

---

# V JORNADA TÉCNICA DE PROTECCIÓN FORESTAL. AVANCES DE INVESTIGACIÓN EN PLAGAS Y ENFERMEDADES FORESTALES

**Editores: Gustavo Balmelli<sup>\*</sup>**  
**Sofía Simeto<sup>\*\*</sup>**  
**Gonzalo Martínez<sup>\*\*\*</sup>**  
**Demian Gómez<sup>\*\*\*\*</sup>**

<sup>\*</sup> Ing. Agr., M.Sc., Genética Vegetal y Fitomejoramiento, Programa Nacional de Investigación en Producción Forestal. INIA Tacuarembó.

<sup>\*\*</sup> Lic. en Cs. Biol., Fitopatología, Programa Nacional de Investigación en Producción Forestal. INIA Tacuarembó.

<sup>\*\*\*</sup> Lic. en Cs. Biol., M.Sc., Entomología, Programa Nacional de Investigación en Producción Forestal. INIA Tacuarembó.

<sup>\*\*\*\*</sup> Lic. en Cs. Biol., Entomología, Programa Nacional de Investigación en Producción Forestal. INIA Tacuarembó.

**Título:** V JORNADA TÉCNICA DE PROTECCIÓN FORESTAL.  
AVANCES DE INVESTIGACIÓN EN PLAGAS Y ENFERMEDADES FORESTALES

**Editores:** Gustavo Balmelli  
Sofía Simeto  
Gonzalo Martínez  
Demian Gómez

Serie Técnica N° 209

© 2013, INIA

Editado por la Unidad de Comunicación y Transferencia de Tecnología del INIA  
Andes 1365, Piso 12. Montevideo - Uruguay  
<http://www.inia.org.uy>

Quedan reservados todos los derechos de la presente edición. Esta publicación no se podrá reproducir total o parcialmente sin expreso consentimiento del INIA.

# Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

## Integración de la Junta Directiva

Ing. Agr., MSc., PhD. Álvaro Roel - Presidente

D.M.T.V., PhD. José Luis Repetto - Vicepresidente



D.M.V. Álvaro Bentancur

D.M.V., MSc. Pablo Zerbino



Ing. Agr. Joaquín Mangado

Ing. Agr. Pablo Gorriti





# CONTENIDO

## Página

1. ¿CÓMO ES AFECTADA LA SELECCIÓN DE SITIOS DE ALIMENTACIÓN Y OVIPOSICIÓN EN <i>Thaumastocoris peregrinus</i> POR LA PRESENCIA DE CONESPECÍFICOS? RESULTADOS PRELIMINARES .....	1
2. AVANCES EN EL ESTUDIO DE FEROMONAS EN LA CHINCHE DEL EUCALIPTO, <i>Thaumastocoris peregrinus</i> : AGREGACIÓN DE MACHOS MEDIADA POR FEROMONAS VOLÁTILES .....	9
3. LAS ARAÑAS EN PLANTACIONES DE <i>Pinus taeda</i> : SU POTENCIAL USO COMO BIOINDICADORES Y CONTROLADORES BIOLÓGICOS .....	15
4. PROSPECCIÓN SANITARIA EN PLANTACIONES JÓVENES DE EUCALIPTO PRIMAVERA 2008 - OTOÑO 2012 .....	23
5. IDENTIFICACIÓN Y CONTROL DE ENFERMEDADES BACTERIANAS EN PLANTACIONES JÓVENES DE <i>Eucalyptus dunnii</i> y <i>E. grandis</i> .....	29
6. ALTERNATIVAS DE MANEJO DE ENFERMEDADES FOLIARES EN PLANTACIONES JÓVENES DE <i>Eucalyptus globulus</i> .....	39
7. VARIABILIDAD GENÉTICA DE LA ROYA DEL EUCALIPTO .....	45
8. MEJORAMIENTO GENÉTICO EN <i>Eucalyptus globulus</i> Y <i>Eucalyptus maidenii</i> POR RESISTENCIA A <i>Teratosphaeria nubilosa</i> .....	55
APÉNDICE	
Comité Ejecutivo de Coordinación en materia de Plagas y Enfermedades que afectan a las plantaciones forestales (CECOPE) .....	67



# ¿CÓMO ES AFECTADA LA SELECCIÓN DE SITIOS DE ALIMENTACIÓN Y OVIPOSICIÓN EN *Thaumastocoris peregrinus* POR LA PRESENCIA DE CONESPECÍFICOS? RESULTADOS PRELIMINARES

Gonzalo Martínez<sup>1,4</sup>,  
Andrés González<sup>2</sup>,  
Roxina Soler<sup>3</sup>  
Marcel Dicke<sup>4</sup>

## INTRODUCCIÓN

La selección de sitios de oviposición en insectos es un comportamiento mediado por la confluencia de múltiples factores abióticos y bióticos (Martínez, Soler y Dicke, 2013). La presencia de individuos de la misma especie, o conespecíficos, en la planta hospedera constituye una de las múltiples señales que debe procesar una hembra grávida a la hora de seleccionar un sitio de oviposición. En Lepidoptera, el orden de insectos más estudiado, las hembras oviponen huevos individuales o en parches, pero generalmente en forma solitaria (Courtney, 1984; Stamp, 1980). Es así que las hembras de este orden generalmente reaccionan en forma negativa a estímulos químicos y visuales de los huevos y de las larvas en la planta hospedera y de esta forma rechazan oviponer en plantas colonizadas por conespecíficos (Blaakmeer *et al.*, 1994; Renwick y Chew, 1994; Schoonhoven, 1990). En Heteroptera se observan al menos dos patrones diferentes de selección de sitios de oviposición. Las hembras de la familia Pentatomidae siguen un patrón similar al de los lepidópteros, ya que oviponen en parches y evitan generalmente plantas ya

colonizadas por conespecíficos cuando buscan sitios de oviposición (Kiritani *et al.*, 1965; Todd, 1989; Zahn *et al.*, 2008). Sin embargo, dentro del infraorden Cimicomorpha existen casos de atracción de hembras grávidas hacia plantas ya colonizadas por otras hembras de la misma especie. Por ejemplo, los miridos *Lygocoris pabulinus* y *Lygus hesperus* prefieren oviponer en plantas dañadas por conespecíficos, preferencia mediada por estímulos químicos derivados de la planta y de los huevos (Blackmer *et al.*, 2004; Groot *et al.*, 2003). En algunas especies, las hembras no sólo ponen huevos en la misma planta sino que los colocan adyacentes a los huevos de sus conespecíficos, lo cual lleva a la formación de parches comunales de huevos. Este es el caso de la chinche del eucalipto, *Thaumastocoris peregrinus*, una de las más importantes plagas de plantaciones de eucaliptos en el mundo (Martínez y Bianchi, 2010; Nadel y Noack, 2012; Soliman *et al.*, 2012). La hembra de esta especie presenta un período pre-oviposicional es de 5-7 días en *Eucalyptus tereticornis* a 25 °C y ovipone una media de 2 huevos diarios durante un periodo de aproximadamente 45 días. Debido a que ovipone en parches en forma gregaria, es esperable que la hembra presente atracción hacia estímu-

<sup>1</sup>Programa Nacional de Investigación en Producción Forestal. INIA Tacuarembó.

<sup>2</sup>Laboratorio de Ecología Química – UdelaR. Montevideo.

<sup>3</sup>Instituto de Ecología de los Países Bajos (NIOO – KNAW) – Wageningen.

<sup>4</sup>Laboratorio de Entomología. Universidad de Wageningen – Wageningen.

los derivados de la presencia de conoespecíficos en la planta hospedera, pero hasta el momento no se han conducido estudios para cuantificar esta preferencia y determinar los estímulos involucrados. El objetivo de este trabajo es evaluar la respuesta de hembras grávidas de *T. peregrinus* a plantas hospederas ya colonizadas por conoespecíficos y discutir los posibles estímulos involucrados.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Obtención de hembras grávidas

Hembras vírgenes, con menos de 24 hs de emergencia, fueron colocadas en jaulas de 30 x 45 x 70 cm recubiertas con una malla de tul fino (jaulas de apareamiento). En cada jaula se ubicó un ramo de hojas frescas de *E. tereticornis* (INIA- semilla), 90 hembras y 60 machos de igual edad. Las jaulas de apareamiento se mantuvieron en estas condiciones durante al menos una semana. En este periodo se cambió el ramo cada dos días.

### Unidad experimental

Se realizaron dos bioensayos de preferencia en cajas de Petri. Cada caja de Petri (5 cm  $\Phi$ ) contenía dos muestras foliares de 2 x 2 cm, correspondientes a diferentes tratamientos. Se colocó una etiqueta en el centro de ambas muestras, para generar un área de liberación neutra. Las muestras foliares

fueron depositadas sobre un cotonete previamente cortado en mitades y adherido a la base de la caja (Figura 1). Finalmente se agregó agua hasta el nivel de las muestras foliares para impedir el escape de las hembras y mantener hidratados los materiales vegetales. Esta «trampa de agua» ha sido utilizada con anterioridad en bioensayos con *T. peregrinus* (Noack y Rose, 2007; Soliman *et al.*, 2012).

### Bioensayo 1

Los tratamientos correspondían a hojas atacadas y a un control sin daño. Las muestras foliares atacadas fueron obtenidas de ramas de *E. tereticornis* expuestas a 90 hembras y 60 machos de *T. peregrinus* durante 48 horas. Las hembras grávidas de *T. peregrinus* fueron colocadas individualmente en las cajas de Petri y éstas colocadas en una cámara de cría a  $25 \pm 0,04$  °C,  $55 \pm 0,40\%$  HR y fotoperíodo 12:12. Cuatro días después se evaluó la preferencia de alimentación (a través de la constatación de daño y deposiciones) y se contó el número de huevos en cada tratamiento.

### Bioensayo 2

En este experimento se utilizó el mismo diseño que en el experimento 1 pero se introdujeron modificaciones en las condiciones de las hembras y se adicionaron tratamientos. Las hembras fueron dejadas en la jaula de apareamiento por seis días en lugar de cuatro. Las muestras foliares fueron obtenidas de plantines de *E. tereticornis* de la misma procedencia (semilla INIA) y de la misma edad, colocados en una cámara de cre-

2

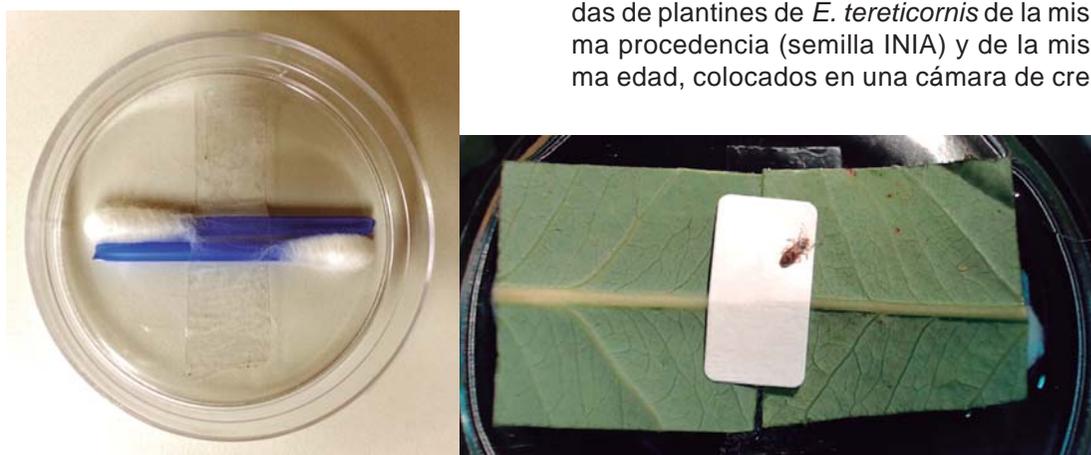


Figura 1. Montaje de los experimentos de selección *in vitro* en cajas de Petri.

$$1 \text{ Proporción de alimentación} = \frac{\text{n}^\circ \text{ heces en control}}{\text{n}^\circ \text{ heces en tratamiento X} + \text{n}^\circ \text{ heces en control}}$$

$$2 \text{ Proporción de oviposición} = \frac{\text{n}^\circ \text{ huevos en control}}{\text{n}^\circ \text{ huevos en tratamiento X} + \text{n}^\circ \text{ huevos en control}}$$

cimiento a temperatura constante de 20 ± 5 °C, HR de 55 ± 10 % y fotoperiodo 12:12. Una semana previa al inicio del experimento estos plantines fueron sometidos a los siguientes tratamientos:

- Baja densidad (B): los plantines fueron expuestos a 5 hembras grávidas de *T. peregrinus*.
- Alta densidad (A): los plantines fueron expuestos a 70 o más hembras grávidas de *T. peregrinus*.
- Machos (M): los plantines fueron expuestos a 70 o más machos de *T. peregrinus*.
- Control: los plantines fueron mantenidos en las mismas condiciones que los restantes tratamientos pero sin exposición alguna a insectos.

