor protección debido al engrosamiento de sus paredes celulares (BIOAGRO, 2007).

Para el GC514 tamaño 2 (plantines intermedios) con cero aplicación de *Trichoderma harzianum* más quitosano, se pudo observar que el daño provocado por heladas afecto en un 11.3% los brotes y un 14.1% las hojas; mientras que ápices y brotes muertos constituyeron un 5.6%.

Para el tamaño 2 se observó que cuando no se realizó aplicación presento mayor porcentaje de brotes afectados (13.3%), hojas afectadas de 9.3%, ápices y brotes muertos de 8%.

Para el caso de una aplicación, tamaño 2, se observó un 8.6% de brotes afectados y un 10% de ápices y brotes muertos. Mientras que el tamaño 2 presento un 3.8% de brotes muertos, 11.4% hojas afectadas, y 5.1% de ápices y brotes muertos. Para el caso de dos aplicaciones tamaño 2, se registró un 9.4% de brotes afectados, un 18.9% de hojas afectadas y un 13.2% de ápices y brotes muertos.

Cuadro 11. Daños por heladas genotipo GT529

Gen	Tam	T. harzianum y quitosano	Plantas vivas	Brotes afectados (%)	Hojas afectadas (%)	Ápices y brotes muertos (%)
GT529	1	0	65	6,2	12,3	7,7
GT529	1	1	77	2,6	2,6	2,6
GT529	1	2	77	3,9	6,5	9,1
GT529	2	0	72	12,5	15,3	9,7
GT529	2	1	54*	1,9	3,7	1,9
GT529	2	2	80	2,5	2,5	5,0

*Parcela faltante en bloque III. *Porcentajes referidos al total de plantas vivas.

Fuente: datos relevados a campo.

El genotipo GT529 se observó que el tratamiento sin aplicación del tamaño 1y 2 fueron las plantas que presentaron mayores daños, representando un 12.5% para brotes, 15.3% para hojas y un 9.7% para ápices y brotes muertos para el tamaño 2 y mientras que los daños registrados en el tamaño 1 fueron de un 6.2% en brotes, 12.3% en hojas y 7.7% en ápices y brotes muertos.

Cuando se realizó una aplicación (tamaño 2) para brotes afectados, ápices y brotes muertos el porcentaje fue de 1.9% para ambos casos, mientras que para hojas afectadas el valor fue de 3.7%. En el tamaño 2 la incidencia de daño fue de un 2.6% para todos los tres tipos de daños evaluados.

Cuando se realizaron dos aplicaciones, el tamaño 2 mostro una incidencia de daño en brotes y hojas afectadas de 2.5%, mientras que para ápices y brotes muertos la incidencia de daño fue del doble. Para el caso de tamaño 1, se registró un daño de 3.9% en brotes, 6.5 % en hojas y 9.1% en ápices y brotes muertos.

En este genotipo también se puede observar que en tamaño 2 con dos aplicaciones se vieron los valores más bajos para daños provocados por heladas por lo que se puede decir que aplicaciones con *Trichoderma harzianum* más quitosano lo que quiere decir que las plantas presentaron cierta protección.

Cuadro 12. Daños por heladas genotipo GU8

Gen	Tam	T. harzianum y quitosano	Plantas vivas	Brotes afectados (%)	Hojas afectadas (%)	Ápices y brotes muertos (%)
Gu8	1	0	75	6,7	13,3	12,0
Gu8	1	1	72	4,2	5,6	11,1
Gu8	1	2	87	3,4	4,6	6,9
Gu8	2	0	84	17,9	6,0	11,9
Gu8	2	1	41*	2,4	7,3	----
Gu8	2	2	73	8,2	6,8	13,7

*Parcela faltante bloque III. *Porcentajes referidos al total de plantas vivas.

Fuente: datos relevados a campo.

El GU8 presento mayor porcentaje (17.9%) de brotes afectados para el caso del tamaño 2 sin aplicación, mientras que para el caso de hojas afectada y ápices y brotes muertos el daño fue de 6% y 11.9% respectivamente. Para el caso del tamaño 1 sin aplicación los mayores porcentajes se observan en hojas afectadas y ápices y brotes muertos, 13.3% y 12.0% respectivamente, presentando un menor valor en brotes afectados con un 6.7%.

Con una aplicación el tamaño 2 mostro un 7.3% de hojas afectadas mientras que en ápices y brotes muertos no se registraron datos, se observa además el menor porcentaje de brotes afectados (2.4%) para este genotipo.

Para el caso del tamaño 1 se observó un 11.1% de daño en ápices y brotes muertos, mientras que el daño registrado en brotes y hojas fue de 4.2 y 5.6 % respectivamente.

Con dos aplicaciones el tamaño 2 presento un daño en ápices y brotes muertos de 13.7%, para el caso de brotes y hojas el daño fue de 8.2 y 6.8% respectivamente. Con dos aplicaciones el tamaño 1 presento los menores porcentaje de daño en ápices y brotes muertos (6.9%) y hojas afectadas (4.6%). Presento además el segundo menor valor para brotes afectados (3.4%).

Para este genotipo al igual que en los anteriores se dieron los menores daños para dos aplicaciones de *Trichoderma harzianum* más quitosano, la diferencia se observa en el tamaño 1. En estudios realizados anteriormente se ha visto que el quitosano ha actuado como un compuesto regenerador de tejidos dañados, permite rápidamente la cicatrización de las heridas producidas en la planta, provocadas principalmente por factores abióticos (BIOAGRO, 2007).

En esta investigación se consideró como más importante los daños por heladas cuantificado como ápices y brotes muertos debido a que, esto resulta en brotación múltiple, lo que es negativo para el caso de producción de madera de calidad. La brotación múltiple se corrige mediante podas de formación las que poseen elevados costos debido a la necesidad de personal calificado.

4.3.1.2 Severidad

Se define como el área de tejido afectado y se mide en término de proporción de tejido afectado sobre tejido no afectado.

Cuadro 13. Escala de severidad

Proporción de planta afectada	Grado de severidad
0 - 25%	1 – Leve
25 - 50%	2 – Bajo
50 -75%	3 – Medio
75 - 100%	4 –Alto

Fuente: elaboración propia.

En este trabajo para la totalidad de los individuos evaluados se apreció solo el grado de severidad leve (25%), ver Anexos.

5. CONCLUSIONES

Considerando la primera hipótesis planteada en la etapa de vivero vemos que los plantines que conforman los tres materiales evaluados presentaron diferencias significativas para la variable altura, es decir que efectivamente se cuenta con materiales grandes e intermedios.

La aplicación de *Trichoderma harzianum* más quitosano en los diferentes genotipos tiene un efecto diferencial en la sanidad de los individuos, donde en la totalidad de las plantas no se visualizaron síntomas de enfermedades de vivero.

Los resultados obtenidos muestran que la aplicación conjunta de *Trichoderma harzianum* más quitosano, tienen un efecto en el crecimiento, donde se aprecia que dependiendo de la combinación con el genotipo y el tamaño, los individuos presenten una respuesta positiva (incrementos en altura y diámetro), negativa (menor crecimiento), o sin respuesta. Para el caso del efecto de *Trichoderma harzianum* más quitosano, sobre los genotipos y el tamaño para la variable altura, diámetro y sobrevivencia se observó, que el genotipo GC514 tamaño 2 y una aplicación presentó un crecimiento en altura promedio de 0.13 m superior con respecto al testigo y dos aplicaciones, en lo que se refiere al diámetro el crecimiento promedio fue de 0.42 cm y 0.37 cm, superior al testigo y dos aplicaciones respectivamente. Mientras que la probabilidad de sobrevivencia fue de 0.77.

Para el genotipo GT529 tamaño 1 y una aplicación, el crecimiento en altura promedio fue de 0.24 m superior al testigo y 0.16 m superior a los individuos que recibieron la segunda aplicación extra. El crecimiento en diámetro fue de 0.25 cm y 0.26 cm superior al testigo y dos aplicaciones respectivamente. La probabilidad de sobrevivencia fue de 0.86.

Genotipo GU8 tamaño 1 y dos aplicaciones, el crecimiento en altura que presentaron los individuos en promedio fue de 0.23 m con respecto al testigo y una aplicación. El crecimiento en diámetro fue de 0.42 cm con respecto al testigo y una aplicación. La probabilidad de sobrevivencia fue de 0.95.

Otros factores que pudieron estar afectando tanto la sobrevivencia como el crecimiento fueron la competencia por malezas y ataque por hormigas, siendo conveniente realizar un control de estos para futuros ensayos.

6. RESUMEN

El gran interés despertado por el control biológico de patógenos de plantas es una respuesta en gran parte a la creciente preocupación de la sociedad acerca del uso de pesticidas químicos. Se parte del supuesto de que no es posible destruir ni eliminar a las poblaciones de patógenos de plantas, sino que es necesario convivir con ellas manejándolas de tal modo que su interferencia con los cultivos sea menor permitiendo producir en forma comercial. Existe evidencia científica que reportan las propiedades de *Trichoderma harzianum* como agente biocontrolador y estimulador del crecimiento y a quitosano como agente estimulador del crecimiento es por esto que el objetivo de este trabajo es evaluar crecimiento, sanidad y resistencia a heladas (probabilidad de sobrevivencia) de tres híbridos de *E. grandis* con aplicación conjunta de *Trichoderma harzianum* (Trichosoil®) y Quitosano (Biorend®), en plantación, considerando la aplicación en dos tamaños de plantas. Esta investigación comprende dos etapas la primera llevada a cabo en el vivero de Weyerhaeuser S.A en el Departamento de Tacuarembó y la segunda se instaló un ensayo de plantación en el Establecimiento Buena Vista I propiedad de Weyerhaeuser S.A, en el Departamento de Rivera. En abril de 2013 se realizó un DCA donde la variable aleatoria en estudio fue altura (cm), 3 tratamientos que consistieron en diferentes genotipos de *E.grandis* (GU8, GT529, GC514), donde se seleccionaron al azar 75 plantines (siendo estos la unidad experimental), realizándose 75 repeticiones. Se procedió a realizar mediciones de alturas con regla a los plantines con el objetivo de poder determinar si efectivamente hay dos tamaños (grandes e intermedios) que será la base de estudio de este trabajo. En el mes de mayo se realizó la segunda etapa que consistió en un DBCA con arreglo factorial, donde los factores evaluados fueron: genotipos (GU8, GT529, GC514), dos tamaños (intermedios y grandes), y aplicación de Trichosoil® más Biorend® (testigo, una y dos dosis extra). Resultando en 18 tratamientos por bloque, con 3 repeticiones. Cada parcela conto con 30 plantines(UE), a una densidad de 540 plantas/ha. Los resultados obtenidos muestran que hay una respuesta diferencial frente a la aplicación conjunta de *Trichoderma harzianum* más quitosano, sobre el crecimiento (altura y diámetro), probabilidad de sobrevivencia, daños por heladas y sanidad, la cual depende de la combinación con el genotipo y el tamaño.

Palabras clave: Control biológico; Crecimiento; Departamento Tacuarembó; *Eucalyptus grandis*; Plantación forestal; Supervivencia; *Trichoderma harzianum*; Quitosano.

7. SUMMARY

The great interest aroused by the biological control of plant pathogens is largely a response to growing societal concern about the use of chemical pesticides. It is assumed that it is not possible to destroy or eliminate populations of plant pathogens, it is necessary to live with them handling them so that their interference with crops is less possible to produce commercially. There is scientific evidence to report the properties of *Trichoderma harzianum* as biocontrol agent and estimador of chitosan and growth as a growth promoter is why the aim of this study was to evaluate growth, health and resistance to frost (probability of survival) of three hybrid of *E. grandis* with joint application of *Trichoderma harzianum* (Trichosoil ®) and Chitosan (Biorend ®), plantation, considering the application in two sizes of plants. This research comprises two stages, the first held in the nursery Weyerhaeuser SA in the Department of Tacuarembó and the second trial planting was installed on the Establishment Buena Vista I owned Weyerhaeuser SA, Department of Rivera. In April 2013 a DCA where the random variable under study was height (cm), 3 treatments consisted of different genotypes of *E. grandis* (GU8, GT529, GC514), where 75 randomly selected seedlings (these being performed the experimental unit), performing 75 repetitions. He proceeded to make measurements of heights seedlings rule in order to be able to determine if there are indeed two sizes (large and intermediate) that is the basis of study of this work. Genotypes (GU8, GT529, GC514), two sizes (intermediate and large), and implementing more Biorend Trichosoil ® ®: In May, the second stage consisted of a factorial arrangement DBCA, where the factors evaluated were performed (witness, and two additional doses). Resulting in 18 treatments per block with 3 replications. Each plot had 30 seedlings (EU), at a density of 540 plants / ha. The results show that there is a differential response to the joint application of *Trichoderma harzianum* plus chitosan on growth (height and diameter), probability of survival, frost damage and healing, which depends on the combination with genotype and size.

Keywords: Biological control; Growth; Tacuarembó Department; *Eucalyptus grandis*; Forest plantations; Survival; *Trichoderma harzianum*; Chitosan .

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Agrios, G. N. 2004. Plant Pathology. 5th ed. San Diego, California, Elsevier/Academic Press. 992 p.
2. Aguirre, J.J.; Garret, A. 2008. El sector forestal del Uruguay; oportunidades y desafíos para un sector en crecimiento. Informe de consultoría para el BID. Montevideo, Urbana Impresos. 96 p.
3. Albano, J.; Dávila, A. 2012. Interacción entre control de malezas en la fila y diferentes momentos de control en la entrefila de *Eucalyptus dunnii*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 53 p.
4. Álvarez, S.; Sivila, N. 2013. Producción artesanal de *Trichoderma*. (en línea). San Salvador de Jujuy, Universidad Nacional de Jujuy. Facultad de Ciencias Agrarias. 48 p. Consultado 20 oct. 2013. Disponible en http://64.76.123.202/site/economias_regionales/forobioinsumos/publicaciones/Manual_de_Trichoderma_2013_CEDAF_Jujuy.pdf
5. Añon, D.; Levitan, A.; Tarino, E. 2004. Evaluación de diferentes dosis de fertilización en la producción de plantines de *Pinus taeda* creciendo en sustrato colonizado por *Trichoderma harzianum*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 125 p.
6. Argueta, I. 2011. Evaluación del hongo entomopatógeno *verticillium lecanii* (zimmerman) viegas como bio-controlador de garrapatas en perros (*canis domesticus* l). (en línea). San Salvador, Universidad de El Salvador. Facultad de Ciencias Agronómicas. Departamento de Protección Vegetal. 99 p. Consultado 29 set. 2013. Disponible en <http://ri.ues.edu.sv/606/1/10137208.pdf>
7. Arros, H. 2011. Evaluación de biocontrolador 3Tac ® formulado a base de tres cepas de *Trichoderma* en el control de *Fusarium* en una línea de maíz dulce (*zea mays* var.rugosa). (en línea). Tesis Ing. Agr. Talca, Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. 53 p. Consultado 18 abr. 2014. Disponible en

<http://www.avancebt.com/es/wp-content/uploads/2012/03/Tesis-control-Fusarium-maiz1.pdf>

8. Balmelli, G. 1993. Daños de heladas en Eucalyptus; evaluación de daños en especies y orígenes en el primer invierno. Montevideo, INIA. 34 p. (Serie Técnica no. 40).
9. Benezer, M.; Castro, E.; García, E. 2008. La producción de especies reactivas de oxígeno durante la expresión de la resistencia a enfermedades en plantas. (en línea). Revista Mexicana de Fitopatología. 26 (1): 56-61. Consultado 25 oct. 2013. Disponible en http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092008000100009
10. Bentancourt, C. M.; Scatoni, I. B. 1999. Guía de insectos y ácaros de importancia Agrícola y forestal en el Uruguay. Montevideo, Universidad de la República. Facultad de Agronomía. 207 p.
11. BIOAGRO. 2007. Antecedentes técnicos de BIOREND Inducción de resistencia en plantas a enfermedades, insectos, nemátodos y al stress a través de una formulación de Quitosano. (en línea). Santiago, Chile. 22 p. 23 oct. 2013. Disponible en <http://www.biorend.cl/files/ANTECEDENTES%20TECNICOS%20BIOREND.pdf>
12. Bóffano Chebataroff, A.; Mosqueira Campos, M. 2012. Evaluación de la respuesta de cinco diferentes híbridos de Eucalyptus grandis con *Trichoderma harzianum* y quitosano en vivero y plantación. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 86 p.
13. Bolaños, M.; Benavides, M.; Sáenz, E. s.f. Efecto de hongos benéficos sobre la nutrición y sanidad de aguacate. (en línea). Córdoba, Universidad de Córdoba. 10 p. Consultado set. 2013. Disponible en <http://www.corpoica.org.co/sitioweb/Archivos/oferta/ArticuloEfectoHongosbenficosnutaguacate.pdf>
14. Bollazzi, M. 2012. Curso entomología forestal. Insectos defoliadores. Montevideo, Uruguay, s.e. s.p.

