



Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria
URUGUAY



Jornada Técnica de Protección Forestal

Noviembre, 2010
SERIE DE
ACTIVIDADES
DE DIFUSIÓN

629



INIA Tacuarembó

Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

Integración de la Junta Directiva

Ing. Agr., MSc. Enzo Benech - Presidente

Ing. Agr., Dr. Mario García - Vicepresidente



Ing. Agr. José Bonica

Dr. Alvaro Bentancur



Ing. Agr., MSc. Rodolfo M. Irigoyen

Ing. Agr. Mario Costa





Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria
U R U G U A Y

INIA Tacuarembó – Programa Forestal

Instituciones participantes:



Jornada Técnica en

"PROTECCION VEGETAL"

INIA Las Brujas

18 de noviembre de 2010

TABLA DE CONTENIDO

	Página
- CONTROL DE MALEZAS EN <i>Eucalyptus</i> spp.	1
<i>Juan Villalba – Dpto. Protección Vegetal. Facultad de Agronomía</i>	
- INSECTOS PLAGA EN PLANTACIONES JÓVENES DE EUCALIPTO: HACIA UN MODELO.....	9
<i>Gonzalo Martínez .Programa Forestal - INIA Tacuarembó</i>	
- CONTROL BIOLÓGICO DEL <i>Gonipterus scutellatus</i> por <i>Anaphes nitens</i> en Uruguay	25
<i>Alejandro Gómez, Pilar Savornin y Laura Amaral. I+D Montes del Plata</i>	
- EVALUACIÓN DE <i>Trichoderma harzianum</i> COMO AGENTE BIOPROMOTOR Y DE BIOCONTROL EN PLANTINES DE <i>Eucalyptus dunnii</i> Maiden.....	33
<i>Carlos Rossi, Graciela Romero. Facultad de Agronomía</i>	
- <i>Bacillus subtilis</i> COMO AGENTE BIOLÓGICO DEL PATÓGENO DE PINOS <i>Fusarium circinatum</i>	37
<i>Silvina Soria, Raquel Alonso & Lina Bettucci. Laboratorio de Micología – Facultad de Ciencias – ... Facultad de Ingeniería</i>	
- RELEVAMIENTO SANITARIO DE <i>Eucalyptus</i> spp. EN EL SURESTE Y LITORAL OESTE DEL PAÍS	41
<i>Sofía Simeto, Gustavo Balmelli, Gonzalo Martínez, Diego Torres, P. González – INIA. Darío Fros Oscar Bentancur, Carlos A. Pérez – Facultad de Agronomía</i>	
- EFECTO DE LA FERTILIZACIÓN FOLIAR EN <i>Eucalyptus globulus</i>	53
<i>Juan Mac Gregor. Sierras Calmas</i>	
- RESISTENCIA GENÉTICA A LAS ENFERMEDADES: DE LA UTOPIA A LA REALIDAD	57
<i>Carlos A. Pérez, Oscar Bentancur y Darío Fros – Facultad de Agronomía; Sofía Simeto y Nora Altier – INIA</i>	
- AVANCES Y POTENCIALIDADES DE LA BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR EN LA SANIDAD FORESTAL.....	67
<i>Diego Torres-Dini. INIA</i>	

CONTROL DE MALEZAS EN *Eucalyptus* spp.

Juana Villalba¹.

La eliminación de la competencia de malezas en el cultivo de *Eucalyptus* es determinante en la sobrevivencia de la plantación; según Sánchez (1997) el 75 a 90% de la mortalidad potencial puede ser explicada por la intensidad del control de malezas. La mayor sensibilidad a la competencia ocurre en las etapas iniciales del establecimiento de la plantación (Pitelli y Marchi, 1991).

Según Vera y Larocca (2004), el control de malezas además de la sobrevivencia mejora el crecimiento y la homogeneidad de la plantación de *Eucalyptus grandis*, al reducir la competencia por agua, nutrientes y luz, especialmente durante los primeros 12 meses.

La problemática de malezas o el nivel de infestación inicial en una plantación forestal depende de la historia del sitio, del banco de semilla de suelo, de las especies presentes y de las condiciones post- plantación. En los sitios con historia agrícola las especies de malezas que se establecen son de elevada agresividad, con gran producción de semillas y alta competitividad y en muchos casos se asocia a situaciones de elevados engramillamientos.

Por otra parte, en sitios provenientes de campo natural sin disturbios previos, en general las especies predominantes son gramíneas nativas, de baja agresividad, donde incluso se cuestiona el uso de glifosato previo a la plantación aplicado en área total, porque el disturbio provoca cambios de flora, y pasan a predominar especies ruderales de mayor agresividad.

En las plantaciones correspondientes a segundo turno el enmalezamiento es determinado por el banco de semillas de suelo y es frecuente la presencia de especies arbustivas.

El control químico de malezas en las plantaciones forestales ha desplazado rápidamente otros tipos de controles, ya que su versatilidad le permite adecuarse a diferentes situaciones y a diferentes problemas de malezas y casi siempre a un menor costo efectivo (Kogan, 1992).

En Uruguay, actualmente el control de malezas se realiza con herbicidas premergentes en el surco de plantación en preplantación o en el periodo inmediato a la plantación de los árboles. Los herbicidas premergentes, son ampliamente utilizados, y se busca un amplio periodo de residualidad en el control, alta selectividad en la especie cultivada y un amplio espectro de control para las malezas más frecuentes.

Luego de instalada la plantación, el herbicida más usado es glifosato, en aplicaciones dirigidas, su uso implica el uso de pantalla protectora, boquillas antideriva y la realización de la aplicación en condiciones de ausencia de viento (Dalla Tea y Larocca, 1998).

Esta práctica además de costosa por los elevados costos de mano de obra necesaria para la operativa, puede implicar daños a la plantación por efecto de deriva (Tuffi Santos et al., 2008; Tuffi Santos, 2006; Tuffi Santos, 2007; Durigan, 1989). La deriva que puede ocurrir durante la aplicación o el mojado de algunas hojas en forma accidental, pueden causar fitotoxicidad, quemado del follaje y pérdidas de árboles; dada la excelente translocación del herbicida desde la hoja hacia los puntos de crecimiento (Tuffi Santos et al., 2008; Duke y Powles, 2008). A esto se debe adicionar que el uso repetido de glifosato, puede ocasionar cambios en las poblaciones de malezas, las que pueden generar resistencia al herbicida. (Duke y Powles, 2008).

La dependencia del uso de herbicidas premergentes está basada en las respuestas encontradas a la intensidad de control y a la duración de este, por tanto es fundamental contar con un herbicida de elevada

¹ Depto. Protección Vegetal – Facultad de Agronomía

residualidad, ya que no existe el efecto de complemento por parte del cultivo, visto que dependiendo del material genético, densidad y manejo, para nuestras condiciones el cierre de copa, recién ocurre a los 18 meses, aproximadamente.

En Facultad de Agronomía se han establecido en los últimos años varios experimentos de forma de dar respuesta a algunas problemáticas del control de malezas en los sistemas forestales. Los mismos fueron llevados adelante como tesis de grado de la Facultad y con el apoyo de la empresa Forestal Oriental S.A.

El efecto de la competencia de malezas en el crecimiento de *Eucalyptus* spp. en plantaciones de Uruguay.

El efecto del control de malezas en el crecimiento y la homogeneidad de la plantación es muy variable según las condiciones del año, la época de plantación y la competencia efectiva que realizan las malezas. En 2 experimentos diferentes^a, uno en plantación de primavera (2008) y otro en plantación de otoño (2009), se constataron efectos del control bien diferentes. En el primer caso, a los 65 días post- aplicación de los tratamientos premergentes: Oxerb 1 L.ha⁻¹ + Chana 2 L.ha⁻¹ y de Fordor 200 g.ha⁻¹ (Figura 1), el control de las malezas determinó aproximadamente un 50% más de crecimiento en los árboles. Mientras que en la plantación de otoño a los 91 días post- aplicación no hubo respuesta al uso de herbicidas. En la plantación de primavera la cobertura de malezas en el testigo era de 52%, mientras que en la plantación de otoño el testigo alcanzaba una cobertura de 66% de malezas.

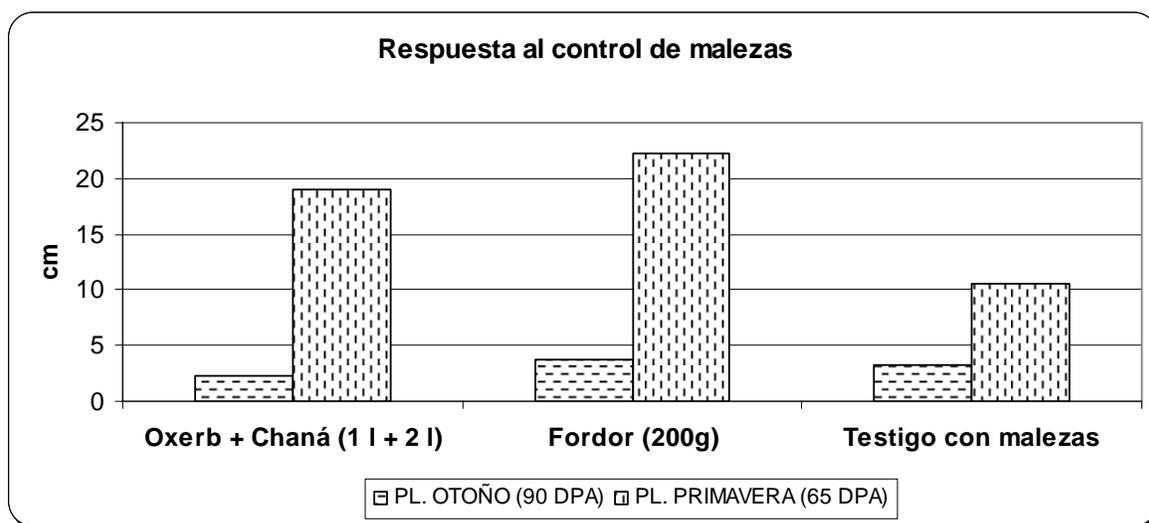


Figura 1. Incremento de altura (cm) desde la plantación al momento de evaluación 90 días para el caso de plantación de otoño y 65 días para la plantación de primavera.

En la plantación de otoño aún con porcentajes de control de malezas de 80%, no existió respuesta, parte explicado por el poco crecimiento estacional del árbol y también por la baja competitividad de las malezas presentes, mayoritariamente *Oxalis* spp y especies de la familia de las Liliáceas. Pero cabe destacar que el efecto del control inicial de malezas se manifestó en la evaluación de los 160 días post- aplicación (Figura 2),

^a Tesis de grado de Facultad de Agronomía.

1. Cazaban, J.; Montouto, J.C. 2009. Efecto del laboreo en la eficiencia de herbicidas premergentes y en el crecimiento de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus globulus*.

2. Assanelli- Godiño, 2010. Alternativas de uso de herbicidas premergentes en *Eucalyptus dunnii* en plantación de otoño

donde el testigo sucio presentó una disminución de aproximadamente 40% en la altura, comparada a los dos tratamientos herbicidas mencionados, esta variación se mantuvo hasta los 8 meses de aplicación.

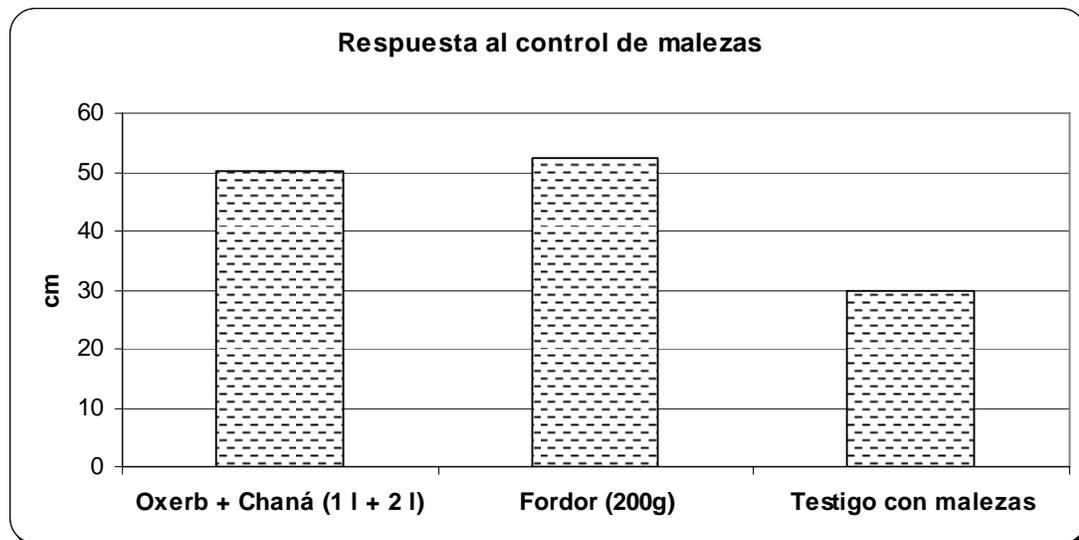


Figura 2. Incremento de la altura (cm) desde la aplicación a los 160 días en la plantación de otoño.

Efecto de la intensidad del laboreo en la eficiencia de herbicidas preemergentes

Con el objetivo de evaluar el efecto de la intensidad del laboreo sobre la eficacia de herbicidas preemergentes y el crecimiento de *Eucalyptus* spp. se estableció un experimento^b con 3 intensidades de laboreo: a) laboreo primario con una pasada de excéntrica (23/08/08); b) laboreo secundario consistente en dos pasadas de excéntrica, la última con una rastra (23 y 27/08/08) y c) laboreo secundario + acamellonado como laboreo terciario (23/08, 27/08 y 05/09/2008) (Figura 3).

^b Tesis de grado Facultad de Agronomía: Cazaban, J.; Montouto, J.C. 2009. Efecto del laboreo en la eficiencia de herbicidas preemergentes y en el crecimiento de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus globulus*.



Figura 3. Tres intensidades de laboreo a) laboreo primario: 23/08; b) laboreo secundario (23 y 27/08) y c) laboreo terciario (23/08, 27/08 y 05/09).

La intensidad del laboreo no determinó eficiencias diferenciales en la efectividad de los herbicidas preemergentes evaluados, en el Cuadro 1 se presentan los datos para los tratamientos herbicidas: Oxerb 1 L.ha⁻¹ + Chana 2 L.ha⁻¹ y Fordor 200g.ha⁻¹. Los porcentajes de cobertura total de malezas a los 15 y a los 30 días post- aplicación (DPA) no fueron estadísticamente diferentes (P=0.62).

Cuadro 1. Cobertura total de malezas (%) a los 15 y a los 30 días post- aplicación

		Oxerb + Chana	Fordor
Laboreo primario		2.7	2.1
Laboreo secundario	15 DPA	1.1	1.0
Laboreo secundario + acamellonado		0.7	0.4
Laboreo primario		7.1	7.0
Laboreo secundario	30 DPA	6.4	3.5
Laboreo secundario + acamellonado		3.8	3.4

La eficiencia de los herbicidas preemergentes no interaccionó con el laboreo en el parámetro de malezas totales. Los tratamientos correspondientes a los herbicidas Fordor y la mezcla Oxerb+ Chana fueron los de mejor comportamiento en el control de malezas presentes en el experimento.

El grado de afinamiento del suelo logrado con los distintos laboreos no determinó efectos en la humedad del suelo, sí, ocasionó un menor enmalezamiento al momento de la plantación. Por parte, el laboreo más intenso generó menor resistencia a la penetración, efecto este que se expresa en el largo plazo en el crecimiento de los árboles, pero no pudo ser cuantificado.

Aplicaciones repetidas de herbicidas premergentes

La necesidad de disminuir las aplicaciones post- plantación con glifosato, por los problemas de deriva, ha llevado al uso de herbicidas premergentes en aplicaciones repetidas. Con esta finalidad fue conducido un experimento para evaluar el efecto de los herbicidas premergentes en aplicaciones únicas y repetidas, en el control de malezas y en la selectividad para una plantación de otoño de *Eucalyptus dunnii*.

Los tratamientos evaluados fueron Oxerb (1 L.ha⁻¹) + Chana (2 L.ha⁻¹) y Fordor a la dosis de 200 y 300 g.ha⁻¹. La primera aplicación fue realizada el 20/05/09 y la segunda aplicación, en los tratamientos con aplicaciones repetidas, fue realizada el 12/09/09.

El argumento para que la segunda aplicación de los herbicidas premergentes se realizara recién a los 112 días posteriores a la primera aplicación fueron las bajas emergencias de malezas en el otoño, consecuencia de la escasez de lluvias (Figura 4).

Si bien se conoce que la aplicación de los premergentes debe ser realizada sin presencia de malezas, ya que estos herbicidas solo actúan durante la germinación de ellas o inmediatamente después de la emergencia, no controlando las malezas ya nacidas (Kogan y Pérez, 2003), en el caso de las plantaciones forestales se trata de realizar esta segunda aplicación en el momento que permita capitalizar el mayor tiempo de residualidad posible de la primera aplicación y sin afectar el crecimiento de los árboles. En este experimento, al momento de la segunda aplicación de los premergentes los tratamientos tenían en promedio de 2 a 13% de cobertura de malezas, predominando especies como *Oxalis* spp y de la familia de las Liliáceas y escasas gramíneas.



Figura 4. Tratamiento Oxerb+ Chana a los 57 días de aplicación (Assanelli y Godiño, 2010)

Hasta el momento de la segunda aplicación no se había evaluado efecto del control de malezas, pero a los 160 días de la primera aplicación y 48 días posteriores a la segunda aplicación (tratamientos 4, 5 y 6), sí se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Los tratamientos herbicidas presentaron un 59 % de incremento superior con respecto al testigo enmalezado (Cuadro 2).

Cuadro 2. Evaluaciones de incremento de altura desde la primera aplicación a los 160 dpa y cobertura de malezas a esa fecha

HERBICIDAS (nombre comercial y dosis en PC)	Incrementos de Altura (cm)	Cobertura malezas (%)
1* Oxerb + Chaná (1 l + 2 l)	50.23 a	3.66 c
2 Fordor (200 g)	52.33 a	41.00 b
3 Fordor (300 g)	54.00 a	5.33 c
4 Oxerb + Chaná (1 l + 2 l) Oxerb + Chaná (1 l + 2 l)	44.90 a	9.00 c
5 Fordor (200 g) + Fordor (200 g)	47.46 a	12.33 c
6 Fordor (300 g) + Fordor (300 g)	50.36 a	21.00 c
Testigo con malezas	29.76 b	100.00 a

* 20/05 aplicación de tratamientos 1, 2, 3, 4, 5 y 6; 12/09 segunda aplicación de tratamientos 4, 5 y 6

La aplicación única de Fordor en la dosis de 200 g (12/05/2009) fue insuficiente para el control de malezas (41% cobertura de malezas) lo que justificó una segunda aplicación, mientras que el mismo herbicida para la dosis de 300 g no presentó diferencias significativas entre la aplicación única y la doble.

En la evaluación de los 8 meses, los resultados de los incrementos de la altura de los árboles evidenciaron el efecto diferencial de la competencia que recibieron los distintos tratamientos (Cuadro 4).

Cuadro 4. Evaluaciones de incremento de altura desde la primera aplicación a los 236 dpa y cobertura de malezas a esa fecha

HERBICIDAS (nombre comercial y dosis en PC)	Incremento en Altura (cm)	Cobertura malezas (%)
Oxerb + Chaná (1 l + 2 l)	155.60 bc	48.33 c
Fordor (200 g)	151.40 c	67.00 bc
Fordor (300 g)	184.20 a	66.33 bc
Oxerb + Chaná (1 l + 2 l)+Oxerb + Chaná (1 l + 2 l)	142.70 c	59.66 bc
Fordor (200 g) + Fordor (200 g)	178.07 ab	66.66 bc
Fordor (300 g) + Fordor (300 g)	165.73 abc	76.33 b
Testigo con malezas	94.86 d	100.00 a

Según los resultados obtenidos hasta los 8 meses, las aplicaciones dobles no determinaron diferencias destacadas que justificaran dichos tratamientos en el control de malezas (Cuadro 4), excepto para el tratamiento de Fordor 200 g.

Estos efectos deben ser relativizados a la particularidad del año, ya que en el primer mes luego de la segunda aplicación llovieron 92 mm, lo que pudo lixiviar el herbicida y por ello la falta de respuesta entre las aplicaciones únicas y repetidas.

Consideraciones

La respuesta al control de malezas en crecimiento de *Eucalyptus* spp, en nuestras condiciones, presentó variaciones según la época de plantación, pero el aumento de altura fue de 40% a los 8 meses.

La efectividad de herbicidas premergentes, muy mencionada como dependiente de las condiciones de preparación del suelo, en las condiciones del ensayo no fue afectada por la intensidad del laboreo.

La doble aplicación de premergente presentó excelente residualidad y fue ventajosa en el control en aquellos tratamientos que no presentaron residualidad.

Bibliografía citada

- ASSANELLI, J.A.; GODIÑO, M.P. 2010. Alternativas de uso de herbicidas premergentes en *Eucalyptus dunnii* en plantación de otoño. Tesis Ing. Agr. Montevideo. Uruguay. Facultad de Agronomía. 58p.
- CAZABAN, J.; MONTOUTO, J. C. 2009. Efecto del laboreo en la eficiencia de herbicidas premergentes y en el crecimiento del clon *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus globulus*. Tesis Ing. Agr. Montevideo. Uruguay. Facultad de Agronomía. 49p.
- DALLA TEA, F.; LAROCCA, F. 1998. Manual de Producción de Eucalipto en la región Mesopotámica Argentina. INTA Concordia. 4p.
- DUKE, S.O.; POWLES, S. B. 2008. Glyphosate: a once in a century herbicide. Pest Management Science. 64: 319-325.
- DURIGAN, J. C. 1989. Comportamento de Herbicidas no Ambiente. In: Seminario técnico sobre plantas daninhas e o uso de herbicidas em reflorestamento. Anais. Rio de Janeiro.
- KOGAN, M. 1992. Malezas; ecofisiología y estrategias de control, Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Agronomía, Santiago de Chile. 402p.
- KOGAN, M.; PEREZ, A. 2003. Herbicidas; fundamentos fisiológicos y bioquímicos del modo de acción. Santiago de Chile, Universidad Pontificia de Chile. 321p.
- PITELLI, R. A.; MARCHI, S.R. 1991. Interferencia das plantas invasoras nas áreas de reflorestamento. In: Seminario Técnico sobre plantas daninhas e o uso de herbicidas em reflorestamento. Bello Horizonte. p 1-11.
- SÁNCHEZ, L. N. 1997. Interferencia de las malezas sobre la absorción de nutrientes y el crecimiento inicial de *Eucalyptus globulus* Labill. Spp. *globulus*. Tesis Ing. Agr. Chile. Universidad Católica de Chile. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. 65p.
- TUFFI SANTOS, L. D.; SANTANNA-SANTOS B. F.; MEIRA, R. M. S. A.; TIBURCIO, R. A. S. FERREIRA, F. A.; 2006. Característica da epiderme foliar do eucalipto e seu envolvimento com a tolerancia ao glyphosate. Planta Daninha, 24 (3): 513-520.
- TUFFI SANTOS, L. D.; STROZI ALVES, R. M.; FERREIRA, F. A.; SANTANNA-SANTOS, B. F.; FERREIRA, L. R. 2006. Morphological Responses of Different Clones submitted to Glyphosate Drift. Environmental and Experimental Botany. Science Direct 59. p.11-20.

- TUFFI SANTOS, L. D.; SANTANNA-SANTOS, B. F.; MEIRA, R. M. S. A. 2007. Crescimento do Eucalipto sob Efeito da Deriva de Glyphosate. *Planta Daninha*, 25 (1): 133-137.
- TUFFI SANTOS, L. D.; SANTANNA-SANTOS B. F.; MEIRA, R. M. S. A.; TIBURCIO, R. A. S. FERREIRA, F. A.; MELO, C. A. D.; SILVA, E. F. S. 2008. Danos visuais e anatómicos causados pelo glyphosate em folhas de *Eucalyptus grandis*. *Planta Daninha*, 26(1): 9-16
- VERA, L.; LAROCCA, F. Evaluación económica de la producción de madera de eucalipto en el nordeste de Entre Ríos; manejo tradicional vs. con raleos. INTA EEA Concordia, abril 2004. Disponible en: www.aianer.com.ar/forestación. Consultado el: diciembre 2009.

INSECTOS PLAGA EN PLANTACIONES JÓVENES DE EUCALIPTO: HACIA UN MODELO

Gonzalo Martínez Crosa²

Introducción

El Manejo Integrado de Plagas³ es un modelo de acción en protección vegetal que tomando en cuenta el contexto socio económico de los sistemas de producción agropecuaria, el ambiente asociado y la dinámica de las poblaciones de plagas, utiliza un conjunto de técnicas (control químico, manejo cultural, uso de semioquímicos, control biológico, ingeniería genética) en forma sinérgica para mantener las poblaciones de plaga debajo de los umbrales de daño económico (Dent y Elliott, 1995). Un programa de MIP debe contemplar una selección apropiada de los métodos de control de plagas y sus posibles combinaciones, (Peshin y Dhawan, 2008).

El MIP no puede considerarse como unidad de tratamiento a la plaga aislada sino en conjunto con sus interacciones en el ambiente. Esta determinación implica que se debe conocer el funcionamiento del agroecosistema para poder desarrollar e integrar las técnicas de control. El MIP debe considerar entonces el impacto de múltiples plagas y sus relaciones entre sí y con otros organismos. Es necesario entonces conocer la biología y ecología de los organismos que integran los diferentes niveles tróficos dentro de la plantación y elaborar un modelo de sus interacciones.

Sería muy difícil comprender la estructura interna y los procesos inherentes a un sistema tan complejo sólo a través de observaciones empíricas de sus dinámicas. Se podrían describir muchos de los patrones que un sistema puede exhibir si se le observa bajo un gran número de condiciones diferentes. Esto sin embargo requeriría una enorme cantidad de tiempo y esfuerzo y a pesar de esto no se conseguiría observar todos los comportamientos posibles. Una alternativa es tratar de entender el sistema desde la descripción de su estructura y procesos, ya que la cantidad de información requerida para eso es usualmente menor.

Una forma de describir la estructura y procesos de un agroecosistema es a través de la construcción de redes tróficas, que ilustran mediante un diagrama de qué se alimenta cada uno de los organismos que lo componen (Jordán, 2003). Siendo el principal objetivo de un programa de MIP el mantenimiento de las poblaciones de las plagas por debajo de un umbral de daño la construcción de una red trófica constituye un buen punto de partida para plantear hipótesis sobre los mecanismos de regulación de estas poblaciones. Se sabe que la existencia de cascadas tróficas descendentes (top-down) resultantes de los efectos de los niveles tróficos superiores de la red (enemigos naturales) y cascadas tróficas ascendentes (bottom-up) vinculadas a la cantidad y calidad de las plantas hospederas son importantes agentes reguladores de las poblaciones de plagas en una gran variedad de ecosistemas (Beckerman et al., 1997; Dyer y Letourneau, 1999; Lawrence et al., 2003; Gols et al., 2003; Brodeur y Boivin, 2006; Kagata y Ohgushi, 2006; Poelman et al., 2008; Kenis et al., 2009). Los programas de control biológico cuentan para su éxito con la ocurrencia de estas cascadas tróficas (Venzon et al., 2001; Tscharrntke et al., 2007; Straub et al., 2008; Van Driesche et al., 2010).

