

Instituto Tecnológico de Costa Rica

Escuela de Ingeniería Forestal

TÉCNICAS DE RECUBRIMIENTO DE SEMILLAS FORESTALES
PARA SU USO EN DISPERSIÓN ARTIFICIAL PARA LA
RESTAURACIÓN ECOLÓGICA EN EL BOSQUE SECO,
COSTA RICA.

TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE INGENIERO FORESTAL CON EL GRADO
ACADÉMICO DE LICENCIATURA

María Stefannie Chavarría Barquero

Cartago, Costa Rica, 2023

Instituto Tecnológico de Costa Rica

Escuela de Ingeniería Forestal

**TÉCNICAS DE RECUBRIMIENTO DE SEMILLAS FORESTALES
PARA SU USO EN DISPERSIÓN ARTIFICIAL PARA LA
RESTAURACIÓN ECOLÓGICA EN EL BOSQUE SECO,
COSTA RICA.**

TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE INGENIERO FORESTAL CON EL GRADO
ACADÉMICO DE LICENCIATURA

María Stefannie Chavarría Barquero

Cartago, Costa Rica, 2023

Técnicas de recubrimiento de semillas forestales para su uso en dispersión artificial para la restauración ecológica en el bosque seco, Costa Rica.

María Stefannie Chavarria Barquero*

Resumen

Los suelos degradados, o las condiciones hídricas limitadas pueden dificultar la germinación de las semillas, debido a que no proporcionan las condiciones adecuadas para su desarrollo óptimo. Una alternativa para facilitar la repoblación natural es mediante la dispersión artificial de semillas, para lo cual se debe evaluar la eficiencia del recubrimiento de semillas y su costo. Para evaluar la técnica se llevaron a cabo dos experimentos: el primero consistió en un ambiente controlado desarrollado en el Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR), mientras que la prueba de campo se realizó en la Estación Experimental Forestal Horizontes (EEFH). En la primera parte se utilizaron 4 especies: *Tabebuia rosea* (TR), *Handroanthus impetiginosus* (HI), *Gliricidia sepium* (GS) y *Guazuma ulmifolia* (G), y en la segunda parte solo se usaron las 3 primeras especies. Para ambas pruebas, las especies se sometieron a los mismos encapsulados, siendo el primero la semilla en estado natural, el segundo es de arcilla, el tercero, suelo arcilloso con suelo micorrizado, y el último, suelo arcilloso y suelo con inóculos de *Trichoderma* spp. Según los datos obtenidos en laboratorio, el tratamiento que tuvo mejores resultados fue el suelo con micorrizas; sin embargo, se debe considerar las pruebas *in vitro* y de tinción. Las pruebas en campo indicaron que el mejor tratamiento fue el de *Trichoderma* spp aunque se tiene que considerar aspectos del entorno como la depredación. Finalmente, se concluye que los mejores resultados son aquellos tratamientos donde se realizaron encapsulados.

Palabra claves

Recubrimiento, Micorrizas, Semillas, Geminación

* M. S. Chavarría-Barquero, 2023. Técnicas de recubrimiento de semillas forestales para su uso en dispersión artificial para la restauración ecológica en el bosque seco, Costa Rica. Tesis de Licenciatura. Escuela de Ingeniería Forestal, Instituto Tecnológico, Cartago, Costa Rica.



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Forest seed coating techniques for use in artificial dispersal for ecological restoration in dry forests, Costa Rica.

María Stefannie Chavarria Barquero*

Abstract

Degraded soils, or limited water conditions can difficult the germination of seeds, because don't provide the right conditions for the optimal development. One alternative to facilitate the natural repopulation is through artificial dispersion of seeds, for which it is due to evaluate efficiency of seed coating and cost. To evaluate the technique was done 2 experiments: First consist in a controlled environment at Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR), while the field testing was made in Estación Experimental Forestal Horizontes (EEFH). On the first step were used 4 species: *Tabebuia rosea* (TR), *Handroanthus impetiginosus* (HI), *Gliwricidia sepium* (GS) and *Guazuma ulmifolia* (G), and the second step only were used 3 species. For both tests, the species were subjected to same encapsulation, the first seed was in natural state, the second with clay, the third with clay soil and mycorrhizal soil, and the last with clay soil and inoculum of *Trichoderma* spp soil. According with the data obtained in the lab, the treatment with the best results was the mycorrhizal soil, should be considered the in vitro and staining test. The field testing indicated the the best treatment was *Trichoderma* spp although be considered the environment and degradation. Finally, it's concluded that the best results are treatments were made it encapsulate

Key words: Coating, mycorrhizae, Seeds, Germination.

* M. S. Chavarría-Barquero, 2023. Técnicas de recubrimiento de semillas forestales para su uso en dispersión artificial para la restauración ecológica en el bosque seco, Costa Rica. Tesis de Licenciatura. Escuela de Ingeniería Forestal, Instituto Tecnológico, Cartago, Costa Rica.

CONSTANCIA DE DEFENSA PÚBLICA DE PROYECTO DE GRADUACIÓN

Trabajo final de graduación defendido públicamente ante el Tribunal Evaluador, integrado por Dr. Luis Guillermo Acosta Vargas, Dr. Dagoberto Arias Aguilar, M.Sc Luis Diego Jiménez Alvarado y Lic. David Reyes Cordero como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería Forestal, del Instituto Tecnológico de Costa Rica.

Luis Guillermo Acosta Vargas Ph.D.
Director de tesis



Dagoberto Arias Aguilar Ph.D.
Profesor lector



Luis Diego Jiménez Alvarado M.Sc
Banco de Semillas Forestales,
CATIE, lector

David Reyes Cordero Lic.
Programa de Restauración y Silvicultura
ACG, lector

Dorian Carvajal Vanegas M.Sc.
Coordinador trabajo final de graduación

Ma Stefannie Chavarria B

María Stefannie Chavarria Barquero
Estudiante

Dedicatoria

Primero que nada, me gustaría dedicarle con todo mi corazón esta tesis a mis padres Zaida Maribel Barquero Sandoval y Jorge Antonio Chavarria Ordoñez los cuales me han guiado, me han enseñado las cosas básicas del día a día como disfrutar de los pequeños detalles, por apoyarme en todo y cuidarme desde el día que nací hasta el día de hoy. A mi hermano Miguel quien ha estado a mi lado tanto en lo bueno como en lo malo, quien me ha querido a pesar de todo, a mi cuñada Stephanie quien se vuelto una gran compañera y amiga. Finalmente, a mis sobrinas Eimy y Naomi las cuales me ha concedido las mayores alegrías y se han convertido en mi motor de vida.

Agradecimientos

Me gustaría empezar agradeciéndole a Dios las grandes oportunidades que me ha brindado a lo largo de mi vida, a mi familia que con su gran sacrificio me ha ofrecido la oportunidad de estudiar y llegar hoy a donde he llegado.

Le agradezco a mis amigos y compañeros quienes con su apoyo me han permitido superar muchas pruebas, mejorar experiencias durante el recorrido universitario. La mayoría de estos han dejado en mí una marca que jamás olvidare, entre algunos que puedo mencionar son Nat-yel Sáenz, Carolina Jiménez, Jean Carlo Cascante y Nicole Aguilar.

Me gustaría agradecer a los profesores de la Escuela de Ingeniería Forestal por todas las enseñanzas y los consejos que a lo largo de la carrera me han brindado. Por el apoyo brindado durante este proceso de tesis donde todos respondían mis dudas, me ayudaban a cuestionarme y guiándome para obtener los mejores resultados posibles, entre ellos la profesora Dawa Méndez Álvarez y los profesores Edwin Antonio Esquivel Segura y Edgar Ortiz Malavasi.

De igual forma, le agradezco a los miembros del Centro de Investigación en Biotecnología (CIB) quienes me brindaron acompañamiento, equipo e información durante esta investigación, entre ellos al profesor Jason Pérez Chavez por su enseñanza y comprensión en este proceso. Le doy gracias a mi tutor Luis Guillermo Acosta Vargas, a mis lectores Dagoberto Arias Aguilar, Luis Diego Jiménez Alvarado y David Reyes Cordero por su acompañamiento y asesoría.

Finalmente, me gustaría agradecer a todo el equipo que ha trabajado en el Vivero Forestal del TEC por darme un espacio para elaborar mi proyecto, al profesor Gustavo Torres y al Sr. Jhonny Sanabria, a los cuales me gustaría agradecerle por su esfuerzo y dedicación durante todo este tiempo, enseñándome sobre semillas y la importancia de estas en cualquier práctica forestal.

Índice General

Resumen	i
Abstract	ii
Dedicatoria	iv
Agradecimientos	v
Índice General	vi
Índice Cuadros	vii
Índice de Materiales complementarios	ix
Capítulo 1. Técnicas de recubrimiento de semillas forestales y germinación en condiciones controladas.	10
Introducción	10
Materiales y Métodos	11
Sitio experimental	11
Semillas y viabilidad	12
Recubrimiento de semillas y tratamientos	12
Análisis de suelos	13
Tratamientos pregerminativos	13
Diseño experimental	13
Variables evaluadas	14
Presencia de bioestimulantes	14
Resultados	14
Discusión	21
Conclusiones	23
Recomendaciones	24
Agradecimientos	25
Referencias	25

Materia Complementario	29
Capítulo 2. Eficiencia del recubrimiento de semillas forestales en campo dentro de la Estación Experimental Forestal Horizontes Guanacaste, Costa Rica.	30
Introducción	30
Materiales y Métodos	31
Sitio experimental	31
Semillas y viabilidad	32
Recubrimiento de semillas y tratamientos	33
Análisis de suelos	34
Tratamientos pregerminativos	34
Diseño experimental	34
Resultados	36
Discusión	43
Conclusiones	45
Recomendaciones	46
Agradecimientos	46
Referencias	47
Materiales complementarios	50

Índice Cuadros

Cuadro 1. Contenido de humedad, material orgánico y análisis del tamaño de partículas del suelo 1.	15
Cuadro 2. Contenido de humedad, material orgánico y análisis del tamaño de partículas del suelo 2.	15
Cuadro 3. Costo de los materiales para producir los encapsulados.	40
Cuadro 4. Costos totales de producción de tratamiento por especie.	42

Índice Figuras

- Figura 1.** Germinación acumulativa de las semillas según el tratamiento donde el grafico A se refiere a la especie *Tabebuia rosea*, el gráfico B es para la especie *Gliricidia sepium*, el grafico C es de *Handroanthus impetiginosus*. _____ 17
- Figura 2.** Tamaño de raíz según el tratamiento donde el gráfico A se refiere a la especie *Handroanthus impetiginosus*, el gráfico B es para la especie *Tabebuia rosea*, el gráfico C es para *Gliricidia sepium*. _____ 18
- Figura 3.** Prueba sobre presencia de *Trichoderma* spp en el gráfico A se refiere a la especie *Handroanthus impetiginosus*, el gráfico B es para la especie *Tabebuia rosea*, el gráfico C es para *Gliricidia sepium*. _____ 19
- Figura 4.** Presencia de micorrizas por medio de tinción de raíces en el gráfico A se refiere a la especie *Gliricidia sepium*, el gráfico B es para la especie *Handroanthus impetiginosus*, el gráfico C es para *Tabebuia rosea*. _____ 20
- Figura 5.** Evaluación final de los encapsulados de las especies *Gliricidia sepium*, *Handroanthus impetiginosus*, *Tabebuia rosea* y *Guazuma ulmifolia*. _____ 21
- Figura 6.** Distribución de las repeticiones en el sitio de ensayo seleccionado: *Tabebuia rosea* (TR), *Handroanthus impetiginosus* (HI) y *Gliricidia sepium* (GS). _____ 35
- Figura 7.** Germinación acumulativa de las semillas según el tratamiento donde el gráfico A se refiere a la especie *Tabebuia rosea*, el gráfico B es para la especie *Gliricidia sepium*, el gráfico C es para *Handroanthus impetiginosus*. _____ 37
- Figura 8.** Afectaciones acumuladas producidas a las semillas donde el gráfico A se refiere a la especie *Tabebuia rosea*, el gráfico B es para la especie *Gliricidia sepium*, el gráfico C es para *Handroanthus impetiginosus*. _____ 39
- Figura 9.** Seguimiento de la especie *Gliricidia sepium* en el tratamiento con micorrizas (GS3), desde su germinación hasta que sufrió depredación. _____ 40

Índice de Materiales complementarios

Material Complementario 1. Estadístico Q de Cochran más prueba específica para la especie <i>Tabebuia rosea</i> con $\alpha:0,05$.	29
Material Complementario 2. Estadístico Q de Cochran más prueba específica para la especie <i>Gliricidia sepium</i> con $\alpha:0,05$.	29
Material Complementario 3. Estadístico Q de Cochran más prueba específica para la especie <i>Handroanthus impetiginosus</i> con $\alpha:0,05$.	30
Material complementario 4. Análisis de normalidad de los datos Shapiro-Wilk.	50
Material complementario 5. homogeneidad de las varianzas.	50
Material complementario 6. Análisis de modelo lineal genera donde el $\alpha:0,05$.	50
Material complementario 7. Prueba Fisher's least significant difference (LSD) respecto a las interacciones.	50
Material complementario 8. Prueba Fisher's least significant difference (LSD) para determinar cuál especie presenta mejor resultado.	51
Material complementario 9. Prueba Fisher's least significant difference (LSD) para determinar que tratamiento presenta mejor resultado.	51
Material complementario 10. Evidencia sobre el ataque de hormigas.	51

Capítulo 1. Técnicas de recubrimiento de semillas forestales y germinación en condiciones controladas.

Introducción

En los últimos siglos, los modelos de producción y consumo a nivel global han tomado fuerza; sin embargo, la mayoría se ha vuelto insostenible, particularmente en los países industrializados, causando el deterioro continuo en el medio ambiente global, provocando que los ecosistemas del mundo se estén degradando más rápido de lo que se recuperan [1]. Además, se añade a la explotación de materias primas, el aumento en la fragmentación, la deforestación, el cambio de uso de suelo y la contaminación los problemas de degradación [2].

Esto ha provocado una serie de consecuencias donde sobresalen la hambruna, los extremos climáticos, la pérdida de especies y las enfermedades. Debido a esto se han planteado diversas respuestas enfocadas en el desarrollo sostenible y la recuperación ambiental [3]. Por lo que, ¿temas como la restauración han tomado popularidad o protagonismo?, con la finalidad, de lograr el objetivo de iniciar o acelerar la recuperación de los ecosistemas [4].