15. Brussa, C. 1994. *Eucalyptus*. Montevideo, Hemisferio Sur. 325 p.
16. Caamaño Lamela, L.; Stirling Estigarriba, M. J. 2009. Evaluación del crecimiento de clones de *Eucalyptus grandis* en el litoral de Uruguay. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 125 p.
17. Cabello, T. 2007. Introducción al control biológico de plagas. (en línea). Almería, Universidad de Almería. Departamento de Biología Aplicada. 6 p. Consultado 30 set. 2013. Disponible en <http://www.ual.es/personal/tcabello/Temarios/CBTema01Web.pdf>
18. Cabrera, R.; Tejera, R. 2002. Evaluación de diferentes dosis de fertilización en la producción de plantines de *Eucalyptus grandis* w. Hill ex Maiden creciendo en sustrato colonizado por *Trichoderma harzianum*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 156 p.
19. Cabris, J. 2012. El árbol, características y crecimiento de tronco, copa y raíces. Floración y fructificación. Montevideo, Uruguay. 33 p.
20. Caffarini, P.; Carrizo, P.; Pelicano, A.; Roggero, P.; Pacheco, J. 2008. Efecto de extractos acetónico y acuosos de *Ricinus communis* (Ricino), *Melia azederach* (Paraiso) y *Trichillia glauca* (Trichillia), sobre la hormiga negra común (*Acromyrmex lundí*). (en línea). Indesia. 26 (1): 59-64. Consultado 10 feb. 2014. Disponible en http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S071834292008000100008&lng=en&nrm=iso&tlng=en.
21. Camarena-Gutiérrez, G. 2006. Las especies reactivas de oxígeno en defensa de las plantas contra patógenos. (en línea). Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente. 2 (1): 25-30. Consultado 25 set. 2013. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62912103>
22. Cárdenas, D. 2003. Evaluación de diferentes sustratos colonizados con el antagonista (*Trichoderma harzianum* Fr.) sobre la calidad de plantines de *Eucalyptus grandis* w. Hill ex Maiden., *Eucalyptus globulus* spp. *globulus* Labill. y *Pinus taeda* L. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 195 p.
23. Chávez, P. 2006. Producción de *Trichoderma* spp, y evaluación de su efecto en cultivo de Crisantemo (*Dendranthema grandiflora*). (en

- línea). Trabajo de grado. Bogotá, Colombia. Facultad de Ciencias. 178 p. Consultado 25 set. 2013. Disponible en <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis286.pdf>
24. Cisneros, F. 1992 El manejo integrado de plagas; guía de investigación. (en línea). Lima, CIP. pp. 1-38. Consultado set. 2013. Disponible en <http://www.cipotato.org/library/pdfdocs/ResGuide41146.pdf>
25. Cook, R.J.; Baker, K.F. 1984. The nature and practice of biological control of plant pathogens. *Physiological Plant Pathology*. 25 (2): 254-256.
26. Cópola, F.; Mendoza, G.; Regules, H. 2000. Caracterización de plantines de *Eucalyptus* y *Pinus* desde el punto de vista de la calidad en el Uruguay. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 105 p.
27. _____; de la Torre, R. 2007. Resistencia sistémica adquirida en plantas: estado actual. (en línea). *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 13(1): 157-162. Consultado set. 2013. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62913209>
28. CORFO (Corporación de Fomento de la Producción, CL). 2002. Introducción y evaluación de formuladores de quitina como bioestimulantes de uso agrícola en el mercado norteamericano. (en línea). Santiago de Chile. 120 p. Consultado 13 abr. 2014. Disponible en http://repositoriodigital.corfo.cl/bitstream/handle/11373/5388/99-1619_IF.pdf?sequence=2
29. Cruzat, R.; Ionannidis D. 2008. Biocontrol de enfermedades fungosas con *Trichoderma spp.* Proyecto de Innovación en las Regiones de O'Higgins y del Maule disponible. (en línea). s.l., Ograma. pp. 1-28. Consultado 18 feb. 2014. Disponible en http://bibliotecadigital.fia.cl/gsd/collect/publicac/index/assoc/HASH9e20.dir/62_Libro_Trichoderma.pdf
30. Da Ponte, C.; Salas, P. 2009. Control de malezas en plantaciones forestales con el uso de glyphosato y sulfato de amonio. (en línea). *Investigación Agraria*. 11(1):54-59. Consultado 20 oct. 2013. Disponible en <http://www.agr.una.py/revista/index.php/ria/article/viewFile/41/38>

31. Díaz, J.; Tonello, U.; Martínez, G.; Salazar, S.; Chalfoun, N.; Vellicce, G. 2010. Aproximaciones biotecnológicas para un manejo sustentable del estrés fúngico en la agricultura. In: Levitus, G.; Echenique, V.; Rubinstein, C.; Hopp, E.; Mroginski, L. eds. Biotecnología y mejoramiento vegetal II. s.l., INTA. pp. 467-480.
32. Donati, S. 2011. Efecto de *Trichoderma Harzianum* cepa L1 sobre la calidad de plantines en *Pinus taeda*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 144 p.
33. 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 set. 2013. Disponible en <http://www.scielo.cl/pdf/bosque/v29n1/art06.pdf>.
34. Encuentro de Sanidad Forestal (1º., 2013, La Plata, Buenos Aires). s.f. Hormigas cortadoras; control químico. (en línea). La Plata. UNPL. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. 20 p. Consultado 5 jun. 2014. Disponible en http://www.agro.unlp.edu.ar/sites/default/files/novedades/resumen_i_encuentro_de_la_fcayf.pdf
35. Ezziyyani M.; Pérez C.; Sid A.; Requena, M. E.; Candela, M.E.; 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.).(en línea). Murcia, Universidad de Murcia. Departamento de Biología Vegetal. Facultad de Biología. 10 p. Consultado 28 set. 2013. Disponible en <https://www.um.es/analesdebiologia/numeros/26/PDF/05-TRICHODERMA.pdf>
36. FAO. 1980. Mejora genética de árboles forestales. Mérida. s.p. (Colección FAO. Montes no. 20).
37. _____. 1981. El eucalipto en la repoblación forestal. Roma. 723 p. (Colección FAO. Montes no. 11).
38. _____. 2006. Manual de campo; plagas y enfermedades de Eucaliptos y Pinos en el Uruguay. Roma. 167 p.
39. Freddo, A. R.; Mazaro, S. M.; Junior, A. W.; Brun, E. J. 2012. Indução de resistência ao tombamento de plântulas de eucalipto pelo

tratamento das sementes com quitosana. Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias. 5: 33-46.

40. Google. 2014. Google Earth; ensayo de campo. (en línea). s.l. s.p. Consultado 10 dic. 2013. Disponible en <https://www.google.es/intl/es/earth/index.html>
41. Guédez, C.; Cañizalez, L.; Castillo, C.; Iivar, R.; Maffei, M. 2009. Control biológico; una herramienta para el desarrollo sustentable y sostenible. (en línea). Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. 13: 43-47. Consultado 28 set. 2013. Disponible en <file:///D:/tesis/bibliografia/CONTROL%20BIOL%C3%93GICO%20Guedez.pdf>
42. Gutiérrez-Ramírez, A.; Robles-Bermúdez, A.; Santillán-Ortega C.; Ortiz-Catón M.; Cambero-Campos, O. J. 2013. Control biológico como herramienta sustentable en el manejo de plagas y su uso en el estado de nayarit, México. (en línea). Revista Biociencias. 2(3): 102-112. Consultado 18 feb. 2014. Disponible en http://www.uhu.es/cideu/Boletin/Boletin6_7/BollInf6-7CIDEUx-xiii.pdf
43. Infante, D.; Martínez, B.; González, N.; Reyes, Y. 2009. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. (en línea). Protección Vegetal. 24 (1): 14-21. Consultado 28 set. 2013. Disponible en http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S101027522009000100002&script=sci_arttext
44. INIA. GRAS (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Unidad de Agroclima y Sistemas de Información, UY). Banco de datos agroclimáticos. (en línea). Montevideo. s.p. Consultado 15 feb. 2014. Disponible en <http://www.inia.org.uy/gras/>
45. Irisyti, F. 1999. El vivero forestal. Montevideo, Facultad de Agronomía. 26 p.
46. Koppert Biological Systems. Galeano, M.; Mendez, F.; Urbaneja, A. s.f. Efecto de *Trichoderma harzianum rifai* (cepa t-22) sobre cultivos hortícolas. (en línea). Murcia, España. 1-11 p. Consultado 15 abr. 2014. Disponible en

[http://www.koppert.fr/fileadmin/user_upload/Overig/Koppert/Koppe
rt.nl/PDF/ES/trianum/HORTICOLAS_SEMILLEROS.pdf](http://www.koppert.fr/fileadmin/user_upload/Overig/Koppert/Koppe
rt.nl/PDF/ES/trianum/HORTICOLAS_SEMILLEROS.pdf)

47. Kubiček-Pranz, E.M. 1998. Nutrition, cellular structure and basic metabolic pathways in *Trichoderma* and *Gliocladium*. In: Kubiček, C.H.; Harman, G.H. eds. *Trichoderma* and *Gliocladium*. London, UK, Taylor and Francis. v.2, pp. 95-119.
48. Kurioka, M.; Martirena, V.; Mulvany, J. 2013. Evaluación de metabolitos inducidos en plantines de *Eucalyptus grandis* y *E. globulus* creciendo en vivero sobre sustrato inoculado con *Trichoderma harzianum*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 146 p.
49. Lage y Cía. s.f. Producto comercial TRICHOSOIL® (en línea). Montevideo. 2 p. Consultado 28 set. 2013. Disponible en <http://www.lageycia.com/esp/>.
50. Lárez, C. 2008. Algunas potenciales de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en Latinoamérica. (en línea). Revista Científica de la Escuela de Ingeniería Agronómica de la Universidad de Oriente. 8(1): 1-22. Consultado 20 oct. 2013. Disponible en <http://www.bioline.org.br/pdf?cq08002>
51. Lozano, L.; Franco, N.; Bonilla, J. 2012. El crecimiento diamétrico, de *anacardium excelsum* (kunth) skeels, por medio de modelos no lineales, en bosques naturales del departamento del Tolima. (en línea). Boletín Científico del Centro de Museos. 16 (1): 19-32. Consultado 13 abr. 2014. Disponible en [http://200.21.104.25/boletincientifico/downloads/Boletin\(16\)1_2.pdf](http://200.21.104.25/boletincientifico/downloads/Boletin(16)1_2.pdf)
52. Mezquita da Silva Pinto, L. F. 2005. Síntese e estudo de derivados do quitosano com potencial interesse biológico e ambiental. (en línea). Grau do mestre en química. Oporto, Portugal. Universidade do Porto. Facultad de Ciencias. 127 p. Consultado 29 oct. 2013. Disponible en http://biblioteca.universia.net/html_bura/ficha/params/id/55877815.html
53. MGAP. S A (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección Suelos y Agua, UY). s.f. Descripción de grupos suelos CO.N.E.A.T. (en línea). Montevideo. pp. 27-28. Consultado 13 feb. 2014. Disponible en

<http://www.cebra.com.uy/renare/media/Descripción-de-Grupos-de-Suelos-CONEAT-1.pdf>

54. Mondino, P.; Vero, S. 2006. Control biológico de patógenos de plantas. Montevideo, Facultad de Agronomía. 158 p.
55. Pérez Consuegra, N. 2004. Manejo ecológico de plagas. (en línea). La Habana, Cuba, Centro de Estudios de Desarrollo Agrario y Rural (CEDAR). 296 p. Consultado en 20 set. 2013. Disponible en <http://www2.fcnym.unlp.edu.ar/catedras/ecoplagas/Bibliografia.pdf>
56. Rodríguez, R.; Figueredo J.; González O. 2013. Influencia de la quitosana en el tomate (*Solanum lycopersicum*, Mill) variedad "Amalia". Alelopatía y sustancias bioactivas. (en línea). Centro Agrícola (Cuba). 40(2): 79-84. Consultado 5 jun. 2014. Disponible en http://cagricola.uclv.edu.cu/descargas/pdf/V40Numero_2/cag162131921.pdf
57. Rodríguez, T.; Sánchez, J.; Morales, E.; Cruz, F. 2005. Interacción micorrizas arbusculares –*Trichoderma harzianum* (Moniliaceae) y efectos sobre el crecimiento de *Brachiaria decumbens* (Poaceae). (en línea). Acta Biológica Colombiana. 11 (1): 43-54. Consultado 20 oct. 2013. Disponible en <http://www.virtual.unal.edu.co/revistas/actabiol/Resumenes/1101/RV11N1A04.pdf>
58. Rodríguez, A.; Ramírez, M.; Rivero, D.; Bosquez, E.; Barrera, L.; Bautista, S. 2009. Propiedades químico-estructurales y actividad biológica de la quitosana en microorganismos Fitopatógenos. (en línea). Revista Chapingo. Serie Horticultura. 15 (3): 307-317. Consultado 5 may. 2014. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=60912186012>
59. Romero, G. 2013. Enfermedades forestales en el Uruguay. Montevideo, Facultad de Agronomía. 55 p.
60. Romero, O.; Huerta, M.; Damián, M.; Domínguez, F.; Arellano, D. 2009. Características de *Trichoderma harzianum*, como agente limitante en el cultivo de hongos comestibles. (en línea). Revista Colombiana Biotecnología. 11(2): 143-151. Consultado 28 set.

2013. Disponible en <http://www.scielo.org.co/pdf/biote/v11n2/v11n2a15.pdf>.
61. Samuels, G. J. 2006. *Trichoderma*; systematics, the sexual state, and ecology. (en línea). *Phytopathology*. 96(2): 195-206. Consultado set. 2013. Disponible en <http://apsjournals.apsnet.org/doi/pdfplus/10.1094/PHYTO-96-0195>
62. Stefanova, M.; Leiva A.; Larriganaga L.; Coronado, M. F. 1999. Actividad metabólica de cepas de *Trichoderma* spp. para el control de hongos fitopatógenos del suelo. (en línea). *Revista Facultad de Agronomía*. 16: 509-516. Consultado 28 set. 2013. Disponible en http://www.revfacagronluz.org.ve/v16_5/v165z006.html.
63. Tommasino, H. 2013. Cadena forestal madera: desempeño reciente y desafíos. (en línea). *Anuario OPYPA 2013*: s.p. Consultado 28 set. 2013. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/opypa/ANUARIOS/Anuario2013/material/pdf/11.pdf>
64. Tortorelo, J.; Pavone, D. 2012. Efecto de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia solani* y algunos parámetros fisiológicos en *zea mays* L. bajo condiciones de vivero. (en línea). *Fitopatología Venezolana*. 25(1): 10-15. Consultado 28 set. 2013. Disponible en <http://www.ovefit.com.ve/boletines/25-1/DOC3.pdf>
65. Universidad de la República (Uruguay). Facultad de Agronomía. 1996. Naturaleza y principales características de las heladas. Montevideo. 10 p.
66. Universidad de Zulia (Venezuela). Facultad de ingeniería. 2011. Quitina y quitosano polímeros amigables; una revisión de sus aplicaciones. Maracaibo, Zulia. 6 p.
67. Villalba, J. 2010. Control de malezas en *Eucalyptus* spp. In: Jornadas Técnicas en Protección Forestal (2010, Tacuarembó). Memorias. Montevideo, INIA. pp. 1-8 (Actividades de Difusión no. 629).
68. Zerbino, M. S. 2002. Cebos tóxicos para control de hormigas cortadoras. (en línea). *Revista Plan Agropecuario*. no 103: 46-49. Consultado 20 feb. 2014. Disponible en http://www.planagropecuario.org.uy/publicaciones/revista/R103/R103_46.pdf

69. Zhu, Xiao-hong; Sang, Qing; Ni, Fu-hua; Liu, Ping; Xiao, Qing-zhen; Chen, Xiao-xia. 2010. Antifungal activity of chitosan and chitosan copper against six plant pathogens. (en linea). *Plants Diseases and Pets*. 1(3): 15-18. Consultado 22 oct. 2013. Disponible en <http://cabdirect.org/abstracts/20113129869.html;jsessionid=06E6DC2C19A3AA9C2214D3367CE74F60>

9. ANEXOS

Vivero

Análisis de altura del plantín en la fase de cría

Estadística descriptiva

Genotipo GC514

Datos obtenidos del análisis del Programa R para la variable altura del plantín, Genotipo GC514.

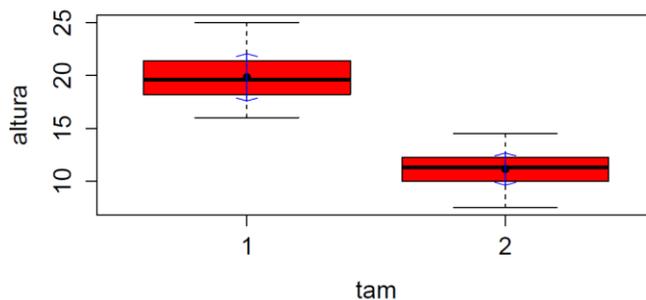
GC514	Cm
Mínimo	7.50
1er. Cuartil	11.32
Mediana	15.25
Media	15.49
3er. Cuartil	19.58
Máximo	25.00

GC514	Tamaño grande (cm)	Tamaño intermedio (cm)
Medias	19.824	11.146
Desvío	2.23	1.51
Mínimo	16.0	7.5
Máximos	25.0	14.5

Medias, desvío, mínimo, máximo de tamaño grande e intermedio.

Mínimo, 1er. cuartil, mediana, media, 3er. cuartil, máximo, de la variable altura

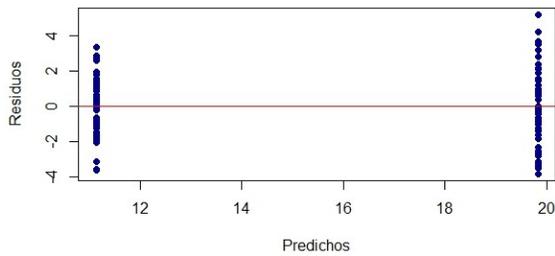
A efectos de visualizar mejor estos parámetros descriptivos para las variables altura y tamaño del genotipo GC514 se realizaron box-plots.



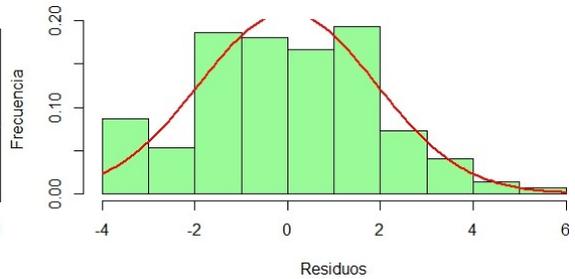
Altura en función de Tamaño.
1: tamaño grande,
2: tamaño intermedio

Verificación de supuestos

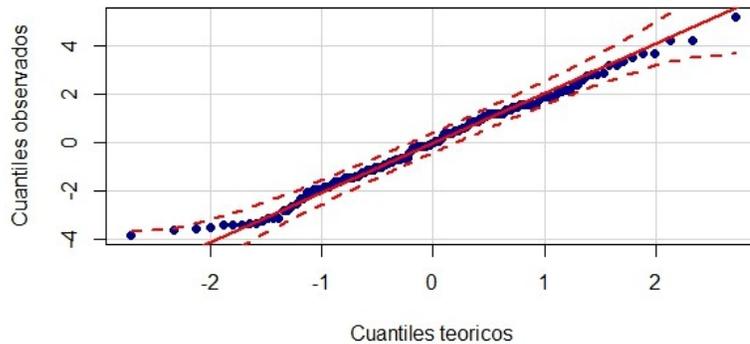
A) Residuos versus predichos



B) Histograma de residuales



C) Distribución del error



De la gráfica A se puede concluir que los residuos se distribuyen aleatoriamente con media cero. A partir del gráfico B se puede inferir que los errores se distribuyen normal con media 0. Finalmente en el gráfico C se observa que los residuos siguen la línea roja (entera) equivalente a la curva teórica de normalidad, esto significa que se encuentran dentro del intervalo de confianza (líneas punteadas rojas). Por lo tanto podemos decir que se distribuyen normal.