En 2008 el INIA comenzó la ejecución del proyecto "Cuantificación de la importancia de las plagas y enfermedades foliares que afectan plantaciones jóvenes de Eucalyptus," en colaboración con Facultad de Agronomía. Este proyecto busca generar información que permita identificar los principales problemas sanitarios, conocer su distribución geográfica y evolución temporal, cuantificar el nivel de daño causado por cada problema y estudiar su posible relación con factores ambientales y/o genéticos. Esta investigación se

² Programa Nacional de Investigación en Producción Forestal – INIA - Tacuarembó

³ En este trabajo, el término plaga refiere tanto a insectos como a enfermedades, de acuerdo a la terminología utilizada en la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF)

integra como componente 2 del proyecto FO_06: "Biología y epidemiología de las plagas y enfermedades prioritarias para el sector forestal".

Los principales objetivos de este proyecto son identificar los principales problemas sanitarios, conocer su distribución geográfica y evolución temporal, cuantificar el nivel de daño causado por cada problema y estudiar su relación con factores ambientales y/o genéticos. La información sobre la dinámica espacio temporal de las plagas que afectan a plantaciones jóvenes de eucaliptos y sus relaciones tróficas es muy escasa en Uruguay.

En la primera etapa del proyecto se realizaron cuatro campañas de inspección (octubre-diciembre de 2008, marzo-abril de 2009, octubre-diciembre de 2009 y octubre-diciembre de 2010) con una metodología específica para plantaciones jóvenes de eucaliptos. Simultáneamente, se ha profundizado en el conocimiento de la biología y ecología de las principales plagas (insectos y enfermedades) y sus enemigos naturales asociados y se han implementado en el país protocolos de monitoreo para algunas de ellas.

El objetivo del presente trabajo es presentar los principales resultados del relevamiento realizado, plantear y discutir un modelo preliminar de red trófica entomológica en plantaciones jóvenes de eucaliptos y proponer algunas líneas de acción y productos a desarrollar.

Material y Métodos

Inspecciones

Se relevaron plantaciones de *E. globulus* de menos de dos años de edad, en las zonas Sureste y Litoral. Debido a la baja presencia de esta especie en la zona litoral, se relevaron también plantaciones de esta edad de *E. dunii*.

Cada plantación se dividió en al menos 4 sectores, en cada uno de los cuales se relevó una transecta de 100 árboles. Se evaluaron 10 árboles por transecta, cada uno de los cuales estaba separado del siguiente por 9 árboles. La información colectada en cada transecta fue la siguiente:

- Estimación visual del daño provocado por insectos defoliadores. Se calculó la Incidencia (porcentaje de hojas afectadas en el árbol) y la severidad (porcentaje promedio del área foliar faltante). Se registró el número de árboles afectados por transecta.
- Número de ápices afectados por psílidos. Se registró la presencia o ausencia de psílidos en 10 ápices al azar por cada árbol relevado. Cinco ápices fueron seleccionados al azar en cada transecta, cortados, colocados en bolsas herméticas y llevados al laboratorio.
- Número de árboles con presencia de la chinche del eucalipto, *Thaumastocoris peregrinus*. Se consideraron para su conteo aquellos árboles que tuvieran individuos vivos y al menos síntomas de daño, exuvias o heces de la chinche.
- Biodiversidad: se realizó una colecta manual de otros insectos que se hubieran alimentado en los eucaliptos, los cuales fueron llevados al laboratorio para su identificación. En el primer y último árbol de cada transecta se realizó además un batido de vegetación durante un minuto y se colectaron todos los artrópodos en forma manual o mediante trampa de succión. Los especímenes de la colecta manual fueron fijadas en seco o alcohol 70°, dependiendo del organismo. Las muestras de batido fueron preservadas en alcohol 70°.

Procesamiento

En el laboratorio de Entomología del INIA Tacuarembó se identificaron todas las especies colectadas manualmente o por batido. Para la identificación de los psílidos se recurrió a claves (Burckhardt et al., 1999; Santana y Zanol, 2005). Para la identificación de las especies de *Gonipterus* se recurrió a la clave elaborada por Rosado-Neto y Márquez (Rosado-Neto y Marques, 1996). La identificación de lepidópteros fue realizada

por el Lic. Carlos Bentancourt de la Facultad de Agronomía. La identificación de arañas fue realizada por el equipo de aracnólogos de Facultad de Ciencias, bajo supervisión del Dr. Miguel Simó.

Se contaron las ninfas tempranas (instars I a III), ninfas tardías (IV y V) y adultos de *Ctenarytaina eucalypti* en cada muestra de ápices colectada. Se contaron además las momias (ie: ninfas parasitadas) y se registró la presencia de posturas y de la avispa parasitoide *Psyllaephagus pilosus*.

Los especímenes fueron depositados en la colección entomológica de INIA en Tacuarembó o en la colección entomológica de la Facultad de Ciencias.

Análisis

Para estimar el daño causado por defoliadores se calculó la severidad como el porcentaje promedio del área foliar afectada y la incidencia como el porcentaje de hojas afectadas.

Con estos datos se calculó el Índice de Daño Foliar, una adaptación del Índice de Daño de Copa (Stone et al., 2003). El IDF se calculó como la sumatoria del daño debido a enfermedades (IDE) y el daño debido a insectos (IDI):

$$IDF = IDE + IDI$$

Siendo,

$$IDE = Defoliación + \{(1 - Defoliación:100) \times [(Incidencia de Necrosis \times Severidad de Necrosis):100]\}$$

$$IDI = \{(Incidencia de Insectos \times Severidad de Insectos):100\}$$

El IDE fue calculado para las mismas campañas y presentado en anteriores jornadas (Balmelli et al., 2009a, b).

Se calculó el porcentaje de árboles afectados para determinar la prevalencia general del daño ocasionado por cada insecto (Prevalencia_a) a nivel general. Se calculó además el porcentaje de transectas con algún daño (Prevalencia_b).

Se calculó la incidencia de *C. eucalypti*, como el porcentaje de ápices afectados.

El porcentaje de parasitismo de *C. eucalypti* debido a *P. pilosus* se calculó como el número de individuos parasitados sobre el total de individuos vivos entre ninfa_{IV} y adulto. Se realizó un test de Wilcoxon para discriminar los porcentajes de parasitoidismo observados en ambas campañas y entre regiones.

Se elaboró una red trófica de los insectos asociados a plantaciones jóvenes de *Eucalyptus globulus* (source web *sensu* Cohen, 1978). Se construyó una lista de especies preliminar con todas aquéllas encontradas durante las inspecciones. Se realizó una prospección bibliográfica para obtener datos de alimentación. Se siguió en laboratorio el ciclo de las larvas de lepidópteros y de coleópteros, las cuales fueron alimentadas con *E. globulus* y se constató la depredación de las especies de fitófagos por los neurópteros y coccinélidos en campo y en laboratorio. La conexión resultante entre dos especies en la red implica que la especie del nivel superior se alimenta de la del nivel inferior, sin aportar datos de cantidad (red trófica binaria o cualitativa). Dos potenciales ingresos a la red: el parasitoide de la chinche del eucalipto *Cleruchoides noackae* y la avispa agalladora de los eucaliptos *Leptocybe invasa* fueron incorporados para la discusión. Finalmente, se incorporaron también las principales enfermedades de *E. globulus*.

Resultados y discusión

Durante la primavera de 2008 se inspeccionaron 21 plantaciones en la región Sureste (Rocha, Maldonado, Lavalleja, Canelones, Florida y Treinta y Tres) y 4 plantaciones en la región Litoral (Paysandú y Río Negro). El área efectiva de relevamiento fue de 11.210 Ha (7.750 Ha en el Sureste y 3.460 Ha en el Litoral). Durante el otoño de 2009 se inspeccionaron 21 plantaciones de *E. globulus* en la región Sureste (Rocha, Maldonado, Lavalleja, Canelones y Florida) cubriendo un área efectiva de 6.640 Ha y 10 plantaciones en la región Litoral (Paysandú, Río Negro y Soriano). Se relevó un total de 26 transectas, 9 en *E. globulus*, 15 en *E. dunnii*, 1 en

E. grandis y 1 en un híbrido de *E. grandis* x *E. globulus*. La ubicación de los sitios inspeccionados en ambas campañas se muestra en la figura 1.

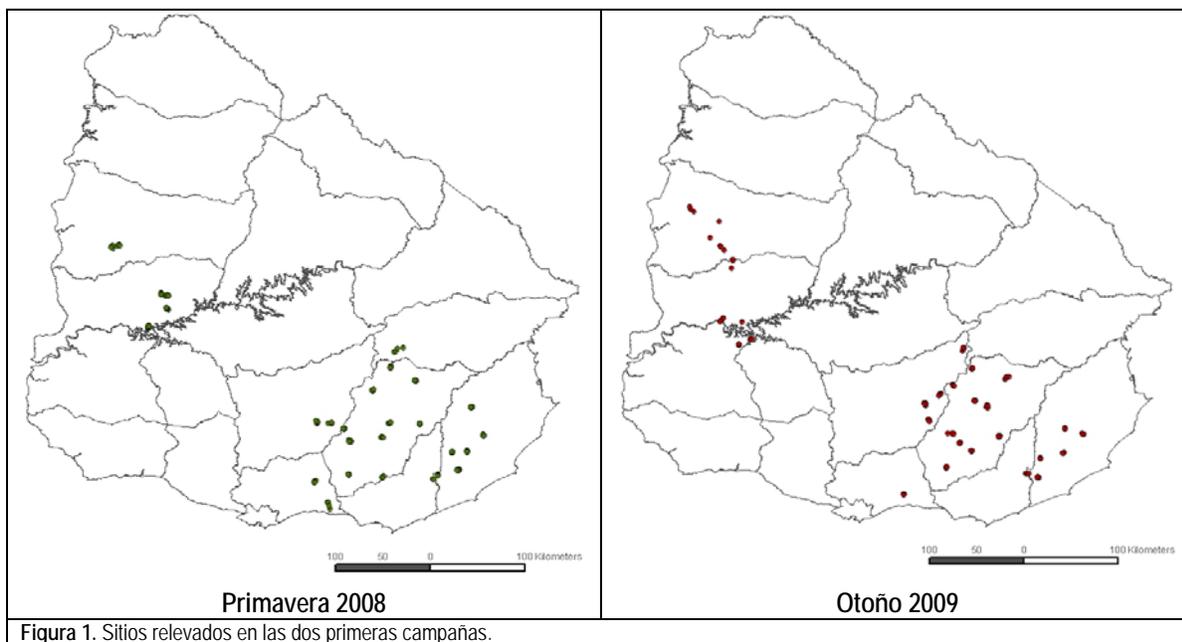


Figura 1. Sitios relevados en las dos primeras campañas.

Epidemiología

El daño debido a insectos expresado como IDI fue mucho menor al daño ocasionado por enfermedades, aportando menos del 2 % al IDF en ambas regiones en primavera de 2008 y menos del 1% en otoño de 2009. La **tabla 1** resume los principales parámetros epidemiológicos.

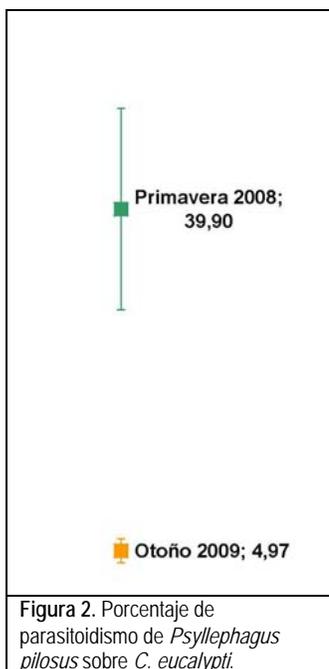
	Primavera 2008	Otoño 2009
Nº de árboles	1111	840
IDI	25,00%	2,25%
Gonipterus spp		
Prevalencia _t	82,00 %	6,00%
Prevalencia _a	29,61%	< 1%
Incidencia	0-70%	0-15%
Severidad	0-80%	0-40%
Ctenarytaina eucalypti		
Prevalencia _t	100%	100%
Prevalencia _a	95,14%	99,41%
Incidencia	66,76%	89,18%
Parasitoidismo	39,90%	4,97%
Thaumastocoris peregrinus		
Prevalencia _t	50,00%	25,00%
Prevalencia _a	4,50%	14,00%
Otros insectos		
Prevalencia _a	1,71%	0,95%

Tabla 1. Parámetros epidemiológicos para los principales insectos inspeccionados

El gorgojo del eucalipto fue encontrado en 102 de las 125 transectas (82% de prevalencia) durante el primer muestreo. En el segundo muestreo, correspondiente a otoño de 2009, se registró solamente en 5 de las 84 transectas relevadas (6 % de prevalencia). Si la prevalencia se presenta en función de los árboles relevados el número descende. Esto da cuenta del carácter agregado de los ataques. La incidencia fue variable en ambas campañas y alcanzó máximos del 70% en primavera y de 15% en otoño. La severidad también alcanzó valores mayores en primavera que en otoño. Aunque los valores de la región litoral fueron un poco mayores que los de la región sureste, no se registraron diferencias significativas. El género *Gonipterus* está representado en nuestro país por las especies *G. scutellatus* y *G. gibberus*. En el presente relevamiento no se identificaron ejemplares ni larvarios ni adultos de la segunda especie.

La prevalencia a nivel de transectas de *Ctenarytaina eucalypti* alcanzó el 100% en ambas regiones y campañas. Si se considera a nivel de árboles la prevalencia se mantiene en ambas fechas por encima del 95%. La incidencia también es alta, superando en

todos los casos el 50%. A pesar de estos niveles, no se registraron casos de muerte o secamiento de ápices debido a la infestación ni se encontraron deformaciones en el crecimiento de los árboles debidos a *C. eucalypti*. Los porcentajes de parasitoidismo fueron significativamente mayores en primavera de 2008 que en otoño de 2009 (test de Wilcoxon, **) con una varianza mayor, oscilando entre el 10 y más del 90% (figura 2). Además de *C. eucalypti*, *C. spatulata* fue encontrada en tres transectas de *E. grandis* y una transecta cercana a plantaciones o cortinas de esta especie. El psílido de lerp *Glycaspis brimblecombei* fue encontrado en dos transectas en rodales cercanos a cortinas de eucaliptos colorados.



La chinche del eucalipto *Thaumastocoris peregrinus* se presentó en la mitad de las transectas de primavera y la cuarta parte de las de otoño. En estas transectas se concentró la mayoría de los individuos colectados y por esta razón, la prevalencia a nivel de árboles es baja en ambas campañas. *T. peregrinus* se alimentó de hojas de consistencia cartácea, fundamentalmente en aquéllas que se encuentran en el centro de la planta. El nivel de daño no fue cuantificado porque no se había previsto encontrar esta especie en plantaciones tan jóvenes.

El daño observado correspondiente a otros grupos fuera de los ya mencionados no superó el 2% de prevalencia en primavera de 2008 y estuvo por debajo del 1% en otoño de 2009. Esta categoría está compuesta por lepidópteros, de los cuales se identificaron dos especies: *Paracles (=Mallocephala) deserticola* (Arctiidae) y *Phocides polybius phanias* (Hesperidae), coleópteros crisomélidos pertenecientes al género *Metallactus* y hormigas cortadoras (Formicidae: attini). Exceptuando el caso de las cortadoras, se trató generalmente de infestaciones moderadas a altas en rodales e incluso árboles aislados.

La "lagarta peluda rubia" *P. deserticola* es un insecto generalista cuyas larvas son frecuentes en el campo donde ocasionalmente dañan diferentes cultivos como girasol, maíz, acelga o vegetación silvestre (Bentancourt y Scatoni, 1998). Se encontraron en dos establecimientos. No se logró completar el ciclo de esta especie sobre eucalipto en laboratorio.

En lo que respecta a *P. polybius phanias*, se trata de una especie que tiene como principal hospedero mirtáceas nativas (*Psidium* spp.). En Argentina ya se han encontrado brotes epidémicos de esta especie sobre eucaliptos colorados (Mareggiani y Rocca, 2006). Se encontraron en tres establecimientos, en un árbol, no más de dos larvas.

Red trófica entomológica asociada a E. globulus

La **tabla 2** contiene una lista de las especies encontradas en las inspecciones visuales y del batido con una descripción de su afiliación taxonómica, el grupo trófico y el gremio al que pertenecen. Se excluyeron de esta lista las hormigas cortadoras por tratarse de especies compartidas con otros ecosistemas y cuyo abordaje en materia de control excede el objetivo de este trabajo. La información sobre dieta de los arácnidos encontrados aún se encuentra en procesamiento por lo que se ha simplificado su tratamiento en la red. Se agregaron a la lista de insectos la avispa agalladora de los eucaliptos *Leptocybe invasa* (Hymenoptera, Eulophidae), de inminente aparición en el país, así como el controlador biológico de la chinche del eucalipto el mimárido *Cleruchoides noackae*.

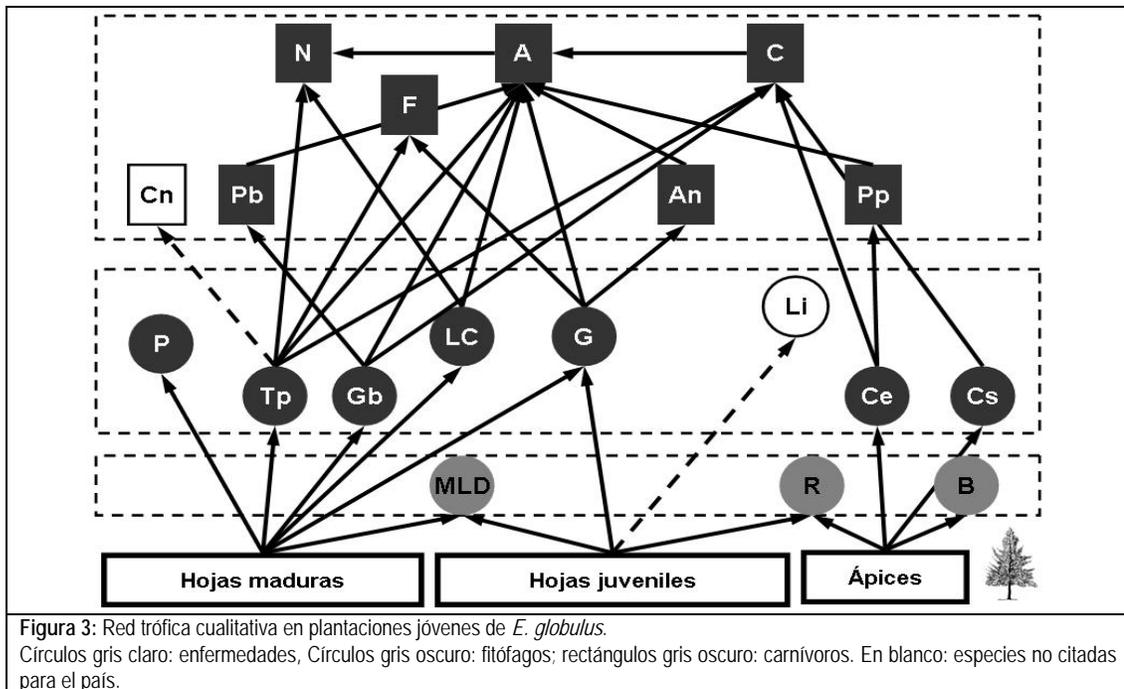
Se agregaron también las tres principales patologías descritas para estas plantaciones (Balmelli et al., 2009a, b).

En base a esta lista se conformó la red trófica cualitativa que se presenta en la **figura 3**. Las variables ontogenéticas de la planta pueden ser factores condicionantes de la selección y colonización por insectos fitófagos (Lawrence et al., 2003). Debido a esto se dividió el recurso base de la red (*E. globulus*) en tres compartimientos: ápices, hojas juveniles y hojas maduras. Es importante destacar que en las plantaciones conviven árboles que presentan únicamente follaje juvenil (homoblásticos) con árboles que presentan una combinación de ambos follajes (heteroblásticos) condición que depende de la edad del vegetal y de su base genética.

Código	Orden	Familia	Especie	Gremio
G	<i>Coleoptera</i>	Curculionidae	<i>Gonipterus</i> spp.	Defoliador, ápices, hojas juveniles, hojas maduras
LC	<i>Lepidoptera</i>	Arctiidae	<i>Paracles deserticola</i>	Defoliador, generalista
LC	<i>Coleoptera</i>	Chrysomelidae	<i>Metallactus</i> sp.	Defoliador, generalista
LC	<i>Lepidoptera</i>	Hesperidae	<i>Phocides polybius phanias</i>	Defoliador, hojas maduras, enrollador de hojas
Ce	<i>Hemiptera</i>	Psyllidae	<i>Ctenarytaina eucalypti</i>	Picosuctor, ápices, floeófago
Cs	<i>Hemiptera</i>	Psyllidae	<i>Ctenarytaina spatulata</i>	Picosuctor, ápices, floeófago
Gb	<i>Hemiptera</i>	Psyllidae	<i>Glycaspis brimblecombei</i>	Picosuctor, hojas, floeófago
Tp	<i>Hemiptera</i>	Thaumastocoridae	<i>Thaumastocoris peregrinus</i>	Picosuctor, hojas maduras, macerador-suctor (floema y mesénquima)
Li	<i>Hymenoptera</i>	Eulophidae	<i>Leptocybe invasa</i>	Galicícola, hojas juveniles, brotes
An	<i>Hymenoptera</i>	Mymaridae	<i>Anaphes nitens</i>	Parasitoide, especialista
Pb	<i>Hymenoptera</i>	Encyrtidae	<i>Psyllaephagus bliteus</i>	Parasitoide, especialista
Pp	<i>Hymenoptera</i>	Encyrtidae	<i>Psyllaephagus pilosus</i>	Parasitoide, especialista
Cn	<i>Hymenoptera</i>	Mymaridae	<i>Cleruchoides noackae</i>	Parasitoide, especialista (¿?)
A	<i>Araneae</i>	Anyphaenidae	<i>Sanogasta</i> spp.	Carnívoro, cazador activo, vegetación
A	<i>Araneae</i>	Anyphaenidae	<i>Tasata</i> spp.	Carnívoro, cazador activo, vegetación
A	<i>Araneae</i>	Anyphaenidae	<i>Xiruana gracilipes</i>	Carnívoro, cazador activo, vegetación
A	<i>Araneae</i>	Araneidae	<i>Araneus unanims</i>	Carnívoro, constructor de tela
A	<i>Araneae</i>	Araneidae	<i>Argiope argentata</i>	Carnívoro, constructor de tela
A	<i>Araneae</i>	Araneidae	<i>Eustala minuscula</i>	Carnívoro, constructor de tela
A	<i>Araneae</i>	Araneidae	<i>Larinia bivittata</i>	Carnívoro, constructor de tela
A	<i>Araneae</i>	Araneidae	<i>Metepeira gressa</i>	Carnívoro, constructor de tela
N	<i>Neuroptera</i>	Chrysopidae	<i>Chrysoperla carnea</i>	Carnívoro, cazador activo, generalista
C	<i>Coleoptera</i>	Coccinellidae	<i>Olla quinquenigrum</i>	Carnívoro, cazador activo
Continuación:				
C	<i>Coleoptera</i>	Coccinellidae	<i>Harmonia axyridis</i>	Carnívoro, cazador activo

A	<i>Araneae</i>	Corinnidae	<i>s/identificar</i>	Carnívoro, cazador activo, suelo
A	<i>Araneae</i>	Desidae	<i>s/identificar</i>	Carnívoro, constructor de tela
A	<i>Araneae</i>	Linyphiidae	<i>s/identificar</i>	Carnívoro, constructor de tela
A	<i>Araneae</i>	Lycosidae	<i>s/identificar</i>	Carnívoro, cazador activo, suelo
N	<i>Neuroptera</i>	Mantispidae	<i>Dichromantispa sp.</i>	Larva: parásito (arañas) Adulto: Carnívoro, cazador activo
N	<i>Neuroptera</i>	Mantispidae	<i>Zeugomantispa minuta</i>	Larva: parásito (arañas) Adulto: Carnívoro, cazador activo
A	<i>Araneae</i>	Mimetidae	<i>Cheiracanthium inclusum</i>	Carnívoro, cazador activo, vegetación
A	<i>Araneae</i>	Miturgidae	<i>s/identificar</i>	Carnívoro, cazador activo, vegetación
A	<i>Araneae</i>	Philodromidae	<i>s/identificar</i>	Carnívoro, cazador activo, vegetación
A	<i>Araneae</i>	Salticidae	<i>s/identificar</i>	Carnívoro, cazador activo, vegetación
A	<i>Araneae</i>	Theridiidae	<i>s/identificar</i>	Carnívoro, constructor de tela
A	<i>Araneae</i>	Thomicidae	<i>Misumenops pallidus</i>	Carnívoro, cazador activo, vegetación
PS	<i>Psocoptera</i>	<i>s/determinar</i>	<i>s/determinar</i>	Xilófago, detritívoro
Enfermedades				
F	Hongos entomopatógenos (géneros <i>Beauveria</i> , <i>Metarhizium</i> , <i>Verticillium</i>)			
MLD	Enfermedad foliar causada por <i>Mycosphaerella</i> spp. y <i>Teratosphaeria</i> spp.			
R	Roya del eucalipto (causada por <i>Puccinia psidii</i>)			
B	Bacteriosis (varios agentes causales)			

Tabla 2. Lista de especies



Los insectos que se encontraron alimentándose de eucaliptos jóvenes pertenecen a dos gremios: defoliadores y picosuctores. Los segundos se dividen a su vez en insectos que se alimentan de floema e insectos que se alimentan de mesófilo.

Defoliadores

La mayoría de los modelos ecológicos sobre el impacto de la herbivoría se basan en organismos defoliadores (Nykänen y Koricheva, 2004). En general la defoliación induce en las plantas respuesta compensatoria: aumenta la tasa fotosintética, disminuye el crecimiento del vegetal, disminuye la concentración de carbohidratos y otros nutrientes como el nitrógeno y el potasio. Las respuestas del vegetal a la defoliación

pueden tener un impacto negativo o positivo sobre el fitness de los herbívoros; en el primer caso se habla de "resistencia inducida" mientras que el segundo se conoce como "susceptibilidad inducida" (Karban y Baldwin, 1997) En Australia la defoliación en eucaliptos debida a insectos no es un fenómeno que persiste durante todo el año, con picos en primavera y verano (Lowman y Heatwole, 1992).

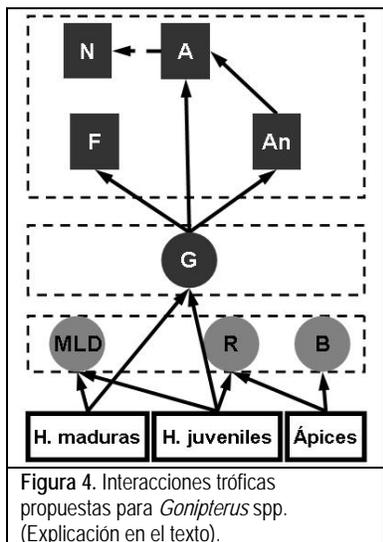


Figura 4. Interacciones tróficas propuestas para *Gonipterus* spp. (Explicación en el texto).