Se han intentado implementar métodos de diferentes disciplinas con la finalidad de garantizar el éxito en proyectos de restauración, como la siembra al voleo, debido a que presenta varias facilidades; ya que, la técnica consiste en esparcir semillas en un área determinada y de manera uniforme, además, de la capacidad de renovarse al implementar nuevas tecnologías como vehículos aéreos no tripulados [5, 6]. Otra técnica que ha tomado popularidad y se ha complementado con la siembra de voleo es la técnica de Fukuoka, o encapsulado de semillas [7].

Los encapsulados de semillas son una técnica que ha ganado popularidad en los últimos tiempos, el componente principal para su elaboración y que se ha mantenido a lo largo de las diferentes versiones es la arcilla, además, de que en mayor medida su uso se limitaba a semillas de gramíneas y florales [8]. No obstante, en la actualidad el material de elaboración ha cambiado, provocando gran variedad de posibles combinaciones o sustratos, los cuales se pueden moldear según las especies de interés y las condiciones de sitio donde se desea hacer restauración [9].

Entre nuevas versiones están el incluir enmiendas nutricionales a los encapsulados, debido a la necesidad de restaurar zonas que presenten suelos degradados debido a la sobreexplotación de recursos, zonas áridas, sin cobertura y con suelos compactados [10, 7, 11]. Por lo que, la presencia

de estas enmiendas ha provocado que los efectos sobre la germinación, el crecimiento y el rendimiento suelen ser positivos, sin embargo, existe la posibilidad de estos generen impactos nocivos en la germinación y emergencia causada por estrés osmótico inducido por nutrientes [12, 13].

Por lo que se debe considerar la combinación para la elaboración de los encapsulados como uno de los factores de éxito en restauraciones con esta técnica, incluso en investigaciones anteriores, se observó que algunas combinaciones disminuían la depredación [9], siendo este último junto con las condiciones del sitio y las condiciones climáticas, las mayores limitantes. Por estas razones, es necesario obtener un encapsulado elaborado de un sustrato que genere un aporte nutricional, que resulte beneficioso para el desarrollo de las plántulas.

Materiales y Métodos

Sitio experimental

El proyecto se realizó en el campus central del Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR) ubicado en Cartago, Costa Rica, y en específico en el Centro de Investigación en Biotecnología (CIB) ubicado entre las coordenadas (-83° 54' 27.60" y 9° 51' 10.85") bajo el sistema de proyección WGS84, donde se encontraban las cámaras de germinación programables con temperatura, la humedad y la cantidad de horas luz. Por otro lado, en el Centro de Investigación en Innovación Forestal (CIF) de la Escuela de Ingeniería Forestal ubicado en las coordenadas (-83° 49' 8.96" y 9° 50' 59.77") bajo el sistema de proyección WGS84 se realizaron las pruebas de comprobación de los componentes para la elaboración de los encapsulados, así como las pruebas de tinción y *in vitro*.

Los datos que se utilizaron para configurar las cámaras de germinación en la Estación Experimental Forestal Horizontes (EEFH) ubicada dentro del Área de Conservación Guanacaste (ACG) entre las coordenadas (-85° 35' 44.08" y 10° 42' 47.32") en WGS84, sitio donde se realizaron las pruebas de campo. La caracterización climática considera una precipitación que; varía de 1800 a 2100 mm anuales, una temperatura media anual de 29 °C durante el día y de 24 °C durante la noche; la humedad relativa promedio es de 78% [14, 15, 16].

Para la formulación del recubrimiento se utilizaron 2 tipos de suelos el primero fue obtenido en el Vivero Forestal del ITCR, el cual proviene de las zonas agrícolas en la parte norte de Oreamuno

en las faldas del volcán Irazú, mientras, que el suelo arcilloso que se usó como base, fue obtenido de una finca en San Isidro de Cartago, Costa Rica en las coordenadas -9345591 y 1098466. Entre las especies que se utilizaron están *Guazuma ulmifolia*, *Tabebuia rosea*, *Handroanthus impetiginosus* y *Gliricidia sepium*. La selección de estas especies se hizo teniendo en cuenta que se encuentran en los primeros estadios de la sucesión vegetal del bosque en la Estación Experimental Forestal Horizontes y son de un crecimiento relativamente rápido.

Semillas y viabilidad

Las semillas fueron adquiridas del banco de semillas del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) provenientes de sitios cercanos a la EEFH. Para verificar la viabilidad de las semillas se realizó pruebas de tinción con base a las normas ISTA [17], la prueba realizada fue la viabilidad a partir de una disolución de tetrazolio al 0,5% de concentración, luego se colocaron en oscuridad en una incubadora y a una temperatura de 30°C.

Recubrimiento de semillas y tratamientos

Los recubrimientos tuvieron una forma esférica y con un peso aproximado de 10g. En el caso *Tabebuia rosea* con el acrónimo TR, *Handroanthus impetiginosus* con HI, *Gliricidia sepium* de GS para *Guazuma ulmifolia* con G, el peso usado fue de 1,5g, esto, considerando el tamaño de las semillas. Se trabajaron cuatro tratamientos: el primero (1) consistió en semillas en estado natural considerado como el testigo, el segundo (2) tratamiento fue el recubrimiento con solo la arcilla, la cual es la manera original del Nendo Dango creada por Fukuoka [8], el tercero (3) estaba constituido de un 70% del suelo arcilloso y un 30% de suelo micorrizado, el cual se ha probado en proyectos similares en América del Sur específicamente en Colombia y Perú a diferentes concentraciones [18, 19], y el último tratamiento (4) estuvo constituido de un 70% del suelo arcilloso y un 30% de suelo con *Trichoderma* spp.

Las trichodermas utilizadas fueron un preparado comercial llamado TrichoFecunda en polvo elaborado por CoopeTarrazú R.L, este es un producto biológico hecho a partir de una alta concentración de estructuras reproductivas del hongo *Trichoderma* spp; que favorece el establecimiento en el campo, y funciona como mejorador radicular y promotor del crecimiento de las plantas. Entre las ventajas que se le atribuyen a este preparado están el incremento y mejora en la calidad de germinación de semillas y que protege a la planta de no ser parasitada por otros hongos [20]. Para la utilización de este producto en semillas forestales se recomendó diluir un 1

gramo por cada litro de agua, una vez diluido se procedió a rociar el suelo y con el sobrante se remojaron, por un minuto, las semillas que se utilizaron.

Las micorrizas que se utilizaron fueron producidas por los Laboratorios DR. Obregón VIGOR, la cual es una enmienda biológica a base de *Glomus intraradices* en una composición $1,98 \times 10^5$ esporas/100 gramos. Se han empleado a este tipo de micorrizas con la finalidad de mitigar los efectos del estrés salino en varias plantas, mejora la absorción de nutrientes y la eficiencia de estos en varios de los procesos e interacciones que realizan las plantas. Al igual que con las trichodermas este producto se puede usar en semillas forestales, donde se recomendó diluir un 1 gramo por cada litro de agua, una vez diluido se debe rociar el suelo que se va a utilizar, y con el sobrante remojar por un minuto, las semillas que se utilizaron.

Análisis de suelos

Se realizaron estudios tanto al suelo arcilloso como al suelo que recibió los microorganismos que se adquirieron en forma de complejos bioestimulantes comerciales, esto por medio de estudios de textura por método de Bouyoucos o método del hidrómetro, el cual consiste en la determinación de la densidad del material en suspensión, [21]. Además, tiene la ventaja de dar resultados similares a los del método de la pipeta dentro de un tiempo razonable, sin necesidad de que las muestras requieran algún tipo de pretratamiento, agregando le por este medio se puede obtener el material orgánico y el porcentaje de humedad [22, 23]. El estudio se realizó con el motivo de conocer la composición del material base, obteniendo en el mismo proceso los datos de contenido de humedad, material orgánico y textura.

Tratamientos pregerminativos

Consisten en técnicas que ayuden a acortar los tiempos de germinación en diferentes semillas forestales, en el caso de las especies que se usaron para el proyecto, varios estudios han demostrado que la germinación se incrementó significativamente cuando las semillas fueron sometidas a ciclos de hidratación-deshidratación. En el caso de las especies seleccionadas el tratamiento más utilizado consiste en un ciclo de hidratación parcial en agua por 12 horas [24, 25, 26].

Diseño experimental

Para esta fase se realizó un diseño completamente al azar, donde se realizó una comparación de proporciones entre cada uno de los tratamientos para las cuatro especies seleccionadas, aclarando que se evaluaron 30 repeticiones para cada tratamiento.

VARIABLES EVALUADAS

La variable que se evaluó fue la proporción de germinación, sin embargo, se consideró como dato relevante el tamaño de raíz, el cual se realizó a partir de la guía de medición a lo largo de la raíz.

El monitoreo de semillas germinadas fue día de por medio, además, se tomó la medición de la raíz cada siete días esto durante los 25 días que duró el proyecto, con la finalidad de determinar si hay alguna comparación en el tamaño según el tratamiento, se contempló cómo germinar una vez que la raíz pivotante haya sobresalido del encapsulado, una vez cumplido este requisito se realizó la contabilidad de las repeticiones que lo cumplía.

Los análisis fueron efectuados a partir de la estadística Q de Cochran [27] debido que en la toma de datos se contabilizaba si el encapsulado germinó o no, con la finalidad de determinar cuál tratamiento generó diferencias de forma significativa en la germinación de las semillas con respecto a los distintos tratamientos.

PRESENCIA DE BIOESTIMULANTES

Finalmente, se evaluó la presencia de los bioestimulantes en las semillas germinadas para el tratamiento con trichodermas, se realizó una evaluación *in vitro* con cinco placas de agar PDA para cada especie, a las raíces se les extrajo la mayor cantidad de suelo posible y se cortaron en segmentos colocando cinco repeticiones en cada placa. Se mantuvo en la cámara de cultivo por cinco días y se determinó si había presencia de *trichoderma*.

En el caso del tratamiento con micorrizas, se realizó un proceso de tinción, donde las raíces extraídas fueron lavadas con abundante agua hasta eliminar el suelo y se cortaron en segmentos, para la tinción, se implementó el hidróxido de potasio (KOH) para el proceso de clarificación de las raíces, seguido de una acidificación con ácido clorhídrico (HCl) o ácido acético (CH₃COOH) y el uso de un colorante azul, para determinar las estructuras de micorrícicas en raíces [28, 29], para esta prueba se utilizaron cinco individuos diferentes por especie.

Resultados

A partir de las pruebas de viabilidad con sales de tetrazolio se obtuvo que, para *Gliricidia sepium* la viabilidad de la semilla correspondió a un 96%, en el caso de *Guazuma ulmifolia* el valor fue de 76%, *Tabebuia rosea* con un 42%, mientras que *Handroanthus impetiginosus* obtuvo el menor valor con un 27%. Por lo que se pudo observar los valores menores pertenecen a las especies aladas y con testa más suave.

A partir del método de Bouyoucos se obtuvo que el suelo que se utilizó para mezclar las micorrizas y las trichoderma, reportaron un 30,21% de contenido de humedad y un 17,14% de material orgánico, estos datos son un promedio de las tres muestras utilizadas para obtener la información (Cuadro 1). Además, se pudo determinar que este suelo presenta un mayor porcentaje de arena al estar constituido por un 49,2 %, un 43% de limo y un 7,76% de arcillas igualmente estos siendo sus valores un promedio.

Cuadro 1. Contenido de humedad, material orgánico y análisis del tamaño de partículas del suelo 1.

Muestra	Contenido de humedad (%)	Material orgánico (%)	Muestra Peso inicial (g)	Porcentaje de texturas			Textura
				ARENA	ARCILLA	LIMO	
1	29,87	17,53	41,13	42,1	10,7	47,1	Franco
2	30,57	16,69	40,06	50,8	6,1	43,2	Franco Arenoso
3	30,19	17,20	40,65	54,7	6,5	38,7	Franco Arenoso
Promedio	30,21	17,14	40,61	49,21	7,78	43,01	

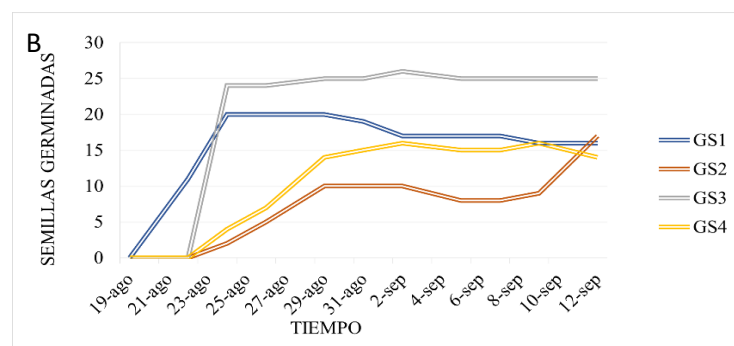
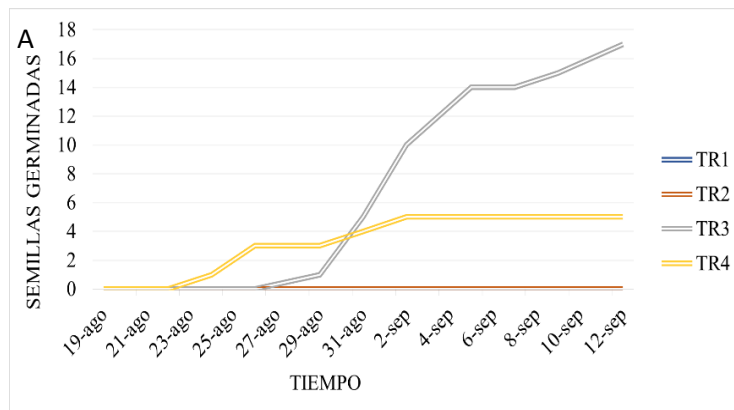
Para el suelo 2 se detectó las características de un suelo arcilloso, razón por lo cual, se empleó como base para el encapsulado al presentar cierta plasticidad al encontrarse húmedo. A partir de la prueba, se encontró una certeza cuantitativa de los porcentajes de textura, donde se determinó que estaba compuesto en un 46,28% de arcilla, un 30,96% de limo y finalmente un 22,76% de arena, por lo que la textura fue arcillosa (Cuadro 2). El contenido de humedad de este suelo fue considerablemente más bajo que el suelo arenoso, ya que, se encuentra compuesto por un 7,99%.

Cuadro 2. Contenido de humedad, material orgánico y análisis del tamaño de partículas del suelo 2.