Las parejas de muestras foliares para las cajas de Petri se obtuvieron de recortes de hojas de estos plantines, manteniendo siempre en uno de los lados el control sano. El experimento se corrió durante 48 horas.

### Análisis estadístico

Para el Bioensayo 1 se analizó la preferencia de alimentación mediante la estimación visual del daño (evidencia de alimentación y heces). La preferencia de oviposición se calculó contando los huevos en cada tratamiento. Para cada Petri se indicó como 1 el tratamiento «ganador» y 0 el «perdedor» y

esta estimación fue evaluada mediante un G test contra una hipótesis nula de igual número de preferencias para cada tratamiento del par.

Para el Bioensayo 2 se calculó la proporción de hembras que eligieron cada tratamiento en relación con el control mediante las ecuaciones 1 y 2.

El resultado de estas ecuaciones es un número entre 0 (preferencia total por el tratamiento X) y 1 (preferencia total por el control). Un resultado de 0,5 indica ausencia de preferencia. Las proporciones calculadas en ambos casos fueron transformadas mediante la raíz cuadrada del arco seno y sometidas a un ANOVA. Esta metodología ha sido usada en otros estudios similares (Grostal y Dicke, 1999).

## RESULTADOS

### Bioensayo 1

#### Preferencia alimentaria

Se montaron 121 cajas de Petri. Del total, 63 hembras se alimentaron en ambas hojas (52.07%) sin que fuera posible discriminar un tratamiento «ganador», por lo que fueron descartadas para el análisis. La distribución de la preferencia de las restantes 58 hembras se muestra en la Figura 2. La

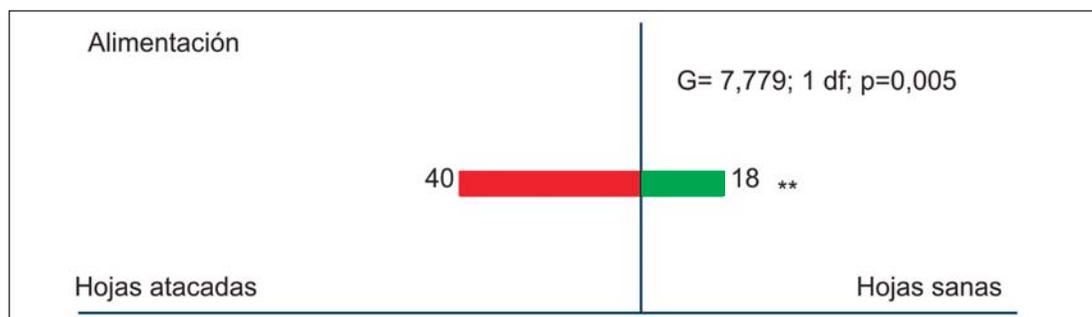
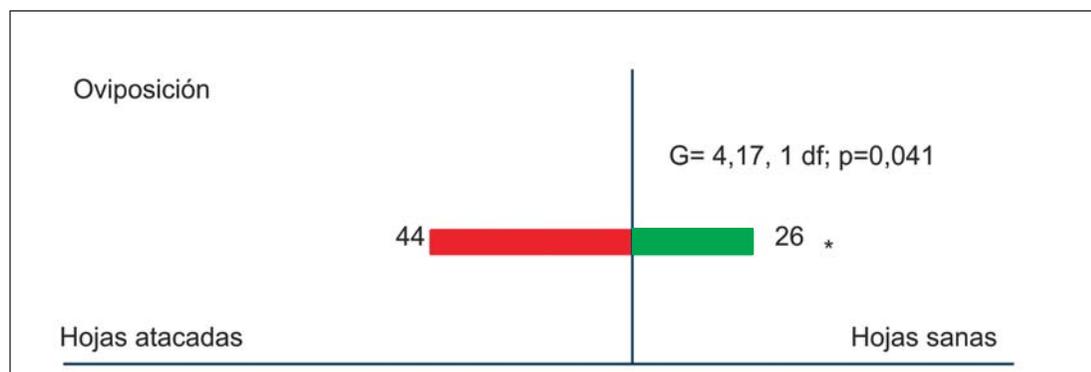


Figura 2. Preferencia de alimentación de hembras grávidas por hojas atacadas y no atacadas de *E. tereticornis*.



**Figura 3.** Preferencia de oviposición por hojas atacadas y no atacadas de *E. tereticornis*.

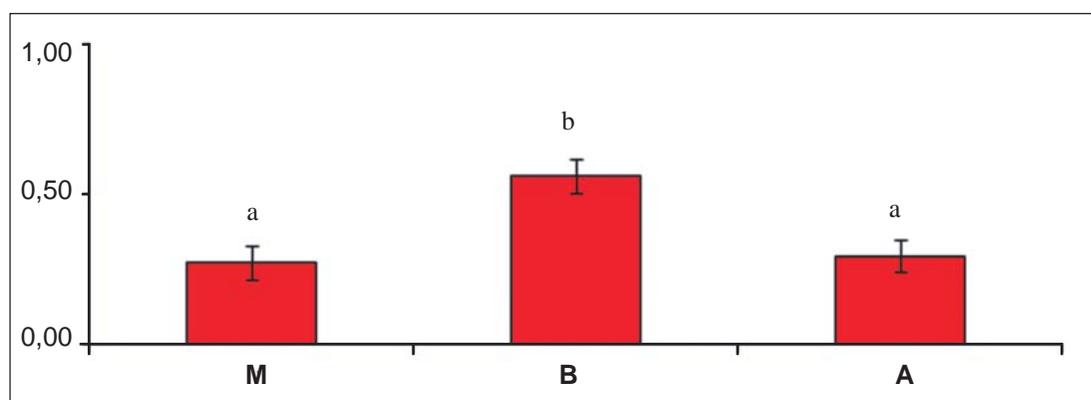
mayoría de las mismas prefirió en forma significativa (G test = 7,779, 1 grado de libertad,  $p = 0,005$ ) las muestras atacadas por conespecíficos a las hojas sanas.

### **Preferencia de oviposición**

Cuarenta y nueve de las 121 hembras analizadas (40-50 %) no ovipusieron durante el experimento y no fueron tomadas en cuenta para el análisis. Las restantes 72 pusieron un total de 359 huevos. Dos hembras pusieron la misma cantidad de huevos en ambos tratamientos y no fueron consideradas en el análisis. Para los casos considerados se registró una preferencia de las hembras por las muestras foliares expuestas previamente a conespecíficos (G test = 4,17, 1 grado de libertad,  $p = 0,041$ ) (Figura 3).

### **Bioensayo 2**

Se realizaron 65 repeticiones de las cuales fueron descartadas aquellas cajas con individuos muertos o con cero oviposición. En total se consideraron 44 repeticiones para el ANOVA. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos para los datos de alimentación ( $F = 0,055$ ; 2 grados de libertad;  $p = 0,947$ ) pero sí hubo diferencias significativas en lo que respecta a la oviposición (Figura 4). Los tratamientos macho (M) y alta densidad de hembras (A) fueron significativamente diferentes al tratamiento baja densidad de hembras (B). Los primeros registraron proporciones por debajo de 0,5 indicando una preferencia con respecto al control mientras que el tratamiento B obtuvo valores en el entorno de 0,5.



**Figura 4.** Promedio  $\pm$  error estándar de la proporción de oviposición en los tres tratamientos. (M=hoja expuesta a 70 o más machos; B= hoja expuesta a 5 hembras; A= hoja expuesta a 70 o más hembras). Diferentes letras corresponden a tratamientos significativamente diferentes entre sí (ANOVA sobre datos transformados,  $F = 7,221$ ,  $GL = 2$ ,  $P = 0,00107$ , prueba de Tukey,  $p < 0,005$ ).

## DISCUSIÓN

En este trabajo presentamos por primera vez resultados de pruebas de selección alimentaria y de oviposición para la familia Thaumastocoridae. Si bien los resultados de los bioensayos realizados no son concluyentes, cuando existe una preferencia por sitios de alimentación ésta tiende a darse en favor de hojas ya colonizadas. En el Bioensayo 1 se obtuvo un número importante de empates, parte de los cuales fueron resultado de la metodología de cuantificación empleada (estimación visual) pero aquellas hembras que manifestaron una preferencia lo hicieron en forma significativa por hojas ya colonizadas. Sin embargo al refinar la metodología de cuantificación del daño y realizar el conteo de las heces no se obtuvieron resultados significativos, lo cual sugiere que no existe una preferencia marcada por plantas atacadas como sustrato de alimentación. Estudios futuros que incluyan la cuantificación de parámetros conductuales de observación directa (tiempos de permanencia en cada tratamiento, duración de la alimentación) así como la cuantificación de la performance de las hembras alimentadas en ambos tipos de sustrato permitirían profundizar en el efecto de la presencia de conespecíficos sobre el hábito alimentario en hembras de *T. peregrinus*.

A diferencia de los resultados en preferencia alimentaria, la preferencia de oviposición presentó patrones más claros. Aunque el Bioensayo 1 arrojó una diferencia significativa en la oviposición a favor de las muestras foliares atacadas, menos de la mitad de las hembras no ovipuso y la oviposición promedio  $\pm$  error estándar fue de  $0,47 \pm 0,01$  huevos por día, niveles por debajo de los 2-4 huevos diarios observados en estudios previos (Martínez y Bianchi, 2010; Noack y Rose, 2007; Soliman *et al.*, 2012). El diseño experimental utilizado para el Bioensayo 2, en el cual se mantuvieron las hembras durante dos días más en las jaulas de apareamiento, mejoró la oviposición (con un promedio de  $2,57 \pm 0,35$  huevos por día) y la acercó a la tasa de oviposición diaria de 2-4 huevos. A su vez, la reducción del tiempo experimental a 48 horas mejoró

sustancialmente la supervivencia de las hembras (sólo 2 hembras en 65 cajas de Petri fueron encontradas muertas después de 48 horas). Esta reducción también puede haber contribuido a mejorar la calidad de los datos, al reducir las interferencias en el comportamiento debido al deterioro de las muestras foliares. En este contexto se obtuvieron resultados que reafirman los hallazgos del Bioensayo 1. Las cajas de Petri que contenían los tratamientos A y M registraron proporciones de oviposición por debajo de 0,5 (0,29 y 0,27 respectivamente) y fueron significativamente diferentes a la proporción de oviposición registrada para las cajas de Petri con el tratamiento B (0,56). Estos datos confirman así una preferencia de las hembras grávidas por muestras foliares expuestas a altas densidades de conespecíficos. Varios factores podrían explicar esta preferencia. Por un lado, se ha constatado que el daño producido por la alimentación de insectos heterópteros induce modificaciones en el perfil de transcripción de plantas hospederas (Heidel y Baldwin, 2004), así como la emisión de volátiles (Colazza *et al.*, 2004; Conti *et al.*, 2008). Estos volátiles constituyen pistas olfativas que podrían indicar un recurso nutricional de calidad (Groot *et al.*, 2003). Por otro lado, la oviposición en sitios ya colonizados favorece una posterior agregación de juveniles en la planta hospedera. Esta agregación de las etapas juveniles puede aportar beneficios como la mejora en las condiciones abióticas locales, un uso más eficiente de la planta hospedera (debido a una mayor contribución de enzimas digestivas sobre el parénquima o a la saturación de las respuestas inducidas en la planta) o una defensa más eficaz contra enemigos naturales en comparación con individuos aislados (Wertheim *et al.*, 2005). Muchos estudios de agregación en chinches (Bongers y Eggermann, 1971; Bongers, 1968; Lockwood y Story, 1986; Tullberg *et al.*, 2000) así como en otros taxa (Allen, 2010; Clark y Faeth, 1998; Denno y Benrey, 1997; Fordyce, 2003; Stamp, 1980) han provisto soporte empírico a estas hipótesis.

Más allá del presente estudio, el patrón de selección de hospederos de *T. peregrinus* se encuentra escasamente estudiado.