El gorgojo del eucalipto

El principal defoliador presente en plantaciones jóvenes es el gorgojo *Gonipterus* spp. que ingresó al país a fines de la década del 30 (Morey y Porcile, 2002). Se presume que este insecto puede presentar de dos a tres generaciones anuales en Uruguay (otoño, primavera y ocasionalmente verano) aunque no existen estudios a campo y laboratorio que sustenten esta afirmación. En nuestro estudio registramos mayores abundancias y mayores distribuciones de la población y el daño durante las campañas de primavera pero debido a lo tardío de las fechas de las inspecciones de otoño probablemente se esté observando el fin de una generación. La fenología de *Gonipterus* es muy variable y se reportan de una a dos generaciones en hemisferio norte, con años en los cuales se observan adultos hibernantes y años de estivación (Cordero Rivera et al., 1999) mientras que en la región templada de Sudamérica se han registrado hasta cuatro generaciones anuales (Lanfranco y Dungey, 2001). La duración del ciclo es altamente dependiente de la temperatura y del hospedero (De Oliveira, 2006). A 25 ° C y en condiciones de laboratorio el ciclo de huevo a adulto dura

aproximadamente 60 días (Santolamazza-Carbone et al., 2006) y se requieren 435,7 grados-día. El parasitoide de huevos *Anaphes nitens* tiene como hospedero al gorgojo y constituye un importante factor de regulación de sus poblaciones, por lo que ha sido empleado en programas de control biológico en todos los continentes donde esta plaga ha sido introducida (Santolamazza-Carbone et al., 2004; Loch, 2008). En Uruguay se introdujo por primera vez en 1939 desde Argentina y oficialmente en 1941 desde Sudáfrica (Morey y Porcile, 2002). En los últimos años se han observado, especialmente en veranos calurosos y secos, aumentos locales de las poblaciones de *Gonipterus* (con un consecuente aumento del daño), especialmente a fines del verano. Se ha sugerido que la causa de esto podría ser una disminución de la población del parasitoide. A partir de esta preocupación algunos productores del sector están repicando y liberando *A. nitens*. Estas iniciativas deben complementarse con investigación sobre las causas de estos rebrotes y mejoras en las estrategias de repique y liberación, para optimizar los resultados y minimizar costos. *Anaphes nitens* sufre depredación por parte de arañas constructoras de telas, se observan cadáveres de esta especie en las mismas, aunque se desconoce el efecto que pueda tener esta depredación pasiva sobre las poblaciones del parasitoide. Se ha establecido que los niveles de depredación de los parasitoides en el campo son importantes y muchas veces condicionan el éxito en los programas de control biológico (Rosenheim, 1998). Como otros microhimenópteros *A. nitens* es sensible a varios grupos de insecticidas (Pérez Otero et al., 2003) que si bien son poco usados en la forestación a gran escala, pueden afectar a las poblaciones en plantaciones adyacentes a zonas agrícolas. La relación arañas – mantispas que se ilustra en el nivel superior de este subsistema se explicará más adelante.

Algunas cepas de hongos entomopatógenos, fundamentalmente pertenecientes a los géneros *Beauveria* y *Metarhizium*, atacan a las larvas y adultos del gorgojo y han sido aisladas y ensayadas en el país, aparte de constituir los principales agentes de control biológico en Brasil, donde *A. nitens* no es eficiente.

Una estrategia de manejo de este subsistema pasa entonces por establecer los escenarios adecuados para favorecer los niveles de parasitoidismo de *A. nitens*, para lo cual se debería: (i) estimar el nivel "basal" de parasitoidismo, (ii) cuantificar las causas de disminución de las poblaciones del parasitoide (ataque de depredadores de orden superior, factores climáticos, pérdida de sincronización de los ciclos biológicos del

parasitoide y el hospedero) y en base a esta información definir umbrales de acción para la liberación de avispa. Simultáneamente sería importante continuar con el aislamiento de cepas entomopatógenas para *Gonipterus* spp. y elaborar protocolos de aplicación.

Otros defoliadores

Hemos agrupado los restantes insectos defoliadores que se encontraron en las inspecciones en dos categorías: oportunistas emergentes y potenciales colonizadores.

El primer grupo comprende insectos generalistas que emergen y oviponen sobre *Eucalyptus* al no encontrar sus hospederos principales. Esto puede suceder por cambios en el uso de la tierra, por ejemplo, la implantación de un emprendimiento forestal en un terreno dedicado anteriormente a la agricultura. En general provocan daños muy severos pero muy localizados y las poblaciones no se mantienen, al no poder completar el ciclo biológico sobre *Eucalyptus*.

Los potenciales colonizadores por el contrario son especies cuyos hospederos son árboles filogenéticamente emparentados (mirtáceas nativas) y tienden a ser oligófagos o especialistas. Se ha hipotetizado que estas especies al poder completar su ciclo sobre *Eucalyptus* y al establecerse en estas plantas, acceden a sitios libres de enemigos por lo que sus poblaciones dejan de ser reguladas por las cascadas tróficas descendentes de sus ambientes de origen. Esto eventualmente, podría incrementar el fitness de estas poblaciones potenciando el desarrollo de nuevas plagas. Sin embargo, exceptuando el caso de *P. polybius phanias* antes comentado, no existen otros casos reportados del salto de insectos nativos al *Eucalyptus* en la región templada de América del Sur, cosa que sí sucede en Brasil (Paine, 2010).

Los defoliadores nativos que ocasionalmente se alimentan de eucaliptos deben ser monitoreados, especialmente los potenciales colonizadores. Se debe notificar inmediatamente a la Dirección General Forestal del MGAP cualquier insecto o daño sospechoso. El mantenimiento de una colección entomológica de referencia en insectos forestales del país, como la que existe actualmente en el Programa Forestal de INIA, en Tacuarembó es una herramienta importante para favorecer la detección temprana de especies potencialmente perjudiciales para el sector.

Picosuctores

A diferencia de lo que sucede con los defoliadores, el volumen de investigación sobre el efecto de los picosuctores es mucho menor. No obstante, la información disponible y analizada hasta el momento coincide en señalar que el daño que causa este gremio sobre los vegetales es más profundo y de mayor alcance que el de los defoliadores (Zvereva et al., 2010). El ataque de un vegetal por picosuctores disminuye la tasa fotosintética y el crecimiento y afecta negativamente la reproducción del vegetal. Algunos picosuctores como los cóccidos pueden provocar una disminución del volumen radicular del vegetal (Vranjic y Ash, 1997). La hipótesis más aceptada para explicar el daño causado por picosuctores es la de "competencia de sumideros" que postula que el insecto opera para la planta como un nuevo sumidero de nutrientes, como lo son los brotes vegetativos o las estructuras reproductivas y frutos (Larson y Whitham, 1997).

Ctenarytaina eucalypti

El psílido de los eucaliptos blancos *C. eucalypti* fue detectado en Uruguay en la segunda mitad de 1998 sobre *E. globulus*. Se presume que su dispersión se realizó a través de estacas enraizadas (Porcile, 1998). Se trata de una especie multivoltina (varios ciclos anuales) y por lo tanto se encuentra presente durante buena parte del año. Cada hembra pone entre 50 y 60 huevos y los individuos pasan por 5 instars ninfales antes del estadio adulto. Atacan preferentemente en los ápices de las ramas en plantaciones jóvenes. Esta especie también presenta un controlador introducido, la avispa parasitoide *Psyllaephagus pilosus*. Los datos de parasitoidismo que obtuvimos en este estudio muestran una variabilidad local importante y sugieren variaciones estacionales en los niveles de control de esta especie. No obstante, como ya se mencionó no se tiene conocimiento de daños apicales como los observados en Brasil. Para optimizar el control biológico se ha implementado en algunos establecimientos la cría, repique y liberación de *P. pilosus* en rodales con alta

incidencia de *C. eucalypti* en forma similar a lo realizado con *A. nitens* para *Gonipterus* (A. Bentos Pereira, com. pers.).

En lo que respecta a niveles superiores, *P. pilosus* es también presa de arañas de tela. Los adultos de *C. eucalypti* son también presa de arañas además de otros depredadores de pequeño tamaño como las vaquitas de San Antonio (coccinélidos). Los coccinélidos, fueron observados alimentándose de psílicos en el campo y también han sido reportados en otras regiones como depredadores de este grupo (Rezende et al., 2010).

Un fenómeno que se debería evaluar para este grupo es su capacidad para el transporte de patógenos, especialmente de agentes causantes de enfermedades foliares. Muchos psílicos además son importantes vectores de patógenos vegetales. En particular, se debería evaluar el riesgo de vectorización de bacteriosis por parte de *C. eucalypti* y especies emparentadas. Esta posibilidad de operar como vector de patógenos vuelve imprescindible elaborar protocolos de manejo para disminuir la incidencia de esta especie.

Thaumastocoris peregrinus

La chinche del eucalipto es el último fitófago australiano arribado al país. Se presume que ingresó entre 2006 y 2008 (Martínez y Bianchi, 2010). Se trata de una chinche pequeña que se alimenta fundamentalmente de hojas adultas o senescentes. Debido a esta preferencia y a que no había sido prácticamente observada en plantaciones jóvenes en Sudáfrica, incluso en los periodos de explosión demográfica, inicialmente no elaboramos un protocolo específico para relevar daño en las inspecciones porque consideramos que sería una presencia marginal. No obstante obtuvimos prevalencias del orden del 50%. La chinche del eucalipto viene siendo monitoreada a nivel nacional en 40 puntos a lo largo del territorio con una frecuencia de muestreo mensual. A partir de este monitoreo una de las principales constataciones es que la variación poblacional de *T. peregrinus* es influida fuertemente por variables que operan a escala local (rodal) por lo que las tácticas de manejo deberían considerarse a esta escala. Al momento esta especie no cuenta con un controlador especialista como sucede con las que ya se mencionaron. Se está trabajando de cara a la importación de un enemigo natural australiano, la avispa parasitoide *Cleruchoidea noackae*, que ya ha sido liberada y recuperada en ambiente en la región⁴ lo cual constituye un dato promisorio. En las plantaciones de nuestro país la chinche sufre el ataque de algunos enemigos naturales nativos. Las vaquitas de San Antonio y la mantispa *Zeugomantispa minuta* han sido observadas depredando huevos, ninfas y adultos de *T. peregrinus* en el campo y en el laboratorio. Paralelamente, se han observado en otras inspecciones ataques locales de hongos entomopatógenos. Algunas de estas cepas han sido aisladas y se encuentran en estudio en el laboratorio del Programa Forestal de INIA en Tacuarembó.

Los puntos de control que se deberían manejar para esta especie de acuerdo a la red al momento implican favorecer los niveles naturales de depredación y de ataque de entomopatógenos. Habrá que evaluar posteriormente el efecto de *C. noackae* si se decide la importación de este controlador. En lo que respecta al vegetal, hay que tener en cuenta que aquellos clones que cambian de hoja rápidamente, si bien resultan efectivos ante los agentes causantes de enfermedades foliares y la roya del eucalipto, quedan más tempranamente expuestos al ataque de la chinche.

Finalmente, no debe soslayarse el rol de esta especie como dispersora de patógenos vegetales o como vector, especialmente lo primero debido a su alta movilidad en el campo. En este sentido en INIA estamos realizando estudios para conocer la micoflora transportada por esta especie.

Enemigos naturales

Como se observa claramente en la red, los principales enemigos naturales de los insectos perjudiciales para las plantaciones jóvenes de *E. globulus* están en un nivel trófico intermedio dentro de la red y por lo tanto son a su vez regulados por la acción de otros depredadores y parasitoides. Estos depredadores de orden superior

⁴ Se detecta controlador biológico del chinche del eucalipto en Chile. Noticia del SAG, disponible en : <http://www.sag.gob.cl/OpenNews/asp/paqDefault.asp?argInstanciaId=1&argNoticiaId=848&argEdicionId>

pueden afectar negativamente el control biológico aunque la eficiencia de los parasitoides también puede ser afectada por otros factores como efectos climáticos adversos, defensas propias de los herbívoros, falta de sincronización en los ciclos parasitoide-hospedero, ausencia de otros recursos importantes para los parasitoides como, por ejemplo, fuentes de néctar o polen, competencia ínter específica entre enemigos naturales y interrupción de control por efecto de insecticidas u otras prácticas agrícolas o silviculturales (Rosenheim, 1998).

En lo que respecta a las arañas, se trata del grupo más abundante en las plantaciones y con una riqueza específica y ecológica importante. Se ha encontrado a su vez una importante parasitación de estas arañas por larvas de mantispas y otros grupos taxonómicos. Se requiere más investigación en los hábitos alimentarios de las especies de arañas y en sus enemigos naturales.

Una perspectiva histórica

En la **figura 7** se presenta una gráfica de las introducciones de insectos australianos en plantaciones de eucaliptos en Uruguay. Se puede observar claramente una primera ola de introducciones hasta la segunda posguerra, que involucra insectos más bien conspicuos que involucra a los taladros del género *Phoracantha* y a *Gonipterus* spp.

La segunda oleada de introducción involucra exclusivamente a insectos picosuctores y comienza hacia finales del siglo, en la década de los noventa. Aunque probablemente esta segunda oleada sea un reflejo de la dinamización de la actividad forestal en el país como consecuencia de la Ley Forestal 15.939, este patrón de introducción de insectos australianos se observa en forma similar a nivel global (Paine, 2010).

Si atendemos a la tendencia global, la década de 2000 se ha caracterizado por la dispersión de insectos galicícolas o formadores de agallas y minadores, de difícil detección. Una amenaza para nuestro país en este contexto es la introducción desde Argentina o Brasil de la avispa agalladora *Leptocybe invasa*. Se desconoce qué asociaciones podrá establecer este organismo dentro de la red trófica. Los organismos galicícolas compiten al igual que los picosuctores con los sumideros naturales de las plantas (brotes y estructuras reproductivas) y son sensibles a la concentración de estos sumideros (Larson y Whitham, 1997). El efecto acumulativo del daño por dos especies de picosuctores con nichos tróficos diferentes (*C. eucalypti* y *T. peregrinus*) y esta avispa es algo que no es posible determinar a priori pero que podría en el peor de los escenarios comprometer el desarrollo de las plantaciones jóvenes y que exigirá por lo tanto de un ajuste más estricto del manejo de estas plagas.

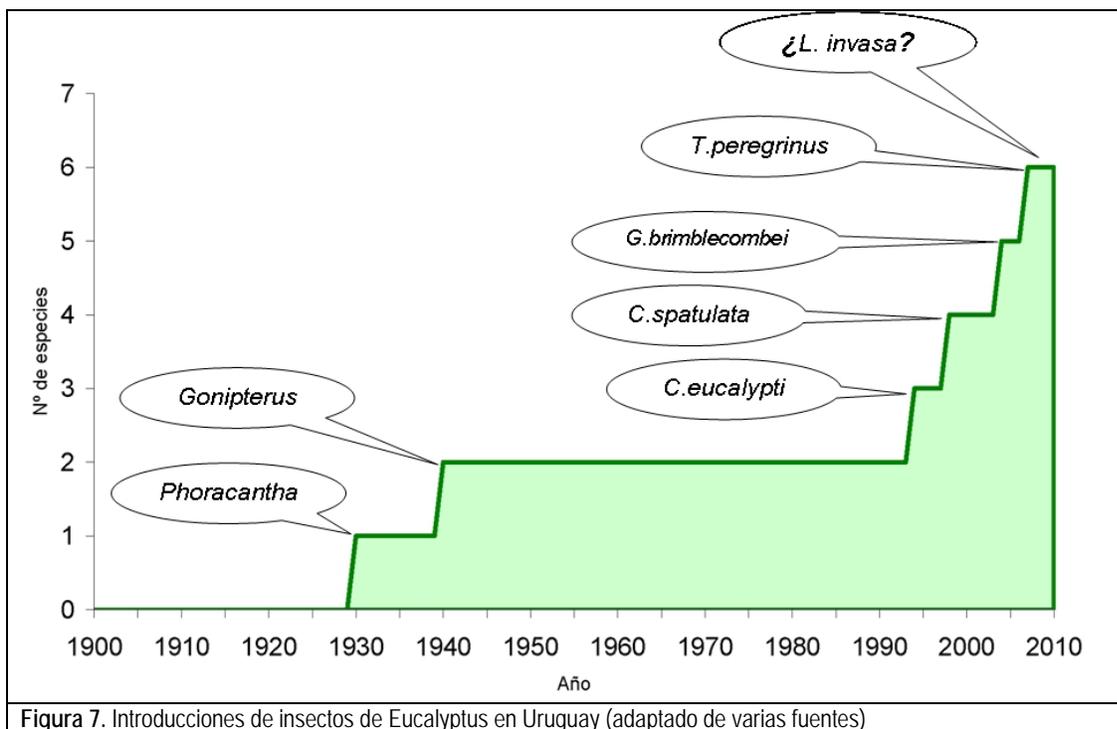


Figura 7. Introducciones de insectos de Eucalyptus en Uruguay (adaptado de varias fuentes)

Hacia un modelo de gestión: ¿un sistema experto para la protección forestal?

Si bien el análisis que se ha discutido en este trabajo parte de información en estado preliminar y desde una simplificación operativa del contexto de las plantaciones, ilustra con claridad la complejidad de variables y nodos de decisión que se deben considerar para desarrollar un Manejo Integrado de Plagas.

La implantación de estrategias de MIP se ha visto bastante favorecida por el desarrollo de las TICs a partir de la segunda mitad del siglo XX, lo cual ha permitido la elaboración de herramientas de análisis y de soporte a la toma de decisiones de manejo de plagas a partir de múltiples fuentes de información. Uno de los principales instrumentos resultantes de este desarrollo son los sistemas expertos.

Un sistema experto es un programa informático diseñado para simular la habilidad para resolver problemas de un humano en áreas especializadas (Schmoldt y Martin, 1986). Los sistemas expertos se han convertido en uno de los productos comerciales más exitosos de la Inteligencia Artificial desarrollándose aplicaciones para control, diseño, diagnóstico, monitoreo, planificación, predicción y simulación entre otras actividades (Kaloudis et al., 2005; Hasan y Isaac, 2011).

En protección forestal se han implementado diferentes tipos de sistemas expertos. Un sistema de información sobre manejo de bosques (SIM) es un conjunto de aplicaciones orientadas hacia la creación de informes a partir de la información colectada en los rodales. Estos informes predeterminados permiten detectar desviaciones de los patrones y tendencias históricas como base para la toma de decisiones. En concreto, la información sobre los niveles de depredación, de daño y de parasitoidismo colectada en estas y otras inspecciones sanitarias puede usarse para establecer niveles basales que sirvan de insumo para la determinación de umbrales de acción.

Un sistema de apoyo a la gestión (SAG) es un conjunto de aplicaciones diseñado para asistir a los productores en el análisis de la información forestal (Coulson y Witter, 1990). En base a la información

ingresada y su procesamiento de acuerdo a modelos matemáticos un SAG elabora recomendaciones sobre el manejo de plagas de insectos forestales.

Consideramos que la construcción de un sistema experto para protección forestal sería una contribución importante al desarrollo del sector forestal nacional. Dicho sistema podría estar compuesto por: un módulo de identificación, un módulo de monitoreo y un módulo de diagnóstico y recomendaciones.

El módulo de identificación contendría claves interactivas de entrada múltiple (por ejemplo, permitiría ingresar información de síntomas o de organismos) en formato multimedia para favorecer la rápida identificación de problemas sanitarios. Este tipo de sistemas ya ha sido implementado en otras regiones con relativo éxito (Kaloudis et al., 2005). El módulo de monitoreo permitiría hacer un seguimiento de los monitoreos sanitarios que se realizan en la plantación. Finalmente, el módulo de diagnóstico utilizaría la información de identificación, de monitoreo y otros parámetros ingresados (información climática o de uso de la tierra, datos silviculturales) para realizar recomendaciones de manejo.

El desarrollo de aplicaciones en Internet y la incorporación de contenido multimedia en estas aplicaciones han mejorado sustancialmente la performance de los Sistemas Expertos (Hasan y Isaac, 2011). Si el sistema experto que se propone aquí estuviera implementado en línea, se podría utilizar la información ingresada, asegurando la salvaguarda de la intimidad de los potenciales colaboradores, para elaborar una gran base nacional de datos en protección forestal. Simultáneamente, la información de monitoreos podría ser enviada directamente a las autoridades competentes a tiempo real, mejorando las posibilidades de control de emergencias así como la detección temprana.

¿Qué está aportando el proyecto? En primer lugar, el proyecto viene sistematizando la información taxonómica sobre las especies que habitan en los rodales forestales, generando fichas de identificación, documentación gráfica y una colección entomológica de referencia. Esta información constituye la base para la creación del módulo de identificación descrito. La información epidemiológica recopilada al momento, que es la primera generada en el país sobre las plantaciones jóvenes de eucaliptos, contribuye al desarrollo de un modelo de dinámica espacio temporal de los principales organismos perjudiciales y sus interacciones con los restantes compartimientos tróficos. Esto permitirá a su vez construir escenarios para analizar el impacto de las tácticas de control empleadas al momento o sugerir alternativas.

Simultáneamente, se continúa trabajando de cara a la formalización de los sistemas de monitoreo sanitario, imprescindibles para la implantación del MIP.

Finalmente, consideramos que la generación de un sistema experto requerirá del aporte conjunto de los protectores vegetales, ecólogos, programadores y, fundamentalmente, del sector productivo. Afortunadamente, el país posee en este momento las herramientas para estimular el trabajo científico interdisciplinario e innovador y las TICs han sido consideradas como áreas prioritarias de desarrollo tanto en INIA como en la UdelaR.

Referencias

- Balmelli, G., S. Simeto, G. Martínez, D. Torres, P. González, D. Fros, O. Bentancur, y C. Pérez. 2009a. Relevamiento sanitario de otoño en plantaciones jóvenes de *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus dunnii* en el sureste y en el litoral oeste. INIA, Tacuarembó.
- Balmelli, G., S. Simeto, G. Martínez, D. Torres, C. Pérez, D. Fros, y O. Bentancur. 2009b. Incidencia y severidad de enfermedades y plagas en plantaciones jóvenes de *Eucalyptus globulus* en las regiones sureste y litoral oeste de Uruguay. INIA, Las Brujas.
- Beckerman, A., M. Uriarte, y O. Schmitz. 1997. Experimental evidence for a behavior-mediated trophic cascade in a terrestrial food chain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 94: 10735-10738.

- Bentancourt, C.M., y I.B. Scatoni. 1998. Biología de *Mallocephala deserticola* Berg (Lepidoptera: Arctiidae) Biology of *Mallocephala deserticola* Berg (Lepidoptera: Arctiidae). An. Soc. Entomol. Bras. 27: 213-221.
- Brodeur, J., y G. Boivin (Eds). 2006. Trophic and Guild in Biological Interactions Control. Springer Netherlands, Dordrecht.
- Burckhardt, D., D.L.O. Santana, A.L. Terra, F.M. Andrade, S. Penteadó, y C. Morey. 1999. Psyllid pests (Hemiptera, Psylloidea) in South American eucalypt plantations. Bulletin de la Société Entomologique Suisse. 72: 1-10.
- Cordero Rivera, A., S. Santolamazza Carbone, y J. Andrés. 1999. Life cycle and biological control of the Eucalyptus snout beetle (Coleoptera, Curculionidae) by *Anaphes nitens* (Hymenoptera, Mymaridae) in north-west Spain. Agricultural and Forest Entomology. 1: 103-109.
- Coulson, R.N., y J.A. Witter. 1990. Entomología forestal. Ecología y control. 1º ed. Editorial Limusa, México.
- De Oliveira, D. 2006. Biología de *Gonipterus scutellatus* (Coleoptera: Curculionidae) em *Eucalyptus* spp. em diferentes temperaturas.
- Dent, D., y N.C. Elliott. 1995. Integrated pest management. Springer.
- Dyer, L., y D. Letorneau. 1999. Trophic cascades in a complex terrestrial community. Proceedings of the National Academy of Sciences. 96: 5072-5076.
- Gols, R., M. Roosjen, H. Dijkman, y M. Dicke. 2003. Induction of Direct and Indirect Plant Responses by Jasmonic Acid, Low Spider Mite Densities, or a Combination of Jasmonic Acid Treatment and Spider Mite Infestation. Journal of Chemical Ecology. 29(12): 2651-2666.
- Hasan, S., y R. Isaac. 2011. An integrated approach of MAS-CommonKADS, Model-View-Controller and web application optimization strategies for web-based expert system development. Expert Systems with Applications. 38(1): 417-428.
- Jordán, F. 2003. Comparability: the key to the applicability of food web research. Applied ecology and environmental research. 1(1): 1-18.
- Kagata, H., y T. Ohgushi. 2006. Bottom-up trophic cascades and material transfer in terrestrial food webs. Ecological Research. 21(1): 26-34.
- Kaloudis, S., D. Anastopoulos, C. Yialouris, N. Lorentzos, y A. Sideridis. 2005. Insect identification expert system for forest protection. Expert Systems with Applications. 28(3): 445-452.
- Karban, R., y I.T. Baldwin. 1997. Induced responses to herbivory. University of Chicago Press, Chicago.
- Kenis, M., M. Auger-Rozenberg, A. Roques, L. Timms, C. Péré, M. Cock, J. Settele, S. Augustin, y C. Lopez-Vaamonde. 2009. Ecological effects of invasive alien insects. Biological Invasions. 11(1): 21-45.
- Lanfranco, D., y H. Dungey. 2001. Insect damage in Eucalyptus: A review of plantations in Chile. Austral Ecology. 26(5): 477-481.

- Larson, K.C., y T.G. Whitham. 1997. Competition between gall aphids and natural plant sinks: plant architecture affects resistance to galling. *Oecologia*. 109(4): 575-582.
- Lawrence, R., B.M. Potts, y T.G. Whitham. 2003. Relative Importance of Plant Ontogeny, Host Genetic Variation, and Leaf Age for a Common Herbivore. *Ecology*. 84(5): 1171-1178.
- Loch, A. 2008. Parasitism of the Eucalyptus weevil, *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal, by the egg parasitoid, *Anaphes nitens* Girault, in Eucalyptus globulus plantations in southwestern Australia. *Biological Control*. 47(1): 1-7.
- Lowman, M.D., y H. Heatwole. 1992. Spatial and Temporal Variability in Defoliation of Australian Eucalypts. *Ecology*. 73(1): 129-142.
- Mareggiani, G., y M. Rocca. 2006. Control biológico de *Phocides polybius phanias* (Lepidoptera: Hesperidae) en Eucaliptos spp. p. 1. *En Bariloche*.
- Martínez, G., y M. Bianchi. 2010. Primer registro para Uruguay de la chinche del eucalipto, *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero y Dellappé, 2006 (Heteroptera: Thaumastocoridae). *Agrociencia*. 14(1): 15-18.
- Morey, C., y J. Porcile. 2002. Aspectos fitosanitarios del desarrollo forestal en Uruguay: antecedentes históricos y una década de sucesos.
- Nykänen, H., y J. Koricheva. 2004. Damage-induced changes in woody plants and their effects on insect herbivore performance: a meta-analysis. *Oikos*. 104(2): 247-268.
- Paine, T.D. 2010. Global patterns of Australian eucalypt insect movement. p. 359. *En The International Forestry Review*. Seoul.
- Pérez Otero, R., P. Mansilla Vázquez, y J. Rodríguez Iglesias. 2003. Eficacia y efectos en laboratorio de diferentes insecticidas en el control del defoliador del eucalipto *Gonipterus scutellatus* y de su parasitoide *Anaphes nitens*. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*. 29: 649-658.
- Peshin, R., y A. Dhawan (Eds). 2008. *Integrated pest management : innovation-development process*, Volume 1. 1º ed. Springer, Berlin.
- Poelman, E.H., J.J. van Loon, y M. Dicke. 2008. Consequences of variation in plant defense for biodiversity at higher trophic levels. *Trends in Plant Science*. 13(10): 534-541.
- Porcile, J. 1998. *Psyllidae en Eucalyptus*. *Revista Uruguay Forestal*. 8(19).
- Rezende, M.Q., J.L. de Almeida Campos, L.M. Coelho, y D.L. de Queiroz Santana. 2010. Coleoptera, Coccinellidae, *Harmonia axyridis* (Pallas, 1773): New record in Minas Gerais, southeastern Brazil. *Check List*. 6(3).