Muestra	Porcentaje de texturas	Textura
---------	------------------------	---------

	Contenido de humedad (%)	Material orgánico (%)	Muestra Peso inicial (g)	ARENA	ARCILLA	LIMO	
1	8,09	6,81	40,21	16,2	47,7	36,1	Arcillosa
2	8,06	6,44	40,42	22,0	47,6	30,4	Arcillosa
3	7,82	6,24	41,02	30,1	43,6	26,3	Arcillosa
Promedio	7,99	6,50	40,55	22,76	46,28	30,96	

Los tratamientos donde hubo presencia de micorrizas y trichoderma, presentaron una mayor germinación principalmente (Figura 1) en los gráficos A y C, En comparación con el gráfico B, donde, a partir del 23 de agosto todos los tratamientos mantenían una germinación constante. No obstante, es importante recalcar que, en los tres gráficos, el tratamiento que presentó mejores resultados fue el de micorrizas. En caso contrario la especie *Guazuma ulmifolia*, el cual, no presentó germinación sin importar el tratamiento utilizado. Respecto a lo anterior no se logra determinar si el método es factible para la especie, debido a que el tratamiento pre-germinativo no fue el correcto para romper la latencia de estas semillas, a pesar de que estas presentan un alto valor en viabilidad.



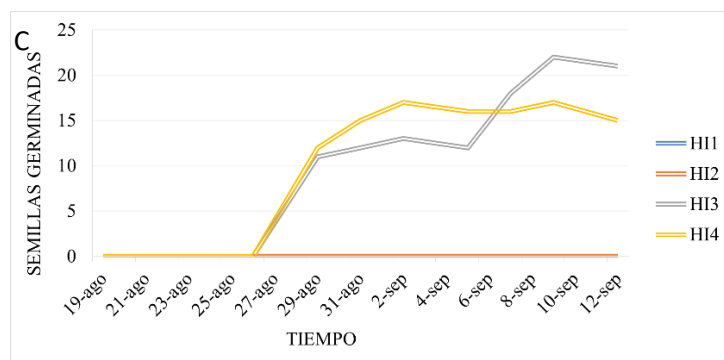


Figura 1. Germinación acumulativa de las semillas según el tratamiento donde el gráfico A se refiere a la especie *Tabebuia rosea*, el gráfico B es para la especie *Gliricidia sepium*, el gráfico C es de *Handroanthus impetiginosus*.

Con base en los datos estadísticos, se expresó que, para el caso de *Tabebuia rosea* (Material complementario 1), *Gliricidia sepium* (Material complementario 2) y *Handroanthus impetiginosus* (Material complementario 3) se presentó diferencias significativas entre los tratamientos. Por lo que, en las pruebas específicas se dio como resultado que para las primeras dos especies el tratamiento que tuvo mejores resultados fueron el tratamiento 3, es decir aquel que posee presencia de micorrizas. Sin embargo, para la última especie las pruebas determinaron que no había una diferencia relevante entre el tratamiento 3 y 4; por lo que la selección de bioestimulantes podría depender de los objetivos a largo plazo o a los intereses del interesado.

Por otro lado, con base a las proporciones para el último día de medición correspondientes para *Handroanthus impetiginosus* se obtuvo para HI3 un 70%, mientras que para HI4 un 50% de semillas germinadas. En el caso de *Tabebuia rosea* se reportó que para TR3 un 56,7% y para TR4 un 16,7%. Al ser *Gliricidia sepium* la única especie que representó resultados en todos sus tratamientos, las proporciones fueron las siguientes, GS1 con un 53,3%, para GS2 el valor fue de 56,7%, GS3 con 83,3%, finalmente, para GS4 se obtuvo un valor de 46,7%. En el caso de *Guazuma ulmifolia* todas las proporciones dieron un 0%.

A partir del registro del tamaño de las raíces, se logró visualizar la diferencia entre los tratamientos que llevaron bioestimulantes, en comparación con aquellos tratamientos que no lo pesian. No obstante, este tipo de análisis sólo se puede realizar en el gráfico C (figura 2), correspondiente a *Gliricidia sepium*, esto debido a que fue el único que presentó resultados de los cuatro tratamientos.

Con base en la anterior, se puede observar que el tratamiento que presentó mayores promedios fue el GS3 que utilizó micorrizas, seguido por el GS4 con trichodermas.

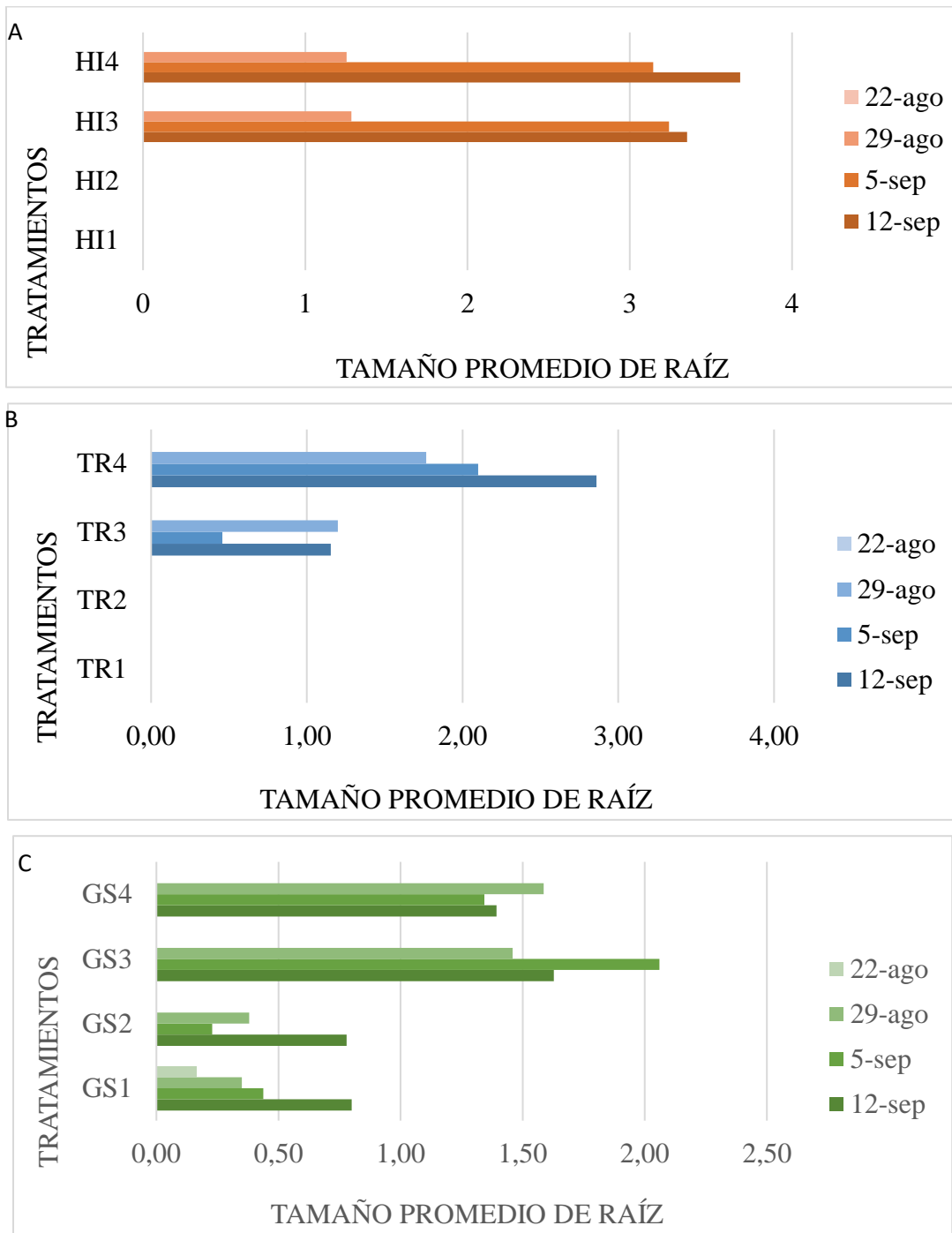


Figura 2. Tamaño de raíz según el tratamiento donde el gráfico A se refiere a la especie *Handroanthus impetiginosus*, el gráfico B es para la especie *Tabebuia rosea*, el gráfico C es para *Gliricidia sepium*.

Con respecto a los gráficos A y B, el resultado en el tratamiento 1 y 2 corresponde a cero, lo que no logro hacer una comparación entre todos los tratamientos; a pesar de ello, hubo un mayor incremento en el tamaño para el 12 de setiembre, en los tratamientos HI4 y TR4 los cuales contaron con la presencia de trichodermas. El porcentaje puede disminuir según cuántas semillas han germinado para las fechas de medición.

A partir de placas de agar PDA se logró comprobar la presencia de trichodermas en las raíces de las distintas especies (Figura 3), a pesar de esto, también se muestran distintas coloraciones en todas las repeticiones independientemente de la especie, esto es debido a que la empresa encargada de producir TrichoFecunda utiliza una mezcla de varias especies de *Trichoderma* spp. Se debe añadir, que a pesar de encontrarse presencia en todas las especies no se pudo determinar en cuál se presentó mayor dominancia en la prueba.

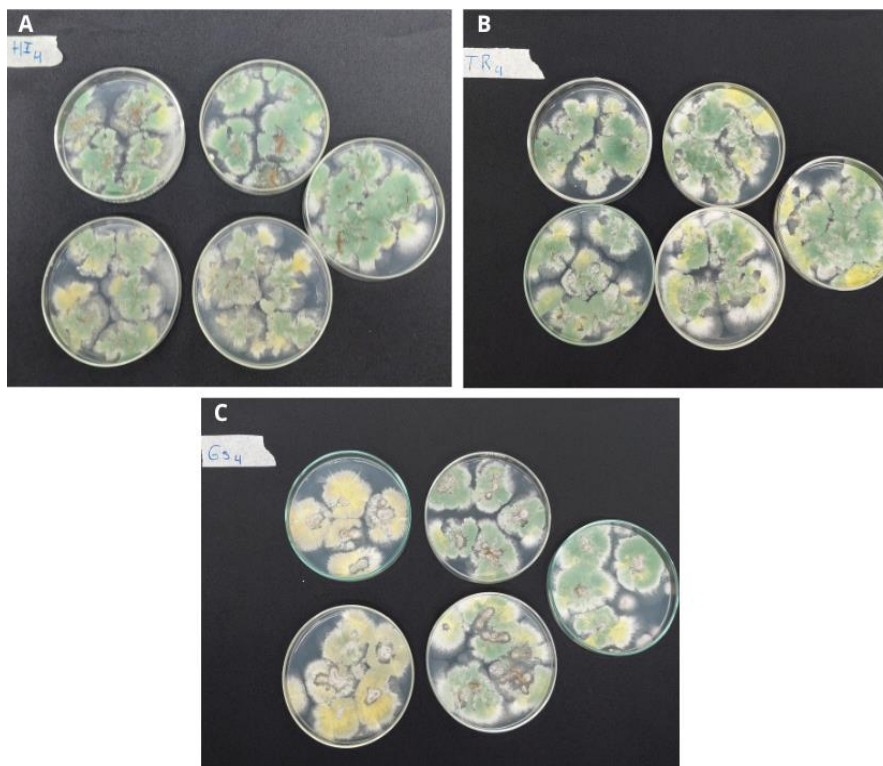


Figura 3. Prueba sobre presencia de *Trichoderma* spp en el gráfico A se refiere a la especie *Handroanthus impetiginosus*, el gráfico B es para la especie *Tabebuia rosea*, el gráfico C es para *Gliricidia sepium*.

Respecto al estudio sobre la presencia de micorrizas (figura 4), se logró observar pocas estructuras identificables las cuales se encontraron de una manera superficial en la raíz o de un tamaño poco

significativo. Razón por la cual, no se hubiera podido identificar si realmente hay una inoculación del hongo en la raíz en la mayoría de los individuos evaluados, tal es el caso de una de las muestras de *Handroanthus impetiginosus* donde se puede observar estructuras de mayor tamaño.

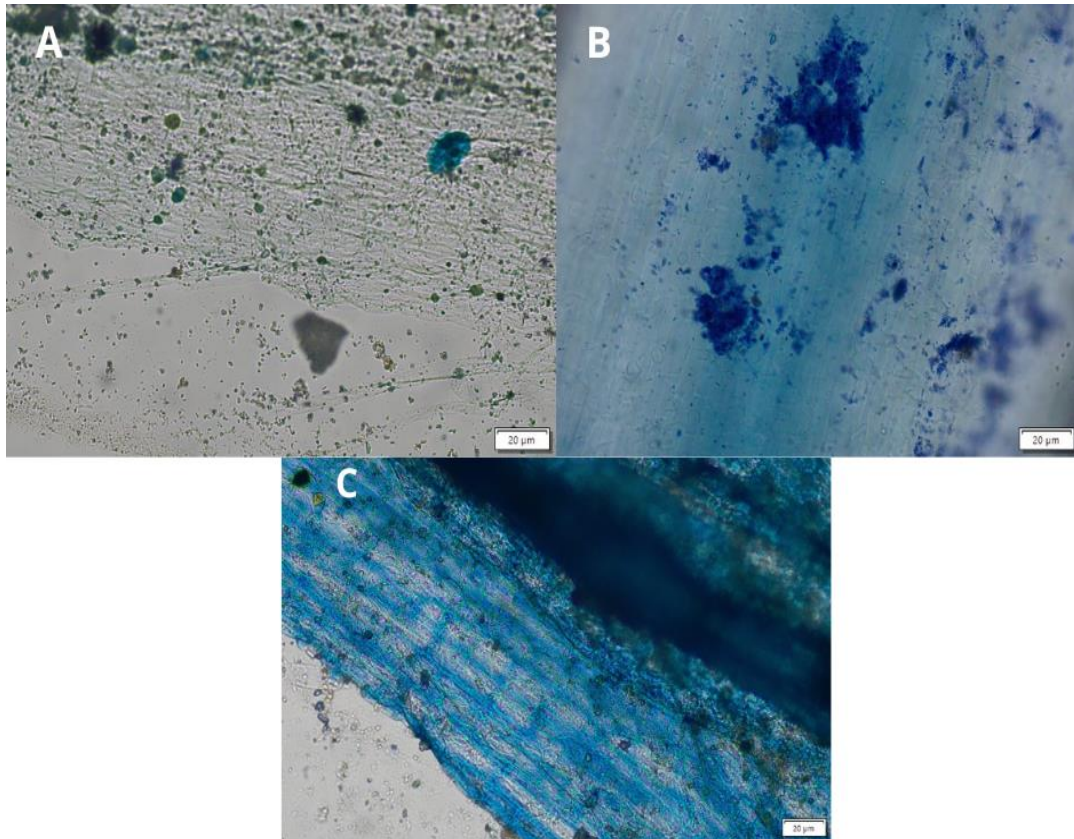


Figura 4. Presencia de micorrizas por medio de tinción de raíces en el gráfico A se refiere a la especie *Gliricidia sepium*, el gráfico B es para la especie *Handroanthus impetiginosus*, el gráfico C es para *Tabebuia rosea*.