Martins y Zarbin (2013) evaluaron en olfactómetro la preferencia de hembras vírgenes y grávidas a plantas de *E. benthamii* sanas y atacadas por machos, así como a las fracciones volátiles obtenidas de las mismas. En dicho estudio no se detectaron diferencias significativas en hembras vírgenes, pero las hembras grávidas prefirieron como primera opción el control no atacado (Martins y Zarbin, 2013). Esta información parece no condecir con lo observado en el presente estudio pero cabe recordar que un ensayo en olfactómetro evalúa la respuesta inmediata de los insectos a pistas olfatorias de largo alcance, mientras que los bioensayos realizados en nuestro estudio evalúan información de corto alcance, durante un periodo de 48 h. La selección de un hospedero en insectos es resultado de sutiles formas de interacción entre semioquímicos que operan a ambas escalas (Conti *et al.*, 2010; Groot *et al.*, 2003). A su vez, en el estudio precedente se utilizaron sólo machos como agentes de herbivoría. Recientemente se ha caracterizado una sustancia volátil emitida por los machos que actúa como una feromona de agregación para machos y juveniles pero no para hembras (González *et al.*, 2012). ¿Podría esta sustancia afectar la oviposición de las hembras de alguna manera? Los resultados obtenidos en este trabajo no dan cuenta de una diferencia significativa entre las hojas expuestas a altas densidades de machos y de hembras, si bien el número promedio de huevos en el tratamiento con machos fue menor al del tratamiento con hembras ( $2,41 \pm 0,42$  y  $2,89 \pm 0,28$ , respectivamente). Futuros trabajos que incluyan muestras foliares expuestas a un extracto de esta feromona o a un sucedáneo sintético podrían profundizar en este aspecto.

En suma, este estudio reporta la preferencia de hembras grávidas de la chinche del eucalipto hacia plantas colonizadas como sitios de oviposición, patrón similar al encontrado para otros cimicomorfos, pero discrepante con resultados obtenidos en estudios previos con semioquímicos de largo alcance. Se debe continuar el estudio de las señales utilizadas por las hembras para seleccionar sitios de alimentación y oviposición de cara al desarrollo de estrategias de ma-

nejo de esta plaga basadas en semioquímicos.

## BIBLIOGRAFÍA

- ALLEN, P.E.** 2010. Group size effects on survivorship and adult development in the gregarious larvae of *Euselasia chrysippe* (Lepidoptera, Riodinidae). *Insectes Sociaux* 57: 199-204.
- BLAAKMEER, A.; HAGENBEEK, D.; BEEK, T.A.; GROO, A.; SCHOONHOVEN, L.M.; VAN LOON, J.J.A.** 1994. Plant response to eggs vs. Host marking pheromone as factors inhibiting oviposition by *Pieris brassicae*. *Journal of Chemical Ecology* 20: 1657-1665.
- BLACKMER, J.L.; RODRIGUEZ-SAONA, C.; BYERS, J.A.; SHOPE, K.L.; SMITH, J.P.** 2004. Behavioral response of *Lygus hesperus* to conspecifics and headspace volatiles of alfalfa in a Y-tube olfactometer. *Journal of Chemical Ecology* 30: 1547-1564.
- BONGERS, J.** 1968. Subsozialphänomene bei *Oncopeltus fasciatus* Dall (Heteroptera, Lygaeidae). *Insectes Sociaux* 15: 309-317.
- BONGERS, J.; EGGERMANN, W.** 1971. Der Einfluss des Subsozial verhaltens der spezialisierten Samensauger *Oncopeltus fasciatus* Dall und *Dysdercus fasciatus* Sign. auf ihre Ernährung. *Oecologia* 6: 293-302.
- CLARK, B.R.; FAETH, S.H.** 1998. The evolution of egg clustering in butterflies: a test of the egg desiccation hypothesis. *Evolutionary Ecology* 12: 543-552.
- COLAZZA, S.; MCELFRISH, J.S.; MILLAR, J.G.** 2004. Identification of volatile synomones, induced by *Nezara viridula* feeding and oviposition on bean spp., that attract the egg parasitoid *Trissolcus basalís*. *Journal of Chemical Ecology* 30: 945-964.
- CONTI, E.; SALERNO, G.; LEOMBRUNI, B.; FRATI, F.; BIN, F.** 2010. Short-range allelochemicals from a plant-herbivore association: a singular case of oviposition-induced synomone for an egg parasitoid. *Journal of Experimental Biology* 213: 3911-3919.

- CONTI, E.; ZADRA, C.; SALERNO, G.; LEOMBRUNI, B.; VOLPE, D.; FRATI, F.; MARUCCHINI, C.; BIN, F.** 2008. Changes in the volatile profile of *Brassica oleracea* due to feeding and oviposition by *Murgantia histrionica* (Heteroptera: Pentatomidae). *European Journal of Entomology* 105: 839-847.
- COURTNEY, S.P.** 1984. The evolution of egg clustering by butterflies and other insects. *The American Naturalist* 123: 276-281.
- DENNO, R.F.; BENREY, B.** 1997. Aggregation facilitates larval growth in the neotropical nymphalid butterfly *Chlosyne janais*. *Ecological Entomology* 22: 133-141.
- FORDYCE, J.A.** 2003. Aggregative feeding of pipevine swallowtail larvae enhances hostplant suitability. *Oikos* 135: 250-257.
- GONZÁLEZ, A.; CALVO, M.V.; CAL, V.; HERNÁNDEZ, V.; DOÑO, F.; ALVES, L.; GAMENARA, D.; ROSSINI, C.; MARTÍNEZ, G.** 2012. A male aggregation pheromone in the bronze bug, *Thaumastocoris peregrinus* (Thaumastocoridae). *Psyche: A Journal of Entomology* 2012: 7 pp. doi:10.1155/2012/868474.
- GROOT, A.T.; HEIJBOER, A.; VISSER, J.H.; DICKE, M.** 2003. Oviposition preference of *Lygocoris pabulinus* (Het., Miridae) in relation to plants and conspecifics. *Journal of Applied Entomology* 127: 65-71.
- GROSTAL, P.; DICKE, M.** 1999. Direct and indirect cues of predation risk influence behavior and reproduction of prey: a case for acarine interactions. *Behavioral Ecology* 10: 422-427.
- HEIDEL, A.J.; BALDWIN, I.T.** 2004. Microarray analysis of salicylic acid- and jasmonic acid-signalling in responses of *Nicotiana attenuata* to attack by insects from multiple feeding guilds. *Plant, Cell & Environment* 27: 1362-1373.
- KIRITANI, K.; HOKYO, N.; KIMURA, K.; NAKASUJI, F.** 1965. Imaginal dispersal of the Southern Green Stink Bug *Nezara viridula* L., in relation to feeding and oviposition. *Japanese Journal of Applied Entomology* Z 9: 291-297.
- LOCKWOOD, J.A.; STORY, R.N.** 1986. Adaptive functions of nymphal aggregation in the Southern Green Stink Bug, *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae). *Environmental Entomology* 15: 739-749.
- MARTÍNEZ, G.; BIANCHI, M.** 2010. Primer registro para Uruguay de la chinche del eucalipto, *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero y Dellappé, 2006 (Heteroptera: Thaumastocoridae). *Agrociencia* 14: 15-18.
- MARTÍNEZ, G.; SOLER, R.; DICKE, M.** 2013. Behavioral Ecology of Oviposition-Site Selection in Herbivorous True Bugs. In: *Advances in the Study of Behavior*, Elsevier 45: 175-207.
- MARTINS, C.B.C.; ZARBIN, P.H.G.** 2013. Volatile organic compounds of conspecific-camaged *Eucalyptus benthamii* influence responses of mated females of *Thaumastocoris peregrinus*. *Journal of Chemical Ecology* 39: 602-611.
- NADEL, R.L.; NOACK, A.E.** 2012. Current understanding of the biology of *Thaumastocoris peregrinus* in the quest for a management strategy. *International Journal of Pest Management* 58: 257-266.
- NOACK, A.E.; ROSE, H.A.** 2007. Life-history of *Thaumastocoris peregrinus* and *Thaumastocoris* sp. in the laboratory with some observations on behaviour. *General and Applied Entomology* 36: 27-34.
- RENWICK, J.A.A.; CHEW, F.S.** 1994. Oviposition behavior in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology* 39: 377-400.
- SCHOONHOVEN, L.M.** 1990. Host-marking pheromones in lepidoptera, with special reference to two *Pieris* spp. *Journal of Chemical Ecology* 16: 3043-3052.
- SOLIMAN, E.P.; WILCKEN, C.F.; PEREIRA, J.M.; DIAS, T.K.R.; ZACHÉ, B.; DAL POGETTO, M.H.F.A.; BARBOSA, L.R.** 2012. Biology of *Thaumastocoris peregrinus* in different eucalyptus species and hybrids. *Phytoparasitica* 40: 223-230.
- STAMP, N.E.** 1980. Egg deposition patterns in butterflies: Why do some species cluster their eggs rather than deposit them singly? *The American Naturalist* 115: 367-380.

- TODD, J.W.** 1989. Ecology and behavior of *Nezara viridula*. Annual Review of Entomology 34: 273-292.
- TULLBERG, B.S.; GAMBERALE, G.; SOLBRECK, C.** 2000. Effects of food plant and group size on predator defence: differences between two co-occurring aposematic Lygaeinae bugs. Ecological Entomology 25: 220-225.
- WERTHEIM, B.; VAN BAALEN, E.J.A.; DICKE, M.; VET, L.E.M.** 2005. Pheromone-mediated aggregation in non social arthropods: An evolutionary ecological perspective. Annual Review of Entomology 50: 321-346.
- ZAHN, D.K.; GIRLING, R.D.; MCELFRISH, J.S.; CARDÉ, R.T.; MILLAR, J.G.** 2008. Biology and Reproductive Behavior of *Murgantia histrionica* (Heteroptera: Pentatomidae). Annals of the Entomological Society of America 101: 215-228.

# AVANCES EN EL ESTUDIO DE FEROMONAS EN LA CHINCHE DEL EUCALIPTO, *Thaumastocoris peregrinus*: AGREGACIÓN DE MACHOS MEDIADA POR FEROMONAS VOLÁTILES

Andrés González<sup>1</sup>,  
María Victoria Calvo<sup>1</sup>,  
Carolina Sellanes<sup>1</sup>,  
Gonzalo Martínez<sup>2</sup>

## INTRODUCCIÓN

El área de producción forestal en Uruguay se ha duplicado en la última década, alcanzando cerca de 1 millón de hectáreas, de las cuales aproximadamente el 70% comprenden especies de *Eucalyptus* (DIEA/MGAP, 2011). Este crecimiento explosivo de un monocultivo exótico favorece la instalación de plagas y enfermedades provenientes de las regiones originarias del cultivo, en este caso Australia. Tal es el caso de la chinche de los eucaliptos, *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae), que fuera detectada por primera vez en el Cono Sur en 2005 como *T. australicus* (Noack y Coviella, 2006), re-identificada posteriormente como una nueva especie (Carpintero y Dellape, 2006), y expandiéndose en la región en pocos años (Carpintero y Dellape, 2006; Martínez y Bianchi, 2010; Wilcken *et al.*, 2010; Ide *et al.*, 2011).

*T. peregrinus* es una plaga emergente de importancia en el hemisferio sur, es una chinche plana y pequeña (1-3 mm de largo), que causa daños visibles por la pérdida de capacidad fotosintética, defoliación y en casos extremos la muerte del árbol (Jacobs y Naser, 2005). Aunque la información disponible es

escasa en cuanto al comportamiento y ecología de esta especie en campo, observaciones circunstanciales indican que existe una tendencia a la formación de agregaciones (Gonzalo Martínez, inédito), lo cual podría estar mediado por feromonas.

Nuestro objetivo, por lo tanto, fue iniciar un estudio en semioquímicos de *T. peregrinus*, con miras al desarrollo de herramientas de monitoreo o control poblacional basados en semioquímicos, que puedan integrarse a medidas de manejo integrado de esta nueva plaga. Específicamente, en este estudio presentamos resultados del análisis químico de compuestos orgánicos volátiles emitidos por machos y hembras, y la respuesta comportamental de los insectos a dichos volátiles.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Insectos

Adultos vírgenes y ninfas fueron obtenidos de una cría permanente mantenida sobre ramos de *E. tereticornis*, en el laboratorio de Entomología en la Estación INIA-Tacuarembó. Machos, hembras y ninfas fueron mantenidos en jaulas cubiertas por tul

<sup>1</sup>Laboratorio de Ecología Química, Facultad de Química, UdelaR. \*Correo electrónico: agonzal@fq.edu.uy

<sup>2</sup>Programa Nacional de Investigación en Producción Forestal, INIA – Tacuarembó

(35 x 50 x 70 cm) y criadas en condiciones controladas ( $20 \pm 5$  °C, 55% HR). Los adultos vírgenes para los estudios posteriores fueron obtenidos mediante la revisión diaria de de jaulas que contenían ninfas en sus últimos instars. Solo fueron seleccionados aquellos adultos que aún presentaran coloración clara (muda reciente).