- Rosado-Neto, G.H., y M.I. Marques. 1996. Características do adulto, genitália e formas imaturas de *Gonipterus gibberus* Boisduval e *G. scutellatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae). *Revta. bras. Zool.* 13(1): 77-90.
- Rosenheim, J. 1998. Higher-order predators and the regulation of insect herbivore populations. *Annual Review of Entomology.* 43: 421-447.
- Santana, D., y K. Zanol. 2005. Morfologia externa das ninfas e adultos de *Ctenarytaina spatulata* Taylor (Hemiptera, Psillidae). *Revista Brasileira de Entomologia.* 49(3): 340-346.
- Santolamazza-Carbone, S., A. Rodríguez-Illamola, y A. Cordero Rivera. 2006. Thermal requirements and phenology of the Eucalyptus snout beetle *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal. *J Appl Entomology.* 130(6-7): 368-376.
- Santolamazza-Carbone, S., A. Rodríguez-Illamola, y A. Cordero Rivera. 2004. Host finding and host discrimination ability in *Anaphes nitens* Girault, an egg parasitoid of the Eucalyptus snout-beetle *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal. *Biological Control.* 29(1): 24-33.
- Schmoldt, D.L., y G.L. Martin. 1986. Expert systems in forestry: Utilizing information and expertise for decision making. *Computers and Electronics in Agriculture.* 1(3): 233-250.
- Stone, C., M. Matsuki, y A. Carnegie. 2003. Pest and disease assessment in young eucalypt plantations: field manual for using the Crown Damage Index. Parsons, M. National Forest Inventory, Bureau of Rural Sciences, Canberra.
- Straub, C.S., D.L. Finke, y W.E. Snyder. 2008. Are the conservation of natural enemy biodiversity and biological control compatible goals? *Biological Control.* 45(2): 225-237.
- Tscharntke, T., R. Bommarco, Y. Clough, T.O. Crist, D. Kleijn, T.A. Rand, J.M. Tylianakis, S.V. Nouhuys, y S. Vidal. 2007. Conservation biological control and enemy diversity on a landscape scale. *Biological Control.* 43(3): 294-309.
- Van Driesche, R., R. Carruthers, T. Center, M. Hoddle, J. Hough-Goldstein, L. Morin, L. Smith, D. Wagner, B. Blossey, V. Brancatini, R. Casagrande, C. Causton, J. Coetzee, J. Cuda, J. Ding, S. Fowler, J. Frank, R. Fuester, J. Goolsby, M. Grodowitz, T. Heard, M. Hill, J. Hoffmann, J. Huber, M. Julien, M. Kairo, M. Kenis, P. Mason, J. Medal, R. Messing, R. Miller, A. Moore, P. Neuenschwander, R. Newman, H. Norambuena, W. Palmer, R. Pemberton, A. Perez Panduro, P. Pratt, M. Rayamajhi, S. Salom, D. Sands, S. Schooler, M. Schwarzländer, A. Sheppard, R. Shaw, P. Tipping, y R. van Klinken. 2010. Classical biological control for the protection of natural ecosystems. *Biological Control.* 54(Supplement 1): S2-S33.
- Venzon, M., A. Pallini, y A. Janssen. 2001. Interactions Mediated by Predators in Arthropod Food Webs. *Neotropical Entomology.* 30(1): 1-9.
- Vranjic, J.A., y J.E. Ash. 1997. Scale Insects Consistently Affect Roots More Than Shoots: The Impact of Infestation Size on Growth of Eucalypt Seedlings. *Journal of Ecology.* 85(2): 143-149.
- Zvereva, E.L., V. Lanta, y M.V. Kozlov. 2010. Effects of sap-feeding insect herbivores on growth and reproduction of woody plants: a meta-analysis of experimental studies. *Oecologia.* 163(4): 949-960.

CONTROL BIOLÓGICO DEL *GONIPTERUS SCUTELLATUS* POR *ANAPHES NITENS* EN URUGUAY

Alejandro González⁵, Pilar Savornin⁵ & Laura Amaral⁵

1. Introducción

El gorgojo del eucalipto, *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal, es un Curculionidae originario del sud-este australiano específico de *Eucalyptus* spp. (Withers, 2001). El primer país fuera de Australia donde se registró su presencia fue en Sudáfrica en 1916 desde donde el gorgojo inició una rápida expansión y colonizó en apenas 30 años la mitad del continente africano, desde el Cabo de Buena Esperanza al Lago Victoria, a una velocidad de unos 100 km/año (Rabasse & Perrin, 1979). En Sudamérica ha sido descrito en los siguientes países: Argentina (1926), Uruguay (1943), Brasil (1955) y Chile (1998).

Las larvas y los adultos de *G. scutellatus* se alimentan del follaje de eucalipto en crecimiento. El crecimiento de las poblaciones del gorgojo en pocos años se favorece con la abundancia de hospedantes preferidos, así como condiciones de clima templado, especialmente temperatura y precipitaciones, y ausencia o muy baja presencia de enemigos naturales (Tooke, 1953).

El alto potencial reproductivo del insecto, junto con su capacidad de defoliación intensa puede causar pérdidas de crecimiento o deformaciones (Santolamazza y Cordero, 1998); incluso los árboles pueden morir debido a infestaciones continuas (no observados en Uruguay).

En su estado adulto tiene un tamaño de hasta 9 mm de largo y 5 mm de ancho. Presenta la cabeza prolongada con un aparato bucal que se adhiere a los bordes de las hojas para alimentarse de ellas.

La larva puede alcanzar un tamaño de hasta 15 mm en su último estadio, es de color amarillo a amarillo verdoso, con dos bandas oscuras a cada lado y no presenta patas. Se caracterizan por secretar largos filamentos que corresponden a las heces.

Dependiendo del grado de desarrollo, la pupa es blanca a marrón, de aproximadamente 8 mm de longitud. Finalmente, los huevos son de color amarillento, de 1,2 a 2 mm de largo y se encuentran agrupados de entre 6 a 12 en una cubierta negra denominada ooteca.

En los sistemas forestales resulta difícil de instrumentar, así como económicamente costoso el control de la plaga por métodos convencionales (químico). Entre otras cosas, porque no hay productos específicos registrados que estén autorizados; además, la penetración de los insecticidas donde se ubica la plaga en el árbol es compleja, la rapidez de dispersión del insecto es alta y su ciclo corto. Al mismo tiempo, los productos químicos impactan sobre los enemigos naturales de otras plagas y sobre el ambiente. Por lo tanto, el empleo del control biológico se convierte en la táctica más acertada para el manejo de las poblaciones del gorgojo.

El control biológico puede definirse como el mantenimiento de la densidad de una especie plaga por debajo de un nivel determinado, gracias al empleo de enemigos naturales que son habitualmente introducidos a partir del lugar de origen de la plaga (De Bach, 1985). Para el caso del gorgojo del eucalipto, existe un agente de control biológico efectivo, esta es una pequeña avispa parasitoide llamada *Anaphes nitens* (Himenóptera: Mymaridae), la cual deposita sus huevos en el interior de las ovoposiciones del gorgojo. Allí las larvas del parasitoide se alimentan del embrión del gonipterus de tal manera que de cada huevo de *G. scutellatus* emerge un parasitoide en lugar de una larva de gorgojo (Cordero Rivera y Santolamazza Carbone, 2003, Santolamazza-Carbone S. et al. 2003, Tribe, 2005). Las anaphes miden entre 0.8 y 1 mm de largo, son de color negruzco y alas transparentes.

⁵ I+D Montes del Plata

En Uruguay, la *anaphes nitens* se encuentra naturalmente en el campo, generalmente en equilibrio con la plaga (gonipterus). Sin embargo, es claro que los monocultivos son especialmente vulnerables a las plagas, y los sistemas de control biológico pueden resultar muchas veces inestables, ya que si los enemigos naturales utilizados son demasiado eficientes, como para disminuir la población de su "presa", pueden ellos a continuación también resultar disminuidos. Por lo tanto bajo estas circunstancias años de buen control, pueden ser seguidos por años de control deficiente, hasta que las poblaciones de los enemigos naturales se recuperen (Cordero Rivera y Santolamazza Carbone, 2003).

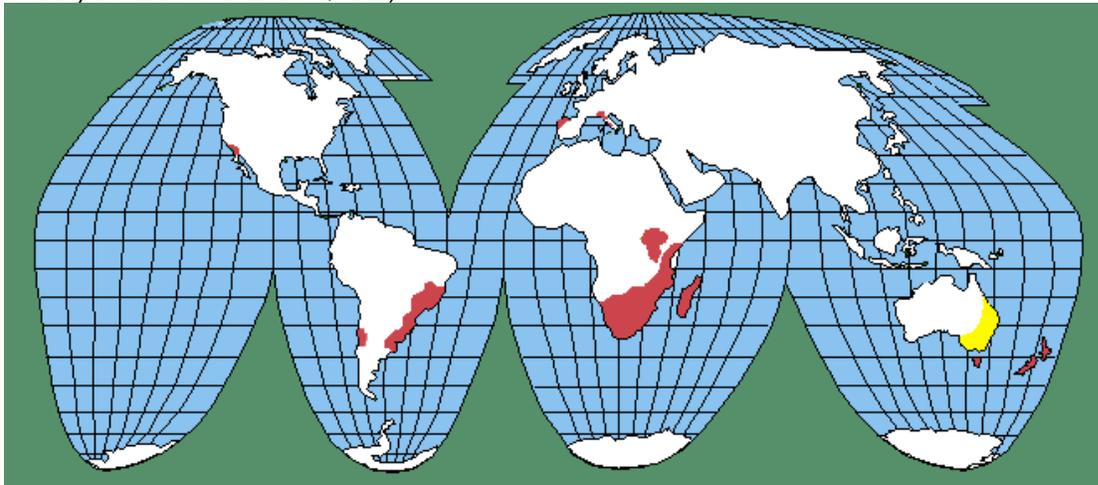


Figura 1. Distribución mundial aproximada de *Gonipterus scutellatus*. La zona amarilla indica el área geográfica original



Figura 2. *Gonipterus Scutellatus* adulto



Figura 3. *Anaphes nitens* adulto

Finalmente, y tras este período, emerge el gonipterus adulto. Este se alimenta mayormente de hojas nuevas y tiernas, aunque puede llegar a provocar daños también sobre hojas más viejas, si la densidad poblacional es muy alta. Las hembras comienzan a oviponer (madurez reproductiva), luego de 30 días aproximadamente. Las puestas las realiza preferentemente sobre las hojas nuevas de *Eucalyptus sp.*, pero si éstas escasean lo hacen igualmente sobre hojas más viejas e incluso sobre el pecíolo de las mismas.



Figura 5. Estadio larval 1



Figura 6. Estadios larvales 2 y 3



Figura 7. Estadio larval 4



Figura 8. Ooteca con huevos

3. Metodología de parasitismo de *anaphes nitens* sobre *gonipterus scutellatus*

El proceso de recolección de ootecas, producción, reproducción y posterior liberación de las *anaphes nitens* en campo, consta de varias etapas interrelacionadas entre sí que se detallan a continuación.

3. A. Monitoreo Mensual

Esta primera etapa, fundamental para la toma de decisiones posteriores, puede a su vez dividirse en dos niveles: 1- En Campo, 2- En Laboratorio.

1) En Campo

Montes del Plata tiene establecida una red de monitoreo mensual que cubre las distintas zonas representativas de la empresa (6 núcleos en total). Eventualmente, y si se considera necesario (aumento desmedido de la población plaga por ejemplo), en meses particulares puede extenderse esta red a otras regiones.

De cada lugar de muestreo se toman 10 árboles, espaciados entre sí, y de cada uno de ellos se colectan unas 10 ootecas, las cuales no pueden ser ni demasiado nuevas (no estarían aún parasitadas) ni tampoco

muy viejas (podrían haber eclosionado ya tanto las anaphes como eventualmente las larvas del propio gonipterus). La selección de éstas ootecas se hace en base al color de las mismas (negras, ni muy brillantes y/o blandas pues son demasiadas nuevas, ni tampoco muy opacas pues son muy viejas). Además, de cada árbol muestreado se toma registro de presencia/ausencia de gonipterus adultos, larvas u ootecas; si esta desfoliado, etc.

2) En Laboratorio

Ya en el laboratorio se seleccionan las 5 ootecas más adecuadas de las 10 colectadas originalmente para continuar el proceso (según criterio descrito anteriormente). Una vez seleccionadas estas 5 ootecas, las mismas se colocan individualmente en tubos de ensayos, con un pequeño trozo de hoja a la cual se encuentran adheridas. El tubo es tapado con algodón humedecido para asegurara así la humectación de la ooteca. Los tubos de c/núcleo son colocados en una bandeja plástica, identificándose la región (núcleo) y número de árbol. Los mismos son observados generalmente día por medio, registrándose en las planillas correspondientes, si ocurren, las eclosiones de *anaphes nitens* o larvas del propio *gonipterus scutellatus*. Este proceso es llevado a cabo durante 20 días, luego de lo cual se cierra y procesan los datos generados.

Este monitoreo mensual permite por un lado saber donde están dándose las mayores producciones de ootecas y eventualmente de daño, así como también donde son las regiones donde los niveles de parasitismo son mayores y menores. Consecuentemente, estos datos nos sirven por un lado, para saber donde recolectar ootecas en campo (zonas con mayores % de parasitismo) y además donde liberar luego las *anaphes nitens* producidas en laboratorio (zonas de menor % de parasitismo).



Figura 9. Ootecas individuales con trozo de hoja con un



Figura 10. Ooteca en tubo de ensayo tapada algodón humedecido.



Figura 11. Bandeja plástica con ootecas de un núcleo en particular

3. B. Recolección de Ootecas

Con la información generada previamente a partir de los monitoreos, se resuelve cual/es es/son la/s zona/s donde coleccionar las ootecas a campo. Se trata de realizar 3 colectas masivas por semana, dependiendo esto tanto de las condiciones climáticas como de la disponibilidad efectiva de tiempo por parte de las responsables.

3. C. Producción de *anaphes nitens* en laboratorio

Luego de hacerse la recolección de ootecas en el campo, éstas son llevadas al laboratorio, donde con extrema precaución se separan las mismas de las hojas a las cuales están adheridas y se colocan en cajas de petri. En la base de estas cajas, se coloca papel absorbente o un trozo de algodón humedecido para mantener con humedad las ootecas y así evitar su resecamiento. El nivel de mojado del papel o algodón es muy importante, pues debe ser el suficiente para que las ootecas no se des sequen pero al mismo tiempo no tanto que provoque un medio de cultivo adecuado para la proliferación de hongos que terminan pudriendo los ootecas y abortando el proceso (este nivel de humectación se ha ajustado luego de varios experimentos en el propio laboratorio).

Una vez que los adultos de *anaphes nitens* van emergiendo, se los va sacando uno a uno hacia tubos de ensayo. Este proceso es extremadamente delicado, dada la fragilidad de las micro avispas, y es realizado con pequeños pinceles. La cantidad de *anaphes nitens* por tubo (unidad de liberación) es de 50 a 100, dependiendo del tamaño del mismo. Para que las avispas que ya están en un tubo no vuelen y se escapen mientras se agregan las siguientes, el fondo del tubo es colocado cerca de luz intensa, y es hacia ahí donde tienden a ir las avispas mientras que por el lado opuesto (boca del mismo) se agregan nuevos ejemplares.

Luego de acondicionadas en los tubos, las micro avispas requieren de ser alimentadas con frecuencia diaria, esta alimentación consiste en una solución de agua y miel (eventualmente reemplazada por azúcar) en partes iguales que se colocan en pequeñas cantidades en las paredes del tubo de ensayo. La cantidad suministrada debe de ser muy pequeña pues en caso contrario puede ocurrir ahogo de las anaphes en dicha solución. Hasta su liberación en campo (no más allá de un par de días posteriores a su eclosión en laboratorio), los tubos son guardados en una heladera a 5°C, donde las avispas permanecen en semi-latencia. Es importante que la liberación en campo se haga con la mayor frecuencia posible considerando que la vida media de la *anaphes nitens* adulta es de 15 días aproximadamente. De esta manera puede tener un mayor tiempo de acción en campo y lograr un mayor control de la plaga.



Figura 12. Ootecas en caja petri con algodón humedecido



Figura 13. Ídem sobre papel absorbente humedecido

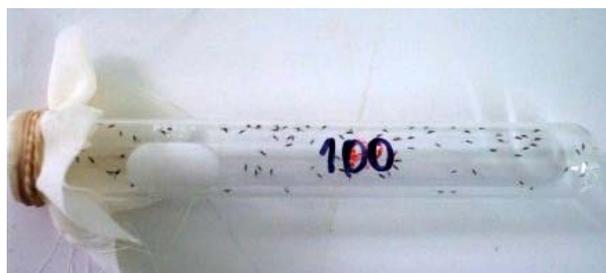


Figura 14. *Anaphes Nitens* en tubo de ensayo prontas para su liberación en campo

3. D. Producción simultánea y alternativa de ootecas parasitadas en laboratorio

Al mismo tiempo que se colectan ootecas desde zonas en campo con buenos niveles de parasitismo (explicado anteriormente), también se producen ootecas en el propio laboratorio. Para ello, se colocan de 100 a 150 individuos adultos de *gonipterus scutellatus* (recolectados en campo) en cajas de vidrios, con alimento suficiente, esto es, ramas con hojas tiernas, preferentemente puestas en frascos con agua para que se mantengan frescas y palatables para el insecto. Estas cajas de vidrios (tipo peceras) son cerradas y contienen en uno de sus costados una rejilla que permite la ventilación de las mismas. Las mismas se encuentran en una cámara de cría a una temperatura constante de 23°C y una humedad relativa de entre 60 y 70%.

La alimentación es cambiada día por medio, lo que exige un gran esfuerzo logístico pues es necesario ir a buscar dicho alimento a campo (desventaja importante en referencia a metodología detallada anteriormente). Así, con esta frecuencia se separan las hojas que contiene las posturas del insecto y además se realiza un recuento de los mismos intentando mantener constante la población base. Al mismo tiempo se recolectan ootecas del campo, y en el caso de que estas ootecas estén parasitadas, las *anaphes* que van emergiendo son colocadas en tubos de ensayo. Se procede a la identificación de éstas por sexo, colocando en cajas petri un total de 4 hembras y 4 machos, junto a un máximo de 10 ootecas extraídas de las cajas de vidrio donde se encuentran los *gonipterus*, para que de ésta forma las avispa puedan parasitar las mismas. Es necesario también colocar alimento en estas cajas para las *anaphes* (agua y miel).

Estas cajas de petri son identificadas con un N° y fecha, y son llevadas a la cámara de parasitación a una temperatura constante de 26°C y una humedad de 70%, con periodo de 12 Hs luz y 12 Hs de oscuridad. Del total de las ootecas parasitadas por esta vía, una parte es destinada al mantenimiento de la población de *anaphes nitens* y la otra es empleada para liberaciones de campo (como ootecas parasitadas), reforzando las liberaciones directas explicadas anteriormente.

4. Capacidad de control en campo de las *anaphes nitens* liberadas

Como fue dicho anteriormente, las unidades de liberación son de entre 50 y 100 avispa adultas. Si bien MdP no tiene aún experiencia propia respecto a cuanta superficie logra cubrir (parasitar) cada avispa liberada, en Chile, la empresa Bioforest (com. per. Ing. Dr. Rodrigo Ahumada) establece que entre 50 y 100 adultos son necesarias para cubrir 4 ha. Tomando la mitad del rango como válido (80), cada ha requeriría de unas 20 *anaphes nitens* para obtener un buen % de parasitismo sobre la plaga.

Actualmente, la producción media de *anaphes* (dependiendo de disponibilidad de tiempos, clima, etc.) es de unas 2500 avispa/semana, esto es unas 10000 avispa/mes. Eventualmente y si estos números logran mantenerse al menos constantes a lo largo de todo el año, la producción anual serviría para cubrir alrededor de 6000 ha (120000/20). Claro está entonces que el proceso debe de ser continuo y tomará varios años el tener un parasitismo adecuado y permanente en todo el patrimonio forestal...

5. Bibliografía

- Cordero, A., and S. Santolamazza. 2000. The effects of three species of eucalyptus on growth and fecundity of the eucalypt snout beetle (*Gonipterus scutellatus*). *Forestry* 73: 21–29.
- Cordero, A., S. Santolamazza, and J.A. Andrés. 1999. Life cycle and biological control of the Eucalyptus snout beetle (Coleoptera, Curculionidae) by *Anaphes nitens* (Hymenoptera, Mymaridae) in north-west Spain. *Agric. For. Entomol.* 1: 103-109.
- DeBach, P. & D. Rosen, 1991. *Biological control by natural enemies*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 1-440.
- Mansilla, J.P. 1992. Presencia sobre *Eucalyptus globulus* Labill de *Gonipterus scutellatus* Gyll. (Col., Curculionidae) en Galicia. *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas* 18: 547–554
- Rabasse, J.M. & H. Perrin, 1979. Introduction en France du charançon de l'Eucalyptus, *Gonipterus scutellatus* Gyll. (Col., Curculionidae). *Annales de Zoologie et Ecologie Animale* 11: 337 - 345.
- Rosado-Neto GH (1993) [First record of *Gonipterus scutellatus* in São Paulo State, Brazil, and some considerations on *G. gibberus*.] *Revista Brasileira de Entomologia* 37, 465–467 (in Portuguese).
- Rosado-Neto GH & de Freitas S (1982) Description of immature forms of the eucalyptus weevil *Gonipterus gibberus*. *Revista Brasileira de Biologia* 42, 467–471.
- Sanches MA (2000) [Parasitism of eggs of *Gonipterus scutellatus* and *G. gibberus* by the mymarid *Anaphes nitens* in Colombo, Paraná, Brazil.] *Arquivos do Instituto Biológico São Paulo* 67, 77–82 (in Portuguese).
- Santolamazza-Carbone S, Rodríguez-Illamola A & Cordero-Rivera A (2004) Host finding and host discrimination ability in *Anaphes nitens*, an egg parasitoid of *Gonipterus scutellatus*. *Biological Control* 29, 24–33.
- Tooke FGC (1955) The eucalyptus snout beetle *Gonipterus scutellatus*. A study of its ecology and control by biological means. *Entomology. Memoir, Department of Agriculture South Africa* 3, 1–282.
- Withers, T.M. 2001. Colonization of eucalypts in New Zealand by Australian insects. *Austral Ecol.* 26: 467–476.

EVALUACIÓN DE *Trichoderma harzianum* COMO AGENTE BIOPROMOTOR Y DE BIOCONTROL EN PLANTINES DE *Eucalyptus dunnii* MAIDEN.

Bach. Carlos Rossi ⁶, Ing. Agr. Graciela Romero ⁷

Palabras clave: *Trichoderma harzianum*; Biopromoción; Biocontrol; *Eucalyptus dunnii*.

1. INTRODUCCIÓN

Uno de los puntos salientes en la cadena forestal es la innovación tecnológica actual en los viveros forestales, los cuales, en el transcurso de estos últimos años han incorporado tecnologías apropiadas para acrecentar los estándares de producción y de calidad de los plantines. Estas innovaciones se originan a partir de la creciente demanda y exigencia de la industria del sector por la producción de plantines dentro de los parámetros de calidad, uniformidad y sanidad requeridos. En este marco se encuadra el uso de *Trichoderma harzianum* en viveros forestales como uno de los microorganismos más usados como agente de control biológico y como biopromotor del crecimiento vegetal. Por consiguiente en este trabajo se determinó el potencial y la eficacia de *T. harzianum* inoculado en sustrato, asociado a plantines de *Eucalyptus dunnii* para promover la calidad de los mismos según los parámetros más importantes utilizados en viveros forestales

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en el vivero "La Buena Unión" perteneciente a GFP y gestionado por la empresa Terrasys S.R.L. ubicada en el departamento de Rivera, URUGUAY en el período enero – abril 2010. El diseño experimental consistió en un muestreo independiente en el cual se tomaron 10 bandejas por tratamiento. El muestro consistió en la inoculación o no del sustrato con el agente (Trichosoil®) como única variable entre los dos tratamientos. Las medidas realizadas fueron las siguientes: en el vivero se midió diámetro de cuello, altura del plantín y tasa de supervivencia; mientras que en el laboratorio se midió peso fresco y peso seco de parte raíz y aérea, se realizó el análisis foliar, supervivencia de *Trichoderma* en sustrato y análisis de isoenzimas peroxidadas para corroborar la inducción de resistencia a nivel endógeno en la planta por el bioagente.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En cuanto al análisis foliar los niveles de macro y micro nutrientes examinados en este trabajo se encuentran por encima de los niveles nutricionales promedio mencionados en la literatura para *Eucalyptus dunnii* sin distinción de tratamientos. Sin embargo es importante señalar los niveles alcanzados en las muestras con tratamiento por nutrientes, determinantes en señalar a *Trichoderma*, como los principales en evidenciar la sinergia en la acción del bioagente con el vegetal, estos son: Nitrógeno, Hierro y Manganeseo. Ver cuadro 1. En cuanto a los parámetros físicos, los resultados indican que las muestras con tratamiento evidencian el efecto de *T. harzianum* como promotor del crecimiento en todos los parámetros evaluados, ver figura 1. Vale agregar que aquellos plantines tratados con *Trichoderma* lograron altos niveles de desarrollo en un período de tiempo menor que los plantines sin tratamiento. Aproximadamente 3 semanas antes de lo estipulado los plantines tratados ya habían comenzado las etapas de clasificación y rustificación, necesitando además menos aplicaciones de fertilizantes nitrogenados.