Finalmente, el día último día de medición se tomaron fotografías de algunas repeticiones por tratamiento (figura 5), esto debido a que se quería evidenciar parte de los resultados, incluso visualizar el estado de algunos de los individuos. Se logra ver como algunas repeticiones mantienen los encapsulados, ya sea, en los cotiledones o en la raíz, en caso contrario, en el caso de la interacción GS1 se observan rastros de la raíz pivotante, debido a que la raíz al no poder fijarse sobre algún sustrato provoco en algunos casos una poda por aire.



Figura 5. Evaluación final de los encapsulados de las especies *Gliricidia sepium*, *Handroanthus impetiginosus*, *Tabebuia rosea* y *Guazuma ulmifolia*.

Discusión

Para lograr la conservación es necesario implementar nuevas técnicas de restauración, principalmente si se desea trabajar en equipo con la recuperación de tierras degradadas o ecosistemas intervenidos, con el fin de resolver las problemáticas a las que se enfrentan las áreas de interés [30]. Por lo que, los resultados anteriores provocan que prácticas como el recubrimiento de semillas para dispersión manual o artificial se vuelvan en grandes aliados para empresas en organizaciones dedicadas a la conservación, principalmente al referirse a la eficiencia de esta.

La proporción de germinación de los encapsulados se encontraba entre el 16,7% al 83,3% lo cual son datos relativamente elevados, en comparación a proyectos similares donde los porcentajes de germinación van de un 8% hasta un 40%, con un rango de semillas germinadas de 2 a 16 según los diferentes tamaños de encapsulados y tratamientos, siendo 30 las unidades muestrales [30]. Una de las posibles razones de que los resultados fueran considerablemente satisfactorios es la

implementación de hongos en los recubrimientos, ya que, podría estar proporcionando nutrientes y otros beneficios a la planta de manera similar a un fertilizante [31].

Sin embargo, en otras pruebas donde se realizó esta técnica sin los hongos principalmente en especies como *Guazuma ulmifolia* y *Tabebuia rosea* se obtuvieron los siguientes resultados sobre las semillas germinadas correspondan a 4/15 y 10/15 respectivamente [8]. Por lo que, en el caso de *Tabebuia rosea* se puede explicar los valores bajos en su germinación debido a su baja viabilidad y a su longevidad, ya que, se ha reportado que, aunque esta especie aun teniendo un comportamiento ortodoxo, presenta un decaimiento en la viabilidad según aumente el periodo de almacenamiento [32]; por ello es importante tomar en cuenta el tiempo de almacenamiento y manejo de la humedad.

El lado contrario en el caso de *Guazuma ulmifolia* fue el que presentaba menores porcentajes de germinación, esto se podría deber a los tratamientos pre-germinativos usados o las faltas de estos, esto debido a que los tratamientos hídricos en semillas se encuentran condicionados a los procesos metabólicos condiciones de estrés hídrico y calórico, por lo que la longevidad y los tiempos de almacenamiento de semillas juegan un papel fundamental en este período [33]. Un método que puede generar mejores resultados es cuando se somete a tratamiento con choques térmicos alrededor de 80°C y 100°C, puede variar de 73% a 76% el porcentaje de germinación [34].

Al igual que para *Tabebuia rosea*, *Handroanthus impetiginosus* obtuvo bajos porcentajes de germinación principalmente en HI1 y HI2 se puede ver relacionada con decaimiento en la viabilidad por almacenamiento. En casos de miembros del mismo género como *Handroanthus albusla* durante los seis a doce meses la viabilidad alcanzando el 18% [35]; también se debe considerar la humedad en el encapsulado el cual puede causar la proliferación de hongos que faciliten la pudrición. En el caso de *Gliricidia sepium* la viabilidad al ser mayor se ven mejores resultados respecto al número de semillas germinadas, en otros proyectos las semillas que recibieron tratamiento pre germinativo y herbicidas pre emergentes obtuvieron como resultados de un 65% a un 100% en germinación [36], por lo que se puede suponer que la semilla tiende a tener estos resultados mientras se encuentre viable.

Finalmente, se determinó que el tratamiento que presentó los mejores resultados fue el que se inoculó con micorrizas, a pesar de esto, a la hora de hacer los análisis de laboratorio se observó que la presencia de éstas en la raíz era superficial o su estructura no se encontraba del todo

desarrollada (Figura 4). Sin embargo, se puede considerar que obtuvo mejores resultados debido a que las micorrizas pueden liberar ciertos compuestos bioactivos que pueden estimular el crecimiento de las plantas incluso antes de establecer una micorrización efectiva. En el caso del cultivo de *Trichodemas spp* se notó su presencia en cada una de las muestras; no obstante, esto se puede deber al comportamiento de cada bioestimulante.

Esto se debe a que en el caso de las micorrizas y específicamente para *Glomus intraradices* busca que su asociación sea en la raíz o estructuras similares. Por otro lado, se debe considerar que el proceso para visualizar las primeras señales de colonización puede llevar de 15 - 60 días para que los hongos orbiculares completen su ciclo de vida [37]. Sin embargo, se debe considerar que el producto utilizado al ser comercial no presenta el mismo nivel de concentración por lo que podría tardar mayor tiempo en visualizarse estas señales.

En el caso de trichodermas la mayoría de las especies son oportunistas, simbioses de plantas, pueden ser microparásitas e incluso pueden colonizar varios ambientes debido a su capacidad reproductiva acelerada, por otro lado, aunque logra su asociación en la raíz algunas pueden fijarse a un individuo vegetal ingresando desde cualquier estructura [38, 39] debido a que el producto comercial no especifica cuál especie de trichoderma utiliza, sino, que aclara que está constituido por una combinación de varias especies se podría explicar algunos de estos comportamientos.

Ya que, a como avanzaba las pruebas y germinaban las semillas muchos de los encapsulados se fracturaban o se quedaban sujetas a los cotiledones de las plántulas, por lo que, el trichoderma podría ser absorbido desde cualquier estructura vegetal cercana a los encapsulados con estos hongos y gracias a sus procesos biológicos llegaron a colonizar más rápidamente el individuo.

Por otro lado, es necesario mencionar que la mayoría de las especies con tratamiento de trichoderma poseían mayor tamaño de la raíz, esto se puede ver lo mismo de su colonización. Por el contrario, en el caso de las micorrizas la asociación ha resultado ser superficial, ya sea, por las concentraciones o por el poco tiempo en que las raíces estuvieron vinculadas con los encapsulados que obtenían este hongo, el tamaño de la raíz pudo no verse tan representativo. Aunque se puede agregar al ver posibles causas un aumento en la germinación de ese tratamiento y que los encapsulados al encontrarse sobre bandejas pudieron sufrir algún tipo de poda aérea.

Conclusiones

Durante el proceso del experimento, se logra observar cómo los encapsulados cumplen su función como un posible acondicionamiento para la semilla al suelo, principalmente para establecerlas en las áreas que se desean restaurar, esto debido a que conforme se va germinando la semilla, el encapsulado se va fragmentando facilitando la salida de la raíz.

Los encapsulados a los que se le incluyeron los hongos micorrícicos fueron los que presentaron mejores resultados, añadiéndole que a largo plazo cumplen como reserva nutricional y favoreciendo el desarrollo de las plántulas. Se llega a la conclusión que el encapsulado elaborado con micorrizas fue el que presentó mejores, sin embargo, el que presenta mayor presencia y actividad es aquel que posee trichodemas.

Se logró recaudar información fundamental sobre la elaboración de encapsulados, ya que en la mayoría de las instituciones o trabajos donde se han realizado este tipo de encapsulados no se especificaron la composición de los elementos que se utilizaron, por lo que la técnica de encapsulado se vuelve irreplicable, por lo que, aun en condiciones de sitios seminales, pueden no obtenerse los mismos resultados. Por lo que documentar la composición de los elementos permite garantizar resultados a la hora de hacer replicas.

Recomendaciones

Aunque el recubrimiento de semillas es una técnica que se ha utilizado por mucho tiempo en algunas ocasiones con distintos nombres, los materiales para elaborar esa práctica son innumerables razón por la cual es necesario seguir investigando otras mezclas, principalmente considerando los ecosistemas que se desean, por lo tanto, es fundamental definir para cuáles especies podría funcionar mejor esta técnica y con cuáles son las características que se deben considerar ya sea el tamaño, las estructuras, el tipo de testa y la longevidad de las semillas.

Respecto a la especie *Guazuma ulmifolia* se debe cambiar el tratamiento pregerminativo, con la finalidad de obtener resultados respecto a la efectividad de la técnica en esta especie. Añadiéndole, se podía mejorar el proyecto al usar hongos que han inoculado para cada una de las especies en lugar de utilizar productos comerciales, principalmente en el caso de micorrizas donde la colonización y la formación de estructuras dentro de la raíz toman mayor tiempo.

De igual forma, el investigar en cuáles condiciones climáticas el recubrimiento de semillas termina siendo beneficioso o perjudicial, considerando una comparación entre bosque seco tropical y

bosque muy húmedo tropical. Al igual que los recubrimientos pueden variar en grandes medidas, lo hacen los ecosistemas alrededor del mundo, por lo cual es necesario seguir generando información que facilite las tareas de restauración, recuperación y conservación.

Agradecimientos

Por este medio le agradezco al Ph.D. Randall Chacón Cerdas, al M.Sc. Jason Pérez Chavez, demás profesores y miembros del Centro de Investigación en Biotecnología (CIB) quienes me brindaron acompañamiento, equipo e información durante esta investigación. De igual forma al Ph.D. Edwin Antonio Esquivel Segura, a la M.Sc Dawa Méndez Álvarez, demás miembros del Centro de Investigación en Innovación Forestal (CIF) por brindarme un espacio en los laboratorios y su asesoría. Finalmente agradecerle, al M.Sc Luis Diego Jiménez encargado del Banco de Semillas Forestales del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) que me colaboró con la obtención de las semillas utilizadas en el proyecto.

Referencias

- [1] V. Sánchez, «Relación entre crecimiento económico y degradación ambiental, un análisis a nivel global por niveles de ingresos,» *Revista económica*, vol. 2, n° 1, pp. 96-109, 2017.
- [2] E. S. Corredor Camargo, E. M. Páez Barón y J. A. Fonseca Carreño, «Los servicios ecosistémicos de regulación: tendencias e impacto en el bienestar humano,» *Revista De Investigación Agraria Y Ambiental*, vol. 3, n° 1, p. 77–83, 2012.
- [3] S. Tyagi, N. Garg y R. Paudel, «Environmental Degradation: Causes and Consequences,» *European Researcher*, vol. 81, n° 8, pp. 1491-1498, 2014.
- [4] C. Morera-Beita, L. F. Sandoval-Murillo y L. D. Alfaro-Alvarado, «Evaluación de corredores biológicos en Costa Rica: estructura de paisaje y procesos de conectividad-fragmentación,» *Revista Geográfica de América Central*, vol. 1, n° 66, pp. 129 - 155, 2021.
- [5] M. Aghai y T. Manteuffel-Ross, «Enhancing Direct Seeding Efforts With Unmanned Aerial Vehicle (UAV) “Swarms” and Seed Technology,» *Tree Planters' Notes*, vol. 63, n° 2, 2020.
- [6] O. Duque S, J. Fuentes, J. Araujo, D. Nicolas, R. Omar y M. Juan, «Herramienta aspersora de semillas para el cultivo por voleo por medio drones agrícolas con sistema de control y mando a distancia,» *MetalNNova*, pp. 5-13, 2021.

- [7] A. M. Juárez Chunga , «RESTAURACIÓN DE BOSQUE SECO CON LA APLICACIÓN DE LA TÉCNICA FUKUOKA EN LOS CASERIOS ALITA Y LA PEÑA DEL DISTRITO DE SALAS,» Tesis, UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO, PEDRO RUIZ GALLO, 2017.
- [8] L. P. Robinson , D. G. Zavarize y I. C. Menezes Martins, «APPLYING NENDO DANGO TECHNIQUE FOR GERMINATION AND PRE-ESTABLISHMENT OF NATIVE SPECIES ON DEFORESTED AREAS,» *Agricultura y silvicultura*,, vol. 64, nº 2, pp. 33-42, 2018.
- [9] S. Pedrini, D. J. Merritt , J. Stevens y . K. Dixon, «Seed Coating: Science or Marketing Spin?,» *Trends Plant Sci*, vol. 22, nº 2, pp. 106-116, 2017.
- [10] A. T. Zvinavashe, J. Laurent, . M. Mhada, H. Sun, H. Manu, E. Fouda, D. Kim, S. Mouhib, L. Kouisni y B. Marelli, «Programmable design of seed coating function induces water-stress tolerance in semi-arid regions,» *Nature Food*, vol. 2, p. 485–493, 2021.
- [11] R. d. L. Romo-Campos y J. F. Guzmán Valle, «Recubrimiento de semillas como técnica para la restauración de suelos degradados,» *E-CUCBA*, vol. 11, nº 6, p. 46–53, 2019.
- [12] «Phosphorus seed coating as starter fertilization for spring malting barley,» *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science*, vol. 58, nº 2, pp. 124-131, 2008.
- [13] P. Peltonen-Sainio, M. Kontturi y J. Peltonen, «Phosphorus Seed Coating Enhancement on Early Growth and Yield Components in Oat,» *Agronomy Journal*, 98(1), 206. doi:10.2134/agronj2005.0141 , vol. 98, nº 1, pp. 206-211, 2006.
- [14] P. Rigg Aguilar, «Propuesta de línea base del plan de ordenamiento, Tesis,» INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA RICA, Cartago, Costa Rica, 2013.
- [15] D. Reyes Cordero , «ANÁLISIS DE LOS PROCESOS DE RESTAURACIÓN PASIVA,» Instituto Tecnológico deCosta Rica. TESIS., Cartago, Costa Rica., 2012.
- [16] J. C. Valverde, D. Arias, M. Castillo y D. Torres, «Relación de la variabilidad climática con el crecimiento diamétrico de ocho especies arbóreas de bosque seco en Costa Rica,» *Ecosistemas*, vol. 30, nº 1, 2021.
- [17] L. Hurtado Trejo, V. H. Eras Guamán, J. Muñoz Chamba, M. Encalada Cordova y L. Quichimbo Saraguro, «Aplicabilidad de las Normas ISTA: Análisis de la calidad de semillas en especies forestales en el Sur del Ecuador,» *BOSQUES Latitud Cero*, vol. 10, nº 2, p. 44–57, 2021.
- [18] N. A. Arce Gálvez, «Efecto de Fertilización Orgánica y Química sobre los Patrones de Mango (*Mangifera Indica* L) Bajo Condiciones de Vivero, para su Posterior Establecimiento en Zona de Montaña De Tuluá Valle Del Cauca,» Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD, 2021.