Prueba de normalidad

Finalmente para comprobar el supuesto de normalidad se realizó una prueba Shapiro.

Hipótesis

Ho: los errores se distribuyen normal.

Ha: los errores no se distribuyen normal.

data:	Modelo.altura\$residual
W	0.9887
p-valor	0.2704

El criterio de decisión para esta prueba es la siguiente:

Si p valor es $>0,05$ No rechazo Ho;
si es $<0,05$ Rechazo Ho.

Test de Shapiro

Dado que "p" valor es mayor a 0.05, no rechazo la hipótesis nula, es decir existe homogeneidad de varianzas.

GENOTIPO GU8

En el cuadro que se presenta a continuación se presentan los datos obtenidos en el análisis descriptivo para los tamaños uno (plantines grandes) y dos (plantines intermedios).

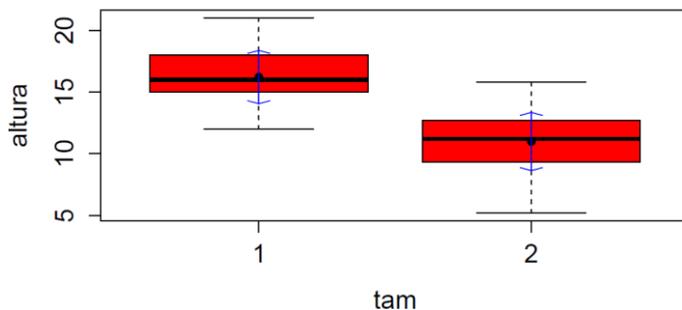
GU8	Cm
Mínimo	5.20
1er. cuartil	11.22
Mediana	13.85
Media	13.60
3er. cuartil	16.00
Máximo	21.00

Mínimo, 1er. cuartil, mediana, media, 3er. cuartil, máximo

GU8	Tamaño 1 (plantines grandes)	Tamaño 2 (plantines intermedios)
Medias	16.21333	10.98933
Desvío	2.157910	2.357998
Mínimo	12.0	5.2
Máximo	21.0	15.8

Medias, desvío, mínimo, máximo de tamaño grande e intermedio.

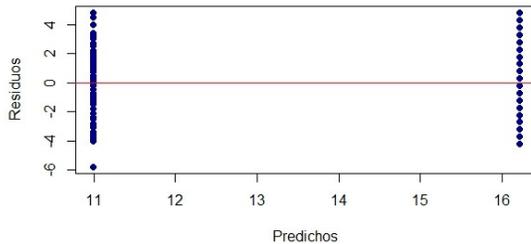
Altura versus tamaño grande e intermedio genotipo GU8



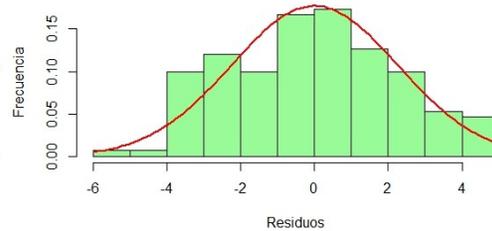
En esta gráfica se pueden visualizar los parámetros mínimos, máximos, desvíos, medias, valores máximos y mínimos y el valor del 1er y 3er cuartil para cada tamaño.

Verificación de supuestos

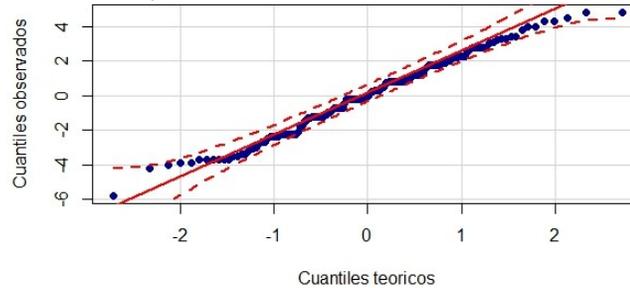
D) Residuos versus predichos



E) Histograma de residuales



F) Distribución del error



De la gráfica D se puede concluir que los residuos se distribuyen aleatoriamente con media cero. A partir del gráfico E se puede inferir que los errores se distribuyen normal con media 0. Finalmente en el gráfico F se observa que los residuos siguen la línea roja (entera) equivalente a la curva teórica de normalidad, esto significa que se encuentran dentro del intervalo de confianza (líneas punteadas rojas). Por lo tanto podemos decir que se distribuyen normal.

Prueba de normalidad

Test de Shapiro

data:	Modelo.altura\$residual
W	0.9871
p-valor	0.1807

Dado que “p” valor es mayor a 0.05, no rechazo la hipótesis nula, es decir existe homogeneidad de varianzas.

GT529

Para este genotipo se obtuvieron los siguientes resultados en cuanto a la variable altura:

GT529	cm
Mínimo	6
1er. cuartil	12.72
Mediana	14.50
Media	14.48
3er. cuartil	16.38
Máximo	21.40

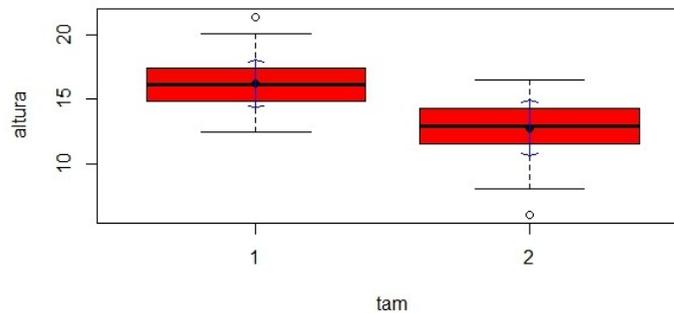
Mínimo, 1er. cuartil, mediana, media, 3er. cuartil, máximo.

GT529	Tamaño 1 (plantines grandes)	Tamaño 2 (plantines intermedios)
Medias	16.19067	12.76800
Desvío	1.851309	2.151377
Mínimo	12.4	6.0
Máximo	21.4	16.5

Medias, desvío, mínimo, máximo de tamaño grande e intermedio.

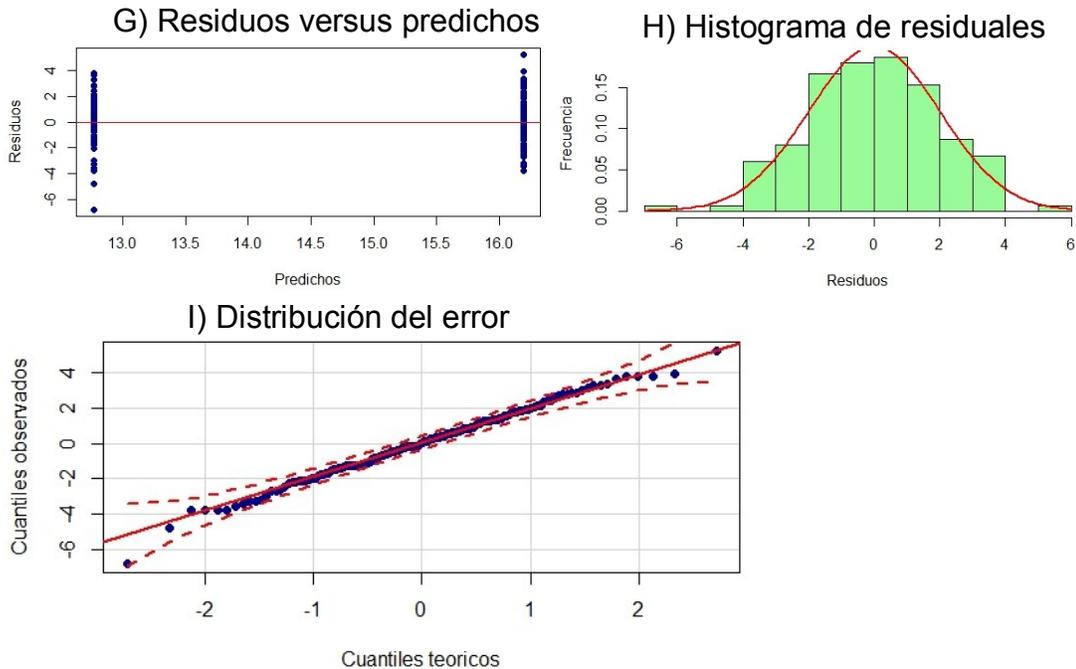
La representación gráfica del cuadro para el genotipo GT529 es la siguiente:

Altura versus tamaño grande e intermedio



En el mismo se visualizan las mismas variables consideradas para el gráfico de cajas anterior.

Verificación de los supuestos



De la gráfica G se puede concluir que los residuos se distribuyen aleatoriamente con media cero. A partir del gráfico H se puede inferir que los errores se distribuyen normal con media 0. Finalmente en el gráfico I se observa que los residuos siguen la línea roja (entera) equivalente a la curva teórica de normalidad, esto significa que se encuentran dentro del intervalo de confianza (líneas punteadas rojas). Por lo tanto podemos decir que se distribuyen normal.

Prueba de normalidad

Test de Shapiro

data:	Modelo.altura\$residual
W	0.9944
p-valor	0.8392

Dado que “p” valor es mayor a 0.05, no rechazo la hipótesis nula, es decir existe homogeneidad de varianzas.

Análisis de varianza para los genotipos GC514, GU8 Y GT529, etapa de vivero

F de V GC514	GI	SC	CM	F valor	P valor
Tamaño	1	2823.6	2823.6	775	<2e-16 ***
Residuales	148	539.2	3.6		

F de V GU8	GI	SC	CM	F valor	P valor
Tamaño	1	1023	1023	200.3	<2e-16***
Residuales	148	756	5.1		

F de V GT529	GI	SC	CM	F valor	P valor
Tam	1	439.3	439.3	109.1	<2e.16***
Residuales	148	596.1	4.0		

Nivel de significancia: 0 '****' 0.001 '***' 0.01 '**' 0.05 '.' 0.1 '' 1.

Plantación

Análisis de altura en plantación

Estadística descriptiva

Min.	1st Qu.	Median	Mean	3rd Qu.	Max.	NA's
0.430	1.000	1.270	1.236	1.490	2.070	394

Mínimo, 1er. cuartil, mediana, media, 3er. cuartil, máximo

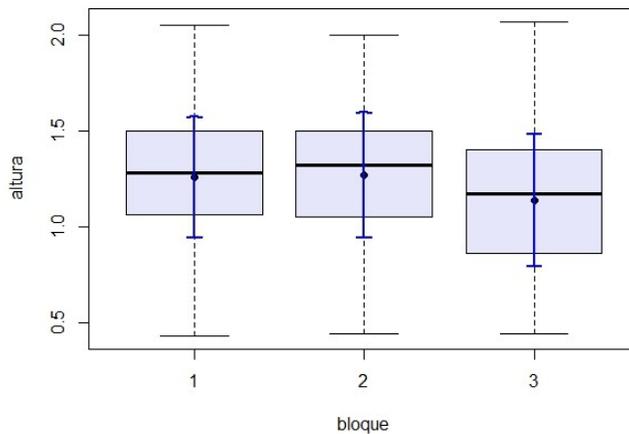
Se observa que no hay ningún error de tipeo o fuera de contexto, por lo cual se continua con los análisis.

Resumen por bloque

Bloque	mediasB	desvíoB	mínB.	máxB.
1	1.26	0.32	0.44	2.05
2	1.27	0.33	0.44	2.00
3	1.14	0.35	0.44	2.07

Bloque, medias, desvío, mínimo y máximo.

Gráfico de cajas para altura-bloque.

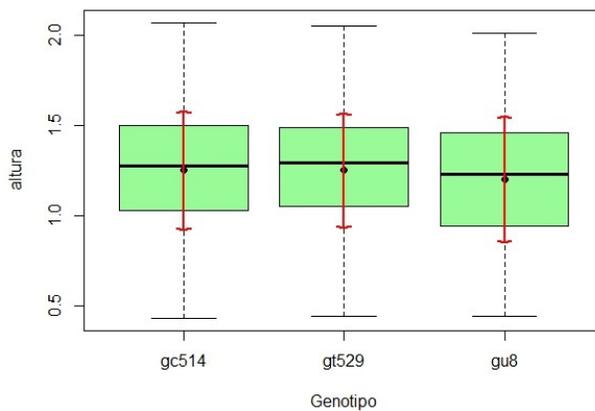


Resumen por genotipo

Genotipo	mediasG	desvíoG	minG	maxG
GC514	1.25	0.33	0.44	2.07
GT529	1.25	0.32	0.44	2.05
GU8	1.20	0.35	0.44	2.01

Genotipo. Medias, desvío, mínimos, máximos

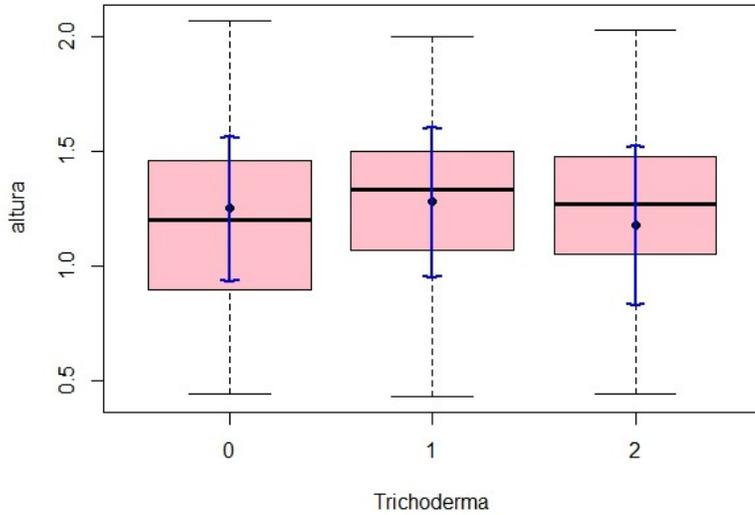
Gráfico de cajas para altura-genotipo



Resumen por *Trichoderma*

Trich	mediasTR	desvioTR	minTR	maxTR
0	1.18	0.35	0.44	2.07
1	1.28	0.33	0.44	2.00
2	1.25	0.32	0.44	2.03

Gráfico de cajas para altura-*Trichoderma*



Resumen por tamaño

Tamaño	mediasTA	desvioTA	minTA	maxTA
1	1.25	0.35	0.44	2.07
2	1.22	0.33	0.44	2.00

Gráfico de cajas para altura- tamaño

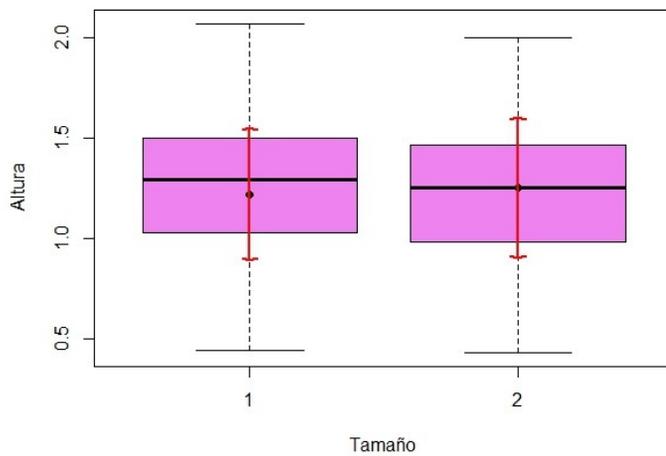
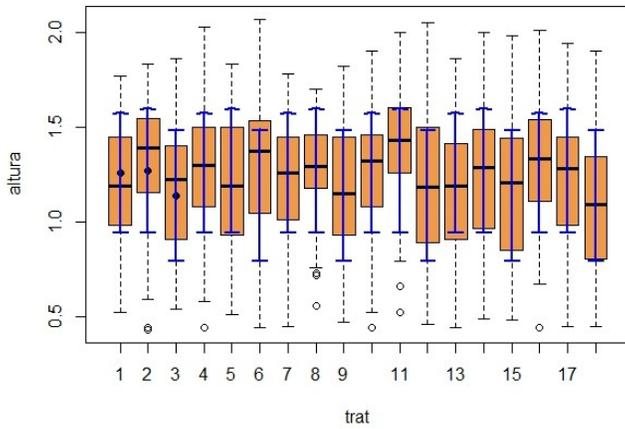


Gráfico de cajas para altura-tratamientos



Verificacion de supuestos

Gráfico J: Residuos versus predichos Gráfico K: Histograma de residuales.

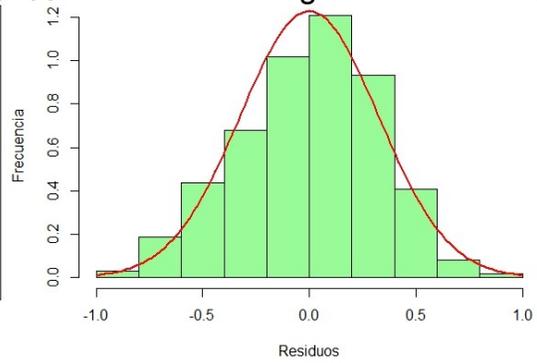
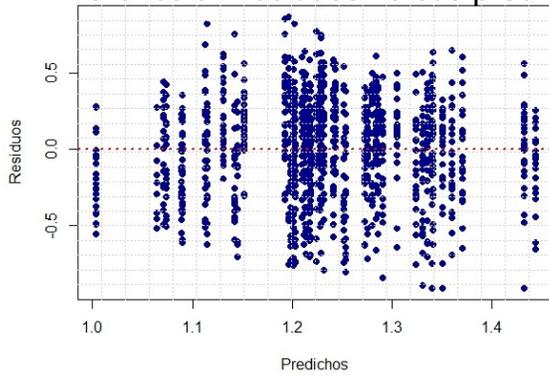


Gráfico L: Distribucion del error.