⁶ Estudiante de Tesis de grado. Depto. Ftal. Fac. d e Agronomía. carossi@adinet.com.uy

⁷ Profesora. Asist. Protección Ftal., Depto. Ftal. Fac. de Agronomía. labgrom@gmail.com

Cuadro 1. Concentraciones foliares de macro y micronutrientes correspondientes a períodos y tratamientos diferentes.

tratamiento	macronutrientes					micronutrientes				
	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	B
	% de la materia seca					ppm				
s/Trichod.	2.77	0.34	1.31	0.74	0.35	103	265	24	860	24
c/Trichod.	2.93	0.37	1.19	0.83	0.39	132	320	26	900	45
Concentraciones de referencia promedio de nutrientes foliares en <i>Eucalyptus dunnii</i>										
	1.93	0.09	0.74	0.44	0.16	153	137	9	11	----

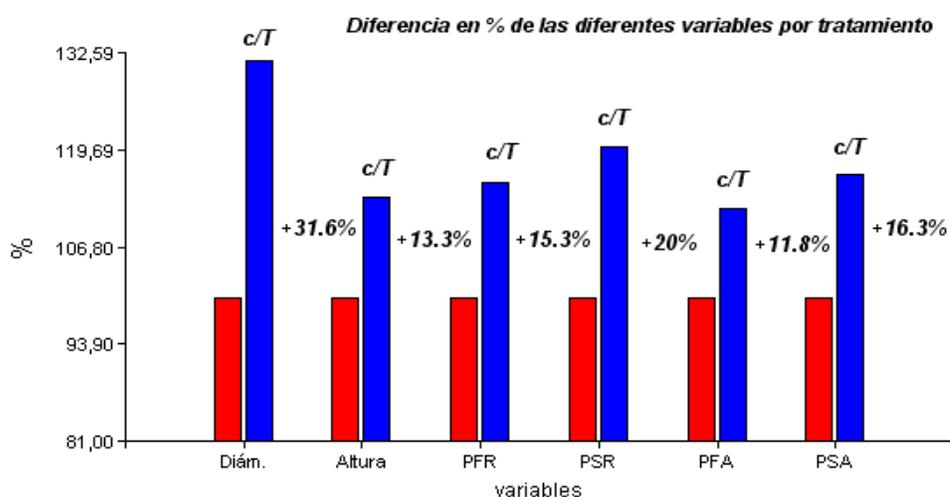


Figura 1. Diferencia en porcentaje de las variables medidas por tipo de tratamiento. Los tratamientos sin *Trichoderma* (en color rojo) se toman como base cien. Referencias, c/T: con tratamiento; PFR: peso fresco de raíz; PSR: peso seco de raíz; PFA: peso fresco aéreo; PSA: peso seco aéreo

En relación al estudio isoenzimático de peroxidasas, se identificaron en las placas de agarosa dos zonas de actividad peroxidasa que corresponden a dos formas diferentes de esta enzima. Estas modificaciones ocurren a causa del tratamiento con *Trichoderma harzianum*, que tuvo efecto en los mecanismos de síntesis post transcripcional de proteína, induciendo la formación de un tipo diferente de peroxidasa en el vegetal. Esto demuestra entonces la influencia a nivel endógeno del bioagente. Ver figura 2. En cuanto a la supervivencia de *Trichoderma* en sustrato los resultados indican una buena instalación del bioagente a lo largo del ensayo. Un resultado inesperado de este trabajo fue la aparición de agallas en plantines bajo tratamiento en un porcentaje relativamente bajo (2 a 3%). Este fenómeno fue atribuido a dos posibles causas: 1- *Trichoderma* al tener la capacidad de producir hormonas del crecimiento como las citoquininas en concentraciones importantes posiblemente provoca un desbalance hormonal en la raíz a favor de las Ck en relación a las auxinas provocando una estimulación anormal de la división celular en los tejidos de la raíz con formación de agallas y bajo volumen de raíces laterales. 2- La alta variabilidad genética presente en el vegetal producto de programas de mejoramiento incipientes generan genotipos vegetales susceptibles a las concentraciones de citoquininas del suelo y endógenas generándose como consecuencia la anomalía radicular.

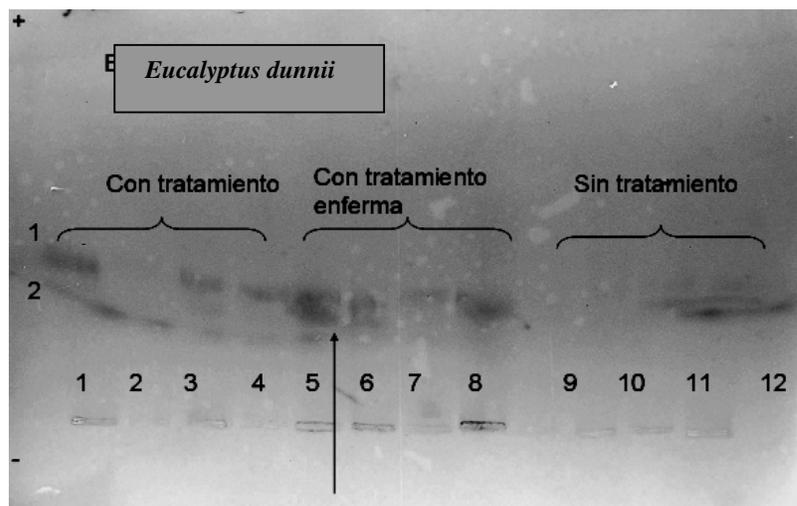


Figura 2: Imagen de placa de agarosa donde se visualiza la mayor migración de la banda 2 hacia el polo negativo

4. CONCLUSIONES

Los resultados indicaron que la aplicación de *Trichoderma harzianum* en el sustrato tuvo efecto promotor en el crecimiento de plantines de *Eucalyptus dunnii* evidenciado en todos los parámetros evaluados, diámetro de cuello, altura de plantas y peso seco y peso fresco, además de producir plantines más precoces y a los que no fue necesario agregarle la última dosis de fertilización por este mismo efecto. También se registró un aumento en los valores foliares de nutrientes como Nitrógeno (+5.7%), Hierro (+28.1%) y Manganeso (+20.7%). Se pudo constatar en los análisis isoenzimáticos de peroxidasas la presencia diferencial de *Trichoderma harzianum*, lo que está mencionado como agente de mayor resistencia ante condiciones de estrés de los plantines en etapa de plantación. La colonización y supervivencia de *Trichoderma harzianum* en sustrato se mantuvo en niveles adecuados a lo largo del ensayo.

5. LITERATURA CONSULTADA

1. EZZIYANI, M.; PÉREZ, C.; SID, A.; REQUENA, M.; CANDELA, M. 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). (en línea). Murcia, s.e. 12 p. Consultado feb. 2010. Disponible en <http://www.invenia.es/ihea/idhea.asp?verb=ListRecords&type=invenia&zona=lista&q=%22universidad+murcia+facultad+biologia%22&searchType=instr&page=3&count=10>
2. GARCÍA, E.; ARREOLA, A.; CASTRO, E. 2004. Oxígeno herramienta para fabricar defensas bioquímicas en la planta de chile. (en línea). s.n.t. 5 p. Consultado en feb. 2010. Disponible en <http://www.conacyt.mx/comunicación/Revista/ArticulosCompleto/pdf/Oxigeno.pdf>
3. GARCÍA, M. 2007. Importancia de la calidad del plantín forestal. In: Jornadas Forestales de Entre Ríos (22º, 2007, Concordia, Argentina). Trabajos presentados. (en línea). s.n.t. 10 p. Consultado feb. 2010. Disponible en <http://www.inta.gov.ar/concordia/info/Forestales/contenido/pdf/2007/312.II.GARCIA.pdf>

4. LAVENDER, D. s.f. Plant Physiology and Nursery Environment: Interactions Affecting Seedling Growth. (en línea). s.l. RNGR. 9 p. Consultado feb. 2010. Disponible en <http://www.rngr.net/search?SearchableText=Plant+Physiology+and+Nursery+Environment%3A+Interactions+%09Affecting+Seedling+Growth>
5. MADRIZ, K. 2002. Mecanismos de defensa en las interacciones planta-patógeno. (en línea). Revista Manejo Integrado de Plagas. no. 63: 22-32. Consultado mar. 2010. Disponible en <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A2097E/A2097E.pdf>
6. NEGRONE, C.; LEÓN, M.; VILLALBA, N. 2008. Evaluación del comportamiento de plantines de Pinus taeda L. con y sin aplicación de fertilización starter creciendo en sustrato con *Trichoderma harzianum*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 60 p.
7. ROMERO, G.; MARIUS, N. 2002. Deficiencias de nutrientes en eucaliptus. Montevideo, Facultad de Agronomía. 10 p.
8. _____. 2004. Enfermedades forestales en el Uruguay. Montevideo, Facultad de Agronomía. 47 p.
9. TAIZ, L.; ZEIGER, E. 2006. Plant physiology. Sunderland, Massachusettes, Sinauer Associates. 764 p.

Bacillus subtilis* COMO AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO DEL PATÓGENO DE PINOS *Fusarium circinatum

Silvina Soria, Raquel Alonso & Lina Bettucci[§]

Fusarium constituye un género de hongos que involucra muchas especies patógenas tanto de cultivos agrícolas como forestales. *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell es uno de los patógenos más importantes de las especies de *Pinus*. Es el agente causal del "pitch canker" o cancro resinoso, enfermedad cuarentenaria que afecta a distintas especies de pinos. La acción de este patógeno produce grandes pérdidas económicas en bosques naturales y en las plantaciones de distintas especies de pinos. Es una enfermedad destructiva que conlleva a bajos rendimientos y altos niveles de mortalidad de plantines así como de árboles adultos [1]. En plántulas en vivero los síntomas aéreos no se manifiestan hasta que el patógeno alcanza la zona del cuello, lo que se traduce en pérdida de color (amarillamiento) y secado de las acículas hasta la muerte de la plántula. La propagación de este hongo a grandes distancias ocurre a través del material de propagación de pino (semillas o plántulas) y de madera infectada. Una vez que el hongo se ha establecido en una zona se dispersa a través de sus esporas por el viento o insectos. Esta enfermedad se describió originariamente en el este de Estados Unidos [2] pero la presencia del patógeno se ha extendido y ha sido reportado en México, Sud África, España, Chile y Japón [3-5]. Recientemente, en Uruguay fue detectada su presencia en plántulas de *P. taeda* en vivero [6].

Las enfermedades producidas por hongos son muy comunes en los viveros donde el control químico de los patógenos es la práctica más frecuente. Una alternativa al uso de agroquímicos es el control biológico, esto es, la utilización de enemigos naturales o el aprovechamiento de compuestos derivados de su metabolismo para controlar el efecto de agentes patógenos. La utilización de agentes de control biológico puede reducir las cantidades de fungicidas químicos y con ello los desechos tóxicos y problemas que trae consigo tanto para la salud humana como para otros organismos.

Muchas especies y cepas del género *Bacillus* producen un gran número de sustancias antimicrobianas. *Bacillus subtilis* se considera una de las más importantes dado su capacidad para producir metabolitos con actividad antifúngica y antibacteriana contra un amplio espectro de microorganismos fitopatógenos [7]. Debido a la importancia que tiene *F. circinatum* se evaluó la posibilidad de realizar control biológico a fin de minimizar el efecto de este patógeno.

En este trabajo se evaluó el efecto antagonístico de bacterias del género *Bacillus* obtenidas como endófitas en plántulas de *Pinus taeda* y de sus metabolitos sobre el crecimiento del patógeno.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de cepas de *Fusarium circinatum* y de *Bacillus subtilis*

F. circinatum fue aislado a partir de plantines de *Pinus taeda* que presentaban síntoma de marchitamiento. Segmentos de los mismos se colocaron en cámara húmeda y también se realizó siembra en medio de cultivo PDA de tejidos superficialmente esterilizados. La identificación del patógeno se hizo en base a características micromorfológicas y posteriormente se verificó su identidad con técnicas moleculares. Se amplificó la región IGS con la utilización de los primers específicos CIRC1A y CIRC4A. Cuatro cepas bacterianas (B1, B2, B3 y B4) se obtuvieron de los segmentos inoculados en medio PDA y se seleccionaron aquellas que mostraban inhibición del crecimiento fúngico.

Evaluación de la inhibición del crecimiento de *F. circinatum* por bacterias vivas

[§] Laboratorio de Micología, Facultad de Ciencias-Facultad de Ingeniería, UdelaR.

Para evaluar la actividad antagonista de las distintas cepas bacterianas frente a *F. circinatum*, se colocó un disco de micelio fúngico en el centro de una placa y en cada una de las esquinas y a una distancia equidistante se inocularon 4 cepas de *B. subtilis*. Como testigo se utilizaron placas conteniendo solo el inóculo del hongo. Se realizaron cinco réplicas para los enfrentamientos mientras que los testigos se hicieron por duplicado. Se incubó a 25°C y se tomaron medidas del halo de inhibición durante 5 días.

Evaluación de la actividad de metabolitos bacterianos termoestables

Se realizaron cultivos líquidos de las bacterias (en PDB e incubadas durante 7 días a 28°C y 180 rpm) y se autoclavaron. Al medio de cultivo PDA se le adicionó 10 ml de caldo bacteriano y se sembraron discos conteniendo el hongo sobre este medio. Como testigos se utilizaron placas que contenían sólo el patógeno y el medio de cultivo (PDA) sin la incorporación de los metabolitos. Se realizaron tres réplicas para cada caso. Luego de incubarlos por 5 días se registraron las medidas de crecimiento del micelio desde el centro de la colonia del hongo hacia el borde (radio de la colonia) de crecimiento durante 4 días [8]. Se tomaron dos medidas perpendiculares en cada caso que fueron promediadas.

RESULTADOS

En todos los casos se observó inhibición en la velocidad de crecimiento del patógeno. En el caso de las bacterias vivas, todas las cepas mostraron efecto antagonista sobre *Fusarium*, deteniendo el crecimiento a varios milímetros (Fig. 1). Por otro lado, de la observación al microscopio de las hifas del hongo provenientes de la zona de interacción se pudo observar la presencia de hifas con deformaciones, vacuoladas y vacías.

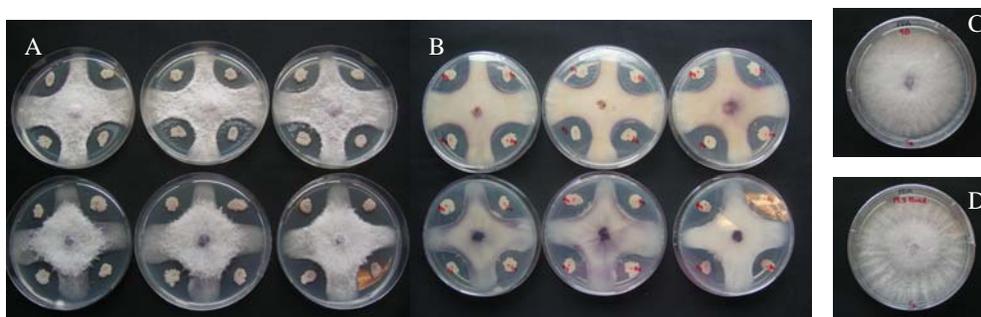


Figura 1. Halo de inhibición de la cepa fúngica Fc 2053 y Fc 2057 debido a bacterias vivas. A) Micelio aéreo. B) Reverso del micelio que muestra la pigmentación de las cepas fúngicas analizadas. C) Control cepa Fc 2053. D) Control cepa 2057

En cuanto al efecto de metabolitos bacterianos termoestables sobre la velocidad de crecimiento, se observó para todas las cepas una disminución con respecto al control (Fig. 2).

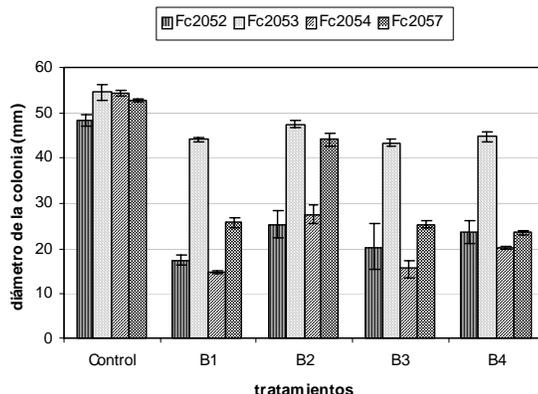


Figura 2. Promedio de inhibición de la tasa de crecimiento de cuatro cepas de *F. circinatum* por metabolitos bacterianos (B1, B2, B3 y B4).

CONCLUSIONES

En este trabajo se pudo comprobar que las bacterias, en este caso *Bacillus subtilis*, pueden utilizarse como agentes de biocontrol de *F. circinatum*. Si bien estos estudios son in vitro, su aplicación en condiciones de vivero es factible ya que en estas condiciones son controladas. La combinación de control biológico y control químico es una buena alternativa para disminuir el uso de fungicidas químicos.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Viljoen, A., Wingfield, M.J., Marasas, W.F.O. 1994. First report of *Fusarium subglutinans* f.sp.pini on pine seedlings in South Africa. *Plant Disease* **78**:309-312.
- [2] Kuhlman, E.G., Dianis, S.D., Smith, T.K. 1982. Epidemiology of pitch canker disease in a loblolly pine seed orchard in North Carolina. *Phytopathology* **72**: 1212-1216
- [3] Guerra-Santos, J.J. 1999. Pitch canker on Monterrey pine in Mexico. In, Devey ME, Matheson AC, Gordon TR (eds.), *Forestry and Forest Products. Current and Potential Impacts of Pitch Canker in Radiata Pine*. (technical report Vol.112). CSIRO Canberra, pp 58-61.
- [4] Wingfield, M.J., Jacobs, A., Coutinho, T.A., Ahumada, R., Wingfield, B.D. 2002. First report of the pitch canker fungus, *Fusarium circinatum*, on pines in Chile. *Plant Pathology* **51**: 397.
- [5] Perez Sierra, A., Landeras, E., Leon, M., Berbegal, M., García-Jiménez, J., Armengol, J. 2007. Characterization of *Fusarium circinatum* from *Pinus* spp. in northern Spain. *Mycological Research* **111**: 832-839.
- [6] Alonso, R., & Bettucci, L, 2009. First report of the Pitch canker fungus *Fusarium circinatum* affecting *Pinus taeda* seedlings in Uruguay. *Australasian Plant Disease Notes* **4**:91-92.
- [7] Todorova, S., & Kozhuharova, L. 2009. Characteristics and antimicrobial activity of *Bacillus subtilis* strains isolated from soil. *World J Microbiology Biotechnology* **26**:1207-1216.
- [8] Kupper, K. C., Gimenes-Fernandes, N., & de Goes, A. 2003. Controle Biológico de *Colletotrichum acutatum*, Agente Causal da Queda Prematura dos Frutos Cítricos. *Fitopatol. Bras.* **28**: 251-257.

RELEVAMIENTO SANITARIO DE *Eucalyptus* spp. EN EL SURESTE Y LITORAL OESTE DEL PAÍS

S. Simeto⁹; G. Balmelli⁹; G. Martínez⁹; D. Torres⁹; P. González⁹; D. Fros¹⁰; O. Bentancur¹⁰; C. Pérez¹⁰

I. INTRODUCCIÓN

El proyecto INIA "Cuantificación de la importancia de las plagas y enfermedades foliares que afectan plantaciones jóvenes de *Eucalyptus*", ejecutado en forma conjunta con la Facultad de Agronomía, está orientado a generar información que permita identificar los principales problemas sanitarios, conocer cuál es su distribución geográfica y su evolución en el tiempo, cuantificar el nivel de daño causado por cada problema y estudiar su posible relación con factores ambientales y/o genéticos.

La primera prospección sanitaria se realizó en la primavera de 2008 en plantaciones de *E. globulus*, de aproximadamente un año de edad, en las regiones Sureste y Litoral Oeste. En otoño de 2009 se realizó la segunda prospección, en plantaciones de entre 6 y 12 meses de edad. En la región Sureste se relevaron plantaciones de *E. globulus*, mientras que en el Litoral se relevaron plantaciones de *E. globulus*, *E. dunnii*, *E. grandis*, un híbrido de *E. grandis* x *E. globulus* y un híbrido de *E. grandis* x *E. urophylla*. En primavera de 2009 se volvieron a relevar las mismas plantaciones que en otoño (plantación de 12-18 meses aprox.) de manera de poder observar la evolución estacional de los problemas sanitarios. Se presentan en este trabajo los resultados obtenidos en esta última prospección y el análisis conjunto de las prospecciones realizadas hasta la fecha.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

II.1. Área de estudio

La ubicación de las plantaciones relevadas se presenta en la Figura 1. En la región Sureste se inspeccionaron 21 plantaciones de *E. globulus* en los departamentos de Rocha, Maldonado, Lavalleja, Canelones y Florida, en cada una de las cuales se evaluaron 4 transectas. En la región Litoral Oeste se relevaron 25 plantaciones, en los departamentos Paysandú, Río Negro y Soriano, cubriendo un total de 57 transectas: 40 de *E. dunnii*, 13 de *E. globulus*, 1 en *E. grandis*, 1 en un híbrido de *E. grandis* x *E. globulus* y 1 en un híbrido de *E. grandis* x *E. urophylla*. El total de 141 transectas relevadas cubren una amplia gama de situaciones productivas: 21 grupos de suelos, diferentes relieves y posiciones topográficas, diferentes manejos silviculturales (preparación del suelo, fecha de plantación, control de malezas, densidad de plantación, etc.), sitios forestados por primera vez y sitios con reforestación. Así mismo, la prospección incluyó plantaciones establecidas a partir de plantas de semilla (10 procedencias diferentes) y plantaciones clonales (5 clones diferentes).

⁹ Programa de Producción Forestal - INIA-Tacuarembó.

¹⁰ Depto. Biometría, Estadística y Computación – FEMAC – Facultad de Agronomía

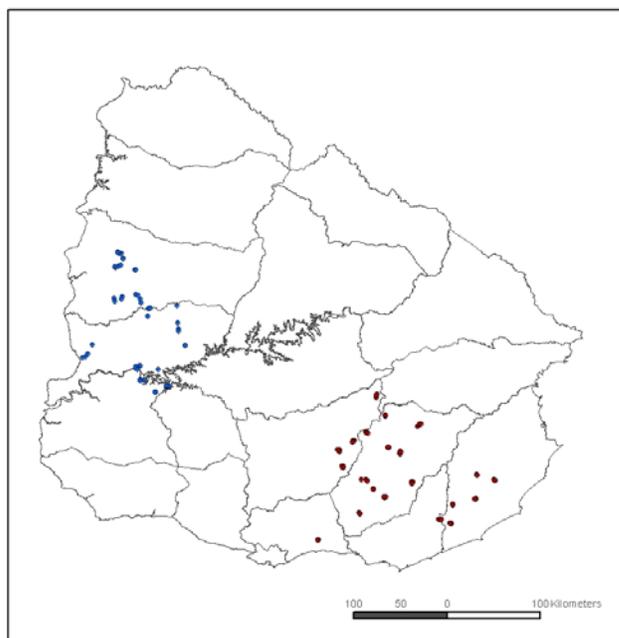


Figura 1. Ubicación de las plantaciones relevadas en primavera 2009

II.2. Protocolo de muestreo

Se eligieron 4 puntos de muestreo en cada plantación, tratando de cubrir toda el área, en cada uno de los cuales se relevó una transecta de 100 árboles. Se registró para cada transecta: ubicación geográfica (Latitud y Longitud), fuente de semilla, tipo de suelo CONEAT, posición topográfica, uso anterior del suelo, marco de plantación, intensidad silvícola, altura media y sobrevivencia.

Se evaluaron 10 árboles por transecta, cada uno separado del siguiente por 9 árboles. En cada árbol se estimó por apreciación visual la incidencia y severidad de enfermedades foliares y del ataque de insectos defoliadores, dividiendo la copa en dos partes (estrato inferior y estrato superior), en cada una de las cuales se determinó:

- incidencia (porcentaje de hojas afectadas) y severidad (porcentaje promedio del área foliar afectada) del daño causado por insectos defoliadores.
- incidencia y severidad del daño causado por enfermedades (defoliación y necrosis).

Con dicha información se estimó el daño foliar total en forma de índice (con valores de 0 a 100). El Índice de Daño Foliar (IDF), adaptado de Stone *et al.* (2003), se calculó cómo:

$$\text{IDF} = \text{Defoliación} + ((1 - \text{Defoliación}/100) \times (\text{Incidencia de Necrosis} \times \text{Severidad de Necrosis}/100)) + (\text{Incidencia de Insectos} \times \text{Severidad de Insectos}/100))$$

A su vez, el Índice de Daño de Enfermedades (IDE) se calculó cómo:

$$\text{IDE} = \text{Defoliación} + ((1 - \text{Defoliación}/100) \times (\text{Incidencia de Necrosis} \times \text{Severidad de Necrosis}/100))$$

Se colectaron hojas con síntomas de patógenos y ejemplares de insectos para identificar los agentes causales de las enfermedades y plagas encontradas, respectivamente. La identificación de patógenos

asociados a manchas foliares se realizó mediante morfología de cultivos y marcadores moleculares (Glen *et al.*, 2007; Maxwell *et al.* 2005).

II.3 Análisis de datos

Para el contraste de los niveles de daño entre estratos de los diferentes factores, cuando los datos lo permitieron, se realizaron análisis de varianza (ANOVA). A su vez, para el análisis conjunto de las diferentes prospecciones se utilizó el método de partición CART (Classification and Regression Trees).

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

¿Qué problemas sanitarios se encontraron y cuál fue la dispersión geográfica de cada problema?

Al igual que en prospecciones anteriores se encontraron síntomas de enfermedades foliares (manchas necróticas y defoliación), causadas principalmente pero no exclusivamente, por *Teratosphaeria nubilosa*. Este es el problema sanitario más importante que afecta a las plantaciones jóvenes de *Eucalyptus globulus* y su dispersión geográfica es muy amplia ya que se encontraron en todas las plantaciones y en todas las transectas (100% de prevalencia).

En el caso de insectos se registró la presencia del psílido fitófago *Ctenarytaina eucalypti* y defoliación causada por *Gonipterus* spp. El primero de estos insectos se registró en todas las plantaciones y transectas (100% de prevalencia), con una incidencia promedio (% de ápices afectados) del 55 %. En contraposición, en las transectas del SE se encontró *Gonipterus* spp. solamente en 5 del total relevado (6% de prevalencia), con un muy bajo nivel de daño (% de incidencia promedio es de 3.3 %). *Thaumastocoris peregrinus* también fue observado pero con muy baja prevalencia (<2%).

¿Cuál fue el nivel de daño foliar ocasionado por enfermedades y plagas y cuál fue su importancia relativa?

El nivel de daño foliar ocasionado por enfermedades y plagas al momento de la evaluación fue relativamente alto. En el Sureste el promedio de las 84 transectas relevadas fue 46%. Es decir que las plantaciones evaluadas habían perdido, en promedio, el 46% de su área foliar fotosintéticamente activa. Para el Litoral el promedio del índice de daño fue 9.5 % si consideramos la totalidad de las transectas relevadas, las cuales incluyen *E. dunnii*, *E. globulus*, *E. grandis*, *E. grandis* x *E. globulus* y *E. grandis* x *E. urophylla*. Si se consideran solamente las transectas de *E. globulus* del Litoral, el promedio del índice de daño fue 36% mientras que para las transectas de *E. dunnii* (que representan la mayor parte de las transectas del litoral), el promedio fue 0.4% (Cuadro 1). Resulta evidente que *E. globulus* es la especie más afectada principalmente por las manchas necróticas. En el caso de *E. grandis* y los híbridos, el escaso número de transectas no permite evaluar la mayor o menor susceptibilidad de la especie o híbrido a la enfermedad.

Es importante remarcar que si bien el índice de daño en *E. dunnii* fue muy bajo, la presencia de *T. nubilosa* infectando esta especie fue confirmada en relevamientos anteriores donde alcanzó niveles medios en algunas transectas (Balmelli *et al.*, 2009). Este hecho genera cierta preocupación sobre la evolución de la sanidad de esta especie. Si se planta material cuyo comportamiento frente a esta enfermedad se desconoce, potencialmente se podría favorecer el aumento relativo de la población de patógenos hacia aquellas especies más agresivas a *E. dunnii*, y agravar el impacto de las manchas foliares sobre dicha especie.

Los daños producidos por enfermedades (necrosis + defoliación) representaron prácticamente el 100% del IDF (IDE enfermedades+ IDI insectos). En este sentido, el análisis de los factores que interactúan con el daño foliar se basa en el índice de daño por enfermedad (IDE). A su vez, la defoliación fue el componente principal del IDE representando el 74.3% del mismo.

Cuadro 1. Índice de daño por enfermedad promedio según especie y región. n: número de transectas; SE: Sureste; Lit: Litoral

Especie	n	IDE
<i>E. globulus</i> SE	84	46
<i>E. globulus</i> Lit	13	36
<i>E. dunnii</i> Lit	40	0,4
<i>E. grandis</i> Lit	1	8,9
<i>E. grandis</i> x <i>E. globulus</i> Lit	2	2,6
<i>E. urophylla</i> x <i>E. grandis</i> Lit	1	0,0

¿Hay diferencias entre plantaciones y entre transectas de una misma plantación en el nivel de daño foliar?