- [19] G. Vasquez Altamirano , «“INFLUENCIA DE HONGOS MICORRIZALES, EN EL CRECIMIENTO INICIAL DE *Cedrelinga catenaeformis* Ducke, *Swietenia macrophylla* King, *Guazuma crinita* Martius - RÍO NEGRO - SATIPO”,» NIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO DEL PERÚ, Perú, 2014.
- [20] C. p. e. D. d. A. Orgánicas, «CoopeTarrazú R.L.,» febrero 2019. [En línea]. Available: <https://www.coopetarrazu.com/wp-content/uploads/2019/02/TRICHOFECONDA-EN-POLVO-Cedao-info.pdf>.
- [21] A. Beretta, A. Silbermann, . L. Paladino, . D. Torres, . D. Kassahun, . R. Musselli y . A. García Lamohte, «Soil texture analyses using a hydrometer,» *Ciencia e investigación agraria: revista latinoamericana de ciencias de la agricultura*, , vol. 41, n° 2, pp. 263-271, 2014.
- [22] P. Norambuena V, W. Luzio L y W. Vera E, «COMPARACIÓN ENTRE LOS MÉTODOS DE LA PIPETA Y BOUYOCOS Y SU RELACIÓN CON LA RETENCIÓN DE AGUA EN OCHO SUELOS DE LA ZONA ALTIPLÁNICA DE LA PROVINCIA DE PARINACOTA, CHILE,» *Agricultura Técnica*, vol. 62, n° 1, 2002.
- [23] R. Rubilar Pons, E. A. Esquivel Segura y D. Faúndez V., «Laboratorio de Suelos y Nutrición Forestal. Manual de Laboratorio,» Universidad de Concepción. Facultad de Ciencias Forestales.
- [24] J. A. Sánchez, M. Pernús y J. Martínez, «Tratamientos de semillas para mejorar la germinación de *Guazuma ulmifolia* bajo estrés hídrico y calórico: comparación entre árboles tropicales pioneros,» *Revista del Jardín Botánico Nacional*, vol. 41, pp. 93-108 , 2020.
- [25] J. E. Montealegre Olivares, «Estado del arte de la utilización del totumo ((*Crescentia cujete* l) como alternativa para,» TESIS. Universidad nacional abierta y a distancia, Colombia; Bogotá, 2017.
- [26] E. I. Sánchez-Bernal, H. M. Ortega-Escobar, E. N. Muñoz-Hernández, Á. Can-Chulim, V. Ortega-Barand y J. Ochoa-Somuano, «Crecimiento de plántulas de *Tabebuia rosea* y *Gliricidia sepium* en condiciones de salinidad clorhídrica,» *Terra Latinoam*, vol. 39, n° 2, 2020.
- [27] A. Ramírez Ríos y A. M. Polack Peña, «Estadística inferencial. Elección de una prueba estadística no paramétrica en investigación científica.,» *Horizonte de la Ciencia*, vol. 10, n° 19, pp. 191-208, 2020.
- [28] W. Hernández y . E. Salas, «LA INOCULACIÓN CON *Glomus fasciculatum* EN EL CRECIMIENTO DE CUATRO ESPECIES FORESTALES EN VIVERO Y CAMPO,» *Agronomía Costarricense*, vol. 33, n° 1, pp. 17-30, 2009.
- [29] C. Valencia y D. Zúñiga, «Análisis de la presencia natural de micorrizas en cultivos de algodón (*Gossypium barbadense* L.) inoculados con *Bacillus megaterium* y/o *Bradyrhizobium yuanmingense*,» *Ecología Aplicada*, vol. 14, n° 1, pp. 65-69, 2015.

- [30] R. d. L. Romo Campos y J. F. Guzmán Valle, «Recubrimiento de semillas como técnica para la restauración de,» *e-CUCBA*, vol. 11, n° 6, pp. 46-53, 2019.
- [31] M. M. Ramírez Gómez, A. M. Peñaranda Rolon, U. A. Pérez Moncada y D. P. Serralde, «Biofertilización con hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) en especies forestales en vivero,» *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, vol. 16, n° 2, pp. 15-25, 2018.
- [32] C. Orantes Garcia y R. A. Moreno Moreno, «Efecto del almacenamiento sobre la viabilidad de las semillas de *Tabebuia rosea* (Bertol) dC. y *Tabebuia donnell-smithii* Rose (Bignoniaceae) en Chiapas, México,» *LACANDONIA*, vol. 7, n° 2, pp. 67-72, 2013.
- [33] J. A. Sánchez, . M. Pernús y J. Martínez, «Tratamientos de semillas para mejorar la germinación de *Guazuma ulmifolia* bajo estrés hídrico y calórico: comparación entre árboles tropicales pioneros,» *Revista del Jardín Botánico Nacional*, vol. 41, n° 1, pp. 93-108, 2020.
- [34] B. C. Muñoz, . J. A. Sánchez y W. Almaguer, «Germinación, dormancia y longevidad potencial de las semillas de *Guazuma ulmifolia*,» *Pastos y Forrajes*, vol. 27, n° 1, pp. 25-33, 2004.
- [35] E. R. Duarte, E. H. Avico, P. A. Sansberro y . C. . V. Luna, «Efecto de la testa sobre la germinación de semillas de *Handroanthus heptaphyllus* tras distintos tiempos de almacenamiento.,» *Revista Ciencias Agronomicas*, vol. 14, n° 24, pp. 29-35, 2014.
- [36] N. Hernández, D. Arias, F. Herrera, E. Briceño, M. Guevara y E. Esquivel, «Efecto de herbicidas premergentes sobre la siembra directa de semillas pregerminadas de *Gmelina arborea* Roxb. y *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp. para el establecimiento de plantaciones dendroenergéticas,» *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, vol. 15, n° 1, pp. 67-78, 2018.
- [37] M. C. Nazareno Saparrat, M. F. Ruscitti y M. C. Arango, *Micorrizas arbusculares : biología y aplicaciones en el sector agro-forestal*, Buenos Aires, Argentina: edulp, 2020.
- [38] M. Kumar, S. Choudhary y D. Kumar Chaurasiya, «Mechanism of *Trichoderma* Spp. and Their Role in Biological Management of Plant Diseases,» *Biotica Research Today*, vol. 2, n° 8, pp. 722-726, 2020.
- [39] D. Infante Martínez, I. González Marquetti, Y. Arias Vargas, S. Gorrita Ramírez, T. Hernández García, B. M. de la Noval Pons, B. Martínez Coca y B. Peteira, «Efecto de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg sobre indicadores de crecimiento y desarrollo de *Phaseolus vulgaris* L. cultivar BAT-304,» *Revista de Protección Vegetal*, vol. 34, n° 2, pp. 1-10, 2019.

Materia Complementario

Material Complementario 1. Estadístico Q de Cochran más prueba específica para la especie *Tabebuia rosea* con $\alpha:0,05$.

Ho: TR1= TR2= TR3=TR4

Ha: Al menos un par de proporciones no son iguales

Q	35,091
χ^2	7,815

R/ Q > χ^2 por lo que existe evidencia para rechazar Ho.

Prueba específica

Ho:TR3=TR4

Ha: TR3 \neq TR4

Dc	0,400
CDq	0,217

R/ Dc > CDq existe evidencia para rechazar Ho.

Material Complementario 2. Estadístico Q de Cochran más prueba específica para la especie *Gliricidia sepium* con $\alpha:0,05$.

Ho: GS1= GS2= GS3=GS4

Ha: Al menos un par de proporciones no son iguales

Q	9,333
χ^2	7,815

R/ Q > χ^2 por lo que existe evidencia para rechazar Ho.

Prueba específica

Ho:GS3=GS4

Ha: GS3 \neq GS4

Dc	0,367
CDq	0,253

R/ Dc > CDq existe evidencia para rechazar Ho.

Material Complementario 3. Estadístico Q de Cochran más prueba específica para la especie *Handroanthus impetiginosus* con $\alpha:0,05$.

Ho: TR1= TR2= TR3=TR4

Ha: Al menos un par de proporciones no son iguales

Q	45,600
χ^2	7,815

R/ Q > χ^2 por lo que existe evidencia para rechazar Ho.

Prueba específica

Ho:TR3=TR4

Ha: TR3≠ TR4

Dc	0,200
CDq	0,253

R/ Dc < CDQ no existe evidencia para rechazar Ho.

Capítulo 2. Eficiencia del recubrimiento de semillas forestales en campo dentro de la Estación Experimental Forestal Horizontes Guanacaste, Costa Rica.

Introducción

Históricamente, el bosque seco se ha visto afectado por diferentes acciones que promueven su degradación con el fin de beneficiar la ganadería y la agricultura. Un ejemplo claro de esto son los bosques de Guanacaste, los cuales fueron eliminados en gran medida entre 1950-1980 bajo la presión de una industria de carne bovina en rápida expansión y políticas de colonización de tierras [1]. En respuesta a la creciente preocupación sobre la pérdida en cobertura y de los servicios ecosistémicos, se inició con la formulación de propuestas e implementación de políticas nacionales de conservación [2].

Sin embargo, estos procesos de recuperación en el bosque seco tropical se han visto interrumpidos en múltiples ocasiones por el impacto de incendios forestales, perturbaciones topográficas,

depredación, tala ilegal, vandalismo, una estación seca muy marcada, una gran parte de su extensión total extinta, y parches remanentes con altos niveles de fragmentación [3, 4]. Además, de una creciente degradación ecológica debido a la pérdida de fertilidad en los suelos y la pérdida del banco de semillas [5, 6].

Los suelos degradados o en condiciones hídricas limitadas pueden dificultar la germinación de las semillas, debido a que no proporcionan las condiciones adecuadas para su desarrollo óptimo. Razón por lo cual se han puesto en práctica algunas técnicas como el recubrimiento de semillas, también llamados “pellets”. Esto consiste en integrar especies vegetales a los suelos poco fértiles mediante la formación de masas pequeñas y redondeadas formadas de cualquier mezcla que sea soluble en agua [7]. Dicha técnica tiene como propósito evitar el desplazamiento de las semillas garantizando la permanencia en suelos con pendientes fuertes o en condiciones de sitio adversas.

Entre las ventajas de utilizar una mezcla que sea soluble en agua como la arcilla, es que una vez seca, evita que las semillas sufran algún daño físico o se conviertan en el alimento de pájaros, insectos y otros animales, finalmente, con ayuda de la lluvia se podrán liberar las semillas ya avanzadas en su proceso de germinación [8]. Es clave ese proceso, ya que, es indispensable mantener la riqueza natural del suelo, una parte esencial para cumplir ese objetivo es la presencia de fauna que mantiene en equilibrio la dinámica del bosque [9].

Sin embargo, factores como la fauna, pueden jugar un papel negativo para los germinados, ya que, al encontrarse en campo en una etapa muy temprana se pueden encontrar vulnerable, afectando su establecimiento, principalmente si se contempla el uso de una restauración ecológica pasiva, donde no hay grandes intervenciones humanas [10]. Por lo que es necesario comprobar el comportamiento de los encapsulados en campo, además evaluar el costo de producción de los encapsulados.

Materiales y Métodos

Sitio experimental

El sitio del estudio fue la Estación Experimental Forestal Horizontes (EEFH) ubicada dentro del Área de Conservación Guanacaste (ACG), entre las coordenadas (-85° 35' 54.24" y 10° 42' 2.29") en WGS84. El área seleccionada cuenta con un área de 7,28 hectáreas, una precipitación que varía de 1800 a 2100 mm anuales, una media anual de temperatura de 29 °C, con una máxima de 33 °C

y una mínima de 24 °C durante el día, mientras en la noche se mantiene a una temperatura media anual de 24 °C; la humedad relativa varía de un 55 % a un 88 % [9, 10, 11].

La Estación Experimental Forestal Horizontes, antiguamente, Hacienda Horizontes, estuvo destinada por muchos años a la ganadería y cultivos extensivos, entre ellos arroz, algodón y sorgo; lo cual hizo que el bosque desapareciera casi en su totalidad y con ello todos los ecosistemas presentes en la misma. En el año 1989, la finca fue donada al Área de Conservación Guanacaste, y se definió este sector como la sede del Programa de Restauración y Silvicultura para fines de investigación, como un área experimental que permitiera generar la información base para poder llevar a cabo los procesos de restauración de bosques [12].

Con respecto a la selección del sitio donde se montó el experimento dentro de la Estación Experimental Forestal Horizontes, se seleccionó al sector de Tortuguilla, debido a que este sitio contaba con condiciones óptimas para el establecimiento en comparación con otras opciones previamente visitadas. Entre las condiciones con las que cuenta este espacio está; la presencia de una cerca con la finalidad de que la zona no se vea afectada por el ganado de los alrededores, pastizal de porte bajo, la zona no presentaba aun graves señales de inundación, el terreno cuenta con algunas especies representativas como *Dalbergia retusa* y *Guaiacum sanctum* [11] y plantaciones de *Gmelina arborea* y *Tectona grandis*.

El sitio de estudio presentó en su totalidad el orden de suelo entisoles los cuales fueron derivados de fragmentos de roca suelta; su origen es muy reciente formados sobre abanicos aluviales, llanuras de inundación o en las montañas donde hay presencia de erosión geológica. Entre sus propiedades están que presenta una fertilidad baja y que son suelos minerales muy débilmente desarrollados. Generalmente los podemos ubicar en tierras erosionadas, semiáridas [12]. Esta información se a partir de la capa de sub órdenes del 2013 del Atlas Digital.

Semillas y viabilidad

Las especies utilizadas fueron *Tabebuia rosea* con el acrónimo TR, *Handroanthus impetiginosus* con HI y *Gliricidia sepium* con GS, se seleccionaron estas especies porque se encontraron en los primeros estadios de sucesión vegetal del bosque del sitio, y son de rápido crecimiento. Las semillas fueron adquiridas del banco de semillas del Centro Agronómico Tropical de Investigación

y Enseñanza (CATIE) provenientes de sitios cercanos a la EEFH, las semillas se encuentran almacenadas bajo condiciones controladas de refrigeración.

Según las pruebas de viabilidad se obtuvo que, para *Gliricidia sepium* la viabilidad de la semilla correspondió a un 96%, para *Tabebuia rosea* una viabilidad de 42%, mientras que *Handroanthus impetiginosus* el cual fue el menor valor con un 27%.