### Obtención y análisis de volátiles

Machos y hembras adultos (20-40 individuos) fueron colocados en cámaras de aireación de vidrio separadas (24 cm largo, 4,6 cm diámetro) con 4 hojas de *E. tereticornis*. Los compuestos volátiles emitidos fueron colectados durante 72 h en 50 mg de Haysep-Q (80/100 mesh), utilizando una corriente constante de aire pre-filtrado por carbón activado y humedecido por barboteo en agua destilada (300 mL/min, 24 °C, fotoperíodo: 14:10 L:O). Los volátiles adsorbidos fueron eluidos con 1 mL de hexano y concentrado bajo flujo de N<sub>2</sub> a 100 mL para su análisis. Se obtuvieron como control los volátiles de la cámara de vidrio vacía y de 4 hojas de *E. tereticornis*, en iguales condiciones experimentales. El extracto de volátiles de machos para la evaluación comportamental en olfatómetro fue realizada de igual manera, sin realizar el paso de concentración del extracto.

El análisis de volátiles fue realizado por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), usando un instrumento Shimadzu QP-2010 equipado alternadamente con una columna polar (AT-Wax-ms) o apolar (AT-5-ms) (ambas: 30 m x 0,25 mm i.d., 0,25 µm), y operado con He como gas portador a un flujo constante de 1 mL/min. El programa de temperaturas utilizado fue 40 °C (1 min) - 7 °C/min - 250 °C (1 min) para la columna polar y 40 °C (1 min) - 10 °C/min - 300 °C (3 min) para la apolar. Las temperaturas del inyector e interfase fueron 220 °C y 250 °C, respectivamente. El volumen de inyección fue de 1 mL en modo «splitless», y los espectros de masas se adquirieron en modo SCAN, desde *m/z* 30 hasta 350 (70 eV). Para el cálculo de índices de retención se utilizó una mezcla de n-alcenos en concentración 100 ppm

(cada uno), inyectada en idénticas condiciones a los extractos de volátiles.

### Experimentos en olfatómetro

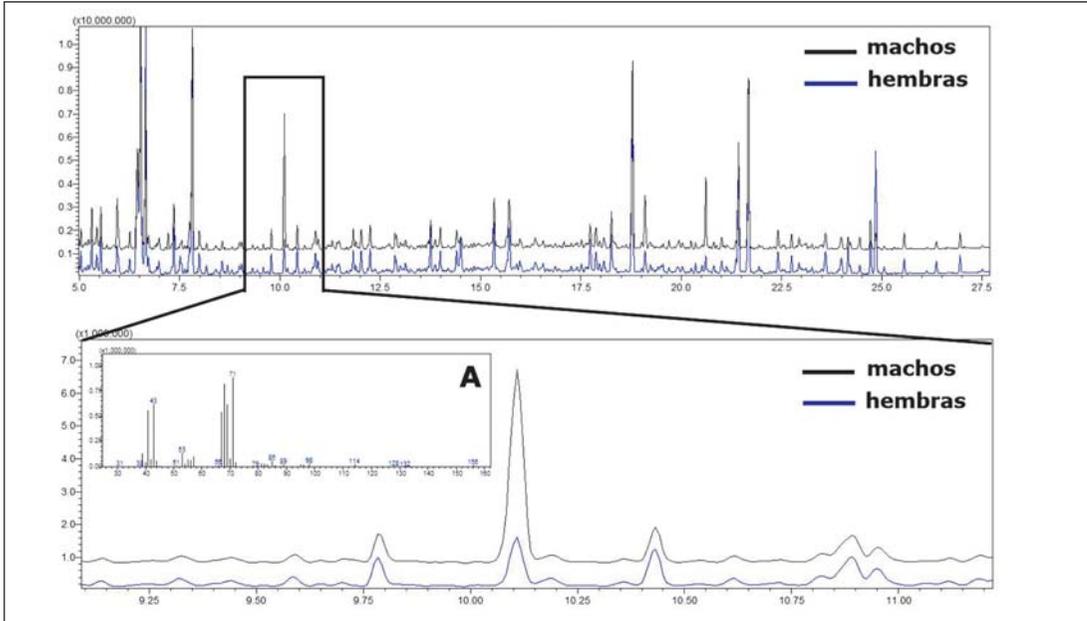
Los experimentos fueron realizados durante la fase diurna del fotoperíodo, utilizando un olfatómetro de vidrio en forma de «Y» (cada brazo: 20 x 4 cm, largo x diám.). Los estímulos fueron colocados en tubos de vidrio (10 x 4 cm, largo x diám.) anexos a los brazos laterales del olfatómetro, alternando su posición relativa entre réplicas. Una corriente de aire humedecido y pre-filtrado por carbón activado (1,2 L/min) fue dividida entre los brazos del olfatómetro para arrastrar los compuestos volátiles del estímulo hacia el brazo central, donde se colocó un insecto cuyo comportamiento fue observado durante 10 min para registrar la primera opción, número de entradas y tiempo de permanencia en cada brazo. Los insectos fueron utilizados una única vez, y aquellos que no alcanzaron ningún brazo del olfatómetro fueron eliminados del análisis.

Los estímulos utilizados en el olfatómetro fueron: a) 10 insectos vivos (machos o hembras); b) extracto de volátiles de machos; c) 3-metil-2-butenato de butilo. En todos los casos se incluyeron 2 hojas de *E. tereticornis* en ambos brazos, y solvente (hexano) cuando el estímulo fue aplicado en solvente (b y c).

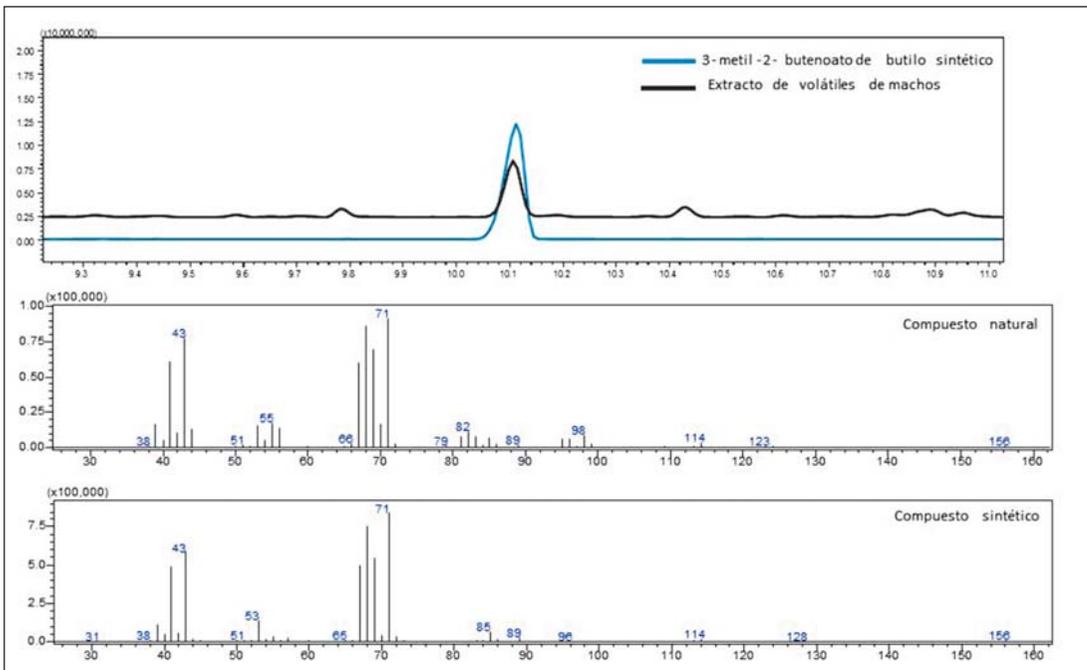
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Análisis de volátiles

La comparación de los perfiles cromatográficos de emisiones volátiles de hembras y machos *T. peregrinus* mostraron consistentemente un componente específico de machos, el cual fue identificado como 3-metil-2-butenato de butilo por su espectro de masas, índices de retención, y comparación con el compuesto sintético (por detalles de la síntesis e identificación ver (González *et al.*, 2012)) (Figuras 1 y 2). El compuesto presente en los volátiles emitidos por hembras, con igual tiempo de retención en la columna polar (Figura 1), fue identificado como n-nonanal, y se confirmó su



**Figura 1.** Análisis por GC-MS (cromatograma de iones totales) de extractos de volátiles emitidos por *T. peregrinus* machos (negro) y hembras (azul). Mitad superior: cromatograma total. Mitad inferior: ampliación mostrando el pico correspondiente al compuesto macho-específico 3-metil-2-butenato de butilo, con un tiempo de retención de 10.1 min (espectro de masas en inserto A). El compuesto que eluye con igual tiempo de retención en el extracto de hembras corresponde a n-nonanal, un compuesto de las hojas de eucalipto utilizadas durante la colecta de volátiles como fuente de alimentación.



**Figura 2.** Comparación de los tiempos de retención (superior) y espectros de masas de la feromona de agregación de *T. peregrinus*. El espectro de masas del compuesto natural presente en extractos de volátiles de machos (medio) y el del compuesto sintético (inferior) fueron casi idénticos, así como el tiempo de retención en cromatografía gaseosa, confirmando la identificación del compuesto como 3-metil-2-butenato de butilo.

origen como un compuesto emitido por las hojas, presente también en el control correspondiente.

## Experimentos en olfatómetro

Los ensayos con insectos vivos (machos o hembras) como estímulo mostraron una atracción significativa de machos hacia otros machos co-específicos. El brazo del olfatómetro con machos como estímulo fue elegido más frecuentemente ( $P = 0,004$ , test  $\chi^2$ ,  $N = 35$ ), y los machos testados pasaron más tiempo ( $P = 0,002$ , test de Wilcoxon,  $N = 35$ ) que en el brazo control. Las hembras, por su parte, no mostraron preferencia por ningún brazo del olfatómetro, tanto en relación a la primera elección ( $P = 0,22$ , test de  $\chi^2$ ,  $N = 42$ ) como al tiempo de permanencia en cada brazo ( $P = 0,69$ , test de Wilcoxon,  $N = 42$ ) (Figuras 3A y 4A).

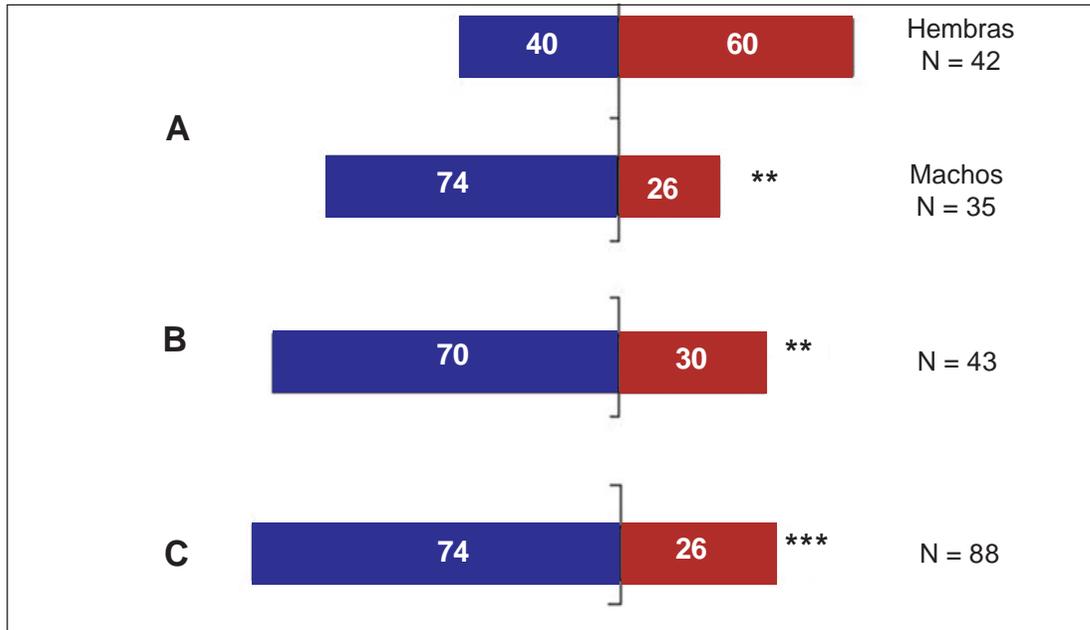
Dados los resultados obtenidos, los siguientes ensayos comportamentales se enfocaron en la respuesta de machos. Al evaluar extractos de volátiles de machos como estímulo, los machos mostraron una clara atracción tanto en la primera elección del brazo del olfatómetro ( $P = 0,005$ , test de  $\chi^2$ ,  $N = 43$ ) como en el tiempo de permanencia en el brazo del estímulo ( $P = 0,02$ , test de Wilcoxon,  $N = 43$ ) (Figuras 3B y 4B).

Los machos también fueron atraídos hacia el compuesto sintético identificado en el análisis de volátiles de machos, y ausente en las hembras, 3-metil-2-butenato de butilo. Evaluado en combinación con hojas de *E. tereticornis* (en ambos brazos), la aplicación de  $1 \mu\text{g}$  del compuesto sintético en papel de filtro fue suficiente para atraer significativamente a los machos, tanto en su primera elección del brazo del olfatómetro ( $P < 0,0001$ , test de  $\chi^2$  test,  $N = 88$ ), como en el tiempo de permanencia en el brazo tratado ( $P < 0,001$ , test de Wilcoxon,  $N = 88$ ) (Figuras 3C y 4C).