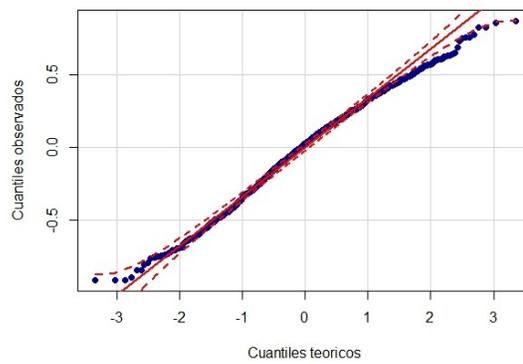


Gráfico J: con este gráfico se puede decir que se cumple el supuesto de normalidad ya que la diferencia de los residuos es de cero, lo que no se cumple es la aleatorización de los residuos presentando un patrón definido

En el gráfico K : de histogramas de residuos se puede ver que los errores se distribuyen de forma normal, ya que los valores presentan una media de cero y es simétrico a ambos lados de la media.

Gráfico L: este gráfico la información que nos proporciona es si los errores se comportan de forma normal, para que sea normal los puntos deben estar alineados según la línea roja entera y dentro del intervalo de confianza de un 95%, lo cual en el gráfico se puede ver con la línea roja punteada. Para este caso ese supuesto de normalidad se cumple.

Homogeneidad de varianzas

Para comprobar el siguiente supuesto (homogeneidad de varianzas) se realizo una prueba de homoscedasticidad: prueba de levene.

Prueba de hipótesis

Ho: existe homogeneidad de varianzas

Ha: existe al menos una diferencia entre varianzas.

Criterio de decisión: Si p valor es $>0,05$ No rechazo Ho; si es $<0,05$ Rechazo Ho.

Levenetest(altura ~ gen, data=tesis.dev)

Levene's test for Homogeneity of Variance (center = median)

	Df	F value	Pr(>F)
Genotipo	2	2.7189	0.06635

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Levene test (altura ~ tam, data=tesis.dev)

Levene's test for homogeneity of variance (center = median)

	Df	F value	Pr(>F)
Tamaño	1	1.493	0.222

Levene test (altura ~ bloque, data=tesis.dev)

Levene's test for homogeneity of variance (center = median)

	Df	F value	Pr(>F)
bloque	2	1.4434	0.2365

Decisión: no rechazamos Ho. Queda comprobado que hay homogeneidad de varianzas para todos los errores, en las variables estudiadas.

Análisis de varianza para la variable altura en plantación.

drop1 (anova.tesis,~,.,test="F")

Model

altura ~ bloque + gen + tam + trich + gen * tam + gen * trich + tam * trich + gen * tam * trich

	DF	Sum of Sq	RSS	AIC	F value	Pr(>F)
None			128.58	-2724.6		
Bloque	2	3.9376	132.52	-2691.6	18.4656	1.261e-08 ***
Gen	2	1.3818	129.97	-2715.4	6.4801	0.0015877 **
Tam	1	0.4064	128.99	-2722.7	3.8121	0.0511144 .
Trich	2	0.3648	128.95	-2725.1	1.7106	0.1812033
gen:tam	2	0.6876	129.27	-2722.0	3.2244	0.0401227 *
gen:trich	4	3.0599	131.64	-2703.7	7.1749	1.041e-05 ***

tam:trich	2	1.1213	129.71	-2717.9	5.2584	0.0053237 **
gen:tam:trich	4	2.3964	130.98	-2709.9	5.6190	0.0001757 ***

Nivel de significancia: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1.

Estudio de comparaciones para la variable altura considerando las tres aplicaciones de *Trichoderma harzianum* más quitosano, para los genotipos

Contraste	Tam	Trich	p valor	nivel de significancia	Diferencia
gc 514-gt529	1	0	0.0584	NS	0.1318
gc514-gu8	1	0	0.0013	*	0.1928
gt529-gu8	1	0	0.5427	NS	0.0610
gc 514-gt529	1	1	0.0011	*	-0.1916
gc514-gu8	1	1	0.9995	NS	-0.0017
gt529-gu8	1	1	0.0016	*	0.1899
gc 514-gt529	1	2	0.5368	NS	0.0575
gc514-gu8	1	2	0.8332	NS	-0.0295
gt529-gu8	1	2	0.2288	NS	-0.0870
gc 514-gt529	2	0	0.9418	NS	0.0183
gc514-gu8	2	0	0.9999	NS	-0.0007
gt529-gu8	2	0	0.9338	NS	-0.0189
gc 514-gt529	2	1	0.3960	NS	0.0783
gc514-gu8	2	1	0.0842	NS	0.1396
gt529-gu8	2	1	0.6426	NS	0.0614
gc 514-gt529	2	2	0.5465	NS	-0.0622
gc514-gu8	2	2	0.9594	NS	0.0164
gt529-gu8	2	2	0.3124	NS	0.0786

Análisis de diámetro

Estadística descriptiva

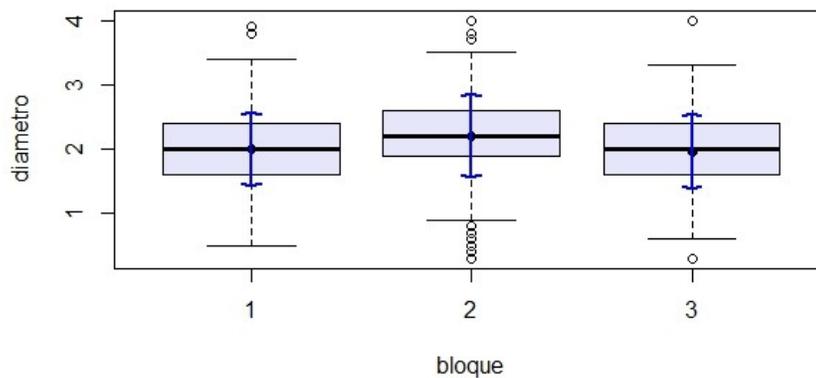
Min.	1st Qu.	Median	Mean	3rd Qu.	Max.	NA's
0.300	1.700	2.100	2.068	2.500	4.000	394

Mínimo, 1er. cuartil, mediana, media, 3er. cuartil, máximo

Resumen por bloque

Bloque	mediasB	desvioB	minB	maxB
1	2.00	0.58	0.5	3.9
2	2.21	0.65	0.3	4.0
3	1.97	0.59	0.3	4.0

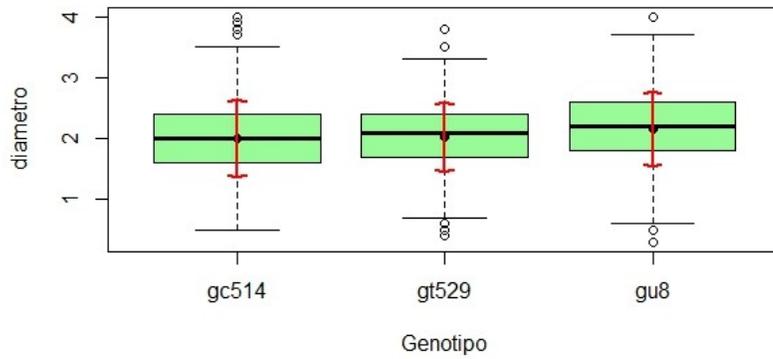
Gráfico de caja para diámetro y bloque



Resumen por genotipo

Genotipo	mediasG	desvioG	minG	maxG
GC514	2.01	0.64	0.5	4.0
GT529	2.03	0.57	0.4	3.8
GU8	2.16	0.62	0.3	4.0

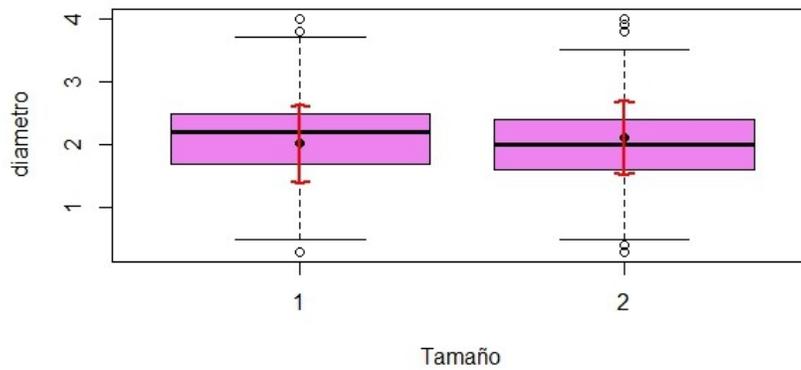
Gráfico de cajas diámetro-genotipo



Resumen por tamaño

Tamaño	mediasTA	desvioTA	minTA	maxTA
1	2.11	0.60	0.3	4
2	2.02	0.63	0.3	4

Gráfico de caja diámetro-tamaño



Resumen por *Trichoderma*

Trich	mediasTR	desvioTR	minTR	maxTR
0	2.03	0.62	0.6	3.9
1	2.06	0.59	0.3	3.8
2	2.12	0.64	0.4	4.0

Gráfico de caja diámetro-*Trichoderma*

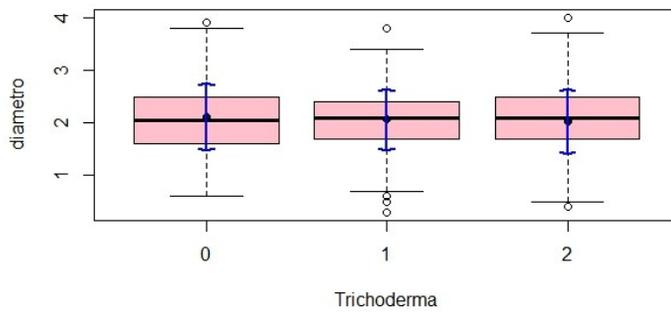
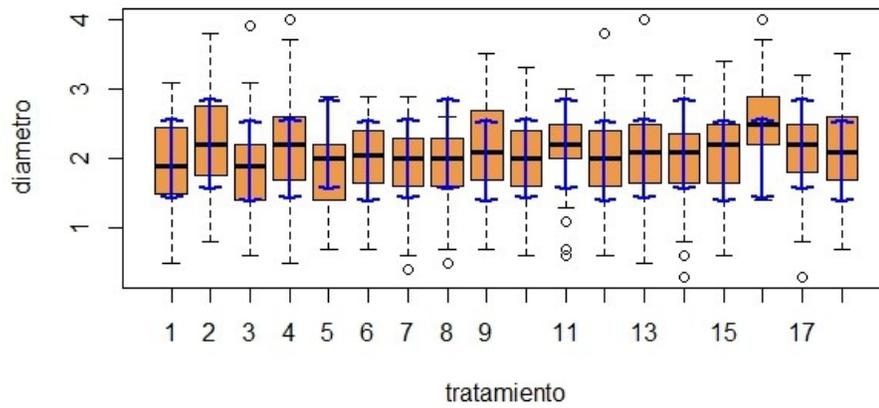


Gráfico de caja para diámetro-tratamiento



Verificación de supuestos

Gráfico M : Residuos versus predichos

Gráfico N: Histograma de residuales.

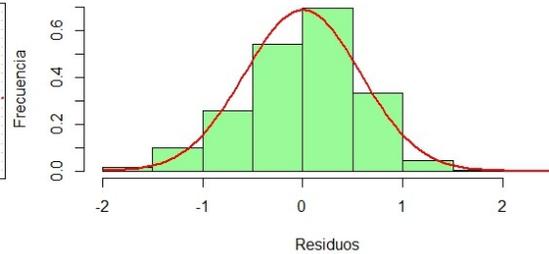
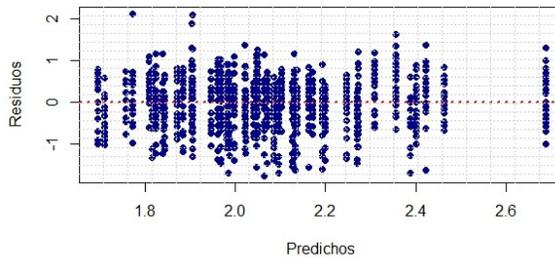


Gráfico O: Distribución del error.

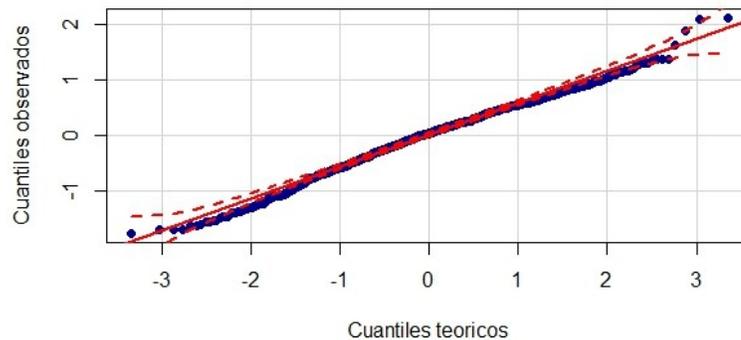


Gráfico M: Con este gráfico se puede decir que se cumple el supuesto de normalidad ya que la diferencia de los residuos es de cero, lo que no se cumple es la aleatorización de los residuos presentando un patrón definido

Como se observa en el Gráfico N: los errores se distribuyen normal con media 0.

Gráfico O: Se observa que los residuos siguen la línea roja (entera) equivalente a la curva teórica de normalidad, esto significa que se encuentran dentro del intervalo de confianza (líneas punteadas rojas). Por lo tanto podemos de decir que se distribuyen normal.

Homogeneidad de varianzas

Para comprobar el siguiente supuesto (homogeneidad de varianzas) se realizo una prueba de homoscedasticidad: prueba de levene.

Prueba de hipótesis

Ho: existe homogeneidad de varianzas

Ha: existe al menos una diferencia entre varianzas.

Criterio de decisión: Si p valor es $>0,05$ No rechazo Ho; si es $<0,05$ Rechazo Ho.

Levene test (diámetro ~ bloque, data=tesis.dev)

Levene's test for homogeneity of variance (center = median)

	Df	F value	Pr(>F)
bloque	2	1.5577	0.211

Levene test (diámetro ~ genotipo, data=tesis.dev)

Levene's test for homogeneity of variance (center = median)

	Df	F value	Pr(>F)
genotipo	2	2.3546	0.095

Levene test (diámetro ~ tamaño, data=tesis.dev)

Levene's test for homogeneity of variance (center = median)

	Df	F value	Pr(>F)
tamaño	1	1.8685	0.1719

Levene test (diámetro ~ trichoderma, data=tesis.dev)

Levene's test for homogeneity of variance (center = median)

	Df	F value	Pr(>F)
trichoderma	2	1.7549	0.1734

Decisión: no rechazamos Ho. Existe homogeneidad de varianza para todos los casos.

Análisis de varianza para la variable diámetro en plantación.

drop1(anava.tesis,~,test="F")

Model: diametro ~ bloque + gen + tam + trich + gen * tam + gen * trich + tam * trich + gen * tam * trich

	Df	Sum of Sq	RSS	AIC	F value	Pr(>F)
<none>			408.89	-1306.2		
bloque	2	17.5199	426.41	-1258.8	25.8368	1.030e-11 ***
gen	2	0.7444	409.64	-1308.0	1.0978	0.3339366
tam	1	1.0683	409.96	-1305.0	3.1508	0.0761405 .
trich	2	5.2682	414.16	-1294.5	7.7690	0.0004441 ***
gen:tam	2	2.1261	411.02	-1303.9	3.1353	0.0438395 *
gen:trich	4	11.54	420.48	-1280.0	8.5463	8.435e-07 ***
tam:trich	2	10.7647	419.66	-1278.4	15.8748	1.566e-07 ***
gen:tam:trich	4	14.6299	423.52	-1271.1	10.7875	1.358e-08 ***

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1						

Estudio de comparaciones para la variable diámetro considerando las tres aplicaciones de *Trichoderma harzianum* más quitosano, para los genotipos

Contraste	Tam	Trich	p valor	nivel de significancia	diferencia
gc 514-gt529	1	0	0.902	NS	0.0445
gc514-gu8	1	0	0.5473	NS	-0.1020
gt529-gu8	1	0	0.3309	NS	-0.1465
gc 514-gt529	1	1	0.0001	*	-0.4065
gc514-gu8	1	1	0.0096	*	-0.2898
gt529-gu8	1	1	0.4559	NS	0.1167
gc 514-gt529	1	2	0.0505	NS	0.2258
gc514-gu8	1	2	0.0009	*	-0.3309
gt529-gu8	1	2	<.0001	*	-0.5567
gc 514-gt529	2	0	0.0047	*	-0.3116
gc514-gu8	2	0	0.0248	*	-0.2488
gt529-gu8	2	0	0.7888	NS	0.0628
gc 514-gt529	2	1	0.0011	*	0.3823
gc514-gu8	2	1	0.0062	*	0.3589
gt529-gu8	2	1	0.98	NS	-0.0234
gc 514-gt529	2	2	0.894	NS	-0.0477
gc514-gu8	2	2	0.3669	NS	-0.1442
gt529-gu8	2	2	0.5751	NS	-0.0965

Datos registrados a campo.