Recubrimiento de semillas y tratamientos

Los encubrimientos tenían forma esférica, se elaboraron a partir del peso y para las tres especies fueron de 10g cada uno. Se trabajaron cuatro tratamientos: el primero (1) consistió en semillas en estado natural con el fin de comportarse como el testigo, el segundo tratamiento (2) fue solo la arcilla la cual es la manera original del Nendo Dango creada por Fukuoka [13], el tercero (3) estuvo constituido de un 70% de suelo arcilloso y un 30% de suelo micorrizado, el cual se ha aprobado en proyectos anteriores a diferentes concentraciones [14, 15], el último tratamiento (4) estuvo constituido de un 70% del suelo arcilloso y un 30% de suelo con trichodermas.

Los trichodermas comercial que se utilizaron fueron TRICHOFECUNDA EN POLVO proveniente de CoopeTarrazú, es un producto biológico hecho a partir de una alta concentración de estructuras reproductivas del hongo *Trichoderma* spp. para favorecer su establecimiento en el campo, como mejorador radicular y promotor del crecimiento de las plantas. Entre las ventajas están el incremento y mejora la calidad de germinación de semillas; se establece en la raíz mejorando su crecimiento, estimula los sistemas de resistencia natural de las plantas y protege a la planta de no ser parasitada por otros hongos [16]. Para la utilización de este producto en semillas forestales se recomienda diluir un 1 gamo por cada litro de agua, una vez diluido se debe rociar el suelo que se va a utilizar y con el sobrante remojar por un minuto las semillas que se utilizaron.

Las micorrizas que se utilizaron fueron las producidas por los Laboratorios DR. Obregón VIGOR, la cual fue una enmienda biológica a base de *Glomus intraradices* en una composición $1,98 \times 10^5$ esporas/100 gramos. Se han empleado a este tipo de micorrizas con la finalidad de mitigar los efectos del estrés salino en varias plantas, mejora la absorción de nutrientes y la eficiencia de estos en varios de los procesos e interacciones que realizan las plantas. Al igual que con las trichodermas este producto se puede usar en semillas forestales, donde se recomienda diluir un 1 gamo por cada litro de agua; una vez diluido se debe rociar el suelo que se va a utilizar y con el sobrante remojar, por un minuto, las semillas que se utilizaron.

Análisis de suelos

El suelo utilizado para mezclar con los bio estimulantes fue obtenido del Vivero Forestal del Instituto Tecnológico de Costa Rica, el cual posee un 30,21% de contenido de humedad y un 17,14% de material orgánico, además, se considera que este suelo es Arenoso, ya que, presentó un mayor porcentaje de arena al estar constituido por un 49,2 %, un 43% de limo y un 7,76% de arcillas. Por otro lado, el suelo que se utilizó como base se obtuvo de una finca en San Isidro de Cartago, Costa Rica, este suelo se consideró arcilloso, ya que, estaba consistido en un 46,28%, un 30,96% de limo y finalmente un 22,76% de arena, posee un contenido de humedad de 7,99% y un 6,50% de materia orgánica.

Tratamientos pregerminativos

Se realizaron los respectivos tratamientos pre-germinativos los cuales consistieron en técnicas que ayuden a acortar los tiempos de germinación en diferentes semillas forestales. En el caso de las especies que se usaron para el proyecto, varios estudios han demostrado que la germinación se incrementó significativamente cuando las semillas fueron sometidas a ciclos de hidratación-deshidratación, siendo el tratamiento más efectivo un ciclo de hidratación parcial en agua por 12 horas [17, 18].

Diseño experimental

Finalmente, el diseño experimental que se utilizó fue completamente aleatorio, donde se realizaron 30 repeticiones en cada tratamiento para cada una de las tres especies utilizadas, respecto a la distribución de los tratamientos, este fue aleatorio, el distanciamiento entre los tratamientos fue de un metro y se monitoreo por 17 días que duraron las mediciones de campo periodo acorde con los periodos de germinación de las especies utilizadas (Figura 6). Es importante recalcar que aparte estuvieron 5 días antes preparándose para ser llevada a campo, para un total de 22 días.

Distribución de tratamientos en la Estación Experimental Horizontes

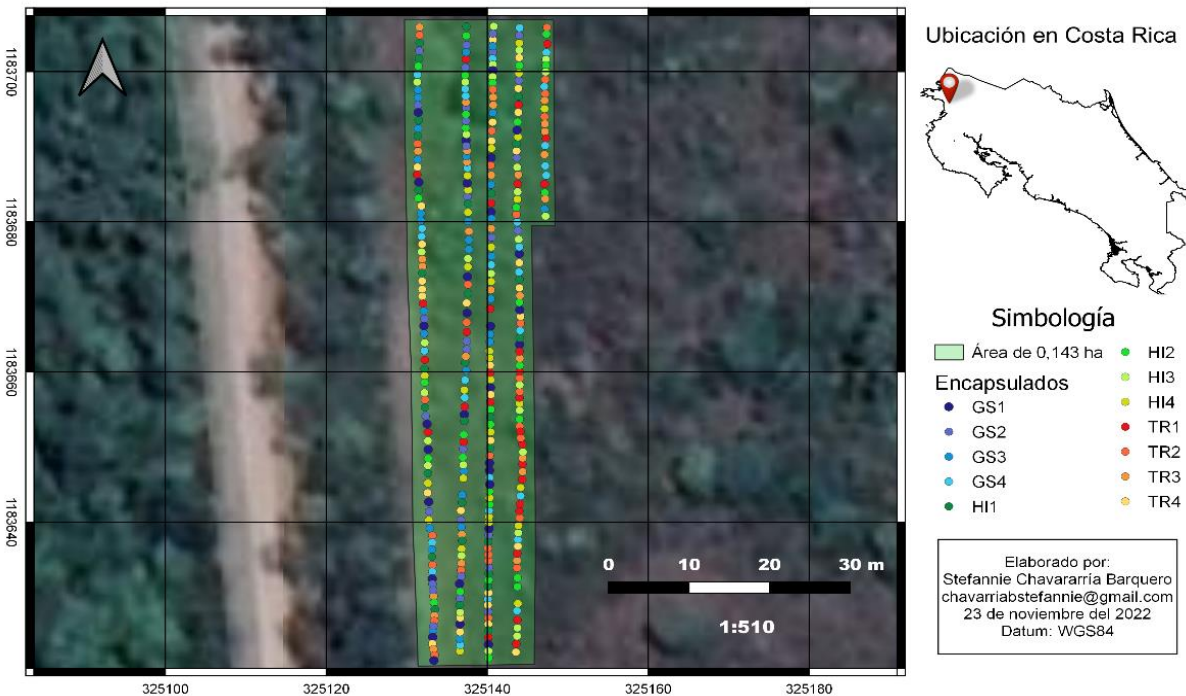


Figura 6. Distribución de las repeticiones en el sitio de ensayo seleccionado: *Tabebuia rosea* (TR), *Handroanthus impetiginosus* (HI) y *Gliricidia sepium* (GS).

VARIABLES EVALUADAS

La variable para analizar fue germinación de las repeticiones, los datos se recolectaron de día por medio. El análisis de datos se realizó en el programa R a partir de la un modelo lineal general con poisson y logaritmo, para determinar cuál tratamiento genera diferencias de forma significativa en la germinación de las semillas con respecto a los distintos tratamientos. Se realizó la prueba específica Fisher's least significant difference (LSD) la finalidad de elegir el mejor tratamiento.

Si bien el proyecto se planteó buscar y obtener información sobre la germinación durante la ejecución, otros factores fueron tomando protagonismo, siendo esta depredación, pérdida, pudrición, parte de la situación. Finalmente, se realizó un análisis sobre los costos para la elaboración de 100 encapsulados para cada tratamiento por especie, para lograrlo primero se utilizó los costos totales de los la bioestimulantes, con los que obtuvo el costo de los 130 ml de la mezcla con cada tipo de hongo que se utilizan para producir los 100 encapsulados y con base a estos el costo de producción para una unidad. En el caso de la tierra proveniente del vivero y al suelo arcilloso se calculó el costo de 1 g a partir del costo total brindado por el encargado de este.

Para las semillas a pesar de ser donadas se obtuvo el costo total por kg para cada una de las especies siendo para *Tabebuia rosea* un valor de \$165, para *Gliricidia sepium* es de \$78 y con *Handroanthus impetiginosus* el valor es de \$105 [19, 20, 21], una vez con esos datos se calculó el valor por unidad. Por último, se obtuvo el valor total del tratamiento de micorrizas y trichodermas por unidad, para cada una de las especies. Para culminar con el valor total de cada uno de los tratamientos para los 100 encapsulados y para el total de encapsulados por ha, el tipo de cambio usado es \$1 que corresponde a ₡560,34 para el 24/1/2023 por el banco central de Costa Rica.

Resultados

La germinación de las repeticiones empezó al quinto día de realizados los encapsulados, sin embargo, se logra establecer en campo el día 21 de setiembre, razón por lo cual, (Figura 7) el día que se establecieron algunos ya había algunos germinados, también, se puede visualizar que la mayoría de los tratamientos presentan una curva de crecimiento similar hasta el 5 de octubre, no obstante, luego de esta fecha el comportamiento de los tratamientos tiende a disminuir o mantenerse. Exceptuado el caso de GS1, como se puede observar en el grafico B el comportamiento de este tratamiento tiende a descender conforme avanzaron los días.

En el caso de la especie *Gliricidia sepium* se pudo observar como el tratamiento con micorrizas, corresponde a GS3, es el que posee mayor cantidad de encapsulados germinados siendo estos 14 representando un 47%, mientras que el tratamiento que representa menor resultado es GS4 el cual corresponde a Trichodermas con un 33% de germinación acumulada a los 22 días.

En el caso contrario de *Gliricidia sepium*, las especies *Tabebuia rosea* y *Handroanthus impetiginosus*, presenta mayores resultados en el tratamiento con trichodermas, teniendo TR4 una germinación de 21 encapsulados lo cual corresponde a un 70%, mientras que HI4 tienen como resultado la geminación de 9 es decir un 30%. De igual forma para ambas especies el segundo tratamiento con mayores resultados es aquel que posee micorrizas teniendo como resultado la germinación de 14 encapsulados para TR que equivale a un 47% y 7 para HI correspondiente a un 23%. Mientras que el tratamiento con los menores resultados pertenece a TR1 y HI1 este tratamiento corresponde al testigo, que empleo semillas con el tratamiento pre germinativo.

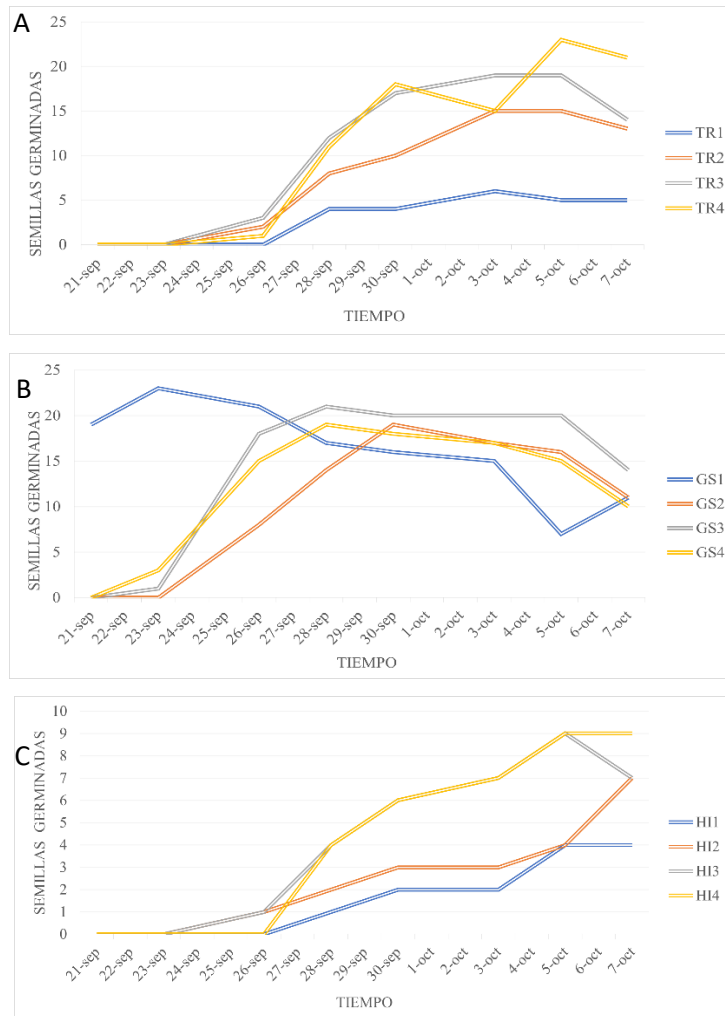


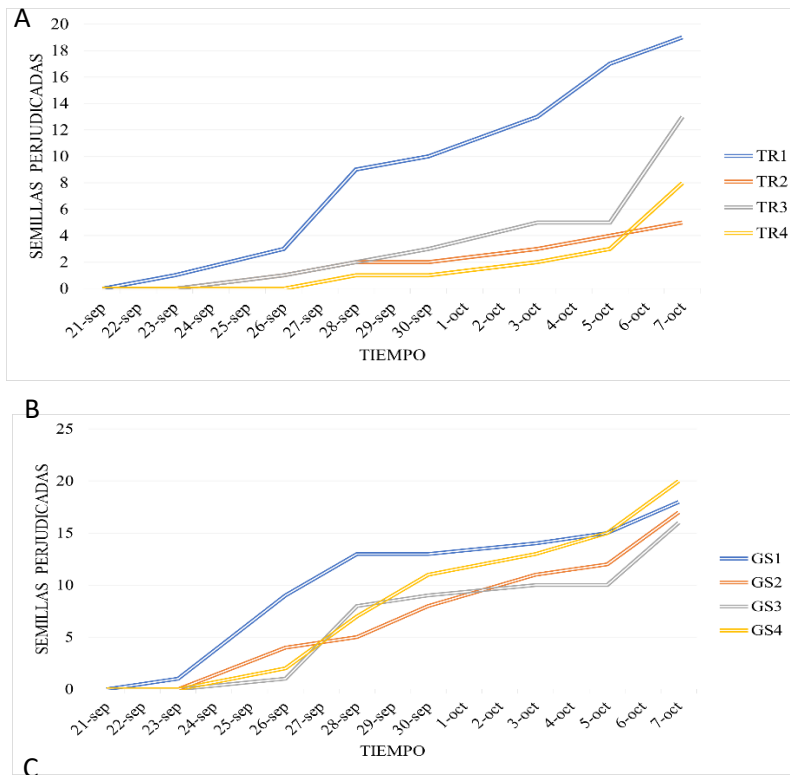
Figura 7. Germinación acumulativa de las semillas según el tratamiento donde el gráfico A se refiere a la especie *Tabebuia rosea*, el gráfico B es para la especie *Gliricidia sepium*, el gráfico C es para *Handroanthus impetiginosus*.