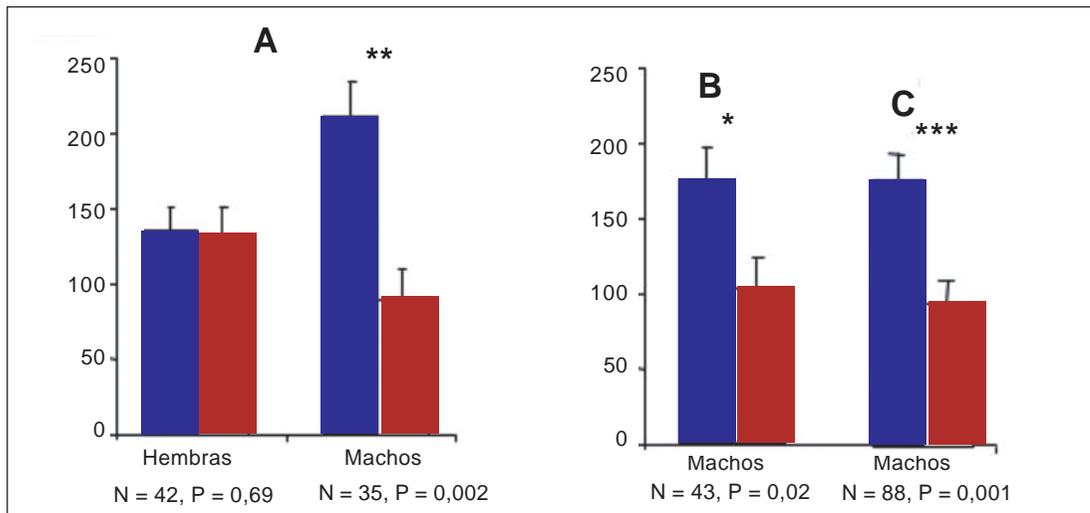
Estos resultados demuestran que la atracción de los machos hacia machos co-específicos y al extracto de volátiles de machos, se debe, al menos en parte, al compuesto 3-metil-2-butenato de butilo, el cual estaría actuando por lo tanto como feromona de agregación de machos. Considerando el número

de machos utilizados en la colecta de volátiles, y el tiempo de colecta, puede estimarse que los ensayos con extractos de volátiles se realizaron con 0,002 equivalente de insecto/h. Asimismo, una comparación de las áreas de los picos cromatográficos del extracto de volátiles de machos y de una solución  $100 \text{ mg/mL}$  de 3-metil-2-butenato de butilo, permite estimar que la cantidad de la feromona de agregación evaluada en los ensayos comportamentales con extractos de volátiles de machos fue de  $0,25 \text{ mg}$  (en  $5 \text{ mL}$  de solución). Por lo tanto, aunque la cantidad de compuestos sintético utilizado en los ensayos fue mayor ( $1 \text{ mg}$ ), ésta es del mismo orden que la cantidad en los extractos, por lo que los bioensayos son comparables y reflejan la abundancia natural de este compuesto. Asimismo, en un estudio paralelo fue reportado que la cantidad neta de 3-metil-2-butenato de butilo en machos *T. peregrinus* es de  $1 \text{ mg/insecto}$ , indicando nuevamente que la cantidad ensayada en nuestro estudio es biológicamente relevante (Martins *et al.*, 2012).

Este trabajo representa el primer reporte de 3-metil-2-butenato de butilo como una feromona en insectos, así como la primer feromona identificada en la familia Thaumastocoridae. El hallazgo simultáneo del mismo compuesto en poblaciones de *T. peregrinus* en Brasil (Martins *et al.*, 2012) indica que nuestro estudio describe una feromona característica de esta especie. El rol ecológico de este compuesto en la biología de *T. peregrinus*, así como las posibles aplicaciones de este compuesto al manejo de esta plaga emergente, continuarán siendo estudiados en nuestro laboratorio. En especial, consideramos que una feromona de agregación posee potencial para el desarrollo de trampas de monitoreo, pero también para la diseminación de agentes microbianos de control biológico (entomopatógenos), mediante trampas no letales de captura con posterior inoculación y liberación del insecto. Este estudio ha sido publicado en forma más extensa en la revista de entomología Psyche, en un número especial sobre ecología química de plagas emergentes del sub-orden Heteroptera (González *et al.*, 2012).



**Figura 3.** Resultados en olfatómetro de dos vías (Y). Porcentaje de insectos que eligieron el brazo de estímulo (azul) o control (rojo). A: respuesta de hembras y machos a volátiles de machos vivos. B: Respuesta de machos al extracto de volátiles de machos. C: Respuesta de machos a 3-metil-2-butenato de butilo sintético. Todos los tratamientos y controles incluyeron 2 hojas de *E. tereticornis*. Los asteriscos indican nivel de significancia en tests de Chi-cuadrado (\*\* P < 0,01; \*\*\* P < 0,001).



**Figura 4.** Tiempo de permanencia de *T. peregrinus* en los brazos del olfatómetro con estímulo olfativo (barras azules) y control (barras rojas). Las barras representan el tiempo acumulado durante los 10 min del ensayo. A: respuesta de hembras y machos a volátiles de machos vivos. B: Respuesta de machos al extracto de volátiles de machos. C: Respuesta de machos a 3-metil-2-butenato de butilo sintético. Todos los tratamientos y controles incluyeron 2 hojas de *E. tereticornis*. Los asteriscos indican nivel de significancia en tests de Wilcoxon (\* P < 0,05; \*\* P < 0,01; \*\*\* P < ,001). Barras de error representan error estándar de la media.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo financiero de INIA y del fondo Innovagro de la Agencia de Investigación e Innovación (ANII, proyecto FSA-2009-1-1522). Se agradece asimismo el aporte de la Prof. Daniela Gaménara de la Facultad de Química en aspectos de síntesis orgánica, y de Florencia Doño, Verónica Hernández y Valeria Cal en las etapas iniciales de este estudio.

## BIBLIOGRAFÍA

- CARPINTERO, D.L.; DELLAPE, P.M.** 2006. A new species of *Thaumastocoris* Kirkaldy from Argentina (Heteroptera: Thaumastocoridae: Thaumastocorinae). *Zootaxa* 1228: 61-68.
- DIEA/MGAP.** 2011. Anuario estadístico agropecuario 2011. Anuarios. Revisado enero 2012 en <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,583,O,S,0,MNU;E;2;16;10;6;MNU>.
- GONZÁLEZ, A.; CALVO, M.V.; CAL, V.; HERNÁNDEZ, V.; DOÑO, F.; ALVES, L.; GAMENARA, D.; ROSSINI, C.; MARTÍNEZ, G.** 2012. A Male Aggregation Pheromone in the Bronze Bug, *Thaumastocoris peregrinus* (Thaumastocoridae). *Psyche: A Journal of Entomology* 2012: 7 pp. doi:10.1155/2012/868474.
- IDE, M.S.; RUIZ, G.C.; SANDOVAL, C.A.; VALENZUELA, E.J.** 2011. Detection of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) associated to *Eucalyptus* spp. in Chile. *Bosque* 32(3): 309-313.
- JACOBS, D.H.; NESER, S.** 2005. *Thaumastocoris australicus* Kirkaldy (Heteroptera: Thaumastocoridae): a new insect arrival in South Africa, damaging to *Eucalyptus* trees. *South African Journal of Science* 101(5-6): 233-236.
- MARTÍNEZ, G.; BIANCHI, M.** 2010. Primer registro para Uruguay de la chinche del eucalipto, *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero y Dellappé, 2006 (Heteroptera: Thaumastocoridae). *Agrociencia Uruguay* 14(1): 15-18.
- MARTINS, C.B.C.; SOLDI, R.A.; BARBOSA, L.R.; ALDRICH, J.R.; ZARBIN, P.H.G.** 2012. Volatile Chemicals of Adults and Nymphs of the *Eucalyptus* Pest, *Thaumastocoris peregrinus* (Heteroptera: Thaumastocoridae). *Psyche: A Journal of Entomology* 2012: 6 pp. doi:10.1155/2012/275128.
- NOACK, A.; COVIELLA, C.** 2006. *Thaumastocoris australicus* Kirkaldy (Hemiptera:Thaumastocoridae): first record of this invasive species in the Americas. *General and Applied Entomology* 35: 13-14.
- WILCKEN, C.; SOLIMAN, E.; SÁ, L.D.; BARBOZA, L.; DIAS, T.; FERRERIRA FILHO, P.; OLIVEIRA, R.** 2010. Bronze bug *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero and Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) on *Eucalyptus* in Brazil and its distribution. *Journal of Plant Protection Research* 50: 201-205.

# LAS ARAÑAS EN PLANTACIONES DE *Pinus taeda*: SU POTENCIAL USO COMO BIOINDICADORES Y CONTROLADORES BIOLÓGICOS

Carolina Jorge<sup>1,2</sup>,  
Álvaro Laborda<sup>1</sup>,  
Miguel Simó<sup>1,2</sup>

## INTRODUCCIÓN

En Uruguay, la forestación se ha convertido en los últimos 20 años en una de las actividades agropecuarias más prometedoras y con mayor perspectiva de crecimiento en relación a la ganadería y la agricultura tradicional (Cusano *et al.*, 2009). Las especies forestales más cultivadas pertenecen al género *Eucalyptus* y *Pinus*. Dentro de este último, las especies más plantadas son *P. taeda* L., *P. elliottii* Engelm y *P. pinaster* Ait. (Arnaboldi y Cabano, 2009). Debido a que es una de las especies que presentan un crecimiento rápido y a que su madera es altamente comercializada, *P. taeda* es la especie de pino más cultivada en nuestro país. La madera se utiliza para diversos fines, principalmente aserrado y debobinado (Cusano *et al.*, 2009; Baker y Langdon, 1990). El Proceso de Montreal y la Declaración de Santiago determinaron a la biodiversidad como el primer criterio para evaluar el manejo sustentable de los bosques (Martínez *et al.*, 2010). La meta es una actividad agrícola sostenible y en ese sentido Uruguay ha sido pionero en la eco-certificación de sus productos forestales (Carrasco-Letelier, 2010). La mayor parte de los trabajos de investigación en el área forestal están enfocados al mejoramiento genético y la calidad de la madera, entre otros, pero pocos sobre su impacto en los ambientes naturales (Arnaboldi y Cabano, 2009). El aumento de la actividad forestal ha promovido la necesidad de producir conoci-

miento en diversidad biológica y sobre los impactos generados en los ecosistemas como consecuencia del cambio de uso del suelo, de pastoril o agrícola a forestal (Giosa, 2009).

Las arañas son consideradas buenos bioindicadores para el manejo sustentable de las plantaciones y para el control biológico de plagas (Riechert y Lockley, 1984). Son un grupo megadiverso, ocupando el séptimo lugar en diversidad (Coddington y Levi, 1991), con un total de 42055 especies descritas en la actualidad (Platnick, 2012). Las arañas son componentes significativos de los ecosistemas terrestres, ya que se cuentan entre los mayores predadores de las comunidades de insectos y otros artrópodos (Ubick *et al.*, 2005; Maloney *et al.*, 2003). En las últimas décadas, a nivel mundial, se han visto incrementados los estudios enfocados en conocer la diversidad de arañas, presentes tanto en ambientes naturales como en agroecosistemas (Jiménez-Valverde y Lobo, 2005). Su rol potencial como controladores biológicos de insectos plaga las ha llevado a ser muy estudiadas a nivel mundial, incrementándose año tras año el interés por conocer la araneofauna asociada a diferentes cultivos de interés comercial (Wise, 1993). En este marco se han realizado estudios en cultivos de soja (Lijiestrom *et al.*, 2006; Pearce *et al.*, 2005) y forrajeros como la alfalfa (Kiss y Samu, 2000; Armentano y Gonzalez, 2010), en diversos cereales (Uetz

<sup>1</sup>Sección Entomología. Facultad de Ciencias. Universidad de la República.

<sup>2</sup>Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas. Pedeciba. Biología.