Genotipo	Tamaño	Trichoderma	Severidad	No. Plantas afectadas
GC514	1	0	1	27
GC514	1	1	1	11
GC514	1	2	1	14
GC514	2	0	1	31
GC514	2	1	1	19
GC514	2	2	1	12

Genotipo	Tamaño	Trichoderma	Severidad	No. Plantas afectadas
GT529	1	0	1	27
GT529	1	1	1	6
GT529	1	2	1	8
GT529	2	0	1	23
GT529	2	1	1	6
GT529	2	2	1	11

Genotipo	Tamaño	Trichoderma	Severidad	No. Plantas afectadas
GU8	1	0	1	30
GU8	1	1	1	7
GU8	1	2	1	16
GU8	2	0	1	24
GU8	2	1	1	15
GU8	2	2	1	13

Planillas etapa de vivero

Genotipo	Rep	Tam	altura (cm)	diámetro (mm)	Rep	Tam	altura (cm)	diámetro (mm)
GC514	1	1	17.2	2	40	1	19.7	2
GC514	2	1	18.8	2	41	1	21	2
GC514	3	1	19	2	42	1	23.5	2.5
GC514	4	1	23.5	2.5	43	1	18.4	1.5
GC514	5	1	19.1	2	44	1	21.3	1.5
GC514	6	1	16.5	2.5	45	1	18	2
GC514	7	1	17	2	46	1	17	2
GC514	8	1	16.4	2.5	47	1	18.2	2
GC514	9	1	16.5	2	48	1	24	2
GC514	10	1	17.5	3	49	1	25	2.5
GC514	11	1	22.6	2.5	50	1	19.1	2
GC514	12	1	20.7	2	51	1	20.8	2
GC514	13	1	23	2	52	1	18.8	2.5
GC514	14	1	20.4	2	53	1	18.2	2
GC514	15	1	19.2	4	54	1	19.1	2
GC514	16	1	19.7	2	55	1	18.8	2
GC514	17	1	19.6	2.5	56	1	21	3
GC514	18	1	16.3	2	57	1	23	2
GC514	19	1	21.4	3	58	1	20.4	2
GC514	20	1	21.4	2	59	1	21	2
GC514	21	1	16.7	2	60	1	21.3	2.5
GC514	22	1	17.5	2	61	1	21.9	2
GC514	23	1	21	2.5	62	1	20.2	2
GC514	24	1	18.6	2	63	1	19.4	2
GC514	25	1	19	2.5	64	1	16	2.5
GC514	26	1	21.4	2.5	65	1	23.3	2.5
GC514	27	1	22.2	2	66	1	22.6	2
GC514	28	1	17.3	2	67	1	22	2
GC514	29	1	18.5	2	68	1	16.6	2
GC514	30	1	16.4	2	69	1	16.4	2
GC514	31	1	18.4	2	70	1	18.9	2
GC514	32	1	18	2	71	1	21.4	2

GC514	33	1	18.2	2	72	1	21.7	2.5
GC514	34	1	24	2	73	1	22	2
GC514	35	1	21	2	74	1	21.9	2
GC514	36	1	19.8	2	75	1	22.2	2.5
GC514	37	1	18.9	2				
GC514	38	1	20.5	2				
GC514	39	1	19.5	2				

Genotipo	Rep	Tam	Altura (cm)	diámetro (mm)	Rep	Tam	Altura (cm)	diámetro (mm)
GC514	1	2	9.2	2	40	2	12.5	2.5
GC514	2	2	9.1	1.5	41	2	12.2	1.5
GC514	3	2	11.2	1.5	42	2	11.2	1.5
GC514	4	2	13	1.5	43	2	9.4	2.5
GC514	5	2	19	2	44	2	11	1.5
GC514	6	2	11	2.5	45	2	10.9	1
GC514	7	2	9.1	1.5	46	2	12.7	2
GC514	8	2	10	1.5	47	2	7.5	1.5
GC514	9	2	9.7	2	48	2	10.5	2
GC514	10	2	11.7	2	49	2	13.9	2
GC514	11	2	11.6	2	50	2	7.6	1.5
GC514	12	2	11.2	2	51	2	11.8	2
GC514	13	2	11	1.5	52	2	12.2	2
GC514	14	2	10	1.5	53	2	12.3	1.5
GC514	15	2	12.9	2	54	2	13.1	1.5
GC514	16	2	12	2	55	2	11.5	1.5
GC514	17	2	9.6	2.5	56	2	11.5	1.5
GC514	18	2	9.2	1.5	57	2	12.5	2
GC514	19	2	9.2	1.5	58	2	11	1
GC514	20	2	11.4	2	59	2	11.3	2
GC514	21	2	12.5	2	60	2	12.1	2
GC514	22	2	11.5	2	61	2	8	1.5

GC514	23	2	9.3	2.5	62	2	12	2
GC514	24	2	10.3	1.5	63	2	14	2
GC514	25	2	11.5	1.5	64	2	12.7	1.5
GC514	26	2	14.5	1.5	65	2	13.7	1.5
GC514	27	2	9.7	1.5	66	2	10.4	1.5
GC514	28	2	11.6	1.5	67	2	9.9	1.5
GC514	29	2	12.7	2	68	2	8	1.5
GC514	30	2	11.6	1.5	69	2	11	1
GC514	31	2	12.6	2	70	2	10.5	2
GC514	32	2	12	1.5	71	2	12.3	1.5
GC514	33	2	10	1.5	72	2	9.7	2
GC514	34	2	10	1.5	73	2	10.1	1.5
GC514	35	2	9.7	1.5	74	2	11.1	1.5
GC514	36	2	12	2.5	75	2	13	2
GC514	37	2	13	1.5				
GC514	38	2	12.3	1.5				
GC514	39	2	10.5	2				

Genotipo	Rep	Tam	diámetro (mm)	altura (cm)	Rep	Tam	diámetro (mm)	Altura (cm)
GT529	1	1	3	17	40	1	2	18.8
GT529	2	1	3	15.4	41	1	2	16
GT529	3	1	2	12.4	42	1	2	16.6
GT529	4	1	3	15.3	43	1	3	17.5
GT529	5	1	3	14.2	44	1	2.5	15.5
GT529	6	1	3	12.8	45	1	2.5	15.4
GT529	7	1	4	16.1	46	1	2	15.9
GT529	8	1	2	13.5	47	1	2	13.7
GT529	9	1	3	16.7	48	1	2	19.2
GT529	10	1	3	14	49	1	2	17.7
GT529	11	1	2	14.5	50	1	2.5	16.9
GT529	12	1	2	14.9	51	1	2	17

GT529	13	1	3	14.1	52	1	2.5	14.8
GT529	14	1	4	17.3	53	1	2	21.4
GT529	15	1	4	13.9	54	1	2	19.5
GT529	16	1	3	14.1	55	1	2	19
GT529	17	1	4	13	56	1	3	17.5
GT529	18	1	4	17.1	57	1	3	18.9
GT529	19	1	3	16	58	1	2	17.5
GT529	20	1	3	14.2	59	1	4	17
GT529	21	1	2	14.1	60	1	2	17.7
GT529	22	1	3	13.6	61	1	2	16.5
GT529	23	1	3	16	62	1	2	15
GT529	24	1	2	16	63	1	2	15.6
GT529	25	1	4	16	64	1	2.5	15.1
GT529	26	1	3	17	65	1	3	14.4
GT529	27	1	4	13.5	66	1	2	18.5
GT529	28	1	4	14.5	67	1	3	18
GT529	29	1	3	15.7	68	1	2	16.5
GT529	30	1	4	17.4	69	1	2	14
GT529	31	1	3.5	16.3	70	1	2	19.3
GT529	32	1	3	18.3	71	1	2.5	16.9
GT529	33	1	3.5	16.3	72	1	2	16.5
GT529	34	1	3.5	18	73	1	2	18.2
GT529	35	1	3.5	16.7	74	1	2	17.6
GT529	36	1	2	16.2	75	1	2.5	15.4
GT529	37	1	2	15.6				
GT529	38	1	3.5	20.1				
GT529	39	1	2	15.5				

Genotipo	Rep	Tam	diámetro (mm)	altura (cm)	Rep	Tam	diámetro (mm)	altura (cm)
GT529	1	2	2	11	40	2	1	12.3
GT529	2	2	2	9	41	2	2	13.2
GT529	3	2	1.5	14.9	42	2	2.5	13.4
GT529	4	2	2	16.5	43	2	2	6

GT529	5	2	2	15.5	44	2	2	9
GT529	6	2	1.5	13.8	45	2	2	16
GT529	7	2	3	16.5	46	2	2	15.6
GT529	8	2	2	9.2	47	2	2	11.5
GT529	9	2	2	10.7	48	2	2	16.4
GT529	10	2	2	13.4	49	2	2	12.2
GT529	11	2	3	11	50	2	2	14
GT529	12	2	2	11.5	51	2	2	9
GT529	13	2	2	15.2	52	2	2	13
GT529	14	2	2	13.5	53	2	2	13
GT529	15	2	2	16.5	54	2	2	11.3
GT529	16	2	2	14.4	55	2	2	12.6
GT529	17	2	2	13.4	56	2	2	11.5
GT529	18	2	1.5	9.5	57	2	2	11.6
GT529	19	2	2	14	58	2	1.5	14.2
GT529	20	2	2	9.8	59	2	2	11.5
GT529	21	2	2	13.2	60	2	2	15.5
GT529	22	2	1.5	11.5	61	2	2	11.5
GT529	23	2	2	16	62	2	1.5	14.5
GT529	24	2	1.5	12.4	63	2	2	12.6
GT529	25	2	2	14.8	64	2	2	9.5
GT529	26	2	2	11.7	65	2	2	14.5
GT529	27	2	2	15.2	66	2	1.5	12.5
GT529	28	2	2	11.6	67	2	2	14
GT529	29	2	1	14	68	2	2	14.7
GT529	30	2	2	11.4	69	2	2	12.9
GT529	31	2	2	12.3	70	2	2	12.4
GT529	32	2	2	14.7	71	2	2	12
GT529	33	2	1	8	72	2	2	13.9
GT529	34	2	2	13.7	73	2	2	11.2
GT529	35	2	2	14.5	74	2	1.5	13
GT529	36	2	2	11.5	75	2	2	11.3
GT529	37	2	1.5	12.7				
GT529	38	2	2	12.5				
GT529	39	2	2	13.3				

Genotipo	Rep	Tam	diámetro (mm)	Altura (cm)	Rep	Tam	diámetro (mm)	altura (cm)
GU8	1	1	3	15	40	1	3	18.5
GU8	2	1	3	12.5	41	1	3	16
GU8	3	1	3	12	42	1	2	18
GU8	4	1	3	16	43	1	3	17
GU8	5	1	2	13.5	44	1	3	16
GU8	6	1	3	13	45	1	2	13.5
GU8	7	1	3	12.5	46	1	4	19.5
GU8	8	1	2.5	12.5	47	1	4	18.5
GU8	9	1	1.5	15.5	48	1	2	15.5
GU8	10	1	3	16.5	49	1	2.5	19
GU8	11	1	3	12.5	50	1	3	17
GU8	12	1	3	14	51	1	3	17.5
GU8	13	1	2	12.5	52	1	2	14
GU8	14	1	3	16	53	1	3	16
GU8	15	1	4	16.5	54	1	3.5	16
GU8	16	1	2	16.5	55	1	2	14
GU8	17	1	2	15	56	1	2.5	18
GU8	18	1	2.5	15	57	1	2.5	17
GU8	19	1	2	17	58	1	4	18
GU8	20	1	2	19	59	1	3	14
GU8	21	1	3	21	60	1	2.5	18
GU8	22	1	2	15	61	1	3	16
GU8	23	1	2.5	16	62	1	3	17
GU8	24	1	3	16	63	1	3	19
GU8	25	1	3	17	64	1	2	14
GU8	26	1	2.5	14	65	1	3	17
GU8	27	1	2.5	14	66	1	1.5	14
GU8	28	1	2.5	15	67	1	3	15
GU8	29	1	2	16	68	1	2	17
GU8	30	1	2.5	17	69	1	2	16
GU8	31	1	2.5	18	70	1	2.5	19
GU8	32	1	3	18.5	71	1	4	18

GU8	33	1	3	20.5	72	1	3	19.5
GU8	34	1	3	19	73	1	2	14.5
GU8	35	1	2	15.5	74	1	3	15.5
GU8	36	1	3	20.5	75	1	3	15.5
GU8	37	1	3	15				
GU8	38	1	3.5	17				
GU8	39	1	3	20				

Genotipo	Rep	Tam	diámetro (mm)	Altura (cm)	Rep	Tam	diámetro (mm)	Altura (cm)
GU8	1	2	1	8.6	40	2	2	12.3
GU8	2	2	4	12.9	41	2	2	13.2
GU8	3	2	3	7.5	42	2	2	12
GU8	4	2	1	13.1	43	2	1.5	9.2
GU8	5	2	2	10.1	44	2	2	7.3
GU8	6	2	2	8.6	45	2	2	12.2
GU8	7	2	2	13.7	46	2	2	11.1
GU8	8	2	2	12.5	47	2	2	12.3
GU8	9	2	1.5	12.2	48	2	2	11
GU8	10	2	2	8.6	49	2	1.5	11.7
GU8	11	2	2	7.6	50	2	1.5	8.6
GU8	12	2	2.5	11.5	51	2	2.5	14.1
GU8	13	2	3	12.2	52	2	1.5	8
GU8	14	2	1.5	13	53	2	2.5	14
GU8	15	2	2	11.3	54	2	2	10.9
GU8	16	2	2	13.2	55	2	2	7.9
GU8	17	2	2	9.9	56	2	2	11.2
GU8	18	2	2	11.4	57	2	2	11.7
GU8	19	2	2.5	14.4	58	2	2.5	7
GU8	20	2	2	7.1	59	2	2	14.2
GU8	21	2	2.5	10.9	60	2	2	11.9
GU8	22	2	2.5	7.6	61	2	2.5	8.2
GU8	23	2	1.5	9.9	62	2	2	10

GU8	24	2	4	8.9	63	2	1.5	10.5
GU8	25	2	1.5	15.8	64	2	2	7.1
GU8	26	2	2	13	65	2	2	15
GU8	27	2	2.5	11.2	66	2	2	13.5
GU8	28	2	2	8.5	67	2	1.5	9.5
GU8	29	2	2.5	12.8	68	2	2	12.9
GU8	30	2	2	15	69	2	2	10.3
GU8	31	2	1.5	9.7	70	2	2	14.4
GU8	32	2	2	12.6	71	2	2	11.9
GU8	33	2	2	10.2	72	2	2.5	5.2
GU8	34	2	2	11.8	73	2	2	15.5
GU8	35	2	2	9.5	74	2	1.5	12.1
GU8	36	2	1.5	9.7	75	2	2	10
GU8	37	2	2	10.8				
GU8	38	2	2	7.5				
GU8	39	2	2.5	11.5				

Planillas de campo altura y diámetro.

Bloque	I	I	I	I	I	I
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello (cm)	Altura	Diámetro cuello(cm)
Tratamiento	3	3	14	14	5	5
Fila 1	1.55	3.9	1.2	3.0	1.5	2.3
	1.2	1.6	0	0	1.6	2.0
	1.34	2.0	0	0	1.16	2.2
	1.55	2.4	0	0	1.45	2.2
	1.38	2.0	0	0	1.37	2.0
	0.74	1.3	0	0	0	0
Fila 2						
	0	0	0.53	0.9	1.6	2.2
	1.05	1.7	0.64	0.6	0	0

	1.47	2	0.82	1.9	0	0
	1.38	2.2	0.93	2.3	1.46	2.3
	1.26	1.5	1.42	2.3	1.0	1.0
	1.26	2.2	1.43	2.3	1.64	2
Fila 3						
	1.37	2.4	0	0	1.8	2.3
	1.24	2.3	0	0	1.38	2
	1.48	2.2	0	0	1.83	2.5
	1.40	2.5	1.28	2.1	1.61	1.8
	1.27	1.8	0	0	1.8	2.3
	1.43	2.5	0.7	1.6	1.8	2.2
Fila 4						
	0.82	1.2	0	0	1.18	1.6
	1.18	1.5	1.23	1.7	0.67	1
	1.19	1.8	0.67	2.1	1.30	1.8
	1.08	1.7	0	0	1.09	1.6
	0	0	0	0	0.94	1.3
	1.23	1.7	0	0	0.98	1.4
Fila 5						
	0	0	1.71	2.1	0.97	2
	0	0	0.68	1.8	1.57	2
	0	0	0	0	1.13	1.3
	0.81	0.8	0	0	0.75	1
	1.42	2.4	1.07	2	1.29	1.6
	1.55	2.3	0	0	0.81	1

Bloque	I	I	I	I	I	I
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Tratamiento	4	4	15	15	6	6
Fila 1	1.14	1.5	0	0	1.06	1.7
	0.78	1.0	0.85	2.2	0.83	1.4
	0.86	2.3	1.02	2.1	0	0
	1.5	2.2	1.26	2.0	1.24	1.4
	1.5	2.3	1.36	2.6	0	0
	0	0	1.65	2.7	1.51	2
Fila 2						
	1.32	2	1.33	2.2	1.38	2
	1.84	2.3	1.81	2.9	1.08	1.4
	1.37	2	1.27	2.7	1.46	2.3
	1.23	1.7	0.62	1.3	0.93	1.2
	1.24	1.5	1.29	2.2	0	0
	0	0	1.21	1.6	0.93	1.5
Fila 3						
	1.28	1.6	0	0	1.48	2.1
	1.29	1.4	0	0	1.0	1.7
	1.46	2.2	1.40	3.4	1.52	2
	1.6	2.3	1.23	2.1	1.16	2
	1.55	2.7	0.8	1.8	1.19	2.1
	1.50	2.5	1.06	2.2	1.39	2.2
Fila 4						
	1.23	1.7	0.74	1.4	0	0
	0.82	1	0.80	1.7	1.02	1.5
	0.76	1.1	0.69	2	1.03	1.7
	1.12	1.4	1.21	2.2	1.32	1.7
	0.44	0.5	0.93	1.9	0.57	1.3
	0.92	1.5	1.0	2.3	0.76	0.9
Fila 5						
	1.25	2	1.50	2.9	1.50	2
	0.65	0.9	0.80	1.8	1.24	2
	0.81	1.0	0.84	1.6	0	0
	1.43	1.8	0.51	0.9	1.08	1.4

	0	0	0.52	1.4	1.70	2.5
	1.20	1.6	0.85	1.3	1.82	2.7
Bloque	I	I	I	I	I	I
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Tratamiento	12	12	9	9	10	10
Fila 1	0	0	1.14	2.1	1.08	1.5
	1.13	1.4	1.15	1.7	0.80	1.8
	1.15	1.8	0.47	0.7	1.35	1.6
	1.29	1.8	0.60	0.8	1.06	1.6
	1.30	1.8	1.06	1.4	0.65	1
	1.22	1.7	1.09	2	1.20	2
Fila 2						
	1.67	2.4	1.04	2	1.26	2
	1.18	2.2	1.10	1.4	1.15	1.7
	1.62	2.2	0.63	1	1.21	2
	1.25	1.8	0.76	1.1	1.10	1.7
	0.86	1.6	0.99	1.5	1.24	2
	1.44	2	0	0	1.10	1.5
Fila 3						
	1.50	2.5	1.55	2.2	1.68	2.2
	1.95	3.2	1.63	2.2	1.47	2.3
	1.77	2.5	1.49	2.5	1.51	2.4
	1.60	2.4	1.48	2.5	1.34	2
	1.80	2.9	1.56	2.2	1.05	1.6
	2.05	3.8	1.27	1.8	1.47	2.5
Fila 4						
	1.55	2.7	1.80	2.7	1.38	2.1
	1.62	2.5	1.58	2.4	1.68	2.8
	1.53	2.4	1.05	1.9	1.55	2
	1.35	2.4	1.46	2.1	1.47	2.3
	1.29	2.8	0.56	1	1.34	2.1
	0	0	0.73	1.1	1.48	2.1
Fila 5						
	1.36	2.1	1.36	1.8	1.61	2.5
	1.64	3.2	0	0	1.38	2.8