El nivel de daño por enfermedad fue relativamente variable entre las diferentes plantaciones, con un IDE mínimo de 27% y un máximo de 74% para el Sureste. Considerando las transectas de *E. globulus* de la región Litoral, los valores mínimos y máximos del IDE son 1.7% y 76.1 %, respectivamente (Cuadro 2).

Cuadro 2. Valores mínimos y máximos de IDE para las plantaciones de *E. globulus* de las regiones Sureste y Litoral

IDE	Sureste	Litoral
Mínimo	22,6	1,7
Promedio	46	32
Máximo	66,3	46.73

A su vez, también se observan diferencias en el nivel de daño foliar entre las transectas de una misma plantación para el Sureste (Cuadro 3). Estas variaciones podrían estar explicadas por la interacción entre el patógeno (con diferente presión de inóculo según la zona), el hospedero (diversidad del material genético dentro de cada especie) y el ambiente (diversidad en tipo de suelo, fecha de plantación, posición topográfica, condiciones climáticas, etc.).

Cuadro 3. Valores mínimos, medios y máximos de IDE a nivel de transecta para las diferentes plantaciones evaluadas en la región Sureste.

Rodal	Depto.	IDE mín.	IDE prom.	IDE máx.
57	ROCHA	22,8	36,4	53,4
66	LAVALLEJA	55,5	66,3	74,1
68	LAVALLEJA	52,6	56,6	64,2
70	LAVALLEJA	43	57,4	69,7
71	ROCHA	45,8	55,0	58,8
72	LAVALLEJA	46,8	55,4	65,6
41	LAVALLEJA	24,9	32,1	38
47	LAVALLEJA	24,8	29,9	37
48	LAVALLEJA	26,9	34,4	39,5
51	LAVALLEJA	26,2	32,6	41,9
52	FLORIDA	16,6	22,6	27,2
58	CANELONES	34,3	50,2	64,8
40	ROCHA	46	47,0	48
62	ROCHA	40,6	47,6	54,1
61	ROCHA	57,7	62,0	67,5
74	FLORIDA	39,8	47,1	57
38	MALDONADO	45,8	56,7	66,5
49	FLORIDA	20,6	32,4	40,6
63	FLORIDA	40,5	48,7	56
59	LAVALLEJA	42,3	48,4	52,2
73	LAVALLEJA	28,6	42,7	58,2

¿Existen factores que expliquen las diferencias entre transectas en el nivel de daño provocado por enfermedades?

Factores de sitio

Para analizar el efecto de diferentes factores de sitio sobre el nivel de daño se agruparon las transectas por estrato de cada factor. La posición topográfica se agrupó en zonas bajas, laderas medias y zonas altas. Los tipos de suelo fueron considerados según el grupo CONEAT y para la región Sureste a su vez fueron agrupados por profundidad en superficiales (grupos 2.11a y 2.11b), medios (grupo 2.12) y profundos (2.13; 2.14; 2.21; 4.2 y 5.3) y en base a la observación *in situ* de la textura en pedregosos, gravillosos y arenoso-francos.

Los valores medios de daño foliar (IDE) para las transectas del Sureste (*E. globulus*) correspondientes a cada estrato se presentan en el Cuadro 4

Cuadro 4. Promedio de daño por enfermedades (IDE) para transectas de *E. globulus* del Sureste en diferente tipo de suelo y posición topográfica (los valores entre paréntesis representan el número de transectas en cada estrato).

Grupos CONEAT	IDE SE	Textura (por apreciación visual)	IDE SE
Profundos (14)	45.5 a	Gravilloso (26)	45.5 a
Superficiales (35)	47.1 a	Arenoso-franco (35)	45.3 a
Medios (34)	45.3 a	Pedregoso (22)	47.1 a
Posición Topográfica	IDE SE		
Bajo (16)	47.9 a		
Alto (34)	48.6a		
Medio (33)	42.9 a		

Nota: Los grupos con igual letra no difieren estadísticamente entre sí (LSD $p < 0,05$)

Para el índice de daño por enfermedades no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la posición topográfica, el tipo de suelo ni la textura o profundidad del mismo para las transectas de *E. globulus* en el Sureste.

Esta información sugiere que las características del sitio no tienen un efecto marcado sobre el nivel de daño foliar. En otras palabras, parecería que la elección del tipo de suelo o la posición topográfica no son alternativas que permitan reducir el riesgo de daño de enfermedades.

Al comparar el nivel de daño observado sobre las transectas de *E. globulus* del Litoral sobre diferentes tipos de suelo, se observa también una gran variación entre las mismas (Figura 2). Sin embargo, el bajo número de transectas realizadas y la baja representatividad de algunos tipos de suelo (con una única transecta) no permiten sacar conclusiones sobre el efecto de este factor. De igual forma, al considerar las transectas de *E. dunnii*, hay varios grupos de suelo que sólo tienen una única transecta y algunos materiales genéticos no tienen transectas en todos los suelos, lo cual limita la capacidad de análisis.

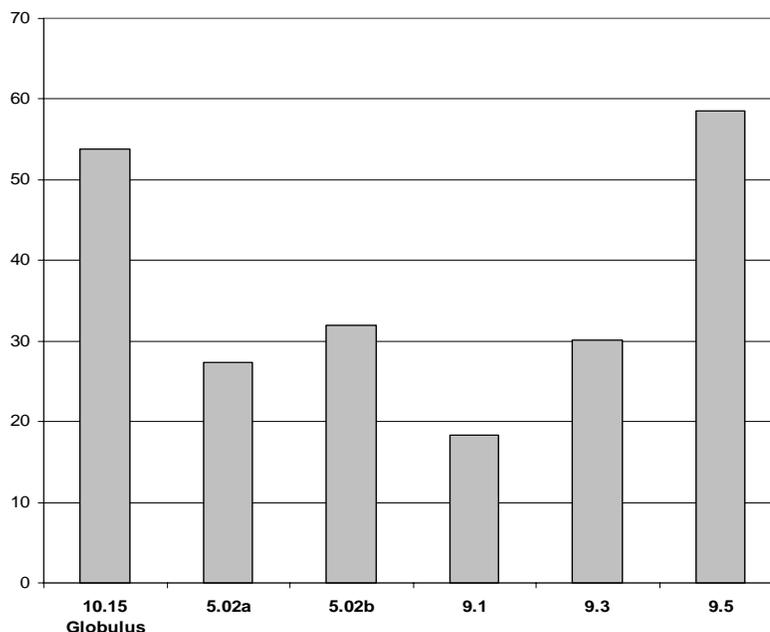


Figura 2. Nivel de daño por enfermedad (IDE) en transectas de *E. globulus* del Litoral para diferentes tipos de suelo

Factores de manejo

Para analizar el efecto de diferentes factores de manejo sobre el nivel de daño se agruparon las transectas por estrato de cada factor, por ejemplo para densidad de plantación se agrupó en baja, media y alta, y luego se comparó el IDE promedio de cada grupo (Cuadro 5).

Cuadro 5. Promedio de daño por enfermedades (IDE) para diferentes densidades de plantación y diferente intensidad silvícola para las transectas del Sureste. Los valores entre paréntesis representan el número de transectas en cada estrato.

Densidad de Plantación SE	IDE SE
Alta, más de 1400 árb/ha (23)	45.0a
Baja, menor a 1200 arb/ha (19)	47.6a
Media, entre 1200 y 1400 (41)	45.6a

Silvicultura (visual) SE	IDE SE
Intensidad Baja (15)	49.3a
Intensidad Media (41)	42.6a
Intensidad Alta (27)	49.2a

Nota: grupos con igual letra no difieren estadísticamente entre sí (LSD $p < 0,05$)

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el índice de daño en plantaciones con diferente densidad de plantación ni para plantaciones con diferente intensidad silvícola (según apreciación visual del control de malezas, homogeneidad del cultivo, etc.).

Tipo de plantación (clonal o seminal)

El nivel de daño provocado por enfermedades foliares en las transectas de *E. globulus* de plantaciones clonales y seminales se presenta en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Promedio de daño por enfermedades (IDE) para plantaciones de *E. globulus* clonales y seminales (los valores entre paréntesis representan el número de transectas de cada tipo de plantación).

Tipo de plantación	IDE
Seminal (70)	45.9 a
Clonal (26)	40.7 a

Nota: grupos con igual letra no difieren estadísticamente entre sí (LSD $p < 0,05$)

Para las transectas de *E. globulus*, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el nivel de daño entre plantaciones seminales o clonales.

Material genético

Con respecto a los niveles de daño para los diferentes materiales genéticos (fuente de semilla o clon) no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, a diferencia de prospecciones anteriores donde sí se constató cierta variabilidad genética en la respuesta a las manchas necróticas (Balmelli *et al.* 2009b)

III.3. Similitudes y diferencias entre los relevamientos de primavera 2008, otoño 2009 y primavera 2009

Los problemas sanitarios encontrados observados en todas las prospecciones fueron en mayor o menor medida los mismos (Balmelli *et al.* 2009a, b): enfermedades foliares, causadas principalmente por especies de *Mycosphaerella* y *Teratosphaeria*, presencia de *Puccinia psidii*, bacteriosis e insectos fitófagos (*Ctenarytaina eucalypti*) y defoliadores (*Gonipterus* spp). Tanto en primavera como en otoño las enfermedades fueron el principal problema sanitario, con una participación muy baja de los insectos como agentes de daño foliar. Esto se explica fundamentalmente porque las plagas de mayor importancia relativa como *Gonipterus* spp. y *Thaumastocoris peregrinus* generalmente se asocian a follaje adulto en plantaciones mayores a 2 años de edad, por lo cual la edad de las plantaciones muestreadas condiciona la importancia relativa de las distintas problemáticas. En las tres prospecciones realizadas, el principal problema sanitario fue *T. nubilosa*, patógeno que provoca manchas foliares y defoliación, principalmente en las plantaciones de primer y segundo año que aún mantienen el follaje juvenil. Este patógeno está provocando, desde el año 2007, importantes daños en las plantaciones de *E. globulus* de nuestro país (Pérez *et al.*, 2009a y Pérez *et al.*, 2009b)..

Un elemento común a todas las prospecciones realizadas, es la aparente ausencia de patrones de distribución geográfica de la enfermedad, la cual presenta una amplia dispersión en todo el país. A su vez, resulta evidente que para cualquiera de las estaciones y para cualquiera de los años existe una separación muy clara en el nivel de daño para las distintas especies de eucalipto, siendo *E. globulus* la especie más afectada.

En las prospección de primavera de 2008 (Balmelli *et al.* 2009a), se observaron diferencias en el nivel de daño para algunos factores como por ejemplo tipo de plantación (con mayor IDE en plantación seminal que en plantación clonal para *E. globulus*), germoplasma (algunos orígenes y clones presentaban menor IDE) y momento de plantación (menor IDE en plantaciones establecidas en otoño). Estos primeros resultados fueron preliminares y evidenciaron cierto grado de variación de los niveles de daño para las manchas foliares producidas mayoritariamente por *T. nubilosa*.

La prospección realizada en otoño de 2009 (Balmelli *et al.* 2009b) presentó en general, niveles de daño considerablemente menores en comparación con los realizados en primavera 2008 y 2009. Los mismos podían estar explicados por los bajos niveles de precipitación del verano y otoño 2009 ya que las condiciones óptimas de infección para *T. nubilosa* implican entre 5 y 7 días de follaje mojado y temperaturas de entre 15 y 20°C (Park *et al.*, 2000). Los niveles de daño observados en relación a los diferentes factores mayoritariamente no presentaron diferencias significativas salvo la intensidad silvícola (mayor intensidad silvícola presentó menor IDE) y algunas fuentes de semilla.

En primavera 2009 los resultados muestran niveles de daño similares a los de primavera 2008 y el mayor componente del índice de daño por enfermedades estuvo dado en ambos casos por la defoliación. En cuanto a los factores estudiados, salvo la elección de la especie, ninguno presentó diferencias significativas para los niveles de daño. Estos resultados son similares a los reportados por Stone *et al.* (2003) para *T. nubilosa*, quienes describen el ciclo de la enfermedad en plantaciones nuevas como: un primer período de infección leve en el primer ciclo de crecimiento (primavera u otoño, donde los síntomas son generalmente manchas pequeñas) y un segundo período de infección más severo durante el segundo ciclo de crecimiento (primavera u otoño, dependiendo de la fecha de plantación, donde aumenta la severidad y se produce la caída prematura de hojas). Si bien en ambos casos la severidad de la enfermedad depende de las condiciones ambientales, hay diferencias claras en la presión de inóculo presente en cada caso (en el primer período hay poco inóculo ya que el mismo proviene de fuera de la plantación, mientras que en el segundo período hay una alta presión de inóculo local, proveniente de las hojas manchadas previamente). Estos procesos vistos en el ciclo de la plantación, en los primeros 6 meses de edad llega y se establece la epifitias, y en los 6 meses posteriores aumenta su severidad no sólo aumentando el área foliar necrosada sino causando la caída de hojas. El invierno (por bajas temperaturas) y el verano (por falta de presencia de agua libre en la hoja) enlentecen el desarrollo de las epifitias, sin embargo se ha observado que ni las condiciones de invierno ni las de verano detienen el desarrollo de epifitias en Uruguay..

En cuanto al efecto de factores de sitio, manejo y material genético sobre el nivel de daño, los resultados fueron variables en las diferentes prospecciones. En el caso del efecto del tipo de plantación, la variación observada sobre el nivel de daño podría estar explicada por la proporción del tipo de follaje (juvenil o adulto) presente en cada caso. El nivel de daño en el follaje adulto, principalmente debido a defoliación, es inferior al del follaje juvenil por lo que es esperable que los clones que hubieran comenzado a cambiar cambiado su follaje al momento de las evaluaciones presentaran niveles más bajos de daño.

En el análisis de las transectas de *E. globulus* para todas las prospecciones con el método de partición CART (Classification and Regression Trees) evidencia una primer separación de factores (involucrados en el nivel de daño) a nivel de la estación en la que se realizó el muestreo. Esto concuerda con lo comentado anteriormente en cuanto a los altos niveles de daño observados en las campañas de primavera 2008 y 2009, y los bajos niveles para la campaña del otoño 2009. La segunda separación de factores se da por tipo de suelo y luego por genotipos y por tipo de plantación.

En base a la variabilidad de los diferentes factores estudiados, se desprende que ninguno parece tener un efecto determinante sobre el nivel de daño, a excepción de la especie seleccionada. Las variaciones observadas dentro de *E. globulus* podrían estar dadas por factores que aún no se han tenido en cuenta y que sean capaces de influir o de enmascarar el efecto de factores menores. Se ha mencionado anteriormente

(Balmelli *et al.*2009a, b) que un factor que podría explicar las variaciones en el nivel de daño observadas es la presión de inóculo diferencial. No existen antecedentes nacionales sobre este factor epidemiológico para las manchas foliares causadas por especies de *Teratosphaeria* y *Mycosphaerella* en plantaciones jóvenes de *Eucalyptus*. La inclusión de este factor así como su variación estacional en el estudio del nivel de daño causado por manchas foliares podría identificar si existe una mejor época de plantación de manera de minimizar el impacto de la enfermedad.

Por otro lado, es evidente que el germoplasma de *E. globulus* plantado en Uruguay presenta una gran susceptibilidad a *T. nubilosa* (como se dijo, principal componente del IDE observado), y un hospedero altamente susceptible interactuando con un patógeno altamente virulento resulta en que si se dan condiciones ambientales favorables, los distintos factores silvícolas tengan un impacto reducido sobre dicha interacción. Por esta razón, mientras ocurran condiciones ambientales favorables y no se introduzca germoplasma con mayor resistencia, los resultados observados en estos dos años de estudio indican que las distintas medidas de manejo no permiten reducir el IDE..

IV. CONSIDERACIONES FINALES

La información generada en este proyecto no deja lugar a dudas sobre la gran dispersión que presentan las enfermedades foliares que afectan a las plantaciones jóvenes de eucaliptos, sugiriendo por lo tanto que la elección del sitio de plantación no es una alternativa efectiva para reducir el riesgo de daño por enfermedades.

Los resultados obtenidos demuestran que *E. globulus* presenta una mayor susceptibilidad a enfermedades foliares que especies como *E. grandis* y *E. dunnii*. En este sentido, la sustitución de *E. globulus* por alguna de estas especies parece ser la medida más efectiva para reducir el riesgo de daño por enfermedades.

Si bien los resultados sobre la importancia que tiene la elección del material genético han variado en el transcurso de las diferentes campañas, la elección de un material precoz en el cambio a follaje adulto resulta en un menor nivel de daño foliar. Sin embargo se requiere más información para conocer la susceptibilidad relativa de los diferentes genotipos.

La inclusión de factores climáticos y micro climáticos en este proyecto, así como la evaluación de la presión de inóculo permitirá una mejor comprensión de la dinámica de la enfermedades en plantaciones jóvenes de eucaliptos. El análisis conjunto de este y los demás factores permitirá determinar si alguna de las medidas de manejo estudiadas explican las variaciones en el nivel de daño observadas y si eventualmente pueden ser utilizadas para minimizar el impacto de la enfermedad.

V. AGRADECIMIENTOS

A las empresas y productores forestales Grupo Forestal, Redalco, Cambium, Forestal Atlántico Sur, Montes del Plata, RMK, Intercontinental Timber, Forestal Oriental, Los Eucalyptus, Cecil Selby, Álvaro Perdomo y Von Metzen, por permitir el ingreso a sus plantaciones para realizar el relevamiento sanitario. A la Sociedad de Productores Forestales por colaborar en el financiamiento del proyecto durante el año 2009. Al Laboratorio de Micología de Facultad de Ciencias-Ingeniería por el apoyo en el proceso de identificación de patógenos.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Balmelli, G.; Simeto, S.; Martínez, G.; Torres, D.; Pérez, C.; Fros, D. y Bentancur, O. 2009a. Incidencia y severidad de enfermedades y plagas en plantaciones jóvenes de *Eucalyptus globulus* en las regiones Sureste y Litoral Oeste de Uruguay. Serie Actividades de Difusión N° 567. INIA. pp. 51-65.

- Balmelli, G.; Simeto, S.; Martínez, G.; Torres, D.; Pérez, C.; Fros, D. y Bentancur, O. 2009b. Relevamiento sanitarios de otoño en plantaciones jóvenes de *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus dunnii* en el Sureste y Litoral Oeste. Serie Actividades de Difusión N° 594. INIA. pp. 51-72.
- Park, R.F.; Keane, P.J.; Wingfield, M.J. and Crous, P.W. 2000. Fungal Diseases of Eucalypt Foliage. In: Disease and Pathogens of Eucalypts. CSIRO. pp. 153-239.
- Pérez, C.; Wingfield, M.J.; Altier, N. y Blanchette, R. 2009a. Mycosphaerellaceae and Teratosphaeriaceae associated with Eucalyptus leaf diseases and stem cankers in Uruguay. Forest Pathology 39: 349-360.
- Pérez, G.; Hunter, G.C.; Slippers, B.; Pérez, C.; Wingfield, B.D.; Wingfield, M.J. 2009b. *Teratosphaeria (Mycosphaerella) nubilosa*, the causal agent of *Mycosphaerella* Leaf Disease (MLD), recently introduced into Uruguay. European Journal of Plant Pathology. 125: 109-118.
- Stone, C., M. Matsuki, y A. Carnegie. 2003. Pest and disease assessment in young eucalypt plantations: field manual for using the Crown Damage Index. Canberra: Parsons, M. National Forest Inventory, Bureau of Rural Sciences. <http://affashop.gov.au/PdfFiles/PC12783.pdf>.

EFFECTO DE LA FERTILIZACIÓN FOLIAR EN *Eucalyptus globulus*.

Juan Mac Gregor¹¹

Introducción

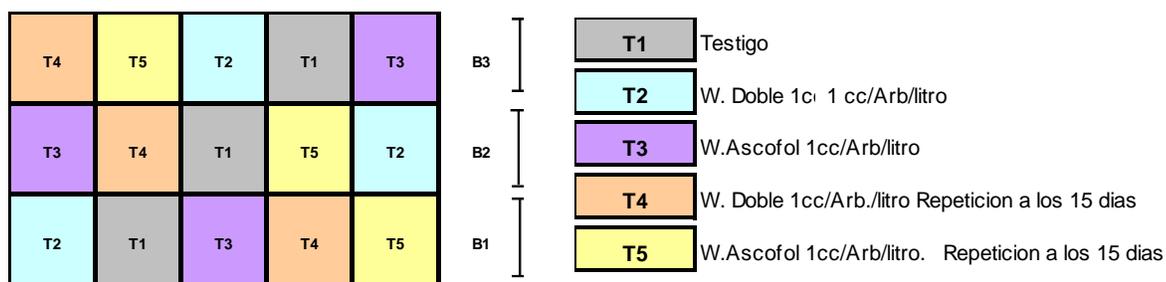
El *Eucalyptus globulus* es una especie con muy buenas propiedades pulperas, lo que ha llevado a su masiva plantación en Uruguay. Las condiciones climáticas y edafológicas de la zona sur del país hacen que esta especie se desarrolle en óptimas condiciones. Sin embargo, los patógenos foliares como la *Mycosphaerella* pueden llevar a una severa reducción de la productividad. En el relevamiento del estado sanitario de las plantaciones de la empresa¹, un 23% de las plantaciones de un año de edad tenían ataque severo y un 35% ataque medio.

La productividad puede verse reducida en los primeros años de la plantación, dado que afecta principalmente las hojas juveniles, sin embargo en determinadas situaciones puede posteriormente recuperar un desarrollo normal (Anna Smith, 2006). Por lo tanto es imprescindible acortar el periodo con hoja juvenil y lograr que en esta etapa la planta se encuentre en óptimas condiciones para que, de existir ataque, la recuperación sea inmediata. Una de las alternativas posibles para lograr esto último es la fertilización foliar.

Para evaluar el efecto de diferentes fertilizantes foliares se instaló un ensayo en una plantación de *E. globulus* que al segundo año presentaba daño provocado por *Mycosphaerella*. En relevamiento realizado durante el año 2008 se observaba una incidencia (proporción del fuste afectado por machas) del 75% y una severidad (proporción de lamina foliar manchada) del 35%².

Materiales y Métodos

- Fecha Plantación: Primavera 2007
- Especie: *Eucalyptus globulus*
- Origen: Jeeralang
- Suelo CO.N.E.A.T: 2.12
- Coordenadas Ensayo: X:763.261 Y:6.219.748 WGS84
- Fecha Instalación ensayo: 16 de setiembre de 2009
- Diseño de bloques completos al azar
- Tratamientos = 5
- Parcelas = 3 filas de 13 árboles
- Bloques = 3



1- INFORME ESTADO SANITARIO - MYCOSPHAERELLA Junio 2010
 2- INFORME - MYCOSPHAERELLA, SEGUIMIENTO CONTINUO Diciembre 2008

- Fertilizantes:

¹¹ Sierras Calmas

Wuxal Ascofol es una suspensión concentrada a base de algas marinas (*Ascophyllum nodosum* 27,5%) rica en microelementos y reguladores de crecimiento. Contiene macronutrientes, polisacáridos, un alto contenido en Boro, Zinc y Manganeso y cantidades balanceadas de Auxinas, Giberelinas, Citoquininas y Betaínas.

Composición Química	
Elemento	p/p%
Nitrogeno Total	2.5
Amoniacal	2.4
Orgánico	0.1
Potasio	1.25
Azufre	0.8
Boro	3
Calcio	0.14
Cobre	0.0003
Yodo	0.003
Hierro	0.005
Manganeso	0.8
Zinc	0.5

Wuxal Doble Suspensión es un fertilizante foliar super concentrado, especialmente indicado para lograr altos rendimientos en los cultivos.

Composición Química	
Macroelementos	gr/lit
Nitrogeno (N)	240
Fósforo (P ₂ O ₅)	240
Potasio (K ₂ O)	180
Azufre (S)	15
Microelementos	mg/lit
Boro (B)	300
Cobre (Cu)	750
Hierro (Fe)	1500
Manganeso (Mn)	750
Zinc (Zn)	50
Molibdeno (Mo)	15

- Aplicación:

La aplicación se realizó con mochilas de 20 litros con las concentraciones señaladas en los tratamientos. Dada la altura de los árboles y el método de aplicación, no fue posible aplicar en todo el árbol.

Evaluación

Se evaluó la altura como indicador del desarrollo. El ensayo se midió en octubre de 2010, al año de su instalación. Para la determinación de las alturas se utilizó clinómetro Haglöf y se tomó la distancia a los árboles con cinta métrica.



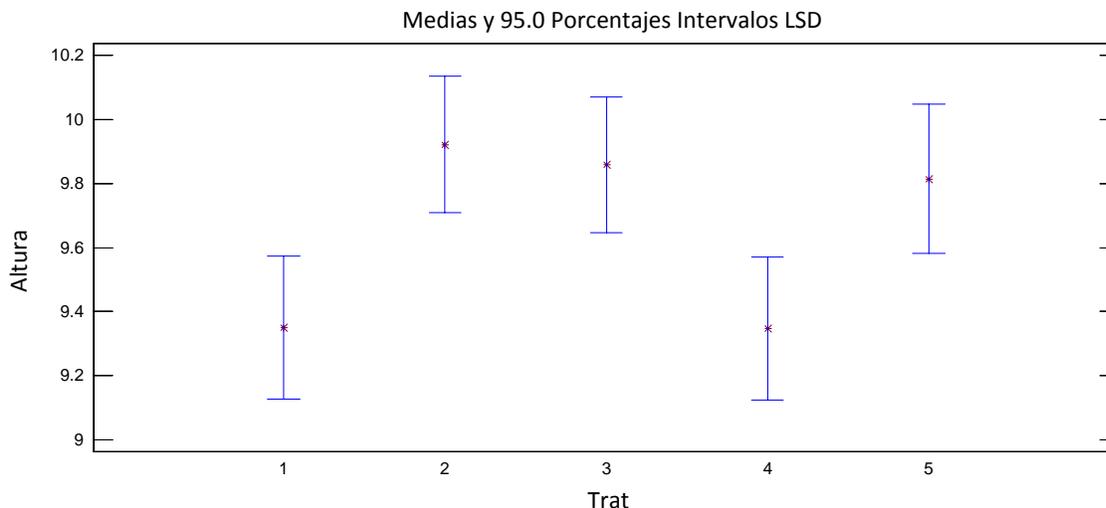
Resultados

Sumas de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	F-Ratio	P-Valor
Trat	26.3517	4	6.58792	3.19	0.0134
Bloque	0.974706	2	0.487353	0.24	0.7899
Trat*Bloque	23.1219	8	2.89023	1.40	0.1947
Residuos	817.648	396	2.06477		
Total (corregido)	868.209	410			

El efecto del tratamiento fue significativo ($P < 0.0134$). El efecto del bloque y de la interacción tratamiento x bloque, no fueron estadísticamente significativos.

Dado que el efecto tratamiento es significativo, se presenta las medias de los diferentes tratamientos.



1. Testigo
2. W. Doble
3. W. Ascofol
4. W. doble Repetición 15 días.
5. W. Ascofol Repetición 15 días.

Los fertilizantes aplicados afectaron el desarrollo en altura de los árboles. Tanto el tratamiento con Wuxal doble como Ascofol lograron alturas significativamente superiores al testigo. La refertilización con Wuxal (tratamiento 4) no tuvo diferencias significativas con el testigo. Este hecho debería estudiarse en posteriores ensayos, dado que podría existir un efecto adverso en aplicaciones reiteradas.