En el caso de prueba de normalidad de Shapiro-Wilk (Material complementario 4) se obtuvo que los datos presentan normalidad debido a que el valor de p es de 0,1021 mayor al $\alpha:0,05$. Sin embargo, a la hora de realizar la prueba de homogeneidad de varianza (Material complementario 5) se termina que hay homogeneidad en los tratamientos, pero no en las especies por lo que se ha sido utilizar el modelo lineal general, ya que, permite que el modelo se ajuste a los datos y no los datos a un modelo establecido.

Respecto al modelo lineal general (Material complementario 6) se obtuvo que el valor de p en el caso de las especies es 0.007898 y en el caso de interacción entre la especie y el tratamiento es de

0.006127, siendo ambos menores al α , lo que implica que presenta diferencias significativas. Por lo que, se procedió hacer la prueba Fisher's least significant difference (Material complementario 7,8 y 9) donde se obtuvo que las mejores especies fueron *Tabebuia rosea* y *Gliricidia sepium*, en el caso de los tratamientos, el que resulto mejor fue el de *Trichodermas sp*, mientras el más bajo fue el control, de acuerdo con lo anterior, también se determinó cual fue la mejor interacción se obtuvo en el tratamiento TR4 mientras que el que menor resultado que se obtuvo fue HI1 y TR1.

Respecto a la cantidad de semillas que sufrieron algún tipo de afectación eran mayores o iguales a la cantidad de semillas germinadas para la mayoría de las especies. Se puede resaltar que para el gráfico A y C (Figura 8), las especies que más adversidades sufrieron es el tratamiento donde se ubicaba solo la semilla y a la vez para estos mismos gráficos sobre la germinación (Figura 7) es el tratamiento que menor germinación posee. Mientras que para el gráfico B, el tratamiento con *Trichodermas spp* es el más alto en afectaciones y el más bajo en términos de germinación.



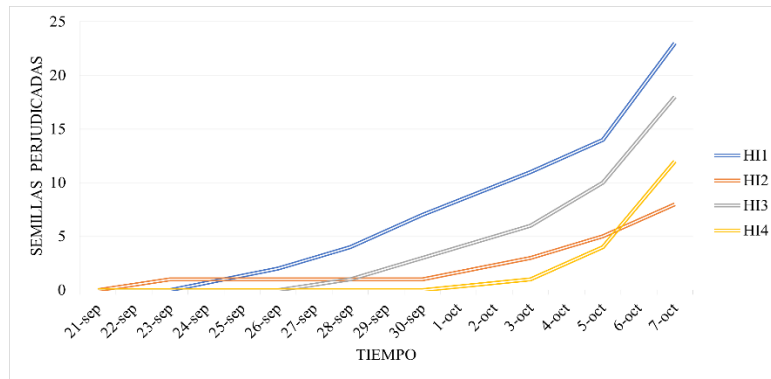


Figura 8. Afectaciones acumuladas producidas a las semillas donde el gráfico A se refiere a la especie *Tabebuia rosea*, el gráfico B es para la especie *Gliricidia sepium*, el gráfico C es para *Handroanthus impetiginosus*.

En el caso de especie *Tabebuia rosea* 38 semillas fueron depredadas y 6 semillas presentaban pudrición siendo para ambos el tratamiento 1 el más afectado, para *Gliricidia sepium* hubo 69 semillas depredadas, siendo el tratamiento 4 el que presentó mayores resultados, mientras que el tratamiento 2 fue el único que presentó una repetición con signos de pudrición y otra con daño físico. Finalmente, con *Handroanthus impetiginosus*, 34 repeticiones fueron depredadas y 27 se pudrieron siendo el tratamiento 1 el más afectado. En los casos de pudrición se podría determinar como posible agente causal el mal del talluelo o *Rhizoctonia spp.* en una condición pre-emergente, debido a que las semillas presentan una coloración negra en los cotiledones y en el embrión.

La depredación ocurrió una vez que la plántula se estableció en el suelo y se desintegró el encapsulado (Figura 9). Entre los depredadores identificados estaban *Atta cephalotes* *Odocoileus virginianus*, algunos representantes de la familia Grylloblattodea con afinidades dudosas en su identificación, conjuntamente no se pudieron identificar a los depredadores, debido que, los ataques ocurrían a distintas horas de la medición.



Figura 9. Seguimiento de la especie *Gliricidia sepium* en el tratamiento con micorrizas (GS3), desde su germinación hasta que sufrió depredación.

Respecto a los costos, se logró obtener el de cada uno de los materiales usados en la elaboración de los encapsulados (Cuadro 3), En el caso del Costo de los bio-estimulantes se elaboró 1g/ l de agua, aunque solo se utilizó 130 ml para mezclar con 300g del suelo arenoso para la elaboración de 100 encapsulados, el valor obtenido para TrichoFecunda corresponde a ₡9,23, mientras para VIGOR es de ₡3,146. Los valores anteriores se debieron al precio del producto, donde TrichoFecunda tiene un valor de ₡1 775,00 por 25 g, mientras, VIGOR tiene un valor de ₡6 050,00 por 250g.

Cuadro 3. Costo de los materiales para producir los encapsulados.

Unidad para medir	Costo (₡)	Costo (\$)
Costo del bio-estimulante		
TrichoFecunda (<i>Trichoderma spp</i>)		
Indicación	1g	71
Ensayo de 100 encapsulados	130 ml	9,23
Total de bio-estimulante/encapsulados		0,0923
VIGOR (<i>Glomus intraradices</i>)		
Indicación	1g	24,2
Ensayo de 100 encapsulados	130 ml	3,146
Total de bio-estimulante/encapsulados		0,0315
Costo tierra Vivero		
	1g	0,1
Costo Tierra Arcilla		
	1g	0,1
Costo por Semilla		
<i>Gliricidia sepium</i>	1 und	7,346
<i>Tabebuia rosea</i>	1 und	2,802
<i>Handroanthus impetiginosus</i>	1 und	10,659

En el caso de los costos totales de los tratamientos por especie (Cuadro 4), se puede observar que el tratamiento de mayor valor independientemente de la especie es el de trichodermas, no obstante, al considerar la especie se logra observar que la especie que posee mayor costo en todos los tratamientos es *Handroanthus impetiginosus*, esto debido al costo de la unidad de la semilla. Finalmente, se obtiene el costo por la elaboración de 100 encapsulados donde los tratamientos 3 y 4 obtuvieron valores entre los ₡383,32 y los ₡1 175,09. Añadiendo, se logró establecer la cantidad de encapsulados que se podrán establecer en una hectárea en un distanciamiento de 1x1m, donde el costo de producción para los tratamientos 3 y 4 estuvo entre los ₡9 652,00 y los ₡ 29 588,87 o los \$17,23 y los \$52,81. Además, se podrían sumar los ₡11.738,83 por jornada para un Peón Agrícola encargado de la elaboración de los encapsulados.

Cuadro 4. Costos totales de producción de tratamiento por especie.

Gliricidia sepium

Tratamientos	Cantidad	Costo (₡)	Costo (\$)	Cantidad	Costo (₡)	Costo (\$)	N°enc/ha	Costo encapsulado/ha (₡)	Costo encapsulado/ha (\$)
Trichodermas (4)	1	8,44	0,0151	100	843,79	1,506	2518	21 246,72	37,92
Micorrizas (3)	1	8,38	0,0150	100	837,71	1,495	2518	21 093,62	37,64
Arcillas (2)	1	8,35	0,0149	100	834,56	1,489	2518	21 014,31	37,50
Semillas (1)	1	7,35	0,0131	100	734,56	1,311	2518	18 496,31	33,01

Tabebuia rosea

Tratamientos	Cantidad	Costo (₡)	Costo (\$)	Cantidad	Costo (₡)	Costo (\$)	N°enc/ha	Costo encapsulado/ha (₡)	Costo encapsulado/ha (\$)
Trichodermas (4)	1	3,89	0,0069	100	389,40	0,695	2518	9 805,09	17,50
Micorrizas (3)	1	3,83	0,0068	100	383,32	0,684	2518	9 652,00	17,23
Arcillas (2)	1	3,80	0,0068	100	380,17	0,678	2518	9 572,68	17,08
Semillas (1)	1	2,80	0,0050	100	280,17	0,500	2518	7 054,68	12,59

Handroanthus impetiginosus

Tratamientos	Cantidad	Costo (₡)	Costo (\$)	Cantidad	Costo (₡)	Costo (\$)	N°enc/ha	Costo encapsulado/ha (₡)	Costo encapsulado/ha (\$)
Trichodermas (4)	1	11,75	0,0210	100	1 175,09	2,097	2518	29 588,87	52,81
Micorrizas (3)	1	11,69	0,0209	100	1 169,01	2,086	2518	29 435,78	52,53
Arcillas (2)	1	11,66	0,0208	100	1 165,86	2,081	2518	29 356,46	52,39
Semillas (1)	1	10,66	0,0190	100	1 065,86	1,902	2518	26 838,46	47,90

Discusión

La implementación de técnicas como el recubrimiento de semillas, podría minimizar esfuerzos en la restauración de sitios, por lo que la determinar la efectividad del proyecto es fundamental y es que a partir de la germinación se pudo visualizar con mayor facilidad. Con respecto a los tratamientos, el que presenta mejores resultados fue el de *Trichoderma*, esto se repite en investigaciones anteriores donde se expresa que aislados de *Trichoderma spp.* inducen la producción de sustancias reguladoras del crecimiento que incrementan la germinación y el desarrollo de las plantas [22, 23]. Finalmente, se debe considerar que en el caso de micorrizas buscan la asociación en la raíz, añadiéndole que para ocurra la colonización del hongo se necesita un tiempo prolongado.

En el caso de la diferencia de germinación entre las especies *Tabebuia rosea* la cual obtuvo un rango entre los distintos tratamientos de 16 -70%, para *Gliricidia sepium* el rango estuvo entre 33-46%, en comparación con *Handroanthus impetiginosus* donde el rango estaba entre 13-30%, lo anterior se podría deber a la viabilidad de las semillas, añadiéndole que en el caso de esta última especie es considerada como ortodoxa intermedia [24] debido a su sensibilidad al alto contenido de humedad y temperatura elevada durante el almacenamiento. Añadiéndole a lo anterior, la especie presenta una vida intermedia por lo que va perdiendo viabilidad con forme pasa el tiempo [25], sin embargo, se debe considerar que el encapsulado mantiene cierta humedad que podría acelerar la pérdida de viabilidad.

Pese a que, la viabilidad, el almacenamiento y las características de las semillas según las especies utilizadas juegan papeles fundamentales en la germinación e impacto de la técnica, pero se debe considerar otras razones relacionadas con el entorno. Un ejemplo de esto es; la participación de patógenos que pueden provocar la pudrición de algunas de las semillas, como del caso de *Handroanthus impetiginosus*, donde las posibles razones para explicar la presencia del hongo es el exceso de humedad o por contaminación del suelo, no obstante, algunos tratamientos con diferentes especies de *Trichoderma*. han permitido controlar y retrasar la aparición de los síntomas de la enfermedad [26], posible razón por la cual esta especie haya tenido mejores resultados respecto a germinación.

Otro factor fundamental para determinar el impacto de la técnica es la depredación, la cual es la única variable que no dejó de aumentar conforme avanzaba la toma de datos, lastimosamente a pesar de ser un dato importante, en la mayoría de estudios sobre esta técnica no se hace referencia a porcentajes o posibles depredadores, esto se puede deber a que esta técnica parte de la base donde el encapsulado es el que debe proteger a las semillas de los depredadores y las inclemencias del tiempo, sin usar pesticidas ni herbicidas [13, 27], sin embargo, en este proyecto la depredación para la mayoría de repeticiones ocurrió cuando la semilla había germinado.

Aun cuando se carece de información sobre la depredación para esta técnica, se puede comparar con otros estudios donde se han señalado una importante depredación de semillas después de su dispersión principalmente por hormigas. En vista de que el presente proyecto no se podría determinar el porcentaje exacto de repeticiones dañadas por hormigas, debido a que los ataques ocurrían cuando no se vigilaban las repeticiones, sin embargo, del 39,17% de semillas depredadas la mayoría presentaba evidencias de que el depredador eran hormigas (Material complementario 6), dato cercano a otros proyectos donde el valor de depredación por hormigas está entre 42-52% de un total de 110 semillas distribuidas [28].

Según el análisis anterior, respecto a la depredación efectuada por hormigas, se entiende que es una preocupación latente, ya que, peligra el banco de semillas existente, el material genético y la regeneración natural, añadiéndole, la afectación que implica la realización de dicha técnica, tanto en recursos humano y biológico. Sin embargo, es importante entender que los efectos de depredación y mortalidad van a estar presentes independientemente de la técnica utilizada para restaurar, debido a que las interacciones ecológicas son claves para recuperar la biodiversidad de ecosistemas degradados [29].

También, se debe de medir el grado de intervención humana gestora de implementar estos proyectos, ya que, si se busca trabajar en procesos de restauración pasiva las condiciones estarían sujetas, como eje principal en la restauración de un área expuesta a perturbaciones donde el mismo ecosistema será el encargado de permitir que los procesos de colonización y sucesión restauren la biodiversidad y la estructura del ecosistema [10]. Lo cual resulta ventajoso cuando los gestores de este tipo de proyecto disponen de recursos financieros limitados.

Es necesario considerar los aspectos monetarios, debido a que, la mayoría de los proyectos de restauración se ejercen a partir de un financiamiento. Razón por la cual, implementar técnicas que

permitan la reducción costos y buenos resultados permitirían aumentar la cantidad de proyectos. En el caso particular de este proyecto se debe considerar el costo de producción con base a la efectividad obtenida a partir de la germinación, cuyo valor corresponde a un 49,17% de la totalidad de repeticiones establecidas, dato similar a otros proyectos donde el porcentaje varía entre 9-56% [8]. Analizando ambas partes se podría considerar que la técnica es rentable por supuesto considerando aspectos como la viabilidad y depredación, aspectos que podrían afectar a individuos obtenidos a partir de métodos tradicionales, donde el costo por individuo podría ser \$6 debido a que incluyen el mantenimiento y cuidado el individuo en la etapa de vivero.

Realizando la comparativa de los costos operativos y de producción, se puede terminar que hay un diferencia de precios, sin embargo, se debe comparar otros factores como el tiempo empleado para trasladar y posicionar los mismo 100 individuos; es decir, 100 encapsulados tienen un peso de 1Kg mientras que en una sola bolsa mediana donde se encuentra un árbol podría pesar entre 1 y 1,5 kg aproximadamente, por lo llegar a trasplantar una gran cantidad de individuos de este el último tomaría un mayor tiempo y recurso.