	0.89	1.2	1.59	2.3	0.98	2
	0.90	1.6	0	0	0.64	0.8
	1.50	2.1	1.65	2.5	0	0
	1.68	2.3	0.82	1.2	0.64	1
Bloque	I	I	I	I	I	I
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Tratamiento	1	1	16	16	7	7
Fila 1	0.93	1.2	1.13	2.2	0	0
	0	0	0.81	2	0	0
	1.15	1.6	0.91	1.8	1.39	1.9
	1.11	1.4	1.05	2.3	0.94	1.8
	1.25	1.7	0.95	1.9	0	0
	0.88	1.2	0.67	1.8	0.94	1.8
Fila 2						
	0.645	0.8	0	0	0.98	1.5
	0.82	1.4	1.46	2.7	1.66	2.4
	0.95	1.4	1.33	2.2	0.96	1
	1.15	1.5	1.27	2.7	1.28	2
	0.525	0.6	1.04	2.2	0.78	1.3
	0.98	1.3	1.20	2.5	0	0
Fila 3						
	1.20	1.9	1.70	2.5	1.51	2
	1.30	1.9	1.80	3.3	1.63	2.5
	1.48	2	0.94	2.2	1.68	1.6
	1.10	2.1	1.19	2.5	1.04	2.1
	1.05	2.7	1.10	3	0.91	2
	1.18	1.5	1.54	2.4	0.96	1.4
Fila 4						
	1.60	3	1.23	2.3	1.62	1.8
	1.41	2.4	1.34	2.5	1.60	2
	1.27	1.7	1.11	2.5	1.04	1.5
	0	0	1.65	2.6	1.19	1.4
	0	0	2.01	3.1	0.91	1.1
	0.92	1.5	1.55	2.9	0	0
Fila 5						

	0	0	1.64	2.7	1.06	1.6
	0.95	1.7	1.34	2.5	1.78	2.6
	1.64	2.5	1.10	2.6	1.71	2.7
	1.14	1.5	1.50	2	0	0
	0	0	1.14	2.9	1.17	1.4
	1.18	1.8	1.41	3	1.58	2
Bloque	I	I	I	I	I	I
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Tratamiento	11	11	8	8	17	17
Fila 1	1.26	1.6	1.10	1.5	1.33	2.6
	1.13	1.5	1.18	1.6	1.10	2.3
	1.63	2.4	0	0	0	0
	1.71	2.5	0.56	0.5	1.50	2.2
	1.00	1.6	1.29	2.2	1.38	2.3
	0.95	1.6	1.25	2	0	0
Fila 2						
	1.55	3	1.65	2.3	1.36	2.3
	1.60	2.6	0	0	1.08	1.9
	1.18	2.1	1.53	2.3	1.19	2.5
	1.62	2.1	1.08	1.4	1.44	2.6
	1.60	2.7	1.40	1.8	1.51	2.7
	1.50	2.2	1.25	1.6	0	0
Fila 3						
	1.43	2	1.55	1.9	1.26	2.7
	1.92	2.6	0.72	0.5	1.81	2.7
	1.29	2.2	1.42	1.8	1.33	2.7
	1.65	2.8	1.18	1.2	1.77	2.8
	1.34	2.2	1.07	1.5	1.57	2.4
	1.34	2.3	1.50	2.4	1.63	3
Fila 4						
	1.63	2.6	1.22	1.5	1.36	2.6
	0.52	0.6	0	0	1.52	3.2
	1.47	1.6	1.24	1.6	1.67	2.7
	0	0	1.46	1.9	1.10	2.0
	1.36	2.2	0	0	1.26	2.4

	1.46	1.8	1.45	2.4	1.55	2.8
Fila 5						
	1.44	2.1	1.37	2.6	1.46	2.2
	1.60	2.7	0.95	0.7	1.30	2.1
	1.67	3	0.76	1.8	1.67	1.9
	1.73	2.8	1.40	2.2	1.49	2.1
	1.57	2.4	1.34	2.3	1.68	2.5
	2.00	2.6	1.30	2	1.65	2.8
Bloque	I	I	I	I	I	I
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Tratamiento	2	2	18	18	13	13
Fila 1	1.42	1.7	0.94	1.4	0.69	1.6
	1.43	1.5	1.20	2.5	1.50	2.4
	1.31	1.1	1.74	3.3	0.77	1.3
	1.49	1.5	1.45	2.3	1.01	2.1
	0.98	0.8	1.09	2.6	1.31	2.2
	1.74	2	0	0	0	0
Fila 2						
	1.48	2.3	1.29	2.1	1.04	1.6
	1.41	1.5	1.05	1.8	1.15	2.7
	0	0	1.14	2.2	1.35	2.1
	1.53	2.1	1.17	2	0.49	0.6
	1.60	1.8	1.26	2.6	0.44	0.5
	0.59	1.1	1.06	1.4	0.73	1.5
Fila 3						
	0	0	1.19	1.5	1.36	2.7
	1.59	2.5	1.52	3	1.52	2.6
	1.83	2.4	1.46	2.9	1.44	2.5
	1.79	2.4	1.68	2.7	1.65	2.3
	1.70	2.6	1.45	2.1	1	0.9
	1.31	1.5	1.03	1.5	0.96	1.4
Fila 4						
	1.07	2.2	1.34	2.3	1.30	2.5
	1.28	1.6	1.24	2	1.10	2.8
	1.52	2.2	1.60	3.2	1.27	2.7

	1.53	2.1	1.60	2.5	1.28	2
	1.51	2.1	0	0	0.91	1.7
	1.70	2.1	1.17	2.9	1.73	2.7
Fila 5						
	0	0	1.76	2.1	1.13	1.8
	1.30	1.7	1.50	2.2	1.40	3
	1.18	1.8	1.57	2.3	1.12	0.9
	1.17	1.7	1.35	2	1.54	2.2
	0	0	1.66	1.8	0.79	1.8
	1.68	2.2	1.06	1.3	1.19	2.7

Bloque	II	II	II	II	II	II
Tratamiento	4	4	13	13	10	10
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura(m)	Diámetro cuello(cm)
Fila 1	1.27	2.1	1.58	3.1	0.62	0.6
	1.60	2.7	1.86	3.1	1.27	2.4
	0.81	3.3	0.83	0.9	1.64	2.6
	1.45	2.5	1.00	1.7	1.05	1.9
	1.70	3.4	0.91	0.6	1.33	2.2
	1.98	3.7	0	0	1.44	2.2
Fila 2						
	1.91	2.3	1.38	1.9	1.26	2.7
	1.04	2.9	1.69	2.4	1.73	2.9
	1.18	3.2	1.25	2	1.22	2.1
	1.27	3.2	1.22	2	1.38	2.2
	1.63	3.5	1.17	1.4	0	0
	1.22	2.6	1.39	2.1	1.32	2.3
Fila 3						
	0	0	1.70	2.4	1.71	2.6
	1.08	2.3	1.19	2	1.53	2.3
	1.60	2.5	1.60	2	1.90	2.8
	0	0	1.44	2.2	0	0
	1.32	3.1	1.64	2.5	1.74	2.5
	1.23	2.9	1.48	2	1.46	1.8
Fila 4						

	0	0	1.13	2.3	1.42	2.6
	1.44	3.4	1.37	2	1.65	2.3
	0.85	2.4	0.72	1	1.34	2.4
	1.22	2.3	0.90	2.1	1.25	2.4
	0	0	1.31	2.1	1.32	1.6
	1.03	2.5	1.19	1.8	1.76	2.4
Fila 5						
	0.72	1.7	1.56	2.7	1.41	2.4
	1.81	4	1.54	2.7	0.83	0.8
	0	0	0	0	0	0
	1.48	3	0	0	1.41	1.9
	1.5	2.9	0	0	0	0
	1.45	2	0	0	1.45	3.3

Bloque	II	II	II	II	II	II
Tratamiento	14	14	15	15	2	2
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello
Fila 1	1.13	2	0.99	1.6	0	0
	0	0	1.86	2.8	1.17	3.4
	1.52	2.4	1.25	1.8	1.25	3
	1.31	3.2	1.80	2.5	0.97	2.4
	0	0	1.75	2.3	1.15	2.3
	1.35	2.3	1.80	2.5	1.40	2.8
Fila 2			Fila 2		Fila 2	
	1.57	2.4	1.33	2.4	1.60	2.2
	1.70	2.5	1.40	2.1	0	0
	1.51	2.1	1.10	1.4	1.16	2.7
	1.85	2.6	0	0	0.93	2.3
	1.49	2.6	1.68	2.5	1.38	3.3
	1.17	2.4	1.96	2.8	1.46	3.8
Fila 3			Fila 3		Fila 3	
	1.5	2	1.70	2.4	0	0
	0	0	1.26	1.6	1.49	2.6
	0.49	0.8	0.91	1.4	1.6	3.4
	1.48	2.3	1.60	2.9	1.11	2.7

	1.12	1.4	1.62	2.7	1.58	3.2
	2.2	0.3	1.98	2.5	1.46	2.8
Fila 4			Fila 4		Fila 4	
	0	0	1.43	2.2	1.33	2.9
	0.83	1.5	1.20	1.0	0	0
	1.18	1.6	1.46	2.2	1.68	3.4
	1	1.4	0.87	0.9	0.44	0.8
	1.13	1.9	1.61	2.7	0	0
Fila 5			Fila 5		Fila 5	
	0.64	1.2	1.25	2	1.43	3.4
	1.49	2.6	0	0	1.48	3.8
	1.49	2.3	1.60	2	1.50	2.8
	1.46	2.5	1.35	1.8	1.56	3.3
	1.29	2.1	1.60	2.1	0.60	1.8
	1.37	2	1.62	2.6	1.62	3.2

Bloque	II	II	II	II	II	II
Tratamiento	6	6	9	9	7	7
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Fila 1	1.44	2.2	1.05	2.8	1.10	2.1
	1.40	2.4	0.77	2	0.81	1.7
	1.73	2.5	1.11	2.9	0.92	1.6
	0	0	0	0	0	0
	0.72	1.9	1.33	2.7	0	0
	0.63	1.6	0.88	2.1	0	0
Fila 2	Fila 2		Fila 2		Fila 2	
	1.06	2.9	1.05	2.8	1.10	2.1
	0	0	0.77	2	0.81	1.7
	1.25	2.4	1.11	2.9	0.92	1.6
	1.67	2.7	0	0	0	0
	1.50	2.6	1.33	2.7	0	0
	0.73	1.4	0.88	2.1	0	0
Fila 3	Fila 3		Fila 3		Fila 3	
	1.38	2.0	1.11	2.4	1.49	2.1

	0	0	0	0	1.39	2
	1.13	1.8	1.50	3.1	1.77	2.5
	1.60	2.5	1.82	3.2	1.27	1.7
	0.87	1.8	1.33	3	1.32	2.6
	1.35	2.7	1.45	2.5	0.45	1.6
Fila 4	Fila 4					
	1.7	2.5	1.42	1.7	1.41	1.9
	1.77	2.4	1.55	2.9	1.44	0.6
	1.55	2.5	1.29	3	0.45	0.4
	1.20	2.1	1.52	2.9	0.86	1.4
	1.27	2.2	1.50	3	1.07	1.7
	1.60	2.7	1.38	3.5	1.54	2
Fila 5			Fila 5		Fila 5	
	1.40	2.4	1.29	2.9	1.06	1.5
	1.61	2.6	1.72	3.2	0.97	1.4
	1.40	2	1.01	2.8	0.81	0.8
	1.49	2.2	0	0	1.22	1.8
	0	0	1.17	3.3	1.30	1.7
	1.40	1.9	0.76	1.8	1.53	2.3

Bloque	II	II	II	II	II	II
Tratamiento	18	18	11	11	1	1
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Fila 1	0	0	1.51	2.5	1.34	2.4
	0	0	0	0	0	0
	0.83	2.3	1.35	2.2	1.16	1.8
	0.70	1.7	1.62	2.2	1.24	2.1
	0.74	2	1.26	2.2	1.04	1.8
	0.81	2.2	0	0	1.46	2.4
Fila 2	Fila 2		Fila 2		Fila 2	
	0	0	0	0	1.61	2.6
	0	0	1.43	2.4	1.70	3.1
	1.90	3.5	1.32	1.9	1.37	2
	1.04	1.5	1.58	2.2	1.17	2.4
	1.40	3.1	1.00	1.9	1.66	2.7

	0	0	1.00	1.3	0	0
Fila 3	Fila 3					
	1.28	2.7	1.12	1.8	1.54	2.5
	1.10	2.9	1.16	2.2	1.34	2.2
	0.69	2.7	0.79	1.1	1.77	2.6
	0.55	1.6	0	0	0.55	1.2
	1.04	2.6	1.70	2.4	1.14	2.3
	0	0	1.19	3	0.90	1
Fila 4	Fila 4					
	0	0	0	0	1.60	1.9
	1.14	2.3	0	0	1.50	2
	0.67	1.8	1.41	2	1.44	3
	0	0	1.38	2	1.42	2.6
	1.40	2.2	1.19	2.4	1.35	2.8
	1.64	1.8	1.26	2.2	0.98	1.5
Fila 5	Fila 5					
	0.78	2	1.65	2.2	0	0
	0.80	1.2	1.35	1.9	0.98	2.3
	0.89	3.2	0.83	0.7	1.30	1.7
	1.13	3.1	0	0	1.75	2.6
	1.08	1.7	1.49	1.9	1.77	2.6
	1.43	2.7	1.39	2	0.74	0.5

Bloque	II	II	II	II	II	II
Tratamiento	8	8	12	12	5	5
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Fila 1	1.70	2.4	0.47	0.9	1.8	1.3
	1.40	2.3	1.10	2	1.65	2.6
	1.45	2	0	0	1.55	2.4
	1.19	2.3	0	0	0.86	1.7
	1.29	2	1.10	1.9	0.90	1.4
	1.45	2.4	0	0	0.91	1.5
Fila 2	Fila 2		Fila 2		Fila 2	
	1.48	2	1.24	2.4	0.95	1.4
	1.58	2.3	1.5	2.5	1.67	2.4

	1.29	2	1.23	1.9	1.33	2.2
	0	0	0.66	1.2	1.08	2.1
	0	0	0.57	0.6	0	0
	1.21	2.2	1.40	2.1	0.65	2.9
Fila 3						
	1.28	2.4	1.06	1.7	0.89	1.6
	1.68	2.5	0.89	1.7	0.94	1.9
	0.86	1.3	0	0	0	0
	1.26	1.9	1.57	2.6	0.81	1.1
	1.11	1.7	0.97	2.1	1.33	1.7
	1.55	2.3	0	0	1.50	2.2
Fila 4						
	0.73	1.5	0.92	1.2	1.3	2.3
	1	1.2	1	2	1.20	2.3
	1.32	2.2	1.19	2.1	0.78	1.2
	1.62	2.4	0.89	1.3	0.51	1.2
	0	0	0	0	0	0
	1.02	2.4	0.61	1.2	0	0
Fila 5						
	1.28	2	0	0	1.19	1.5
	1.50	2.4	0	0	0	0
	1.01	1.8	0.81	1.2	1.19	1.9
	1.42	2.2	0	0	0	0
	1.49	2.5	0.46	0.7	0.72	0.9
	1.47	2.2	0	0	0	0

Bloque	II	II	II	II	II	II
Tratamiento	17	17	16	16	3	3
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Fila 1	0.81	2	1.29	2.1	1.58	3.1
	0	0	1.60	2.7	1.86	3.1
	1.07	2.4	0.85	3.3	0.83	0.9
	0	0	1.45	2.5	1.00	1.7
	1.40	2.3	1.73	3.4	0.91	0.6
	1.49	2.2	1.98	3.7	0	0

Fila 2	Fila 2					
	0.98	2.3	1.89	2.3	1.38	1.9
	1.23	2.1	1.04	2.9	1.69	2.4
	0.96	1.9	1.18	3.2	1.25	2
	1.64	2.3	1.30	3.2	1.22	2
	1.37	2.1	1.63	3.5	1.17	1.4
	1.39	1.7	1.25	2.6	1.39	2.1
Fila 3						
	1.28	1.9	1.09	2.2	1.70	2.9
	0.45	0.9	1.08	2.3	1.19	2.1
	0.67	1.4	1.60	2.5	1.60	2.2
	1.29	2.5	0	0	1.44	1.9
	0.56	1.2	1.32	3.1	1.64	2.2
	0.98	1.5	1.23	2.9	1.48	2.2
Fila 4						
	0	0	0	0	1.13	2.3
	0	0	1.44	3.4	1.37	2
	0.57	0.8	0.85	2.4	0.72	1
	0	0	1.22	2.3	0.90	2.1
	0.53	1.5	1.25	2.4	1.31	2.1
	0.61	1.6	1.03	2.5	1.19	1.8
Fila 5						
	0	0	0.72	1.7	1.56	2.7
	0	0	1.81	4	1.54	2.7
	0	0	1.5	2.5	0	0
	0	0	1.48	3	0	0
	0	0	1.5	2.9	0	0
	0	0	1.45	2	0	0

Bloque	III	III	III	III	III	III
Tratamiento	18	18	9	9	4	4
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Fila 1	0.81	2.1	0	0	0	0
	0.91	2	0	0	0	0
	0.95	2	0	0	1.06	2.1

	0	0	0	0	1.48	2.2
	0.74	1.3	0.58	1.1	1.03	1.8
	0.52	0.9	1.45	2.6	1.21	1.9
Fila 2						
	0.75	2	0	0	1.45	2.2
	1.12	2	0	0	1.52	2.6
	0.45	1.1	1.35	2.1	1.31	2.2
	0	0	0.84	1.5	1.08	2.3
	0	0	1.52	2.2	1.60	2.2
	0.59	1	1.28	2.9	1.78	2.5
Fila 3						
	1.28	2.4	0	0	0	0
	1.14	2.6	0.71	1.2	1.54	2.2
	0.68	1.9	0	0	1.34	2.1
	0	0	0	0	1.65	2.1
	0	0	1.40	2.6	1.39	2.1
	0	0	1.08	2.3	1.21	1.5
Fila 4						
	0.84	1.4	0	0	1.45	2.2
	0.97	2.3	0.67	0.8	1.56	2.6
	0.71	1.3	1.14	1.8	0	0
	1.29	2.6	0.93	1.6	1.08	2.1
	0.78	1.7	0.82	1.6	1.35	2.4
	0	0	1.30	2.1	2.03	2.8
Fila 5						
	0	0	0	0	0.58	0.6
	0.63	1.4	0	0	1.16	1.6
	1.0	2	0	0	1.42	1.7
	0.51	0.7	0.97	2	1.03	1.6
	0.58	1.1	1.19	2	1.09	1.6
	0	0	0	0	1.40	2.7