Los resultados obtenidos sugieren que la fertilización foliar puede acelerar la recuperación de árboles afectados por *Mycosphaerella*.

Consideraciones

- La aplicación del fertilizante foliar fue realizada tardíamente. Además, no se aplicó en todo el árbol.
- La concentración de fertilizante utilizada es inferior a la aplicada actualmente por diferentes empresas forestales. El aumento se ha basado simplemente en impresiones de los efectos en el desarrollo, dado que el producto no tiene recomendaciones para plantaciones forestales.
- La empresa actualmente ha establecido ensayos a mayor escala y con concentraciones superiores. Se realizan aplicaciones en los plantines antes de la plantación de forma de facilitar la aplicación.

RESISTENCIA GENÉTICA A LAS ENFERMEDADES: DE LA UTOPIA A LA REALIDAD

Carlos A. Pérez, Oscar Bentancur, Sofía Simeto, Darío Fros y Nora Altier¹²

En los últimos cuatro años las problemáticas sanitarias han ido tomando mayor importancia relativa en el rubro forestal, principalmente pero no exclusivamente en las plantaciones de eucalipto. Si bien históricamente se han reportado algunos eventos importantes de ataques de plagas (por ejemplo *Phoracantha semipunctata* y *P. recurva* en eucalipto y *Sirex noctilio* y *Rhyacionia buoliana* en pino), no fue hasta el 2007 donde se pudo realmente apreciar el poder destructivo de las problemáticas sanitarias forestales. Fue en dicho año cuando se comenzaron a observar severos ataques de manchas foliares en *E. globulus* causados mayormente por *Teratosphaeria nubilosa* (Pérez *et al.*, 2009a). Luego, el año 2008 fue predominantemente seco y eso favoreció el aumento poblacional de algunas plagas conocidas (como por ejemplo *Ctenarytaina eucalypti* y *Gonipterus* spp.) pero a su vez favoreció el aumento poblacional de la chinche del eucalipto (*Thaumastocoris peregrinus*) que había sido observada por primera vez en Uruguay a fines del 2007.

En el año 2009 nuevamente las condiciones ambientales favorecieron una nueva epifitias de manchas foliares causadas por *T. nubilosa*, principalmente en *E. globulus*, pero a su vez se comenzaron a observar manchas foliares asociadas a bacterias (especies patógenas no identificadas) en *E. grandis* (Balmelli *et al.*, 2009). Paralelamente se observaron importantes niveles de ataque del tizón apical bacteriano causado por *Erwinia psidii* principalmente en *E. dunnii*, aunque también fue observado en *E. grandis*. Las abundantes precipitaciones de noviembre del 2009 junto a las de febrero del 2010 permitieron que varias enfermedades aumentaran su nivel de daño. Así fue que a fines del 2009 y comienzos del 2010 se observaron epifitias de roya del eucalipto (*Puccinia psidii*) en *E. grandis*, que afectaron significativamente el crecimiento de los árboles en las plantaciones afectadas.

Esta reseña evidencia que en los últimos años las principales especies de *Eucalyptus* han sufrido sucesivos episodios sanitarios que interfieren en el buen crecimiento de los montes. Era esperable que el aumento del área forestada resultara en un aumento de las problemáticas sanitarias; sin embargo, la falta de información respecto a las pérdidas económicas que cada problemática puede causar en las condiciones de Uruguay, resultaron en que no se tomaran medidas preventivas respecto al manejo de las mismas.

Las características de los sistemas de producción forestal (cultivo extensivo, perenne y de relativamente baja inversión por hectárea) hacen que el uso de la resistencia genética durable sea la principal medida de manejo tendiente a minimizar la interferencia de las enfermedades sobre la rentabilidad del cultivo (Manion, 1991).

El mejoramiento genético o selección por resistencia genética a enfermedades puede realizarse mediante inoculación natural o inoculación artificial de los patógenos de interés. El método de inoculación natural es exponer el germoplasma en estudio ante el inóculo natural de los patógenos que estén presente y así evaluar en términos relativos el comportamiento de cada material. Este método es el que comúnmente se realiza en las evaluaciones de procedencias. Tiene como principal ventaja la practicidad; sin embargo, presenta varias limitantes que deben ser consideradas, como por ejemplo la evaluación queda condicionada a la presencia de inóculo y a la ocurrencia de condiciones ambientales favorables para que ocurra la enfermedad.

El método de evaluación mediante inoculación artificial se basa en multiplicar el inóculo del patógeno en el laboratorio y luego inocularlo en la planta, asegurando que ocurran las condiciones ambientales para que se desarrolle la enfermedad. Tiene como principal desventaja el ser más engorroso; sin embargo, como principal ventaja otorga seguridad al momento de evaluar los resultados, ya que se tiene certeza de que el patógeno, el ambiente y el hospedero coincidieron en el tiempo y en el espacio.

El método de evaluación de la resistencia por medio de la inoculación artificial no ha sido aún adoptado por el sector forestal del país, y se pretende en esta publicación detallar los fundamentos de modo de promover dicho método, principalmente debido a los aportes que el mismo puede brindar a los programas de mejoramiento por resistencia que busquen resistencia **durable** a las enfermedades.

¹² Ing. Agr. Protección Vegetal - INIA

El método de caracterización de la resistencia genética por inoculación artificial tiene cuatro pasos fundamentales: i) identificación de la enfermedad o enfermedades a controlar, ii) identificación del organismo causal de dicha enfermedad, iii) conocimiento de la estructura poblacional de patógeno en cuestión, iv) determinación del comportamiento sanitario del germoplasma disponible frente a la población de dicho patógeno.

i) Identificación de la enfermedad a controlar

El eucalipto presenta un diverso grupo de enfermedades que varían en importancia relativa debido a numerosos factores. El ideal sería buscar germoplasma de eucalipto resistente a todas las enfermedades; sin embargo, es claro que eso en la práctica es muy difícil y que el mejorador debe priorizar y balancear aquellos factores de selección a incluir en el índice de selección. Si se incluye la resistencia a todas las enfermedades, es probable que el mejorador se quede sin ningún germoplasma en su programa, por lo cual hay que pensar en una estrategia escalonada, donde en primer lugar se seleccionen materiales resistentes o de buen comportamiento frente a las principales enfermedades, y luego en una segunda etapa pasar a incorporar selección por resistencia a enfermedades de menor importancia relativa. A su vez esta prioridad dependerá de los objetivos de producción de cada empresa y de las especies cultivadas. Por ejemplo, la roya del eucalipto (causada por *Puccinia psidii*) puede ser la principal prioridad en *Eucalyptus grandis*; sin embargo, en *E. globulus* probablemente la prioridad sea el comportamiento sanitario frente a *T. nubilosa*.

Por tal razón, cada programa de mejoramiento debe priorizar la lista de enfermedades que afectan a la especie que está mejorando, y en base a dicha lista proceder a caracterizar el germoplasma del programa ante las principales enfermedades.

ii) Identificación del organismo causal

Generalmente se habla de las enfermedades como si cada enfermedad fuera causada por un único microorganismo; sin embargo, es importante recordar que en algunos casos una enfermedad puede ser causada por más de una especie patógena. Tal es el caso de las manchas foliares del eucalipto. Por lo general se les llama mancha por *Mycosphaerella*; sin embargo, se debe tener presente que en Uruguay se han reportado más de 13 especies fúngicas asociadas al síntoma de "manchas por *Mycosphaerella*" en eucalipto (Pérez *et al.*, 2009b).

La importancia de conocer la especie radica fundamentalmente en que distintas especies patógenas pueden tener distinta agresividad y por consiguiente distinta importancia relativa. Por esta razón, es importante definir frente a cuales especies se buscará resistencia en el germoplasma a desarrollar.

iii) Estructura poblacional del patógeno

La población de un determinado patógeno puede ser genéticamente homogénea o heterogénea. Cuando la población está compuesta por individuos genéticamente idénticos unos a los otros, se le llama población genéticamente homogénea o clonal, mientras que cuando la población está compuesta por individuos que no son genéticamente idénticos, se le llama población heterogénea o diversa.

Poblaciones que se reproducen sexualmente se caracterizan por presentar una alta diversidad genotípica debido a la recombinación genética que ocurre en cada generación. Por consiguiente, reproducción sexual generalmente se asocia a poblaciones genéticamente diversas.

Por el contrario, aquellos microorganismos que sólo presentan reproducción asexual generalmente se asocian a poblaciones menos diversas o clonales, donde toda la progenie es genéticamente idéntica a su padre.

El conocimiento de la estructura poblacional de un patógeno es crucial al momento de definir las evaluaciones del comportamiento sanitario del germoplasma de interés. El riesgo de estar frente a una población variable de un patógeno cuando se incluyen pruebas de patogenicidad en los programas de mejoramiento genético, es que la severidad de la enfermedad a cuantificar dependerá no sólo de la resistencia de la planta sino también de la agresividad del aislado del patógeno utilizado. Puede resultar que un germoplasma

determinado muestre muy bajo nivel de infección frente a la inoculación con determinada cepa del patógeno, pero que en realidad esa respuesta se deba a que la cepa es poco agresiva y no a la resistencia del germoplasma en sí.

Por otro lado puede suceder que la cepa utilizada para evaluar al germoplasma en el programa de mejoramiento no sea precisamente la más agresiva o el genotipo predominante en la población que tendrá que enfrentar ese germoplasma, una vez que sea transferido a la plantación en gran escala.

Por esta razón, resulta claro que para implementar programas de mejoramiento genético por resistencia a determinado patógeno se debe en primer lugar tener una correcta caracterización de la población del patógeno, de modo de poder elegir aquellas cepas a utilizar en las inoculaciones, ya sea por su predominancia en la población como por su agresividad.

iv) Determinación del comportamiento sanitario del germoplasma de interés

Una vez que se tiene identificada la enfermedad problema, el organismo causal de la misma, y la estructura poblacional de dicho patógeno, se puede proceder a caracterizar el comportamiento sanitario del germoplasma. Esta caracterización se realiza mediante inoculación artificial del patógeno en el hospedero a evaluar. En primer lugar se deben seleccionar los aislados o genotipos del patógeno que quieran ser utilizados para la selección, y aquí se pueden seleccionar por predominancia de los mismos en la población, o por agresividad.

Una vez seleccionados los aislados, se debe multiplicar el inóculo que será luego utilizado para las inoculaciones. Posteriormente se procede a la inoculación (depósito del inóculo sobre el hospedero). El método de inoculación depende de la estrategia del patógeno para causar infección. INIA ha ajustado distintos métodos de inoculación para algunos patógenos, y los mismos han sido publicados en Simeto *et al.* (2007).

Una vez inoculado el germoplasma se realizan las evaluaciones sanitarias para caracterizar la respuesta del mismo frente al patógeno inoculado. Este proceso permite no sólo caracterizar el germoplasma del programa de mejoramiento, sino que también se puede caracterizar el germoplasma que está en producción de modo de poder identificar qué materiales son más susceptibles a determinado patógeno y enfocar los monitoreos sanitarios con mayor énfasis hacia dichos materiales.

Estudio de caso

A modo de ejemplo del proceso de caracterización de la resistencia genética mediante inoculación artificial, a continuación se presenta el proceso que ha transitado este grupo de investigación tomando como estudio de caso al grupo de patógenos asociados al síntoma de canchros por "*Botryosphaeria*"

En primer lugar se **definió una enfermedad sobre la cual trabajar**, en este caso "canchros por *Botryosphaeria*". Posteriormente se procedió a **identificar las especies fúngicas asociadas a dicha sintomatología**. Por consiguiente, desde el año 2005, en el marco del proyecto FPTA 221 ejecutado por Facultad de Agronomía*, se han estado muestreando numerosas plantaciones de eucalipto en todo el país con el objetivo de identificar y caracterizar las especies de patógenos asociados a canchro del tipo *Botryosphaeria*.

De dicho muestreo se concluyó que actualmente hay al menos tres especies fúngicas asociadas a canchros por *Botryosphaeria* en las distintas especies de *Eucalyptus*, las cuales son: *Botryosphaeria dothidea*, *Neofusicoccum eucalyptorum* y un grupo perteneciente al complejo *N. parvum-N. ribis*. Paralelamente, estas tres especies fueron encontradas también en el monte nativo en distintas especies de mirtáceas, junto con la presencia de tres especies adicionales presentes en las nativas pero aún no encontradas en *Eucalyptus*: *Diplodia pseudoseriata*, *Lasiodiplodia pseudotheobromae*, y *Spencermartinsia uruguayensis* (Pérez *et al.*, 2010). Con esto se pudo conocer con certeza qué especies de patógenos eran causantes del problema a resolver.

* Proyecto FPTA 221, "Caracterización de las poblaciones de *Botryosphaeria* y *Mycosphaerella* presentes en las plantaciones de *Eucalyptus* en Uruguay". Depto. Protección Vegetal. FEMAC. Facultad de Agronomía.

Posteriormente se procedió a caracterizar las poblaciones de las distintas especies. Para esto se realizaron inoculaciones artificiales sobre un clon de *E. grandis*, de forma de que el hospedero fuese genéticamente idéntico, y al realizarse en condiciones ambientales controladas, las diferencias en los niveles de enfermedad se asociasen directamente al genotipo del patógeno.

En primer lugar se procedió a caracterizar cada una de las tres especies encontradas en *Eucalyptus* con el objetivo de conocer si los distintos aislados dentro de una misma especie presentaban variabilidad respecto a su agresividad (Figuras 1, 2 y 3).

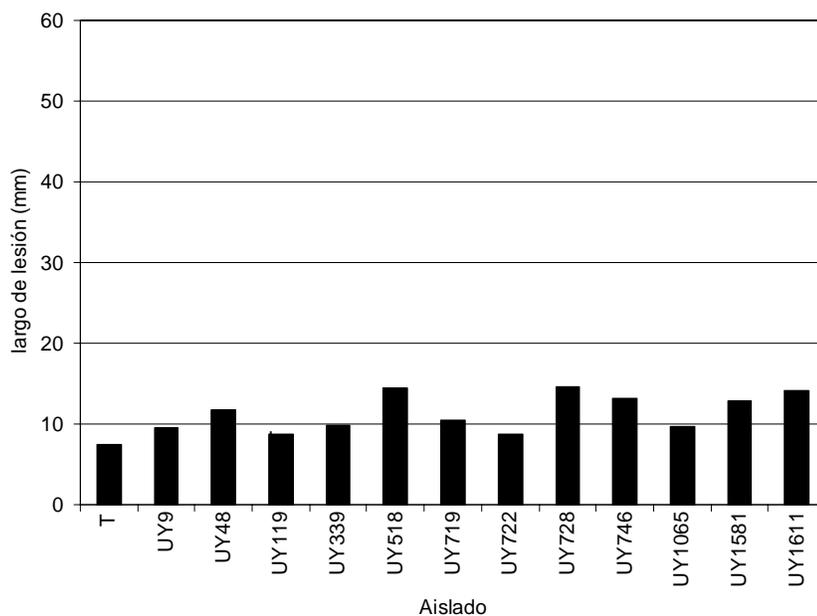


Figura 1: Variabilidad en la agresividad observada entre las cepas de *Botryosphaeria dothidea* inoculadas en plantines de 4 meses de edad de un clon de *E. grandis*. Cada cepa tuvo 5 repeticiones (o sea, inoculada en 5 plantas). El tratamiento T representa al testigo donde la lesión corresponde a la herida mecánica de la inoculación. No se encontraron diferencias significativas entre el testigo y las distintas cepas.

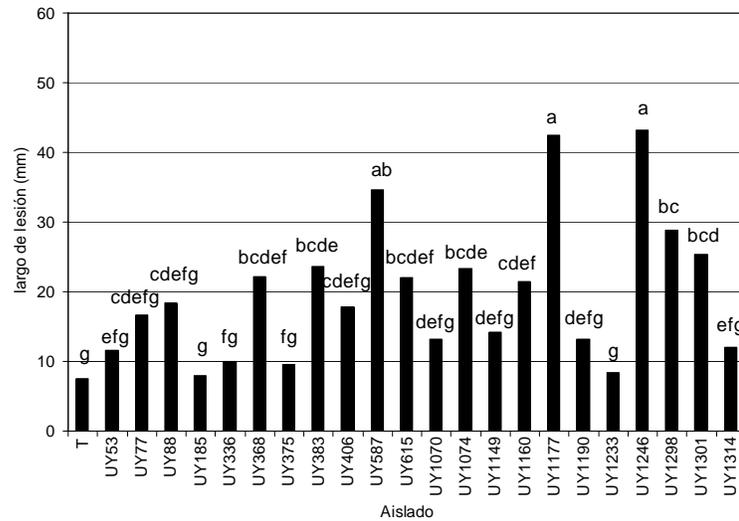


Figura 2: Variabilidad en la agresividad observada entre las cepas de *Neofusicoccum eucalyptorum* inoculadas en plantines de 4 meses de edad de un clon de *E. grandis*. Cada cepa tuvo 5 repeticiones y las distintas letras indican el resultado estadístico analizado por la mínima diferencia significativa (LSD, $P < 0.05$). El tratamiento T representa al testigo donde la lesión corresponde a la herida mecánica de la inoculación.

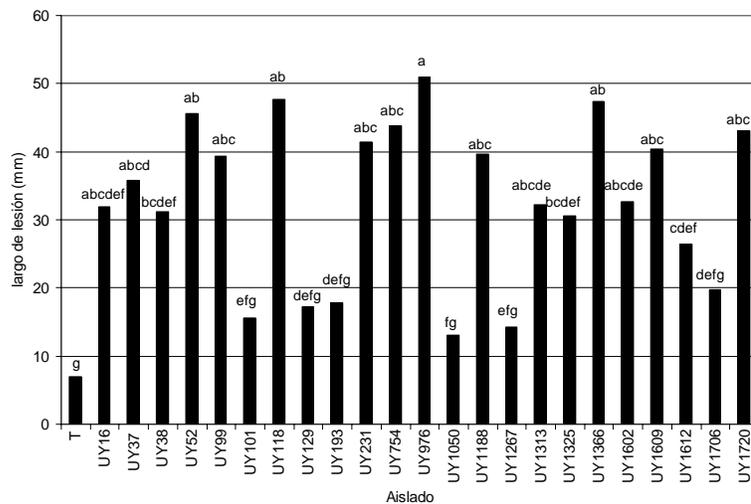


Figura 3: Variabilidad en la agresividad observada entre las cepas del complejo *Neofusicoccum parvum-N. ribis* inoculadas en plantines de 4 meses de edad de un clon de *E. grandis*. Cada cepa tuvo 5 repeticiones y las distintas letras indican el resultado estadístico analizado por la mínima diferencia significativa (LSD, $P < 0.05$). El tratamiento T representa al testigo donde la lesión corresponde a la herida mecánica de la inoculación.

Estos resultados indican que para el caso de *Botryosphaeria dothidea* ninguna de las cepas fue capaz de causar una lesión mayor a la generada por la propia inoculación, por lo tanto las lesiones observadas no difieren significativamente del testigo. Se puede concluir que este grupo de cepas no incluye ninguna cepa de interés para ser utilizada en un programa de mejoramiento ya que no tienen agresividad suficiente para avanzar en la planta más allá que la herida de la inoculación. Sin embargo, para confirmar esta hipótesis,

estas cepas deberían ser inoculadas en otro germoplasma, ya que puede suceder que el germoplasma utilizado sea resistente a las cepas evaluadas.

Por el contrario, tanto *N. eucalyptorum* como el complejo *N. parvum-N. ribis* muestran una gran diversidad en la agresividad de las distintas cepas que componen la población de cada especie. Estos resultados indican que no cualquier cepa va a tener igual importancia al momento de incluirlas en un programa de selección por resistencia. Por ejemplo, si un germoplasma se inocula con UY1233 de *N. eucalyptorum* y no se observa lesión, se podría concluir que el germoplasma es resistente; sin embargo, parece ser que dicha cepa presenta escasa agresividad. En ese caso, cuando el germoplasma evaluado y caracterizado como resistente se enfrenta a individuos similares a UY1246 se puede comportar como muy susceptible, y de aquí la importancia de ser cautelosos al momento de definir qué cepa será utilizada para caracterizar al germoplasma.

Con información como la expuesta arriba, se logra cumplir el punto "iii", teniendo ahora una población del patógeno caracterizada, donde se conoce la presencia de variabilidad en la agresividad entre cepas que componen a la población.

Una vez caracterizada cada una de las poblaciones de las especies asociadas a los canchros por *Botryosphaeria*, se puede proceder a **caracterizar el comportamiento del germoplasma ante las cepas más problemáticas** (las de mayor agresividad por ejemplo).

En el caso en estudio, se realizaron inoculaciones en distintos germoplasmas de *E. dunnii*, *E. grandis* y *E. globulus* (Cuadro 1), con dos cepas seleccionadas de cada una de las especies fúngicas en cuestión (una cepa identificada como agresiva y otra como poco agresiva). A su vez se incluyeron en el análisis tres especies fúngicas asociadas a canchros en mirtáceas en el monte nativo para evaluar la agresividad de las mismas sobre los distintos materiales.

Cuadro 1: Lista de genotipos de *Eucalyptus* inoculados

Especie	Tipo de plantín	Genotipo (código)
<i>Eucalyptus dunnii</i>	Seminal	A
	Seminal	B
<i>Eucalyptus globulus</i>	Clonal	C
	Clonal	D
	Clonal	E
<i>Eucalyptus grandis</i>	Clonal	F
	Clonal	G
	Clonal	H

Cuadro 2: Lista de cepas evaluadas según especie fúngica.

Especie	Cepa	Agresividad *
<i>Botryosphaeria dothidea</i>	UY518	B
	UY1065	B
<i>Neofusicoccum eucalyptorum</i>	UY1149	B
	UY1177	A
<i>Neofusicoccum parvum-N.ribis</i>	UY118	A
	UY1050	B
<i>Spencermartinsia uruguayensis</i> **	UY672	B
<i>Diplodia pseudoseriata</i> **	UY1605	B
<i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i> **	UY1356	A

(*) Agresividad según pruebas de patogenicidad realizadas sobre un clon de *E. grandis* (A: alta, B: baja).

(**) Cepas asociadas a canchros en mirtáceas nativas

Las inoculaciones se realizaron con 5 repeticiones, o sea cada combinación de germoplasma x cepa fue repetido 5 veces, y el tratamiento testigo de cada germoplasma consistió en la inoculación con un disco de agar estéril, simulando el mismo tratamiento que el resto pero sin la cepa.

La variable evaluada fue el largo de lesión observado a los 10 días post-inoculación como estimador de la resistencia de cada germoplasma ante cada cepa, en caso de comparar entre germoplasmas.

Para el caso de las dos fuentes de semilla evaluadas de *E. dunnii*, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las mismas, o sea, ambos germoplasmas presentaron similares comportamientos ante la misma cepa, siendo la cepa UY1356 de *Lasiodiplodia pseudotheobromae* la de mayor agresividad, seguida por las cepas UY1149, UY118 y UY1050 respectivamente. El resto de las cepas no difirieron significativamente del testigo, sugiriendo que las dos fuentes de semilla evaluadas presentan muy buena resistencia frente a las mismas.

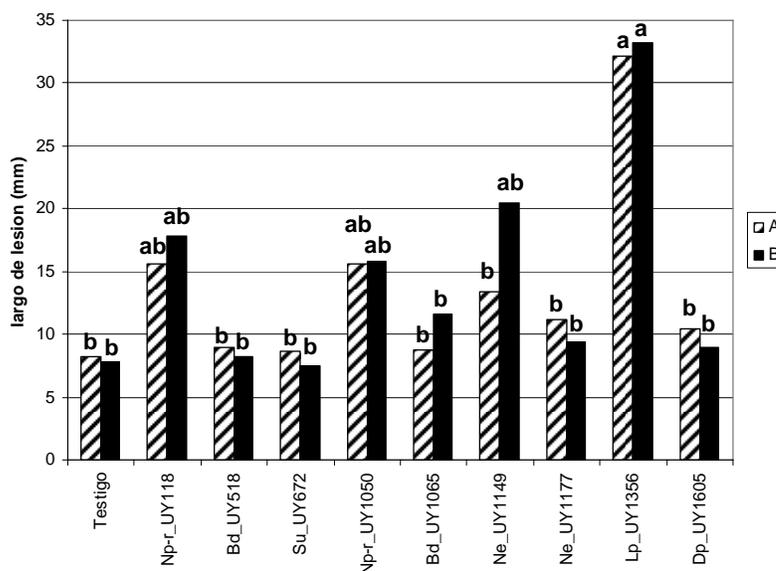


Figura 4: Largo de la lesión causada por cepa en dos fuentes de semilla de *E. dunnii*. Valores promedio de 5 plantas. Bd: *Botryosphaeria dothidea*, Lp: *Lasiodiplodia pseudotheobromae*, Ne: *Neofusicoccum eucalyptorum*, Np-r: *N. parvum-N. ribis*, Su: *Spencermartinsia uruguayensis*, Dp: *Diplodia pseudoseriata*. Barras con distinta letra difieren significativamente (Tukey-Kramer, $P < 0.05$).

Cuando se analiza el comportamiento de los tres clones de *E. grandis* evaluados se observan resultados similares a los obtenidos en *E. dunnii*, donde los distintos clones no difieren estadísticamente entre sí al ser evaluados ante las distintas cepas, a pesar de que por ejemplo frente a la cepa UY1356 se observaron tamaños de lesión muy diferentes. En este caso, a excepción de la cepa UY1356, el resto de las cepas no resultaron en lesiones significativamente mayores al testigo indicando que los clones inoculados presentan muy buena resistencia a los mismos.

Sin embargo, otra interpretación de los resultados podría ser que las cepas no son suficientemente agresivas, pero si se analizan las Figuras 2 y 3 donde las distintas cepas de *N. parvum-N. ribis* y *N. eucalyptorum* fueron inoculadas en otro clon de *E. grandis*, se observa una gran agresividad de cepas como UY1177 (Figura 2) o UY118 (Figura 3), confirmando que las cepas son agresivas pero en el caso de los clones evaluados en la Figura 5 los mismos son capaces de limitar el avance del patógeno en el tejido.

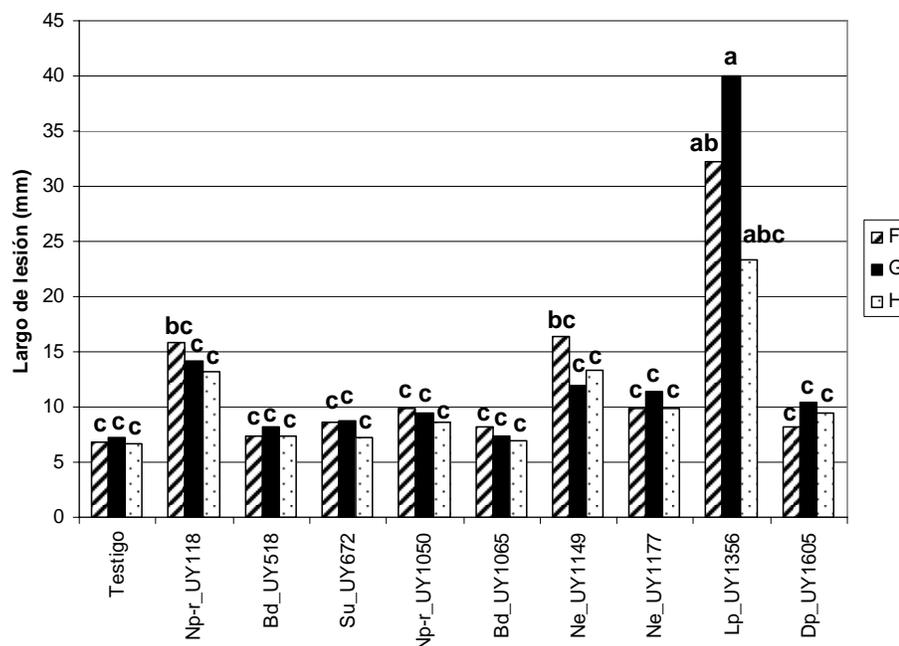


Figura 5: Largo de la lesión causada por cepa en tres clones de *E. grandis*. Valores promedio de 5 plantas. Bd: *Botryosphaeria dothidea*, Lp: *Lasiodiplodia pseudotheobromae*, Ne: *Neofusicoccum eucalyptorum*, Np-r: *N. parvum-N. ribis*, Su: *Spencermartinsia uruguayensis*, Dp: *Diplodia pseudoseriata*. Barras con distinta letra difieren significativamente (Tukey-Kramer, $P < 0.05$).