*et al.*, 1999), en plantaciones de manzanos (Miliczky y Horton, 2005; Mathews *et al.* 2004; Pfannenstiel, 2008), en citrus (Green, 1999) y en viñedos (Hoog y Daane, 2010). Dichos estudios se han orientado a conocer la araneofauna del suelo, hojarasca y follaje arbustivo, que en general son los estratos más accesibles (Horváth *et al.*, 2009; Sorensen, 2004; Sorensen *et al.*, 2002). En las últimas décadas se ha incrementado el uso de un taxón indicador para evaluar el estado de conservación de los ecosistemas (Moreno, 2001; Horváth *et al.*, 2001; McGeoch, 1998). Su elección es trascendental y debe cumplir con determinados requisitos: presentar estabilidad taxonómica, sensibilidad a cambios en el hábitat, conocimiento de su historia natural, de fácil observación y manipulación (Gutiérrez y Rumiz, 2002; Pearson, 1994). Estudios previos han mostrado que los artrópodos, y en especial las arañas, son buenos indicadores de modificación ambiental a nivel agrícola y forestal (ECA, 1998; Arroyo *et al.*, 2003; Finch, 2005; Pearse y Venier, 2006; Uehara-Prado *et al.*, 2009), así como en ambientes naturales (McGeoch, 1998; Griffin, 1998; Ricketts *et al.*, 2002; Brennan *et al.*, 2006; Cardozo *et al.*, 2004a, 2004b).

Hasta el momento el conocimiento de la araneofauna en plantaciones forestales del Uruguay es escaso. Martínez *et al.*, (2010) estudiaron plantaciones jóvenes de *E. globulus*, citando nuevas especies de arañas para el país. Simó *et al.*, (2011) analizaron comparativamente la diversidad de ara-

ñas en plantaciones de *E. globulus* en relación a ambientes naturales adyacentes, donde encontraron diferencias significativas en la composición de especies entre dichos ambientes. Pero hasta el momento no existen datos de la araneofauna en plantaciones de pinos. Por dicho motivo, el objetivo de este estudio consistió en conocer la composición y estructura de la comunidad de arañas de una plantación de *Pinus taeda*, intentando abordar diferentes estratos, inclusive la copa de los árboles que hasta el momento no había sido estudiado para los artrópodos en el Uruguay. Considerando que en nuestro país los cultivos forestales se desarrollan principalmente sobre una matriz de campo natural, es de esperar que el cambio producido por los mismos se vea reflejado en un alto recambio de especies.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El muestreo se realizó en una parcela de *P. taeda* de 12 años y en un área de campo natural dentro de una plantación forestal comercial ubicada en el predio "La Corona", perteneciente a la empresa forestal Weyerhaeuser, en el departamento de Tacuarembó (31°36'49.18"S; 55°40'47.06"O) (Figura 1). Se realizaron cuatro muestreos estacionales entre abril de 2011 y febrero de 2012. Para la recolección del material se realizaron transectas dentro de la parcela, a partir de los 50 m del límite de la misma, de manera de minimizar el efecto de borde con las parcelas vecinas y la matriz de campo natural



Figura 1. Área de estudio. A: rodal de *P. taeda*. B: campo natural.



**Figura 2.** Recolección de arañas con aspirador G-vac: en A. follaje, B. suelo y en C. Recolección manual nocturna en el rodal empleando lámparas de cabeza.

(Finch, 2005; Corcuera *et al.*, 2010). Se emplearon dos métodos de recolección: aspirador G-Vac (Figura 2 A-B) y captura manual nocturna (Figura 2 C). La captura manual nocturna es un método clásico en relevamientos de arañas y es utilizado para recolectar las arañas activas durante la noche, que se encuentran en la superficie del suelo o sobre el follaje, las que son difíciles de capturar mediante otros métodos (Coddington *et al.*, 1996; Sackett *et al.*, 2009; Yanoviak *et al.*, 2003). Se utilizaron lámparas de cabeza siguiendo la técnica de «looking up, looking down» (Coddington *et al.*, 1996; Sorensen *et al.*, 2004), la cual consiste en capturar todas las arañas observadas desde el suelo hasta una altura correspondiente al alcance de la mano. Se tomaron tres muestras de media hora cada una por estación, tanto en la plantación como en el campo natural, totalizando 12 muestras al final del trabajo para cada sitio. El aspirador G-Vac consiste en un sople-aspirador de jardín modificado para la captura de artrópodos. Es un método de recolección directo que permite recoger un número importante de ejemplares (Doxon *et al.*, 2011). Con este método se muestreó el campo natural y dos estratos del pinar: follaje arbóreo y suelo. Para acceder al estrato follaje en la plantación se utilizó un elevador manoscópico perteneciente a INIA Tacuarembó. Se tomaron 20 muestras de aspiradora en el follaje entre los 11 y 18 m de altura, en el suelo del pinar y en el suelo del campo natural, totalizando 60 muestras por estación y 240 para todos los sitios al final del trabajo. La similitud entre ambos sitios fue anali-

zada cuantitativamente mediante el índice de Bray-Curtis y cualitativamente por el índice de Jaccard. Para conocer las especies que más contribuyen con la disimilitud entre los dos ambientes se aplicó el análisis Simper. La composición taxonómica entre ambos ambientes fue calculada mediante el análisis ANOSIM. Los análisis estadísticos se calcularon mediante el uso del programa Past, versión 2.16 (Hammer *et al.*, 2003). Para las curvas de acumulación de especies se eligió el estimador Jackknife 1 empleando el software Biodiversity PRO Versión 2 (McAleece *et al.*, 1997). El procesamiento del material se llevó a cabo en laboratorios de INIA Tacuarembó y en la Sección Entomología de la Facultad de Ciencias de la UdelaR. Los ejemplares fueron fijados en alcohol al 70% y representantes de las especies están depositados en la colección aracnológica de la Facultad de Ciencias de la UdelaR.

## RESULTADOS

Se registró una mayor abundancia de arañas en el campo natural ( $N = 3168$ ) con respecto al pinar ( $N = 1849$ ), aunque la riqueza específica se mantuvo en valores similares en ambos ambientes (Cuadro 1). En el cultivo, el suelo resultó ser el estrato con mayor número de ejemplares ( $N = 1463$ ; 79,1%) y riqueza (57 especies) con respecto al follaje ( $N=113$ ; 20,9%; 9 especies). En este ambiente se reconocieron 40 especies exclusivas, mientras que 44 especies se hallaron solamente en el campo natural.

**Cuadro 1.** Abundancia y riqueza específica para cada zona de estudio

Abundancia	<i>P. taeda</i>	Campo natural
Total	1849	3168
Aspirador de suelo	1463	2960
Aspirador follaje	113	-----
Recolección manual	273	208
Riqueza	<i>P. taeda</i>	Campo natural
N° familias	19	22
N° especies/morfoespecies	74	79

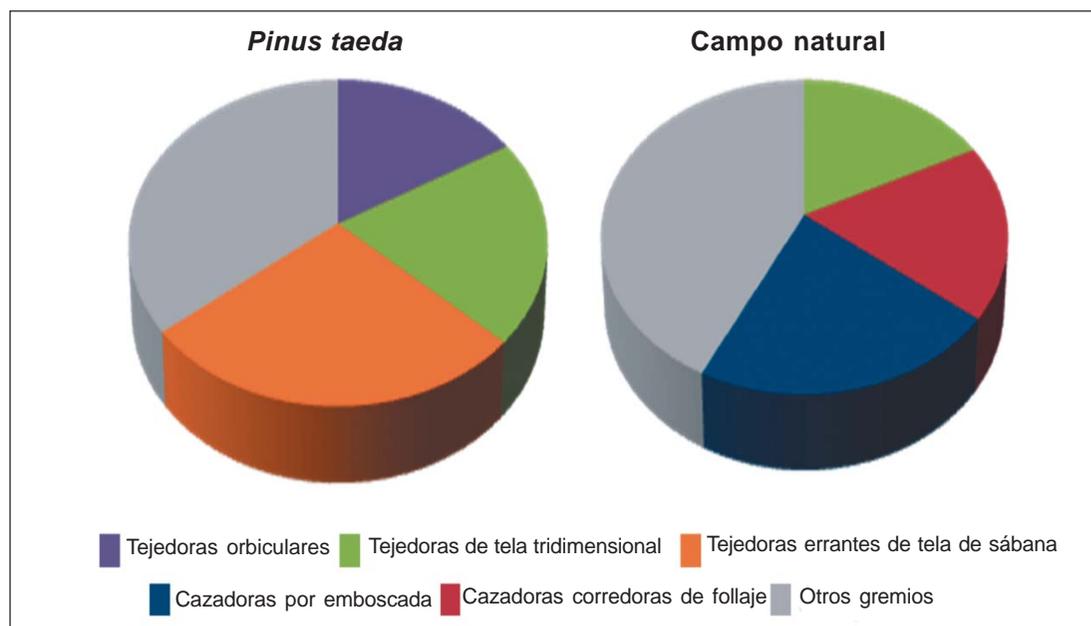
En cuanto a los gremios funcionales, en el pinar se registró una mayor abundancia de arañas tejedoras errantes de tela de sábana, mientras que en el campo natural el gremio predominante estuvo representado por las arañas cazadoras por emboscada (Figura 3). De las familias encontradas en la plantación, las más abundantes fueron Linyphiidae, Theridiidae, Araneidae, Lycosidae y Salticidae. En el campo natural las familias Theridiidae, Anyphaenidae, Philodromidae, Linyphiidae y Oxyopidae fueron las que presentaron mayor número de individuos.

El índice de similitud de Bray-Curtis estableció una disimilitud alta (91,2%), al igual

que el índice de Jaccard (84%). El análisis ANOSIM indicó que existen diferencias significativas en la diversidad entre ambos ambientes ( $R= 0,126$ ;  $p=0,001$ ). El análisis Simper indicó que una especie de araña tejedora de tela irregular de la familia Theridiidae es la que contribuye más a dicha disimilaridad (15,2 %). A pesar de las diferencias halladas, los dos ambientes mostraron valores de equitatividad similares (0,78 campo natural; 0,70 pinar).

El Jackknife1 estimó para el pinar 108 especies de arañas y para el campo natural 115 especies (Figura 4). Estos valores indican que el esfuerzo de muestreo realizado permitió conocer cerca del 70% de la comunidad de arañas para ambos ambientes.

18

**Figura 3.** Abundancia relativa de los gremios funcionales más abundantes en ambas zonas de estudio.

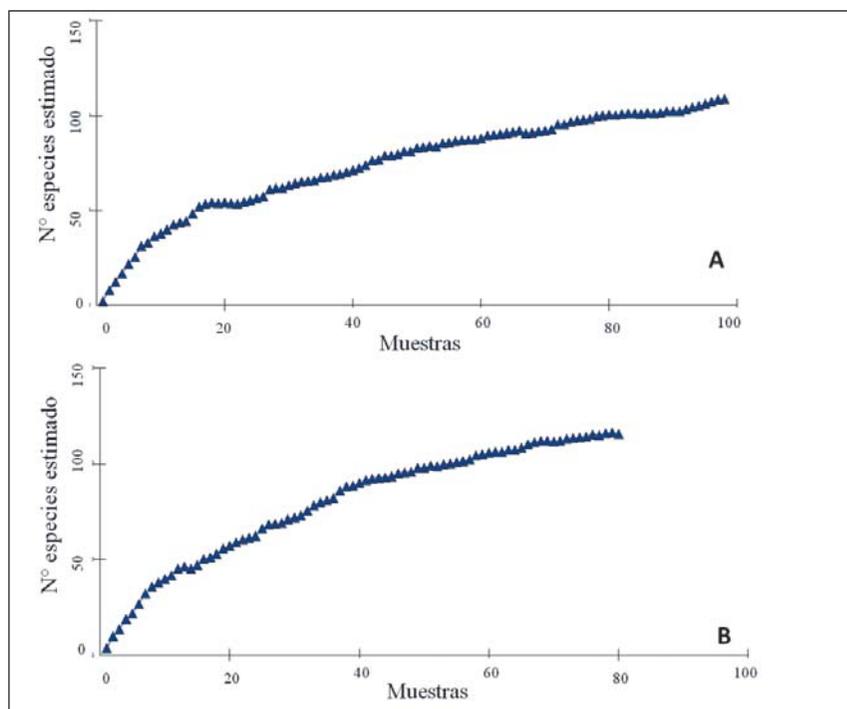


Figura 4. Curva de acumulación de especies del estimador Jackknife 1. A: *P. taeda*. B: Campo natural.