Bloque	III	III	III	III	III	III
Tratamiento	15	15	3	3	5	5
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)

Fila 1	0.74	1.7	0	0	0	0
	0	0	1.12	1.9	1.04	1.5
	0	0	0	0	1.15	2
	1.08	2.5	0	0	1.63	2.5
	0.67	1.4	0	0	1.6	2.1
	0.79	1.8	0.63	1	0	0
Fila 2						
	0.48	0.8	0	0	0	0
	1.27	2.8	0	0	1.18	2.2
	1.30	2.6	0	0	1.37	2.1
	0.95	3	0	0	1.20	2
	0	0	0.54	0.8	0	0
	0	0	0.80	1.1	0	0
Fila 3						
	1.20	2.9	0.84	1.2	1.21	2
	1.45	2.3	0.96	1.5	0.99	1.7
	1.18	2.4	0.77	1.1	1.35	2.1
	0.97	1.8	1.08	1.4	1.17	2
	0	0	0	0	1.80	2.5
	0.50	0.6	1.32	2.3	0	0
Fila 4						
	0.93	1.6	0.95	1.6	1.49	2.3
	1.32	2.7	0.81	0.7	0	0
	1.12	2.8	0	0	1.50	2.4
	1.36	2.6	0.97	1.8	0.93	1.7
	0.83	1.6	0.88	1.5	1.34	2
	1.10	1.8	1.32	1.9	0.63	1
Fila 5						
	1.08	2.2	0.63	0.9	0.65	0.8
	0.69	2.3	0.69	0.9	0	0
	1.02	2.2	0.79	1.8	0.60	0.7
	0.78	1.6	0.84	1.1	0.75	0.8
	0.72	1.2	0.96	1.2	0.93	1.3
	0.72	2	1.29	1.5	0.86	2
Bloque	III	III	III	III	III	III

Tratamiento	10	10	12	12	2	2
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Fila 1	0	0	0.61	1.2	0	0
	0	0	0.61	1.2	0	0
	0	0	0	0	0	0
	0	0	1.09	2.1	0	0
	0	0	1.34	2	0	0
	0	0	0	0	1.07	1.4
Fila 2						
	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	1.20	2.3
	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	1.05	1.6
	0	0	0	0	1.04	1.7
	0	0	0.90	2.1	0	0
Fila 3						
	0.44	0.8	0	0	0	0
	0	0	0	0	0.59	1.7
	0.54	1	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
	1.17	2.5	0.55	1.7	0.65	0.9
	1.12	1.9	0	0	1.07	2.3
Fila 4						
	1.04	1.3	0	0	1.23	1.8
	1.12	1.9	0	0	1.60	2.1
	1.29	2	0	0	1.23	2.4
	1.46	1.7	0	0	1.72	2.9
	1.39	2.4	0	0	1.38	2.5
	0.52	1.5	0.99	2	1.23	2
Fila 5						
	0.97	1.6	0	0	0	0
	1.03	1.6	0.77	1.8	0	0
	0.75	0.7	0.85	2.1	0	0
	0	0	0	0	1.35	2.2
	0	0	0	0	0.79	2.1

	1.15	1.5	0.65	1.4	1.68	2.3
--	------	-----	------	-----	------	-----

Bloque	III	III	III	III	III	III
Tratamiento	6	6	11	11	16	16
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Fila 1	1.37	1.8	0	0	0.77	1.7
	1.73	2.5	1.43	2.4	1.08	1.9
	1.8	2.7	1.41	2.7	0	0
	1.67	2.4	1.27	2.5	0.94	1.8
	0	0	1.54	2.3	1.15	3.2
	1.37	2.4	1.55	2	0.90	2.1
Fila 2						
	1.57	2	1.34	2.3	1.72	2.8
	0	0	0.66	1.4	1.57	2.4
	0	0	1.33	2.7	1.67	2.7
	0	0	1.64	2.5	1.80	3.3
	0	0	1.40	2	1.24	2.4
	1.47	2.4	1.72	2.5	1.44	2.6
Fila 3						
	1.55	2.3	0	0	1.58	2.5
	0.77	1.5	1.47	2.1	1.13	1.6
	0	0	1.45	2.6	1.78	3
	0	0	0	0	1.39	2
	0.95	1.2	1.39	2.5	1.46	2.5
	0	0	1.12	2	1.20	2
Fila 4						
	2.07	2.6	1.46	2.5	1.65	2.4
	0.44	0.7	1.52	2.5	1.19	2.1
	0	0	0.79	2	1.39	2.6
	1.48	2.2	1.71	2.9	1.47	2.2
	1.24	2.4	1.41	2.7	0	0
	1.62	2.2	1.73	2.4	1.45	2.2
Fila 5						
	0.75	0.8	0	0	1.66	2.7
	0.92	1.6	1.53	2.6	1.12	2

	1.65	2.6	1.22	2.2	0.44	1.4
	0.73	1.1	0	0	1.33	2.2
	1.25	1.6	0	0	1.45	2.2
	1.46	2.1	1.81	2.8	1.43	2.1

Bloque	III	III	III	III	III	III
Tratamiento	7	7	13	13	17	17
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Fila 1	1.49	2.4	1.11	3.2	0	0
	0.85	2	1.43	4	0.56	0.9
	1.41	2.5	1.50	0.6	0.89	1.7
	1.45	2.3	0	0	0.88	2.1
	1.36	2.8	1.25	1.7	1.11	2.7
	1.22	2.9	0	0	1.15	2.5
Fila 2						
	1.30	2.4	0	0	0.99	2.2
	1.25	2	0	0	0	0
	1.52	2.5	0.64	1.6	1.23	1.9
	1.15	1.8	0.85	2.4	1.04	1.4
	1.72	2.9	0.88	2.3	1.36	2.2
	0.86	1.2	1.16	2.8	0	0
Fila 3						
	1.53	2.3	0	0	1.0	1.4
	1.33	2.1	0.82	2.1	0	0
	1.37	2.3	0	0	1.33	2.2
	1.17	2	0	0	0.79	1
	1.23	1.9	0	0	1.39	2.2
	1.22	1.9	0	0	0.81	1.2
Fila 4						
	0	0	0.76	1.2	0	0
	0	0	0	0	0	0
	1.27	2.2	0	0	0	0
	1.25	2	0	0	0	0
	1.19	2.4	0.61	1.3	0	0
	1.61	2.3	0	0	0	0

Fila 5						
	1.38	2.5	1.36	2.5	1.42	2.5
	1.29	2.3	0.91	2.3	0.99	1.5
	1.28	1.9	0.57	1.2	1.21	2.2
	1.18	1.8	0.94	1.8	1.30	2.1
	1.40	2.1	1.15	1.8	1.94	2.9
	1.34	2	1.24	2.7	0.63	1.4

Sobrevivencia

Bloque	I	I	I	I	I	I
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Tratamiento	3	3	14	14	5	5
Fila 1	1.55	3.9	1.2	3.0	1.5	2.3
	1.2	1.6	0	0	1.6	2.0
	1.34	2.0	0	0	1.16	2.2
	1.55	2.4	0	0	1.45	2.2
	1.38	2.0	0	0	1.37	2.0
	0.74	1.3	0	0	0	0
Fila 2						
	0	0	0.53	0.9	1.6	2.2
	1.05	1.7	0.64	0.6	0	0
	1.47	2	0.82	1.9	0	0
	1.38	2.2	0.93	2.3	1.46	2.3
	1.26	1.5	1.42	2.3	1.0	1.0
	1.26	2.2	1.43	2.3	1.64	2
Fila 3						
	1.37	2.4	0	0	1.8	2.3
	1.24	2.3	0	0	1.38	2
	1.48	2.2	0	0	1.83	2.5
	1.40	2.5	1.28	2.1	1.61	1.8
	1.27	1.8	0	0	1.8	2.3
	1.43	2.5	0.7	1.6	1.8	2.2
Fila 4						
	0.82	1.2	0	0	1.18	1.6
	1.18	1.5	1.23	1.7	0.67	1

	1.19	1.8	0.67	2.1	1.30	1.8
	1.08	1.7	0	0	1.09	1.6
	0	0	0	0	0.94	1.3
	1.23	1.7	0	0	0.98	1.4
Fila 5						
	0	0	1.71	2.1	0.97	2
	0	0	0.68	1.8	1.57	2
	0	0	0	0	1.13	1.3
	0.81	0.8	0	0	0.75	1
	1.42	2.4	1.07	2	1.29	1.6
	1.55	2.3	0	0	0.81	1

Bloque	I	I	I	I	I	I
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Tratamiento	4	4	15	15	6	6
Fila 1	1.14	1.5	0	0	1.06	1.7
	0.78	1.0	0.85	2.2	0.83	1.4
	0.86	2.3	1.02	2.1	0	0
	1.5	2.2	1.26	2.0	1.24	1.4
	1.5	2.3	1.36	2.6	0	0
	0	0	1.65	2.7	1.51	2
Fila 2						
	1.32	2	1.33	2.2	1.38	2
	1.84	2.3	1.81	2.9	1.08	1.4
	1.37	2	1.27	2.7	1.46	2.3
	1.23	1.7	0.62	1.3	0.93	1.2
	1.24	1.5	1.29	2.2	0	0
	0	0	1.21	1.6	0.93	1.5
Fila 3						
	1.28	1.6	0	0.6	1.48	2.1
	1.29	1.4	0	0	1.0	1.7
	1.46	2.2	1.40	3.4	1.52	2
	1.6	2.3	1.23	2.1	1.16	2
	1.55	2.7	0.8	1.8	1.19	2.1

	1.50	2.5	1.06	2.2	1.39	2.2
Fila 4						
	1.23	1.7	0.74	1.4	0	0
	0.82	1	0.80	1.7	1.02	1.5
	0.76	1.1	0.69	2	1.03	1.7
	1.12	1.4	1.21	2.2	1.32	1.7
	0.44	0.5	0.93	1.9	0.57	1.3
	0.92	1.5	1.0	2.3	0.76	0.9
Fila 5						
	1.25	2	1.50	2.9	1.50	2
	0.65	0.9	0.80	1.8	1.24	2
	0.81	1.0	0.84	1.6	0	0
	1.43	1.8	0.51	0.9	1.08	1.4
	0		0.52	1.4	1.70	2.5
	1.20	1.6	0.85	1.3	1.82	2.7

Bloque	I	I	I	I	I	I
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Tratamiento	12	12	9	9	10	10
Fila 1	0	0	1.14	2.1	1.08	1.5
	1.13	1.4	1.15	1.7	0.80	1.8
	1.15	1.8	0.47	0.7	1.35	1.6
	1.29	1.8	0.60	0.8	1.06	1.6
	1.30	1.8	1.06	1.4	0.65	1
	1.22	1.7	1.09	2	1.20	2
Fila 2						
	1.67	2.4	1.04	2	1.26	2
	1.18	2.2	1.10	1.4	1.15	1.7
	1.62	2.2	0.63	1	1.21	2
	1.25	1.8	0.76	1.1	1.10	1.7
	0.86	1.6	0.99	1.5	1.24	2
	1.44	2	0	0	1.10	1.5
Fila 3						
	1.50	2.5	1.55	2.2	1.68	2.2

	1.95	3.2	1.63	2.2	1.47	2.3
	1.77	2.5	1.49	2.5	1.51	2.4
	1.60	2.4	1.48	2.5	1.34	2
	1.80	2.9	1.56	2.2	1.05	1.6
	2.05	3.8	1.27	1.8	1.47	2.5
Fila 4						
	1.55	2.7	1.80	2.7	1.38	2.1
	1.62	2.5	1.58	2.4	1.68	2.8
	1.53	2.4	1.05	1.9	1.55	2
	1.35	2.4	1.46	2.1	1.47	2.3
	1.29	2.8	0.56	1	1.34	2.1
	0	0	0.73	1.1	1.48	2.1
Fila 5						
	1.36	2.1	1.36	1.8	1.61	2.5
	1.64	3.2	0	0	1.38	2.8
	0.89	1.2	1.59	2.3	0.98	2
	0.90	1.6	0	0	0.64	0.8
	1.50	2.1	1.65	2.5	0	0.4
	1.68	2.3	0.82	1.2	0.64	1

Bloque	I	I	I	I	I	I
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Tratamiento	1	1	16	16	7	7
Fila 1	0.93	1.2	1.13	2.2	0	0.4
	0	0	0.81	2	0	0
	1.15	1.6	0.91	1.8	1.39	1.9
	1.11	1.4	1.05	2.3	0.94	1.8
	1.25	1.7	0.95	1.9	0	0
	0.88	1.2	0.67	1.8	0.94	1.8
Fila 2						
	0.645	0.8	0	0	0.98	1.5
	0.82	1.4	1.46	2.7	1.66	2.4
	0.95	1.4	1.33	2.2	0.96	1

	1.15	1.5	1.27	2.7	1.28	2
	0.525	0.6	1.04	2.2	0.78	1.3
	0.98	1.3	1.20	2.5	0	0
Fila 3						
	1.20	1.9	1.70	2.5	1.51	2
	1.30	1.9	1.80	3.3	1.63	2.5
	1.48	2	0.94	2.2	1.68	1.6
	1.10	2.1	1.19	2.5	1.04	2.1
	1.05	2.7	1.10	3	0.91	2
	1.18	1.5	1.54	2.4	0.96	1.4
Fila 4						
	1.60	3	1.23	2.3	1.62	1.8
	1.41	2.4	1.34	2.5	1.60	2
	1.27	1.7	1.11	2.5	1.04	1.5
	0	0	1.65	2.6	1.19	1.4
	0	0.3	2.01	3.1	0.91	1.1
	0.92	1.5	1.55	2.9	0	0
Fila 5						
	0	0	1.64	2.7	1.06	1.6
	0.95	1.7	1.34	2.5	1.78	2.6
	1.64	2.5	1.10	2.6	1.71	2.7
	1.14	1.5	1.50	2	0	0
	0	0	1.14	2.9	1.17	1.4
	1.18	1.8	1.41	3	1.58	2

Bloque	I	I	I	I	I	I
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Tratamiento	11	11	8	8	17	17
Fila 1	1.26	1.6	1.10	1.5	1.33	2.6
	1.13	1.5	1.18	1.6	1.10	2.3
	1.63	2.4	0	0	0	0
	1.71	2.5	0.56	0.5	1.50	2.2
	1.00	1.6	1.29	2.2	1.38	2.3
	0.95	1.6	1.25	2	0	0

Fila 2						
	1.55	3	1.65	2.3	1.36	2.3
	1.60	2.6	0	0	1.08	1.9
	1.18	2.1	1.53	2.3	1.19	2.5
	1.62	2.1	1.08	1.4	1.44	2.6
	1.60	2.7	1.40	1.8	1.51	2.7
	1.50	2.2	1.25	1.6	0	0
Fila 3						
	1.43	2	1.55	1.9	1.26	2.7
	1.92	2.6	0.72	0.5	1.81	2.7
	1.29	2.2	1.42	1.8	1.33	2.7
	1.65	2.8	1.18	1.2	1.77	2.8
	1.34	2.2	1.07	1.5	1.57	2.4
	1.34	2.3	1.50	2.4	1.63	3
Fila 4						
	1.63	2.6	1.22	1.5	1.36	2.6
	0.52	0.6	0	0	1.52	3.2
	1.47	1.6	1.24	1.6	1.67	2.7
	0	0	1.46	1.9	1.10	2.0
	1.36	2.2	0	0	1.26	2.4
	1.46	1.8	1.45	2.4	1.55	2.8
Fila 5						
	1.44	2.1	1.37	2.6	1.46	2.2
	1.60	2.7	0.95	0.7	1.30	2.1
	1.67	3	0.76	1.8	1.67	1.9
	1.73	2.8	1.40	2.2	1.49	2.1
	1.57	2.4	1.34	2.3	1.68	2.5
	2.00	2.6	1.30	2	1.65	2.8

Bloque	I	I	I	I	I	I
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Tratamiento	2	2	18	18	13	13
Fila 1	1.42	1.7	0.94	1.4	0.69	1.6

	1.43	1.5	1.20	2.5	1.50	2.4
	1.31	1.1	1.74	3.3	0.77	1.3
	1.49	1.5	1.45	2.3	1.01	2.1
	0.98	0.8	1.09	2.6	1.31	2.2
	1.74	2	0	0	0	0
Fila 2						
	1.48	2.3	1.29	2.1	1.04	1.6
	1.41	1.5	1.05	1.8	1.15	2.7
	0	0.5	1.14	2.2	1.35	2.1
	1.53	2.1	1.17	2	0.49	0.6
	1.60	1.8	1.26	2.6	0.44	0.5
	0.59	1.1	1.06	1.4	0.73	1.5
Fila 3						
	0	0	1.19	1.5	1.36	2.7
	1.59	2.5	1.52	3	1.52	2.6
	1.83	2.4	1.46	2.9	1.44	2.5
	1.79	2.4	1.68	2.7	1.65	2.3
	1.70	2.6	1.45	2.1	1	0.9
	1.31	1.5	1.03	1.5	0.96	1.4
Fila 4						
	1.07	2.2	1.34	2.3	1.30	2.5
	1.28	1.6	1.24	2	1.10	2.8
	1.52	2.2	1.60	3.2	1.27	2.7
	1.53	2.1	1.60	2.5	1.28	2
	1.51	2.1	0	0	0.91	1.7
	1.70	2.1	1.17	2.9	1.73	2.7
Fila 5						
	0	0	1.76	2.1	1.13	1.8
	1.30	1.7	1.50	2.2	1.40	3
	1.18	1.8	1.57	2.3	1.12	0.9
	1.17	1.7	1.35	2	1.54	2.2
	0	2.1	1.66	1.8	0.79	1.8
	1.68	2.2	1.06	1.3	1.19	2.7