Añadiendo, que en temas de restauración los resultados dependen del tiempo y de la probabilidad, esto debido, a que no hay garantía de que todos los individuos se lleguen a establecer, puesto que pueden ceder ante alguna perturbación, depredación o inundación. Por lo que la mayoría de los planes de restauración se definen para un largo periodo de tiempo, para ilustrar en Costa Rica el Refugio Nacional de Vida Silvestre Caño Negro se han reportado un costo de restauración de \$842 329 para la recuperación 906.5 ha que ese vio afectada por incendios en el 2003 dentro de 42 y 47 años [30].

Mientras, en el caso del Parque Nacional Palo Verde en el 2004 se vieron afectadas un total de 448.46 hectáreas de un fuego proveniente de fines agrícolas, para la restauración de estas hectáreas se plantea gastar \$823 626 dentro de un periodo de 32,7 años [30]. En todo caso, se puede observar como la mayoría de los proyectos de restauración los presupuestos tienden a ser elevados, por lo que implementar nuevas técnicas podrían recortar costos, lo cual permitiría que el dinero se destine a tareas complementarias.

Conclusiones

En definitiva, se logra determinar que técnicas como el recubrimiento de semillas en áreas como el sector de Tortuguilla en EEFH son funcionales y económicas, ya que, no quiere mayores requerimientos. Sin embargo, se debe considerar otros aspectos como la viabilidad, la depredación, la competencia principalmente si se desea tener una mayor intervención respecto a los resultados de una restauración utilizando esta herramienta.

Con respecto a los costos, se puede considerar que estos son considerablemente aptos comparándolo con otras propuestas de restauración y con la efectividad de la técnica. Por otro lado, los costos provenientes principalmente de los productos TrichoFecunda y VIGOR fueron los que obtuvieron mayor costo para cada una de las especies, no obstante, es una técnica que brinda oportunidad de restauración de una forma accesible.

Recomendaciones

Se podría considerar la implementación de otras especies pioneras específicamente si se realiza en esta zona del país, además de establecer ciertas estrategias para disminuir la probabilidad de que los encapsulados sean depredados, podría considerar incluso que en la zona donde se realice el encapsulado no tenga cobertura de gramíneas, definitivamente el tiempo de estudio debe ser mucho más grande para tener un mejor panorama el establecimiento de las plántulas y establecer más áreas de estudio, para incrementar la cantidad de individuos.

De igual forma se podría investigar en cuáles otras condiciones climáticas funciona esta técnica, además de que se puede probar diferentes métodos de dispersión, implementando vehículos aéreos no tripulados con algún tipo de geolocalización para poder darles un monitoreo adecuado a cada uno de los encapsulados.

Agradecimientos

Por este medio le agradezco al M.Sc Luis Diego Jiménez encargado del Banco de Semillas Forestales del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) que me colaboró con la obtención de las semillas utilizadas en el proyecto. Al Ing. David Reyes Cordero por brindarme un espacio en la Estación Experimental Forestal Horizontes para realizar el proyecto y as todo el equipo que trabaja en la estación por transmitirme sus conocimientos y por la ayuda brindada en el establecimiento y seguimiento del proyecto. Al M.Sc. Jason Pérez Chavez miembro

del Centro de Investigación en Biotecnología (CIB) por la ayuda brindada en el análisis estadístico de este proyecto.

Referencias

- [1] J. C. Calvo Alvarado, B. Mclellan, G. Sanchez Azofeifa y T. Garvin, «Deforestation and forest restoration in Guanacaste, Costa Rica: Putting conservation policies in context,» *Forest Ecology and Management*, vol. 258, n° 6, pp. 931-940, 2009.
- [2] Á. Arenas y B. Pérez Galán, «NATURALEZA, CONSERVACIÓN E IDENTIDAD VERDE EN COSTA RICA,» *Antropología Experimental*, vol. 19, n° 27, pp. 313-330, 2020.
- [3] A. Sánchez Azofeifa, J. Calvo Alvarado, M. . M. do Espírito Santo, G. . W. Fernandes, J. S. Powers y M. Quesada, *Tropical Dry Forests in the Americas: The Tropi-Dry Endeavor*, 2013.
- [4] C. Portillo Quintero , A. Sanchez Azofeifa, J. Calvo Alvarado, M. Quesada y M. . M. do Espirito Santo, «The role of tropical dry forests for biodiversity, carbon and water conservation in the neotropics: lessons learned and opportunities for its sustainable management,» *Springer*, vol. 15, pp. 1039-1049, 2015.
- [5] L. G. Acosta Vargas, «Population status of the tree *Sacoglottis holdridgei* (Humiriaceae) at Isla del Coco National Park, Costa Rica.,» *Revista de Biología Tropical/International Journal of Tropical Biology and Conservation*, vol. 64, n° 1, pp. 263-275, 2016.
- [6] L. G. Acosta Vargas, A. E. Rovere y J. Camacho Sandoval, «Effectiveness of two treatments to promote tree regeneration: implications for forest restoration in the Isla del Coco National Park, Costa Rica,» *Revista De Biología Tropical*, vol. 68, n° 1, pp. 103-114, 2020.
- [7] S. Pedrini, D. J. Merritt , J. Stevens y . K. Dixon, «Seed Coating: Science or Marketing Spin?,» *Trends Plant Sci*, vol. 22, n° 2, pp. 106-116, 2017.
- [8] A. M. Juarez Chunga , «RESTAURACIÓN DE BOSQUE SECO CON LA APLICACIÓN DE LA TÉCNICA FUKUOKA EN LOS CASERIOS ALITA Y LA PEÑA DEL DISTRITO DE SALAS,» Tesis, UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO, PEDRO RUIZ GALLO, 2017.
- [9] D. Valle Hidalgo, «Avifauna del Corredor Biológico Interurbano Río Torres Reserva de la Biosfera: estrategia basada en la naturaleza para traer la calidad del bosque a la ciudad.,» *Ambientico*, n° 280, pp. 33-41, 2021.

- [10] D. Lamb y D. A. Gilmour, *Rehabilitation and Restoration of Degraded Forests*, Gland, Suiza: IUCN y WWF, 2003.
- [11] E. J. Reyes Martínez, *Composición y riqueza de la fauna reptiles (Squamata) presente en la Estación Experimental Forestal Horizontes, Guanacaste, en el periodo de septiembre a diciembre 2017, por medio de observación directa.*, Tesis. Universidad Técnica Nacional, 2017.
- [12] Instituto de innovación y transferencia en tecnología agropecuaria (INTA), «SUELOS DE COSTA RICA ORDEN ENTISOL Boletín técnico 2,» Departamento de Transferencia e Información Tecnológica-INTA., San José, Costa Rica, 2015.
- [13] L. P. Robinson , D. G. Zavarize y I. C. Menezes Martins, «APPLYING NENDO DANGO TECHNIQUE FOR GERMINATION AND PRE-ESTABLISHMENT OF NATIVE SPECIES ON DEFORESTED AREAS,» *Agricultura y silvicultura.*, vol. 64, n° 2, pp. 33-42, 2018.
- [14] N. A. Arce Gálvez, «Efecto de Fertilización Orgánica y Química sobre los Patrones de Mango (*Mangifera Indica* L) Bajo Condiciones de Vivero, para su Posterior Establecimiento en Zona de Montaña De Tuluá Valle Del Cauca,» Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD, 2021.
- [15] G. Vasquez Altamirano , «“INFLUENCIA DE HONGOS MICORRIZALES, EN EL CRECIMIENTO INICIAL DE *Cedrelinga catenaeformis* Ducke, *Swietenia macrophylla* King, *Guazuma crinita* Martius - RÍO NEGRO - SATIPO”,» NIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO DEL PERÚ, Perú, 2014.
- [16] C. p. e. D. d. A. Orgánicas, «CoopeTarrazú R.L.,» febrero 2019. [En línea]. Available: <https://www.coopetarrazu.com/wp-content/uploads/2019/02/TRICHOFECONDA-EN-POLVO-Cedao-info.pdf>.
- [17] J. A. Sánchez, M. Pernús y J. Martínez, «Tratamientos de semillas para mejorar la germinación de *Guazuma ulmifolia* bajo estrés hídrico y calórico: comparación entre árboles tropicales pioneros,» *Revista del Jardín Botánico Nacional*, vol. 41, pp. 93-108 , 2020.
- [18] E. I. Sánchez-Bernal, H. M. Ortega-Escobar, E. N. Muñoz-Hernández, Á. Can-Chulim, V. Ortega-Barand y J. Ochoa-Somuano, «Crecimiento de plántulas de *Tabebuia rosea* y *Gliricidia sepium* en condiciones de salinidad clorhídrica,» *Terra Latinoam*, vol. 39, n° 2, 2020.
- [19] Banco de Semillas Forestales-CATIE, «*Handroanthus* (= *Tabebuia*) *impetiginosa*,» BSF-CATIE, [En línea]. Available: <http://bsf.catie.ac.cr/listing/cortez-negro-handroanthus-tabebuia-impetiginosa-2759909216.html?lang=en>.

- [20] Banco de Semillas Forestales-CATIE, «Roble de sabana (Tabebuia rosea),» BSF-CATIE, [En línea]. Available: <http://bsf.catie.ac.cr/listing/roble-de-sabana-tabebuia-rosea-4062104433.html?lang=es>.
- [21] Banco de Semillas Forestales-CATIE, «Madero negro (Gliricidia sepium),» BSF-CATIE, [En línea]. Available: <http://bsf.catie.ac.cr/listing/madero-negro-gliricidia-sepium-65252027.html>.
- [22] R. Cupull Santana , Y. Delgado Pérez, M. d. C. Cupull Santana y C. A. Rodríguez, «Efecto de dos biopreparados y micorriza en la estimulación de la germinación, el control de Rhizoctonia solani y el desarrollo de posturas de Coffea arabica L.,» *Centro Agrícola*, vol. 30, n° 2, pp. 9-13, 2003.
- [23] F. G. Serbelló Guzmán, . J. R. Mesa Reynaldo y R. Soto Ortiz, «Efecto de diferentes alternativas biológicas, sobre el porcentaje y velocidad de germinación de las semillas de fruta bomba (Carica papaya L.),» *Agroecosistemas*, vol. 2, n° 1, pp. 247-253, 2014.
- [24] V. A. Pastrana Igenes, *ÁRBOLES NATIVOS DE IMPORTANCIA FORESTAL DE LA PROVINCIA DE SALTA: GERMINACIÓN Y CONSERVACIÓN EX SITU*, Buenos Aires, Argentina: Universidad Nacional de La Plata, 2020.
- [25] E. Duarte, E. Avico, P. Sansberro y C. Luna, «EFECTO DE LA TESTA SOBRE LA GERMINACIÓN DESEMILLAS DE Handroanthus heptaphyllus TRASDISTINTOS TIEMPOS DE ALMACENAMIENTO.,» *Ciencias Agronomicas*, vol. 14, n° 24, pp. 29-35, 2014.
- [26] M. A. Boat Bedine, M. Lambert Sameza, B. Lacomí y S. Tchameni Nguemezi, «Screening, identification and evaluation of Trichoderma spp. for biocontrol potential of common bean damping-off pathogens,» *Biocontrol Science and Technology*, vol. 30, n° 3, pp. 228-242 , 2020.
- [27] F. Dutra, L. d. Almeida, D. Dona, I. Piotrowski, J. d. Silva, D. Sabonaro, V. d. Santos, M. Chaud, A. d. Silva y F. Piña Rodrigues, «ASSESSING THE PERFORMANCE OF TROPICAL FOREST SEEDS ENCAPSULATED WITH GELS FROM VITIS VINIFERA AND SODIUM ALGINATE FOR DIRECT SEEDING,» *Journal of Tropical Forest Science*, vol. 31, n° 1, pp. 37-50, 2023.
- [28] J. Ibáñez y P. J. Soriano, «HORMIGAS, AVES Y ROEDORES COMO DEPREDADORES DE SEMILLAS EN UN ECOSISTEMA SEMIÁRIDO ANDINO DE VENEZUELA,» *ECOTROPICOS*, vol. 17, n° 1, pp. 38-51, 2004.
- [29] D. García Callejas y A. Torres, «Restauración de interacciones ecológicas: medidas y consecuencias a escala de comunidad,» *Ecosistemas*, vol. 28, n° 2, pp. 42-49, 2019.

[30] E. E. Vega Araya, «Evaluación Económica del daño ambiental causado por los incendios forestales en Costa Rica,» Centro de Integración de Economía y Ecología, 2004.

Materiales complementarios

Material complementario 4. Análisis de normalidad de los datos Shapiro-Wilk.

Variable	n	Media	Desv. Esd	W	P-value
RDUO Germinación	56	0	1,76	0,95	0,1021

Material complementario 5. homogeneidad de las varianzas.

	Df	F value	Pr(>F)
Especie	2	3.8136	0.02835 *
Tratamiento	3	0.7321	0.5376

Material complementario 6. Análisis de modelo lineal genera donde el $\alpha:0,05$.

Variable	Df	Deviance	Resid. Df	Resid. Dev	Pr(>Chi)
Especie	2	9.6823	53	88.332	0.007898 **
Tratamiento	3	6.1290	52	92.555	0.141101
Especie x Tratamiento	6	10.3566	44	71.846	0.006127 **
NULL			55	98.01	

Material complementario 7. Prueba Fisher's least significant difference (LSD) respecto a las interacciones.

Interacción	Germinación	Grupos
TR/Trichodermas	5.25	a
GS/Micorrizas	2.80	b
TR/Micorrizas	2.80	b
GS/Arcilla	2.75	bc
GS/Control	2.75	bc
TR/Arcilla	2.60	bcd
GS/Trichodermas	2.00	bcd

HI/Trichodermas	1.80	bcd
HI/Arcilla	1.40	bcd
HI/Micorrizas	1.40	bcd
HI/Control	1.00	cd
TR/Control	1.00	d

Material complementario 8. Prueba Fisher's least significant difference (LSD) para determinar cuál especie presenta mejor resultado.

Especies	Germinación	Grupos
<i>Tabebuia rosea</i> (TR)	2.789474	a
<i>Gliricidia sepium</i> (GS)	2.555556	a
<i>Handroanthus impetiginosus</i> (HI)	1.421053	b

Material complementario 9. Prueba Fisher's least significant difference (LSD) para determinar que tratamiento presenta mejor resultado.

Tratamientos	Germinación	Grupos
Trichodermas	2.857143	a
Micorrizas	2.333333	ab
Arcilla	2.214286	ab
Control	1.538462	b

Material complementario 10. Evidencia sobre el ataque de hormigas.