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La mayor heterogeneidad de la vegetación está asociada a una mayor riqueza específica en las arañas (Simó *et al.*, 2011). Por tanto la escasa abundancia y riqueza de especies de arañas registrada en el follaje del pino podría explicarse por la homogeneidad de este estrato del cultivo. La mayor abundancia de arañas en el suelo del pinar sería una respuesta a la gran cantidad de restos de podas y mantillo de acículas, lo que proporciona una mayor disponibilidad de refugios y alimento que el campo natural. La diferente composición taxonómica evidencia un alto reemplazo de especies entre la plantación y el campo natural. A su vez, algunas especies del suelo del campo natural como *Parabatinga brevipes* (Ctenidae) y *Lycosa poliostrata* (Lycosidae) son bastante abundantes en el pinar, por lo que serían tolerantes a los efectos producidos por la plantación. Si bien estas especies viven en ambientes naturales, también se ha registrado su presencia en ambientes antropizados en el país (Pérez-Miles *et al.*, 1999; Simó *et al.*, 2000). Recientemente, Gómez (2012) actualizó las especies de escarabajos escolítidos presentes en cultivos de pino para el Uruguay e indicó que la presencia de estas especies plaga están asociadas a restos de podas, tocones y trozas. Con respecto a la araneofauna, se observó que la mayor diferencia en abundancia y riqueza entre el pinar y el campo natural se registró a nivel del suelo. Los restos de podas en el pinar generan nuevos microhábitats que favorecen el establecimiento de determinadas especies de arañas, algunas de ellas no presentes o poco frecuentes en el campo natural. Esto sugiere que una medida de manejo orientada a la remoción de los restos de podas y raleos contribuiría a disminuir los efectos negativos de los escolítidos y los impactos en la biodiversidad a nivel del suelo. Las familias de arañas más abundantes registradas en el cultivo de pinos: Linyphiidae, Theridiidae, Araneidae, Lycosidae y Salticidae, podrían considerarse potenciales controladores de plagas, debido a que hay antecedentes de su utilización en el control del crecimiento poblacional de diversos insectos de importancia agrícola y forestal en otros países (Riechert y Lockley, 1984;

lizó las especies de escarabajos escolítidos presentes en cultivos de pino para el Uruguay e indicó que la presencia de estas especies plaga están asociadas a restos de podas, tocones y trozas. Con respecto a la araneofauna, se observó que la mayor diferencia en abundancia y riqueza entre el pinar y el campo natural se registró a nivel del suelo. Los restos de podas en el pinar generan nuevos microhábitats que favorecen el establecimiento de determinadas especies de arañas, algunas de ellas no presentes o poco frecuentes en el campo natural. Esto sugiere que una medida de manejo orientada a la remoción de los restos de podas y raleos contribuiría a disminuir los efectos negativos de los escolítidos y los impactos en la biodiversidad a nivel del suelo. Las familias de arañas más abundantes registradas en el cultivo de pinos: Linyphiidae, Theridiidae, Araneidae, Lycosidae y Salticidae, podrían considerarse potenciales controladores de plagas, debido a que hay antecedentes de su utilización en el control del crecimiento poblacional de diversos insectos de importancia agrícola y forestal en otros países (Riechert y Lockley, 1984;

Nyffeler y Sunderland, 2003). El presente estudio establece las bases para la aplicación de metodologías rápidas de muestreos de artrópodos para su utilización en estudios de impacto sobre la biodiversidad. Los resultados obtenidos sirven de base para focalizar futuros monitoreos ambientales utilizando las arañas como bioindicadores. La alta abundancia y riqueza de arañas tejedoras las ubica como potenciales recursos a utilizar para el control biológico. Futuros estudios podrán evaluar la capacidad de las plantaciones forestales como refugio para especies de arañas de ambientes como el campo natural o los bosques nativos.

## AGRADECIMIENTOS

A Roberto Scoz y Juan Pedro Posse por el permanente estímulo y apoyo para la concreción de este estudio. A Gonzalo Martínez, Gissel Cantero y Sofía Simeto por la asistencia brindada en el laboratorio de INIA Tacuarembó. A Federico Rodríguez, Juliana Ivanchenco y Gustavo Echevaleta por la colaboración brindada en el trabajo de campo. A la Agencia Nacional de Investigación e Innovación y al Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas (Pedeciba-Biología) por la financiación otorgada en el marco de este proyecto.

## BIBLIOGRAFÍA

- ARMENTANO, A.; GONZALEZ, A.** 2010. Comunidad de arañas (Arachnida, Araneae) del cultivo de alfalfa (*Medicago sativa*) en Buenos Aires, Argentina. *Revista de Biología Tropical* 58(2): 757-767.
- ARNABOLDI, G.; CABANO, D.** 2009. Validación a campo de la norma Nacional de Gestión Forestal Sostenible. Criterio e indicadores. UNIT 1152:2006. Tesina de grado Facultad de Agronomía. Montevideo, Uruguay 70 p.
- ARROYO, J.; ITURRONDOBEITIA, J.C.; CABALLERO, A.I.; GONZÁLEZ-CARCEDO, S.** 2003. Una aproximación al uso de taxones de artrópodos como bioindicadores de condiciones edáficas en agrosistemas. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa* 32: 73-79.
- BAKER, J.B.; LANGDON, G.** 1990. *Pinus taeda* L. Loblolly Pine. Burns, R.M. & Honkala B.H. editors. *Silvics of North America*, Vol. 1, Conifers. Forest Service Agriculture Handbook Washington: U.S.A. 654 p.
- BRENNAN, K.E.C.; ASHBY, L.; MAJER, J.D.; MOIR, M.L.; KOCH, J.M.** 2006. Simplifying assessment of forest management practices for invertebrates: How effective are higher taxon and habitat surrogates for spiders following prescribed burning? *Forest Ecology & Management* 231: 138-154.
- CARDOZO, P.; SILVA, I.; DE OLIVEIRA, N.G.; SERRANO, R.M.** 2004a. Indicator taxa of spider (Araneae) diversity and their efficiency in conservation. *Biological Conservation* 120: 517-524.
- CARDOZO, P.; SILVA, I.; DE OLIVEIRA, N.G.; SERRANO, R.M.** 2004b. Higher taxa surrogates of spider (Araneae) diversity and their efficiency in conservation. *Biological Conservation* 117: 453-459.
- CARRASCO-LETELIER, L.** 2010. Aportando a la consolidación de la sustentabilidad ambiental forestal. *Revista INIA* 22: 41-44.
- CODDINGTON, J.A.; LEVI, H.W.** 1991. Systematics and evolution of spiders. *Annual Review of Ecology and Systematics* 22: 565-92.
- CODDINGTON, J.A.; YOUNG, L.A.; COYLE, F.A.** 1996. Estimating spider species richness in a Southern Appalachian cove hardwood forest. *The Journal of Arachnology* 24: 111-118.
- CORCUERA, P.; VALVERDE, P.L.; ZAVALA-HURTADO, J.A.; DE LA ROSA, G.; DURÁN, C.** 2010. Non weaving spiders on native woodlands and Eucalyptus plantations in Western Mexico: diversity and distribution patterns. *Journal of Insect Conservation* 14: 711-719.
- CUSANO, N.; ETTLIN, G.; OCAÑO, C.** 2009. Cosecha forestal mecanizada: capacidad operacional y estudio económico de un sistema CTL. Tesina de grado Facultad de Agronomía. Montevideo, Uruguay 78 p.
- DOXON, E.D.; DAVIS, C.A.; FUHLENDORF, S.D.** 2011. Comparison of two methods for sampling invertebrates: vacuum and sweep-net sampling. *Journal of Field Ornithology* 82(1): 60-67.

- ECA.** 1998. European Colloquium of Arachnology (17<sup>o</sup>, 1997, Edinburg, Scotland) Proceedings. Edinburg, Scotland. Selden P.A. Editor. p. 293-300.
- FINCH, O.D.** 2005. Evaluation of mature conifer plantations as a secondary habitat for epigeic forest arthropods (Coleoptera; Carabidae; Araneae). *Forest, Ecology & Management* 204: 21-34.
- GIOSA, R.** 2009. Cuantificación del contenido de nutrientes en trozas comerciales de *Eucalyptus grandis* con destino a la fabricación de pulpa y su relación con el tipo de suelo. Tesina de grado Facultad de Agronomía. Montevideo, Uruguay. 62 p.
- GÓMEZ, D.** 2012. Escarabajos de corteza en Uruguay: situación actual y perspectivas. *Revista INIA* 30: 48-51.
- GREEN, J.** 1999. Sampling method and time determines composition of spider collections. *The Journal of Arachnology* 27: 176-182.
- GRIFFIN, R.E.** 1998. Species richness and biogeography of non-acarine arachnids in Namibia. *Biodiversity & Conservation* 7: 467-481.
- GUTIERREZ, T.; RUMIZ, D.** 2002. Patrones de diversidad de grupos selectos de insectos en el bosque Chiquitano y Pampas del Cerrado de Santiago y Tucavaca, Santa Cruz – Bolivia. *Revista Boliviana de Ecología* 11: 37-46.
- HAMMER, O.; HARPER, D.A.T.; RYAN, P.D.** 2003. PAST: Palaeontological Statistics, Version 1.18. Available at: <http://folk.uio.no/ohammer/past>.
- HOGG, B.N.; DAANE, K.M.** 2010. The role of dispersal from natural habitat in determining spider abundance and diversity in California vineyards. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 135: 260-267.
- HORVÁTH, R.; MAGURA, T.; SZINETÁR, C.** 2001. Effects of immission load on spiders living on black pine. *Biodiversity & Conservation* 10: 1531-1542.
- HORVÁTH, R.; MAGURA, T.; SZINETA, C.; TÓTHMÉRÉSZ, B.** 2009. Spiders are not less diverse in small and isolated grasslands, but less diverse in overgrazed grasslands: A field study (East Hungary, Nyírség). *Agriculture, Ecosystems & Environment* 130: 16-22.
- JIMENEZ-VALVERDE, A.; LOBO, J.M.** 2005. Determining a Combined Sampling procedure for a reliable estimation of Araneidae and Thomisidae assemblages (Arachnida, Araneae). *The Journal of Arachnology* 33: 33-42.
- KISS, B.; SAMU, F.** 2000. Evaluation of population densities of the common wolf spider *Pardosa agrestis* (Araneae: Lycosidae) in Hungarian alfalfa fields using mark-recapture. *European Journal of Entomology* 97: 191-195.
- LILJESTHRÖM, G.; MINERVINO, E.; CASTRO, D.; GONZÁLEZ, A.** 2002. La Comunidad de Arañas del Cultivo de Soja en la Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Neotropical Entomology* 31(2): 197-210.
- MALONEY, D.; DRUMMOND, F.A.; ALFORD, R.** 2003. Spider Predation in Agroecosystems: Can Spiders Effectively Control Pest Populations? Maine Agricultural and Forest Experiment Station. The University of Maine. Technical Bulletin 190: 1-32.
- MARTINEZ, G.; SIMÓ, M.; JORGE, C.; LABORDA, A.; ALVES DIAS, M.** 2010. Arañas en cultivos de *Eucalyptus globulus*: Estudio de un grupo Bioindicador. *Forestal* 14(42): 25-29.
- MATHEWS, C.R.; BOTTRELL, D.G.; BROWN, M.W.** 2004. Habitat manipulation of the apple orchard floor to increase ground-dwelling predators and predation of *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae). *Biological Control* 30: 265-273.
- MCALEECE, N.; LAMBSHEAD, P.J.D.; PATERSON, G.L.J.** 1997. BioDiversity Pro (Version 2). London, The Natural History Museum & The Scottish Association for Marine Science. Available at: <http://www.sams.ac.uk/research/software/bdpro.zip/view>.
- MCGEOCH, M.A.** 1998. The selection, testing and application of terrestrial insects as bioindicators. *Biology Reviews* 73: 181-201.
- MILICZKY, E.R.; HORTON, D.R.** 2005. Densities of beneficial arthropods within pear and apple orchards affected by distance from adjacent native habitat and association of natural enemies with extra-orchard host plants. *Biological Control* 33: 249-259.