Bloque	II	II	II	II	II	II
Tratamiento	4	4	13	13	10	10
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Fila 1						
1	1.27	2.1	1.58	3.1	0.62	0.6
2	1.60	2.7	1.86	3.1	1.27	2.4
3	0.81	3.3	0.83	0.9	1.64	2.6
4	1.45	2.5	1.00	1.7	1.05	1.9
5	1.70	3.4	0.91	0.6	1.33	2.2
6	1.98	3.7	0	0	1.44	2.2
Fila 2						
1	1.91	2.3	1.38	1.9	1.26	2.7
2	1.04	2.9	1.69	2.4	1.73	2.9
3	1.18	3.2	1.25	2	1.22	2.1
4	1.27	3.2	1.22	2	1.38	2.2
5	1.63	3.5	1.17	1.4	0	0
6	1.22	2.6	1.39	2.1	1.32	2.3
Fila 3						
1	0	0	1.70	2.4	1.71	2.6
2	1.08	2.3	1.19	2	1.53	2.3
3	1.60	2.5	1.60	2	1.90	2.8
4	0	0	1.44	2.2	0	0
5	1.32	3.1	1.64	2.5	1.74	2.5
6	1.23	2.9	1.48	2	1.46	1.8
Fila 4						
1	0	0	1.13	2.3	1.42	2.6
2	1.44	3.4	1.37	2	1.65	2.3
3	0.85	2.4	0.72	1	1.34	2.4
4	1.22	2.3	0.90	2.1	1.25	2.4
5	0	0	1.31	2.1	1.32	1.6
6	1.03	2.5	1.19	1.8	1.76	2.4
Fila 5						
1	0.72	1.7	1.56	2.7	1.41	2.4

2	1.81	4	1.54	2.7	0.83	0.8
3	0	0	0	0	0	0
4	1.48	3	0	0	1.41	1.9
5	1.5	2.9	0	0	0	0
6	1.45	2	0	0	1.45	3.3

Bloque	II	II	II	II	II	II
Tratamiento	14	14	15	15	2	2
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Fila 1			Fila 1		Fila 1	
1	1.13	2	0.99	1.6	0	0
2	0	0	1.86	2.8	1.17	3.4
3	1.52	2.4	1.25	1.8	1.25	3
4	1.31	3.2	1.80	2.5	0.97	2.4
5	0	0	1.75	2.3	1.15	2.3
6	1.35	2.3	1.80	2.5	1.40	2.8
Fila 2			Fila 2		Fila 2	
1	1.57	2.4	1.33	2.4	1.60	2.2
2	1.70	2.5	1.40	2.1	0	0
3	1.51	2.1	1.10	1.4	1.16	2.7
4	1.85	2.6	0	0	0.93	2.3
5	1.49	2.6	1.68	2.5	1.38	3.3
6	1.17	2.4	1.96	2.8	1.46	3.8
Fila 3			Fila 3		Fila 3	
1	1.5	2	1.70	2.4	0	0
2	0	0	1.26	1.6	1.49	2.6
3	0.49	0.8	0.91	1.4	1.6	3.4
4	1.48	2.3	1.60	2.9	1.11	2.7
5	1.12	1.4	1.62	2.7	1.58	3.2

6	2.2	0.3	1.98	2.5	1.46	2.8
Fila 4			Fila 4		Fila 4	
1	0	0	1.43	2.2	1.33	2.9
2	0.83	1.5	1.20	1.0	0	0
3	1.18	1.6	1.46	2.2	1.68	3.4
4	1	1.4	0.87	0.9	0.44	0.8
5	1.13	1.9	1.61	2.7	0	0
6	1.43	2.3	1.72	2.2	1.50	2.9
Fila 5			Fila 5		Fila 5	
1	0.64	1.2	1.25	2	1.43	3.4
2	1.49	2.6	0	0	1.48	3.8
3	1.49	2.3	1.60	2	1.50	2.8
4	1.46	2.5	1.35	1.8	1.56	3.3
5	1.29	2.1	1.60	2.1	0.60	1.8
6	1.37	2	1.62	2.6	1.62	3.2

Bloque	II	II	II	II	II	II
Tratamiento	6	6	9	9	7	7
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Fila 1	Fila 1		Fila 1		Fila 1	
1	1.44	2.2	1.05	2.8	1.10	2.1
2	1.40	2.4	0.77	2	0.81	1.7
3	1.73	2.5	1.11	2.9	0.92	1.6
4	0	0	0	0	0.25	0.3
5	0.72	1.9	1.33	2.7	0	0
6	0.63	1.6	0.88	2.1	0	0
Fila 2	Fila 2		Fila 2		Fila 2	
1	1.06	2.9	1.05	2.8	1.10	2.1
2	0	0	0.77	2	0.81	1.7
3	1.25	2.4	1.11	2.9	0.92	1.6
4	1.67	2.7	0	0	0	0
5	1.50	2.6	1.33	2.7	0	0
6	0.73	1.4	0.88	2.1	0	0

Fila 3	Fila 3		Fila 3		Fila 3	
1	1.38	2.0	1.11	2.4	1.49	2.1
2	0	0	0	0	1.39	2
3	1.13	1.8	1.50	3.1	1.77	2.5
4	1.60	2.5	1.82	3.2	1.27	1.7
5	0.87	1.8	1.33	3	1.32	2.6
6	1.35	2.7	1.45	2.5	0.45	1.6
Fila 4	Fila 4					
1	1.7	2.5	1.42	1.7	1.41	1.9
2	1.77	2.4	1.55	2.9	1.44	0.6
3	1.55	2.5	1.29	3	0.45	0.4
4	1.20	2.1	1.52	2.9	0.86	1.4
5	1.27	2.2	1.50	3	1.07	1.7
6	1.60	2.7	1.38	3.5	1.54	2
Fila 5			Fila 5		Fila 5	
1	1.40	2.4	1.29	2.9	1.06	1.5
2	1.61	2.6	1.72	3.2	0.97	1.4
3	1.40	2	1.01	2.8	0.81	0.8
4	1.49	2.2	0	0	1.22	1.8
5	0	0	1.17	3.3	1.30	1.7
6	1.40	1.9	0.76	1.8	1.53	2.3

Bloque	II	II	II	II	II	II
Tratamiento	18	18	11	11	1	1
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Fila 1	Fila 1					
1	0	0	1.51	2.5	1.34	2.4
2	0	0	0	0	0	0
3	0.83	2.3	1.35	2.2	1.16	1.8
4	0.70	1.7	1.62	2.2	1.24	2.1
5	0.74	2	1.26	2.2	1.04	1.8
6	0.81	2.2	0.14	0.4	1.46	2.4
Fila 2	Fila 2		Fila 2		Fila 2	

1	0	0	0	0	1.61	2.6
2	0	0	1.43	2.4	1.70	3.1
3	1.90	3.5	1.32	1.9	1.37	2
4	1.04	1.5	1.58	2.2	1.17	2.4
5	1.40	3.1	1.00	1.9	1.66	2.7
6	0	0	1.00	1.3	0	0
Fila 3	Fila 3					
1	1.28	2.7	1.12	1.8	1.54	2.5
2	1.10	2.9	1.16	2.2	1.34	2.2
3	0.69	2.7	0.79	1.1	1.77	2.6
4	0.55	1.6	0	0	0.55	1.2
5	1.04	2.6	1.70	2.4	1.14	2.3
6	0	0	1.19	3	0.90	1
Fila 4	Fila 4					
1	0	0	0	0	1.60	1.9
2	1.14	2.3	0	0	1.50	2
3	0.67	1.8	1.41	2	1.44	3
4	0	0	1.38	2	1.42	2.6
5	1.40	2.2	1.19	2.4	1.35	2.8
6	1.64	1.8	1.26	2.2	0.98	1.5
Fila 5	Fila 5					
1	0.78	2	1.65	2.2	0	0
2	0.80	1.2	1.35	1.9	0.98	2.3
3	0.89	3.2	0.83	0.7	1.30	1.7
4	1.13	3.1	0	0	1.75	2.6
5	1.08	1.7	1.49	1.9	1.77	2.6
6	1.43	2.7	1.39	2	0.74	0.5

Bloque	II	II	II	II	II	II
Tratamiento	8	8	12	12	5	5
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Fila 1						
1	1.70	2.4	0.47	0.9	1.8	1.3

2	1.40	2.3	1.10	2	1.65	2.6
3	1.45	2	0	0	1.55	2.4
4	1.19	2.3	0	0	0.86	1.7
5	1.29	2	1.10	1.9	0.90	1.4
6	1.45	2.4	0	0	0.91	1.5
Fila 2	Fila 2		Fila 2		Fila 2	
1	1.48	2	1.24	2.4	0.95	1.4
2	1.58	2.3	1.5	2.5	1.67	2.4
3	1.29	2	1.23	1.9	1.33	2.2
4	0	0	0.66	1.2	1.08	2.1
5	0	0	0.57	0.6	0	0
6	1.21	2.2	1.40	2.1	0.65	2.9
Fila 3						
1	1.28	2.4	1.06	1.7	0.89	1.6
2	1.68	2.5	0.89	1.7	0.94	1.9
3	0.86	1.3	0	0	0	0
4	1.26	1.9	1.57	2.6	0.81	1.1
5	1.11	1.7	0.97	2.1	1.33	1.7
6	1.55	2.3	0	0	1.50	2.2
Fila 4						
1	0.73	1.5	0.92	1.2	1.3	2.3
2	1	1.2	1	2	1.20	2.3
3	1.32	2.2	1.19	2.1	0.78	1.2
4	1.62	2.4	0.89	1.3	0.51	1.2
5	0	0	0	0	0	0
6	1.02	2.4	0.61	1.2	0	0
Fila 5						
1	1.28	2	0	0	1.19	1.5
2	1.50	2.4	0	0	0	0
3	1.01	1.8	0.81	1.2	1.19	1.9
4	1.42	2.2	0	0	0	0
5	1.49	2.5	0.46	0.7	0.72	0.9
6	1.47	2.2	0	0	0	0

Bloque	II	II	II	II	II	II
Tratamiento	17	17	16	16	3	3
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Fila 1						
1	0.81	2	1.29	2.1	1.58	3.1
2	0	0	1.60	2.7	1.86	3.1
3	1.07	2.4	0.85	3.3	0.83	0.9
4	0	0	1.45	2.5	1.00	1.7
5	1.40	2.3	1.73	3.4	0.91	0.6
6	1.49	2.2	1.98	3.7	0	0
Fila 2	Fila 2					
1	0.98	2.3	1.89	2.3	1.38	1.9
2	1.23	2.1	1.04	2.9	1.69	2.4
3	0.96	1.9	1.18	3.2	1.25	2
4	1.64	2.3	1.30	3.2	1.22	2
5	1.37	2.1	1.63	3.5	1.17	1.4
6	1.39	1.7	1.25	2.6	1.39	2.1
Fila 3						
1	1.28	1.9	1.09	2.2	1.70	2.9
2	0.45	0.9	1.08	2.3	1.19	2.1
3	0.67	1.4	1.60	2.5	1.60	2.2
4	1.29	2.5	0	0	1.44	1.9
5	0.56	1.2	1.32	3.1	1.64	2.2
6	0.98	1.5	1.23	2.9	1.48	2.2
Fila 4						
1	0	0	0	0	1.13	2.3
2	0	0	1.44	3.4	1.37	2
3	0.57	0.8	0.85	2.4	0.72	1
4	0	0	1.22	2.3	0.90	2.1
5	0.53	1.5	1.25	2.4	1.31	2.1
6	0.61	1.6	1.03	2.5	1.19	1.8
Fila 5						
1	0	0	0.72	1.7	1.56	2.7
2	0	0	1.81	4	1.54	2.7
3	0	0	1.5	2.5	0	0

4	0	0	1.48	3	0	0
5	0	0	1.5	2.9	0	0
6	0	0	1.45	2	0	0

Bloque	III	III	III	III	III	III
Tratamiento	18	18	9	9	4	4
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Fila 1	0.81	2.1	0	0	0	0
	0.91	2	0	0	0	0
	0.95	2	0	0	1.06	2.1
	0	0	0	0	1.48	2.2
	0.74	1.3	0.58	1.1	1.03	1.8
	0.52	0.9	1.45	2.6	1.21	1.9
Fila 2						
	0.75	2	0	0	1.45	2.2
	1.12	2	0	0	1.52	2.6
	0.45	1.1	1.35	2.1	1.31	2.2
	0	0	0.84	1.5	1.08	2.3
	0	0	1.52	2.2	1.60	2.2
	0.59	1	1.28	2.9	1.78	2.5
Fila 3						
	1.28	2.4	0	0	0	0
	1.14	2.6	0.71	1.2	1.54	2.2
	0.68	1.9	0	0	1.34	2.1
	0	0	0	0	1.65	2.1
	0	0	1.40	2.6	1.39	2.1
	0	0	1.08	2.3	1.21	1.5
Fila 4						
	0.84	1.4	0	0	1.45	2.2
	0.97	2.3	0.67	0.8	1.56	2.6
	0.71	1.3	1.14	1.8	0	0
	1.29	2.6	0.93	1.6	1.08	2.1
	0.78	1.7	0.82	1.6	1.35	2.4

	0	0	1.30	2.1	2.03	2.8
Fila 5						
	0	0	0	0	0.58	0.6
	0.63	1.4	0	0	1.16	1.6
	1.0	2	0	0	1.42	1.7
	0.51	0.7	0.97	2	1.03	1.6
	0.58	1.1	1.19	2	1.09	1.6
	0	0	0	0	1.40	2.7

Bloque	III	III	III	III	III	III
Tratamiento	15	15	3	3	5	5
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Fila 1	0.74	1.7	0	0	0	0
	0	0	1.12	1.9	1.04	1.5
	0	0	0	0	1.15	2
	1.08	2.5	0	0	1.63	2.5
	0.67	1.4	0	0	1.6	2.1
	0.79	1.8	0.63	1	0	0
Fila 2						
	0.48	0.8	0	0	0	0
	1.27	2.8	0	0	1.18	2.2
	1.30	2.6	0	0	1.37	2.1
	0.95	3	0	0	1.20	2
	0	0	0.54	0.8	0	0
	0	0	0.80	1.1	0	0
Fila 3						
	1.20	2.9	0.84	1.2	1.21	2
	1.45	2.3	0.96	1.5	0.99	1.7
	1.18	2.4	0.77	1.1	1.35	2.1
	0.97	1.8	1.08	1.4	1.17	2
	0	0	0	0	1.80	2.5
	0.50	0.6	1.32	2.3	0	0

Fila 4						
	0.93	1.6	0.95	1.6	1.49	2.3
	1.32	2.7	0.81	0.7	0	0
	1.12	2.8	0	0	1.50	2.4
	1.36	2.6	0.97	1.8	0.93	1.7
	0.83	1.6	0.88	1.5	1.34	2
	1.10	1.8	1.32	1.9	0.63	1
Fila 5						
	1.08	2.2	0.63	0.9	0.65	0.8
	0.69	2.3	0.69	0.9	0	0
	1.02	2.2	0.79	1.8	0.60	0.7
	0.78	1.6	0.84	1.1	0.75	0.8
	0.72	1.2	0.96	1.2	0.93	1.3
	0.72	2	1.29	1.5	0.86	2

Bloque	III	III	III	III	III	III
Tratamiento	10	10	12	12	2	2
	Altura	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Fila 1	0	0	0.61	1.2	0	0
	0	0	0.61	1.2	0	0
	0	0	0	0	0	0
	0	0	1.09	2.1	0	0
	0	0	1.34	2	0	0
	0	0	0	0	1.07	1.4
Fila 2						
	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	1.20	2.3
	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	1.05	1.6
	0	0	0	0	1.04	1.7
	0	0	0.90	2.1	0	0
Fila 3						
	0.44	0.8	0	0	0	0

	0	0	0	0	0.59	1.7
	0.54	1	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
	1.17	2.5	0.55	1.7	0.65	0.9
	1.12	1.9	0	0	1.07	2.3
Fila 4						
	1.04	1.3	0	0	1.23	1.8
	1.12	1.9	0	0	1.60	2.1
	1.29	2	0	0	1.23	2.4
	1.46	1.7	0	0	1.72	2.9
	1.39	2.4	0	0	1.38	2.5
	0.52	1.5	0.99	2	1.23	2
Fila 5						
	0.97	1.6	0	0	0	0
	1.03	1.6	0.77	1.8	0	0
	0.75	0.7	0.85	2.1	0	0
	0	0	0	0	1.35	2.2
	0	0	0	0	0.79	2.1
	1.15	1.5	0.65	1.4	1.68	2.3

Bloque	III	III	III	III	III	III
Tratamiento	6	6	11	11	16	16
	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)	Altura (m)	Diámetro cuello(cm)
Fila 1	1.37	1.8	0	0	0.77	1.7
	1.73	2.5	1.43	2.4	1.08	1.9
	1.8	2.7	1.41	2.7	0	0
	1.67	2.4	1.27	2.5	0.94	1.8
	0	0	1.54	2.3	1.15	3.2
	1.37	2.4	1.55	2	0.90	2.1
Fila 2						
	1.57	2	1.34	2.3	1.72	2.8
	0	0	0.66	1.4	1.57	2.4
	0	0	1.33	2.7	1.67	2.7

	0	0	1.64	2.5	1.80	3.3
	0	0	1.40	2	1.24	2.4
	1.47	2.4	1.72	2.5	1.44	2.6
Fila 3						
	1.55	2.3	0	0	1.58	2.5
	0.77	1.5	1.47	2.1	1.13	1.6
	0	0	1.45	2.6	1.78	3
	0	0	0	0	1.39	2
	0.95	1.2	1.39	2.5	1.46	2.5
	0	0	1.12	2	1.20	2
Fila 4						
	2.07	2.6	1.46	2.5	1.65	2.4
	0.44	0.7	1.52	2.5	1.19	2.1
	0	0	0.79	2	1.39	2.6
	1.48	2.2	1.71	2.9	1.47	2.2
	1.24	2.4	1.41	2.7	0	0
	1.62	2.2	1.73	2.4	1.45	2.2
Fila 5						
	0.75	0.8	0	0	1.66	2.7
	0.92	1.6	1.53	2.6	1.12	2
	1.65	2.6	1.22	2.2	0.44	1.4
	0.73	1.1	0	0	1.33	2.2
	1.25	1.6	0	0	1.45	2.2
	1.46	2.1	1.81	2.8	1.43	2.1