Al comparar el comportamiento de tres clones de *E. globulus* frente a las distintas cepas, se encontraron diferencias significativas entre los clones y una fuerte interacción con la cepa, donde por ejemplo el clon E es significativamente mejor que el clon C para la cepa de *Neofusicoccum parvum-N. ribis* UY118, pero es significativamente más susceptible frente a la cepa UY1356 de *Lasiodiplodia pseudotheobromae*. Estos resultados demuestran una vez más la ventaja de este tipo de evaluación, donde el comportamiento de un clon frente a una cepa no necesariamente refleja su comportamiento frente a otras cepas de la misma especie del patógeno u otras especies relacionadas a la misma enfermedad.

En el caso de *E. globulus* el tamaño de las lesiones observadas fue significativamente mayor que el observado en el resto de los germoplasmas evaluados, y cepas como UY118, UY1050, UY1149 y UY1356 fueron capaces de causar lesiones que difirieron significativamente del testigo. Nuevamente la cepa UY1356

fue la que mostró las lesiones de mayor tamaño reafirmando la amenaza que esta especie obtenida de las mirtáceas nativas representa para la sanidad de las tres especies de *Eucalyptus* evaluadas.

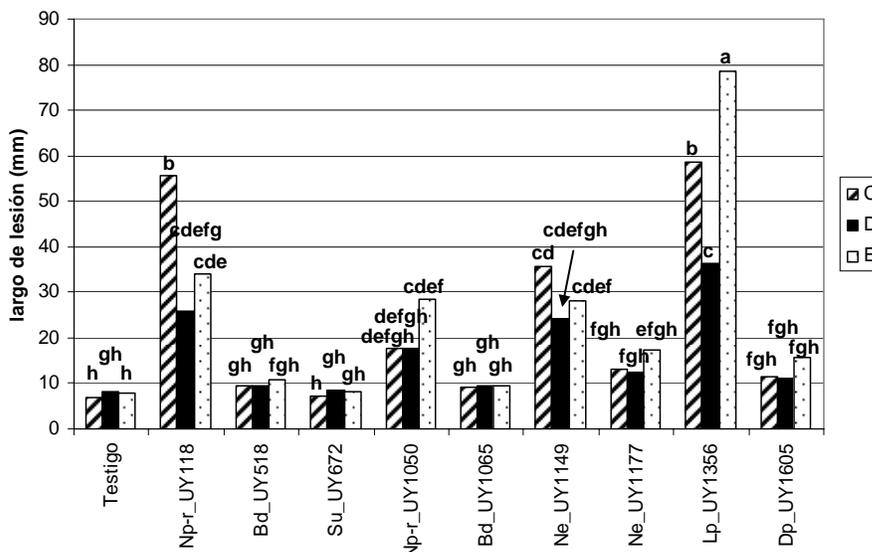


Figura 6: Largo de la lesión causada por cepa en tres clones de *E. globulus*. Valores promedio de 5 plantas. Bd: *Botryosphaeria dothidea*, Lp: *Lasiodiplodia pseudotheobromae*, Ne: *Neofusicoccum eucalyptorum*, Np-r: *N. parvum-N. ribis*, Su: *Spencermartinsia uruguayensis*, Dp: *Diplodia pseudoseriata*.

Estos resultados evidencian la importancia de esta herramienta para la caracterización del germoplasma de los programas de mejoramiento de eucalipto en el país ante los principales patógenos. La caracterización del comportamiento sanitario de cada germoplasma frente a los distintos patógenos permite planificar áreas de plantación, diversificando la misma con germoplasma de diversa susceptibilidad combinando materiales resistentes a diferentes problemáticas. Por otro lado, la selección de germoplasma resistente a las cepas más agresivas permite minimizar el impacto de dicha enfermedad sobre la producción de eucalipto, y si se evalúa la susceptibilidad ante un diverso grupo de cepas, permite estimar la durabilidad de la resistencia genética en el campo, ya que se está estimando el comportamiento actual del germoplasma ante las cepas de mayor agresividad.

El reciente aumento relativo de la importancia de las enfermedades sobre la producción de eucalipto sin dudas redundará en la inclusión de la resistencia a enfermedades dentro de los criterios de selección de los distintos programas de mejoramiento, y en este escenario, el desarrollo de un sólido programa de caracterización sanitaria será un pilar fundamental en la sustentabilidad del sector.

Referencias

- Balmelli, G., Simeto, S., Martínez, G., Torres, D., González, P., Fros, D., Bentancur, O., Pérez, C. 2009. Relevamiento sanitario de otoño en plantaciones jóvenes de *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus dunnii* en el Sureste y Litoral Oeste. Seminario Técnico de Sanidad Forestal. INIA. Tacuarembó. Serie de Actividades de Difusión 594:51-72.
- Manion, P. 1991. Disease control through genetic resistance. In: Tree disease concepts. Prentice-Hall, New Jersey. p. 361-369.

- Pérez, G., Hunter, G.C., Slippers, B., Pérez, C., Wingfield, B.D., Wingfield, M.J. 2009a. *Teratosphaeria (Mycosphaerella) nubilosa*, the causal agent of *Mycosphaerella* Leaf Disease (MLD), recently introduced into Uruguay. *European Journal of Plant Pathology* 125:109-118.
- Pérez, C., Wingfield, M.J., Altier, N.A., Blanchette, R.A. 2009b. Mycosphaerellaceae associated with *Eucalyptus* leaf diseases and stem cankers in Uruguay. *Forest Pathology* 39:349-360.
- Pérez, C., Wingfield, M.J., Slippers, B., Altier, N.A., Blanchette, R.A. 2010. Endophytic and canker-associated *Botryosphaeriaceae* occurring on non-native *Eucalyptus* and native *Myrtaceae* trees in Uruguay. *Fungal Diversity* 41:53-69.
- Simeto, S., Balmelli, G., Altier, N., Dini, B., Bennadji, Z. 2007. Desarrollo de protocolos de inoculación artificial para la caracterización sanitaria de *Eucalyptus globulus*. INIA. Serie Técnica 169. 25 p.

AVANCES Y POTENCIALIDADES DE LA BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR EN LA SANIDAD FORESTAL

Diego Torres Dini

Introducción

Históricamente la caracterización de patógenos se ha realizado en base a las características macro y micromorfológicas de las muestras colectadas a campo, o de los cultivos obtenidos de los materiales afectados. Sin embargo, la alta similitud en los caracteres morfológicos, la baja tasa de crecimiento y la limitada capacidad de esporulación de algunos de estos hongos en medio de cultivo dificultan muchas veces la identificación precisa.

Las técnicas de biología molecular basadas en PCR son una herramienta que complementan los análisis taxonómicos y tienen la ventaja de ser independientes de las características morfológicas y síntomas producidos en el hospedero. A nivel del ADN la diferencia entre las distintas especies es analizada según las distintas combinaciones de A, C, T y G que representan las cuatro bases del código genético (Figura 1). Estas metodologías a su vez tienen un gran potencial de uso en el diagnóstico, ya que reducen el tiempo del análisis a unas pocas horas. Adicionalmente pueden ajustarse para la detección en muestras colectadas en distintos puntos la cadena de producción (semillas, vivero, plantaciones o la propia madera).

Una vez determinado el patógeno en cuestión, puede ser empleado en la caracterización de germoplasma resistente. A su vez esta información resulta útil desde el punto de vista biotecnológico, para el desarrollo de mapas de ligamiento genético que faciliten la selección en los procesos de mejoramiento genético.

Identificación del Patógeno problema

El grado de variabilidad genética a evidenciar es el punto de partida de todo análisis molecular. Dependiendo de las características y el grado de conocimiento previo del problema, se puede plantear como objetivo: determinar el género, la especie(s) o las cepas en cuestión. Actualmente en nuestro país se están empleando estas metodologías para caracterización de mycosphaerellas, teratosphaerias, Puccinia psidii etc

En la caracterización de especies han sido ampliamente usadas la secuenciación del ARN ribosomal, como el ITS, IGS o LSU (White et al 1990; Gardes et al 1993). También se puede optar por ir aumentando el grado de resolución llegando a identificar a nivel genético entre las variantes (o cepas), de un mismo patógeno. En este caso resulta de gran utilidad usar marcadores hipervariables a nivel molecular, como los microsatélites o SSR (Zhong et al 2007, Hunter et al 2006).

De esta manera se identifica el problema, integrando la información molecular con la información fenotípica, obtenida de la caracterización morfológica. Asociando un patrón molecular para cada uno de los aislamientos obtenidos, facilitando así su identificación.

Evaluación de Germoplasma.

Una vez identificado el patógeno se pueden realizar ensayos de inoculación evaluando así como reaccionan los diferentes clones ante la enfermedad. De esta manera se pueden determinar cuales son las cepas más agresivas y cuales son los clones más resistentes. Esta información resulta muy valiosa para mejoramiento genético ya que permite determinar cuales son los materiales más promisorios. A su vez estos datos pueden ser utilizados como insumos en el desarrollo de estrategias de mejoramiento que permitan obtener más información acerca del mecanismo de resistencia.

Por ejemplo cruzando un clon resistente con uno susceptible se genera una progenie segregante la cual es nuevamente caracterizada por inoculaciones con el patógeno. De esta manera se puede inferir si se está ante una resistencia de tipo monogénica (asociada a un solo gen) o poligénica (varios genes implicados). En caso

de estar ante una resistencia monogénica tienden a predominar dos estados contrastantes en la descendencia conocidos como resistencia (R) o susceptibilidad (S) (Torres-Dini 2004; Dalla Rizza 2006). En caso de ser una resistencia de tipo poligénica predominan los estados intermedios. Contar con una población segregante fenotípicamente caracterizada, permite la construcción de mapas de ligamiento genético y la identificación de marcadores para la selección asistida (MAS).

Construcción de Mapas de Ligamiento.

Estos se realizan con el fin de identificar puntos en el Genoma asociados a características fenotípicas de interés para el mejoramiento como ser: resistencia, calidad de madera, DAP etc (Junghans et al 2003; Thamarus et al 2004; Novaes 2007). Una vez identificados estos puntos, se podrán utilizar como marcadores moleculares en la selección asistida.

Para construir un mapa de ligamiento se necesita:

- Contar con una buena metodología caracterización fenotípica, en el caso de sanidad mediante inoculaciones con el patógeno.
- Una población de mejora, resultado de un cruzamiento controlado entre individuos fenotípicamente contrastantes, para la característica de interés, en el caso de sanidad un cruzamiento de RxS.
- Marcadores moleculares hipervariables y de amplia distribución en el genoma.

Una vez que se reúnen todos estos elementos se puede aplicar el marco teórico que sustenta la construcción de los mapas de ligamiento. El mismo surge de la genética tradicional, más precisamente de las leyes de Mendel (Figura 2).

Equilibrio de Ligamiento: cuando genes de poblaciones segregan de manera totalmente independiente uno del otro. La frecuencia de recombinación de estos dos marcadores es exactamente de 50%. Por lo que no se puede determinar si están en puntos distantes de un mismo cromosoma o en cromosomas separados.

Desequilibrio de Ligamiento: propiedad de algunos marcadores de las poblaciones genéticas de no segregan de forma independiente, o sea que poseen una frecuencia de recombinación menor del 50%. Esto se debe a que los dos marcadores se encuentran físicamente cerca en el mismo cromosoma, lo que imposibilita su transferencia a la progenie de manera aleatoria. Es precisamente este concepto el que se usa para construcción de mapas de ligamiento.

Si contamos con un amplio número de marcadores, equitativamente distribuidos a lo largo del genoma, podemos generar mapas de alta densidad. O sea, mapas en los cuales la distancia entre un marcador y el siguiente es muy estrecha (Petroli 2010; Sansaloni 2010a). La unidad empleada para medir la distancia es el CentiMorgan (1 CM equivale a un 1% de recombinación entre dos marcadores). Por ejemplo en *Eucalyptus grandis* se identificó el gen Ppr1 que confiere resistencia a *Puccinia psidii* mediante esta metodología. Dicho gen confiere resistencia monogénica y segrega junto con un marcador molecular estrechamente ligado a 3,6 CM. Dicho marcador ha sido usado para asegurar la presencia de Ppr1 en ensayos de introgresión (Figura 3; Junghans et al 2003; Mamani et al 2010).

Mediante la incorporación de mapas de ligamiento en los programas de mejoramiento genético se logra un conocimiento más profundo de la población de mejora. Al analizar como segregan los fenotipos y asociarlos a los marcadores con los que estén más estrechamente ligados en la progenie. Una vez identificados estos marcadores pueden emplearse en las próximas generaciones como marcadores de selección asistida (Torres-Dini 2004; Dalla Rizza et al 2006), reduciendo así los tiempos del mejoramiento y aumentando la productividad (Grattapaglia & Kirst 2008, Sansaloni 2010b).

Selección asistida por marcadores (MAS).

Esta es una de las principales aplicaciones de la biotecnología molecular, se puede aplicar a cualquier característica fenotípica. En los programas de mejoramiento se puede tardar varios años hasta que se pueda desarrollar la selección fenotípica. Sin embargo existen antecedentes de programas forestales que mediante el empleo de MAS lograron reducir a semanas los tiempos de selección, en características como calidad de madera (Figura 4; Grattapaglia com pers; Novaes 2007). En la evaluación de germoplasma resistente a *Puccinia Psidii* también han sido utilizadas estas herramientas. Mas precisamente mediante en monitoreo del gen de resistencia *Ppr1*, asegurando así la obtención de clones resistentes (Figura 3; Junghans et al 2003; Mamani et al 2010).

Discusión

La biotecnología molecular contribuye así a generar un mayor conocimiento del problema sanitario. Dicha información surge del abordaje interdisciplinario junto disciplinas como la fitopatología y mejoramiento genético.

Los avances en el campo de la Biotecnología se incorporan a la mejora genética tradicional, y la fitopatología. Generando un conocimiento mucho más profundo sobre las interacciones árbol patógeno (Torres-Dini 2010). A través del estudio de las relaciones existentes entre la variabilidad genética a nivel del ADN y la diversidad fenotípica observada tanto a nivel de enfermedades como del germoplasma resistente. Para lograr el máximo aprovechamiento de la variabilidad fenotípica natural del género *Eucalyptus*, no solo se requerirá de incorporar estas nuevas herramientas, sino además un trabajo multidisciplinario profundamente interconectado con los ensayos de campo, el mejoramiento genético y el aporte de otras disciplinas (Grattapaglia 2004).

Bibliografía

- Gardes, M., and T. D. Bruns. 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* 2, no. 2: 113-118.
- Grattapaglia, D. 2004. Integrating genomics into *Eucalyptus* breeding. *Genetics and Molecular Research* 3: 369-379.
- Grattapaglia, Dario, and Matias Kirst. 2008. *Eucalyptus* applied genomics: from gene sequences to breeding tools. *New Phytologist* 179, no. 4: 911-929.
- Hunter, G. C., M. N Cortinas, B. D Wingfield, P. W Crous, and M. J Wingfield. 2006. Development of polymorphic microsatellite markers for the *Eucalyptus* leaf pathogen *Mycosphaerella nubilosa*. *Molecular Ecology Notes* 6, no. 3: 900-903.
- Junghans, D.T., A.C. Alfenas, S.H. Brommonschenkel, S. Oda, E.J. Mello, and D. Grattapaglia. 2003. Resistance to rust (*Puccinia psidii* Winter) in *Eucalyptus*: mode of inheritance and mapping of a major gene with RAPD markers. *TAG Theoretical and Applied Genetics* 108, no. 1 (December 1): 175-180.
- Mamani, E, Bueno, N, Faria, D, Guimarães, L, Douglas, L, Alfenas A, and Grattapaglia, D. 2003 Positioning of the major locus for *Puccinia psidii* rust resistance (*Ppr1*) on the *Eucalyptus* reference map and its validation across unrelated pedigrees. *Tree Genetics & Genomes*.

- Novaes, Evandro. 2007. Mapemamento de QTLs para qualidade da madeira em *Eucalyptus grandis* X. e *Urophilla* e ancoragem de clones BAC no mapa genético. Tesis de Maestria, Universidad de Vicosa.
- Petroli, C. 2010. Conceptos de Ligamiento recombinación y mapeo: Mapas de ligamiento con Marcadores Moleculares. Asunción, Paraguay.
- Dalla Rizza, M. Vilaró F, Torres-Dini D, and Maeso D. 2006. Detection of PVY extreme resistance genes in potato germplasm from the Uruguayan breeding program. *American Journal of Potato Research* 83, no. 4: 297–304.
- Sansaloni, C. 2010. Mapeo de Genes Simples - BSA Mapeo de QTLs - Mapeo de asociación. Asunción, Paraguay.
- Sansaloni, C, Petroli, C, Carling, J, Hudson, CJ, Steane, DA, Myburg, A, Grattapaglia, D, Vaillancourt, RE, and Kilian, A. 2010. A high-density Diversity Arrays Technology (DART) microarray for genome-wide genotyping in *Eucalyptus*. *Plant Methods* 6, no. 1: 16.
- Thamarus, K., K. Groom, A. Bradley, C. A Raymond, L. R. Schimleck, E. R Williams, and G. F Moran. 2004. Identification of quantitative trait loci for wood and fibre properties in two full-sib pedigrees of *Eucalyptus globulus*. *TAG Theoretical and Applied Genetics* 109, no. 4: 856–864.
- Torres-Dini D. 2004. Detección de Resistencia extrema a PVY en papa. Montevideo: Facultad de Ciencias. UDELAR.
- Torres-Dini D. 2010. Avances y potencialidades de los marcadores moleculares en la genética forestal. *Revista de la Sociedad de Productores Forestales*.
- White, T.J, T. D. Bruns, S Lee,, and J Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA for phylogenetics. Vol. 38.
- Zhong, S., B. Yang, and A. C ALFENAS. 2008. Development of microsatellite markers for the guava rust fungus, *Puccinia psidii*. *Molecular Ecology Resources* 8, no. 2: 348–350.

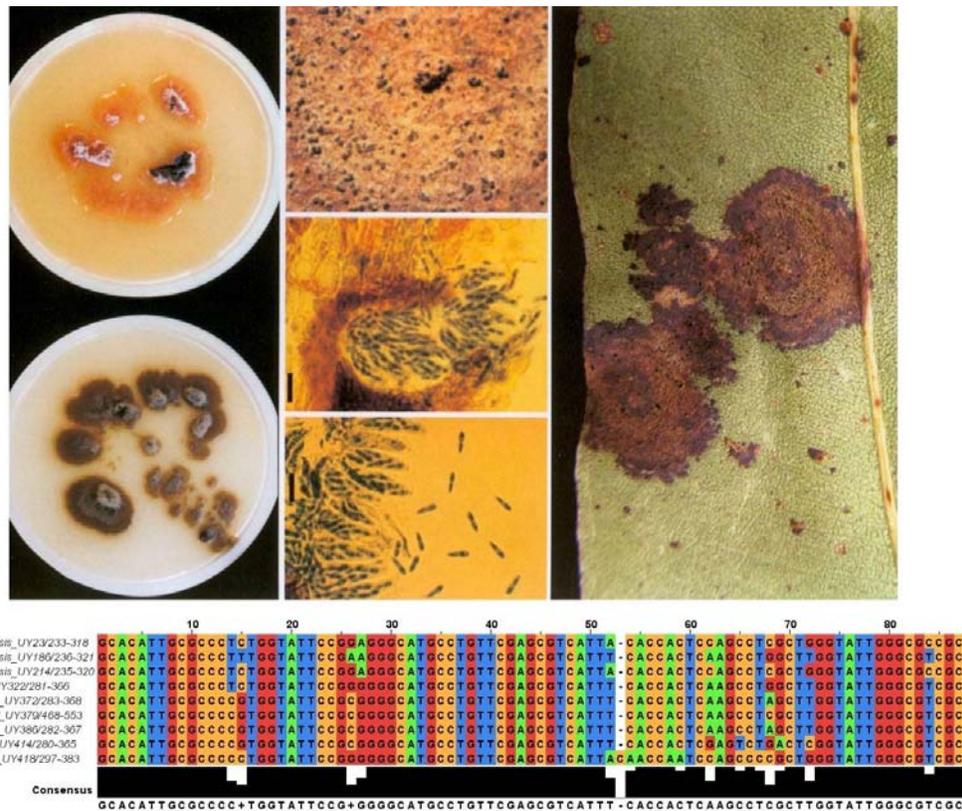


Figura 1. Arriba: Caracterización de *Mycosphaerella* realizado en base a las características macro y micromorfológicas de las muestras colectadas a campo, o de los cultivos obtenidos de los materiales afectados (tomado de Alfenas & Valverde 2007). Abajo. Caracterización molecular de la región ITS del ARN ribosomal de diferentes especies del género *mycosphaerella* (secuencias cedidas por Carlos Pérez)

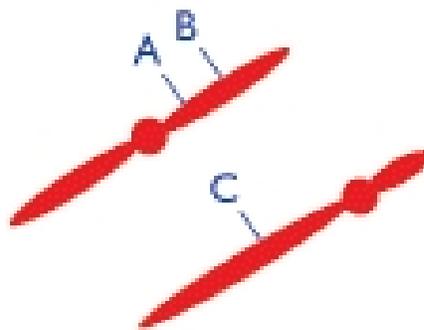
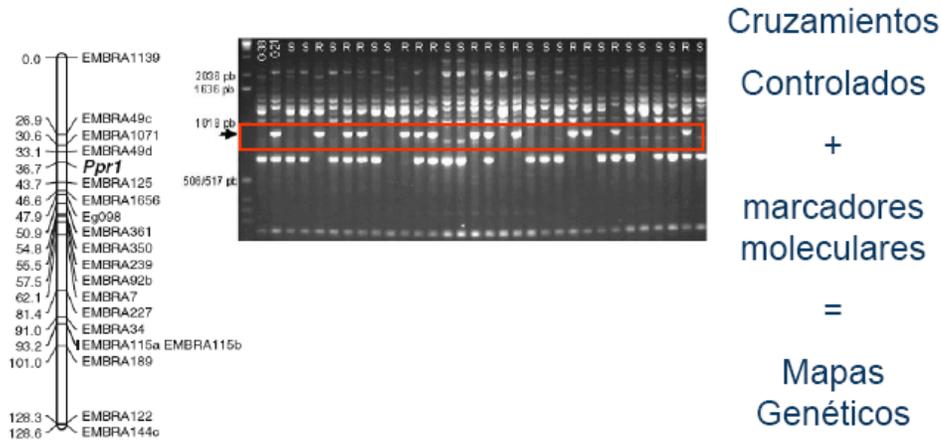


Figura 2: Los marcadores A y B se encuentran en un cromosoma distinto a C. En otras palabras A y B estarán en equilibrio de ligamiento con respecto a C. La frecuencia de recombinación AC y BC será exactamente de 50%. En cambio A y B están en el mismo cromosoma están en Desequilibrio de Ligamiento si se demuestra que poseen una frecuencia de recombinación menor del 50%. Esto imposibilita su transferencia a la progenie de manera aleatoria. Es precisamente este concepto el que se usa para construcción de mapas de ligamiento.



Junghans et al 2003 Theor Appl Genet 108:175–180;
Mamani et al 2010 Tree Genetics & Genomes

Figura 3. Determinación de la posición cromosomita del gen *Ppr1* que confiere resistencia a *Puccinia psidii*. Dicho estudio permitió la construcción de un marcador molecular que segrega en la progenie con los fenotipos resistentes (Junghans et al 2003; Mamani et al 2010).

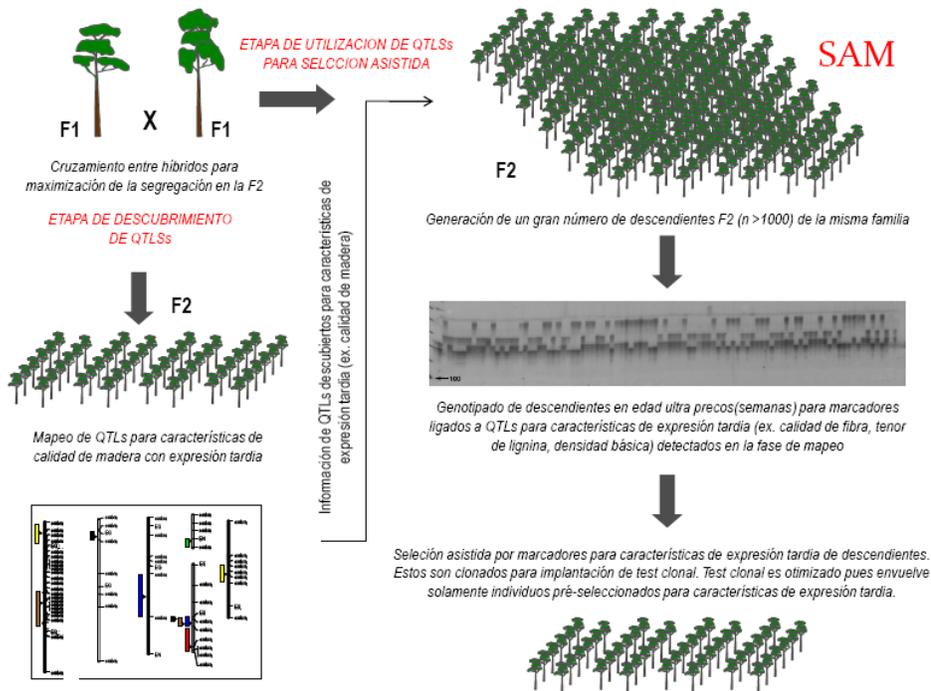


Figura 4. Esquema general del modelo de selección asistida por marcadores en un programa de mejoramiento genético forestal (Tomado de Grattapaglia et al 2004; Sansaloni 2010)

INIA Dirección Nacional
INIA La Estanzuela
INIA Las Brujas
INIA Salto Grande
INIA Tacuarembó
INIA Treinta y Tres

Andes 1365 P. 12, Montevideo
Ruta 50 Km. 11, Colonia
Ruta 48 Km. 10, Canelones
Camino al Terrible, Salto
Ruta 5 Km. 386, Tacuarembó
Ruta 8 Km. 281, Treinta y Tres

Tel: 598 2 902 0550
Tel: 598 4574 8000
Tel: 598 2 367 7641
Tel: 598 473 35156
Tel: 598 463 22407
Tel: 598 445 22023

Fax: 598 2 902 3633
Fax: 598 4574 8012
Fax: 598 2 367 7609
Fax: 598 473 29624
Fax: 598 463 23969
Fax: 598 445 25701

iniadn@dn.inia.org.uy
iniale@le.inia.org.uy
inia_lb@lb.inia.org.uy
inia_sg@sg.inia.org.uy
iniatbo@tb.inia.org.uy
iniatt@tyt.inia.org.uy

www.inia.org.uy