- MORENO, C.E.** 2001. Métodos para medir la biodiversidad. Manuales y Tesis (Sociedad Entomológica Aragonesa; 1) 86 p.
- NYFFELER, M.; SUNDERLAND, K.D.** 2003. Composition, abundance and pest control potential of spider communities in agroecosystems: a comparison of European and US studies. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 95: 579-612.
- PEARSE, J.A.; VENIER, L.A.** 2006. The use of ground beetles (Coleoptera: Carabidae) and Spiders (Araneae) as bioindicators of sustainable forest management: A review. *Ecological Indicators* 6: 780-793.
- PEARCE, S.; ZALUCKI, M.P.; HASSAN, E.** 2005. Spider ballooning in soybean and non-crop areas of southeast Queensland. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 105: 273-281.
- PEARSON, D.L.** 1994. Selecting Indicator Taxa for the Quantitative Assessment of Biodiversity. *Philosophical Transactions: Biological Sciences* 345(1311): 75-79.
- PÉREZ-MILES, F.; SIMÓ, M.; TOSCANO-GADEA, C.; USETA, G.** 1999. La comunidad de Araneae criptozoicas del Cerro de Montevideo, Uruguay: un ambiente rodeado por urbanización. *Physis* 57(132-133): 73-87.
- PFANNENSTIEL, R.S.** 2008. Spider predators of lepidopteran eggs in south Texas field crops. *Biological Control* 46: 202-208.
- PLATINCK, N.I.** 2012. The World Spider Catalog, Version 12.5. The American Museum of Natural History. <http://research.amnh.org/iz/spiders/catalog/>. Acceso el 20/11/2012.
- RICKETTS, T.H.; DAILY, G.C.; EHRlich, P.R.** 2002. Does butterfly diversity predict moth diversity? Testing a popular indicator taxon at local scales. *Biological Conservation* 103: 361-370.
- RIECHERT, S.E.; LOCKLEY, R.** 1984. Spiders as Biological Control Agents. *Annual Review of Entomology* 29: 299-320.
- SACKETT, T.E.; BUDDLE, C.M. VINCENT, C.** 2009. Dynamics of spider colonization of apple orchards from adjacent deciduous forest. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 129: 144-148.
- SIMÓ, M.; LABORDA, A.; JORGE, C.; CASTRO, M.** 2011. Las arañas en agroecosistemas: bioindicadores terrestres de calidad ambiental. *INNOTEC* 6: 51-55.
- SIMÓ, M.; VÁZQUEZ, V.; USETA, G.** 2000. Estudio comparativo de la fenología y el hábitat de *Ctenus taeniatus* Keyserling 1891 y *Asthenoctenus borelli* Simon 1897 en el Uruguay (Araneae, Ctenidae). *Boletín de la Sociedad Zoológica del Uruguay* (2 da. Época) 12: 32-40.
- SORENSEN, L.** 2004. Composition and diversity of the spider fauna in the canopy of a montane forest in Tanzania. *Biodiversity & Conservation* 13: 437-452.
- SORENSEN, L.; CODDINGTON, J.; SCHARFF, N.** 2002. Inventorying and Estimating Subcanopy spider diversity using semiquantitative sampling methods in an Afromountain forest. *Environmental Entomology* 31(2): 319-326.
- UBICK, D.; PAQUIN, P.; CUSHING, P.E.; ROTH, V.** 2005. Spiders of North America: an identification manual. American Arachnological Society. USA, 378 p.
- UEHARA-PRADO, M.; OLIVEIRA FERNANDES, J.; DE MOURA BELLO, A.; MACHADO, G.; SANTOS, A.J.; ZAGURY VAZ-DE-MELLO, F.; LUCCI FREITAS, A.** 2009. Selecting terrestrial arthropods as indicators of small-scale disturbance: A first approach in the Brazilian Atlantic Forest. *Biological Conservation* 142: 1220-1228.
- UETZ, G.W.; HALAJ, J.; CADY, A.B.** 1999. Guild structure of spiders in major crops. *The Journal of Arachnology* 27: 270-280.
- WISE, D.H.** 1993. Spiders in Ecological Webs. University Press, Cambridge, UK. 342p.
- YANOVIK, S.P.; KRAGH, G.; NADKARNI, N.M.** 2003. Spider Assemblages in Costa Rica Cloud Forests: Effects of Forest level and Forest age. *Studies on Neotropical Fauna & Environment* 38(2): 145-154.

# PROSPECCIÓN SANITARIA EN PLANTACIONES JÓVENES DE EUCALIPTO PRIMAVERA 2008 - OTOÑO 2012

Carlos A. Pérez<sup>1</sup>, Gonzalo Martínez<sup>2</sup>,  
Sofía Simeto<sup>2</sup>, Diego Torres-Dini<sup>2</sup>,  
Cintia Palladino<sup>1</sup>, Fabrizio Langone<sup>1</sup>,  
Oscar Bentancur<sup>3</sup>, Gustavo Balmelli<sup>2</sup>

## INTRODUCCIÓN

El aumento en la importancia relativa de enfermedades y plagas sobre la producción de eucalipto en los últimos años impulsó a la investigación nacional a generar información sobre las distintas problemáticas emergentes. En este marco, en el año 2008, 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 buscó generar información que permitió 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.

Los resultados de este proyecto han sido presentados periódicamente en las Jornadas de Protección Forestal de INIA. En este caso, se presenta un resumen general de los resultados obtenidos en los sucesivos años, incluyendo los resultados correspondientes a la prospección realizada en el Otoño 2012, en la región litoral oeste, donde se visitaron plantaciones de menos de 18 meses de *E. dunnii* y *E. grandis*.

Mayor información respecto a las prospecciones del 2008 y 2009 se encuentra publicada en Balmelli *et al.* (2009a, 2009b) y Simeto *et al.* (2010).

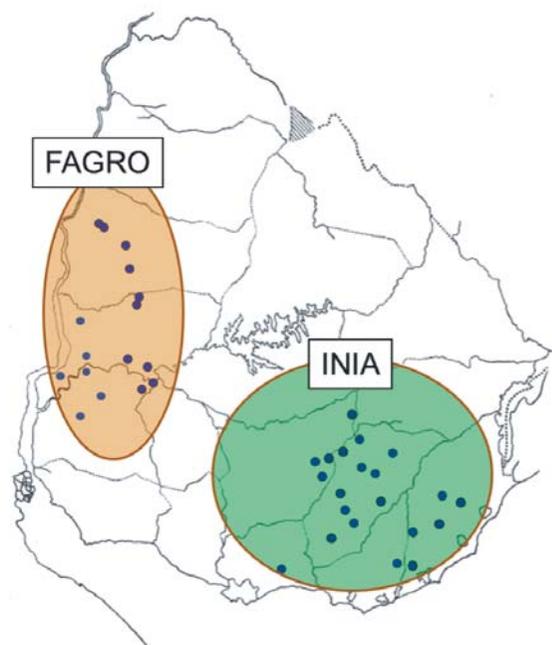
## MATERIALES Y MÉTODOS

La prospección se basó en la visita a plantaciones con menos de 18 meses, distribuidas en el litoral oeste (a cargo de FAGRO) y en la región sureste del país (a cargo de INIA) (Figura 1). En cada región se visitaron distintas plantaciones (Cuadro 1), en las que se realizaron transectas. Cada transecta constó de la evaluación de 10 árboles donde en una misma fila de plantación se evaluó un árbol de cada 10, con un largo de transecta de 90 árboles siguiendo la metodología descrita por Balmelli *et al.* (2009a, 2009b). Cada transecta representa la situación de un sitio forestal, definiendo sitio como la combinación de ambiente y genética. En cada árbol se determinó la presencia de las distintas plagas y enfermedades foliares y se cuantificó el daño causado por cada factor mediante estimación visual de incidencia (% de hojas con síntoma), severidad (% del área foliar afectada por el problema) y defoliación (% de copa que faltaba al momento de la visita). A su vez se tomaron muestras de insectos y

<sup>1</sup>Departamento de Protección Vegetal, EEMAC, Facultad de Agronomía, UdelaR. EEMAC. Ruta 3, km 363, Paysandú, Uruguay. Correo electrónico: caperez@fagro.edu.uy

<sup>2</sup>Programa Nacional de Investigación en Producción Forestal. INIA. Ruta 5, km 386, Tacuarembó.

<sup>3</sup>Departamento de Biometría, Estadística y Computación, Facultad de Agronomía, UdelaR. EEMAC. Ruta 3, km 363, Paysandú.



**Figura 1.** Regiones incluidas en la prospección realizada por INIA y por FAGRO desde el 2008 hasta el 2012.

de síntomas, para confirmar el diagnóstico en el laboratorio.

Para cada transecta se determinó: ubicación geográfica, fuente de semilla, tipo de suelo, posición topográfica, uso anterior del suelo, marco de plantación, intensidad silvícola, altura media y sobrevivencia.

Con la incidencia, severidad y defoliación 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:

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

## RESULTADOS

En total se realizaron 256 transectas en la región sureste y 247 transectas en el litoral oeste, lo que permitió tener una buena cobertura geográfica y de sitios forestales diferenciales (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Número de transectas realizadas en cada región según año

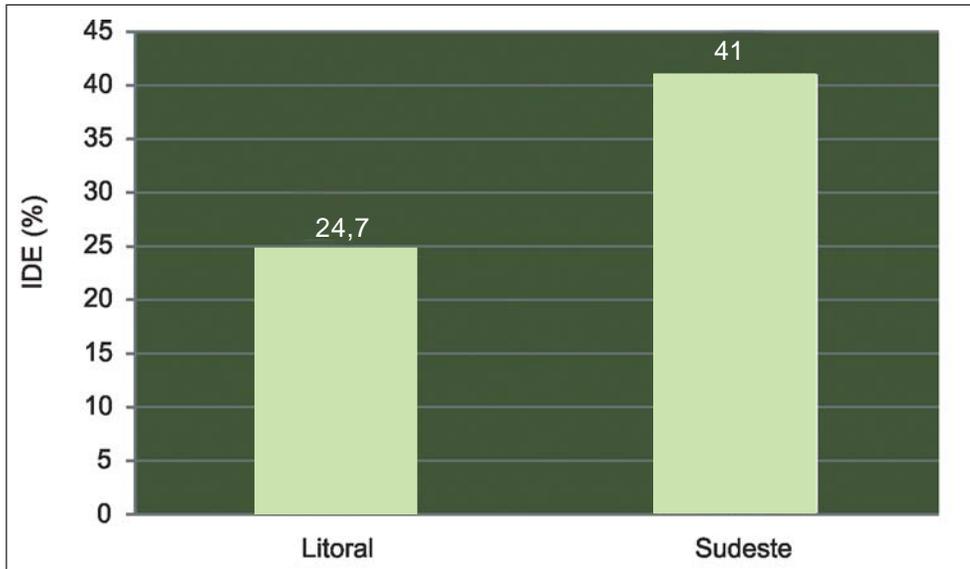
Año	Sureste	Litoral Oeste
2008	88	37
2009	84	57
2010-2011	84	57
2012	---	96

En la primavera del 2008 sólo se visitaron plantaciones de *E. globulus* en las dos regiones. Las manchas foliares (MLD por su sigla en inglés, principalmente causadas por *Teratosphaeria nubilosa*) tuvieron una prevalencia del 100%, lo que significa que estuvo presente en todas las plantaciones, al igual que *Ctenarytaina eucalypti*, mientras que *Gonipterus* spp. tuvo una prevalencia del 82% (Balmelli *et al.*, 2009a).

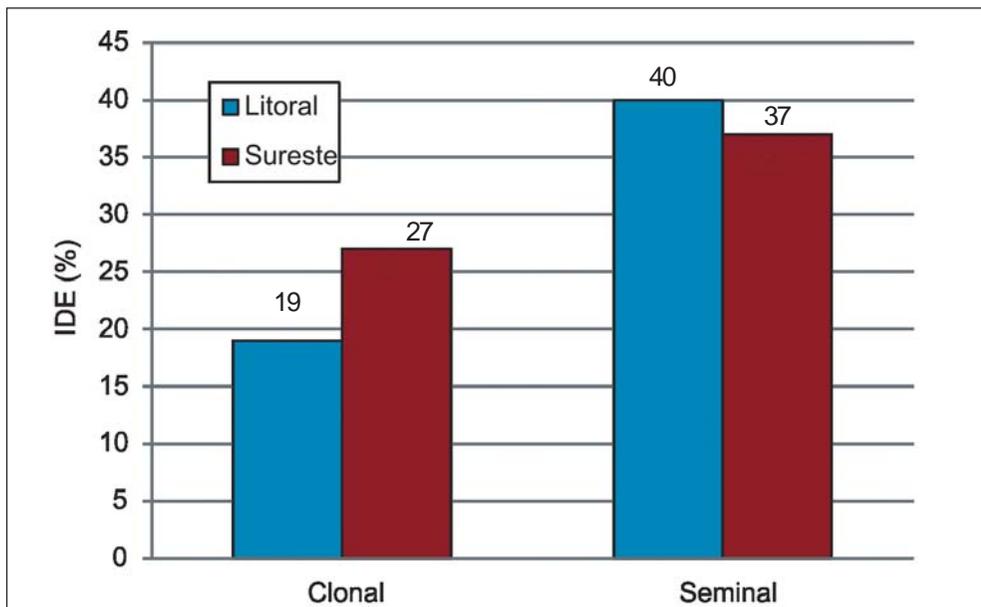
En esta oportunidad, la ejecución de esta prospección permitió por primera vez tener una estimación del daño causado por MLD en *E. globulus* a nivel nacional. En la primavera del 2008 en plantaciones menores a 12 meses se observó en promedio un IDE asociado a MLD superior al 30% de la copa, o sea que en promedio un tercio del área fotosintéticamente activa estaba afectada por esta enfermedad. Sin embargo se encontraron diferencias entre las regiones (Figura 2),

**Cuadro 1.** Especies de *Eucalyptus* incluidas en la prospección según año y región

Año	Sureste	Litoral
2008	<i>E. globulus</i>	<i>E. globulus</i>
2009	<i>E. globulus</i>	<i>E. globulus</i> + <i>E. dunnii</i>
2010-2011	<i>E. globulus</i>	<i>E. dunnii</i>
2012	----	<i>E. dunnii</i> + <i>E. grandis</i>



**Figura 2.** Índice de daño por MLD en *E. globulus*, promedio de cada región en la primavera del 2008.



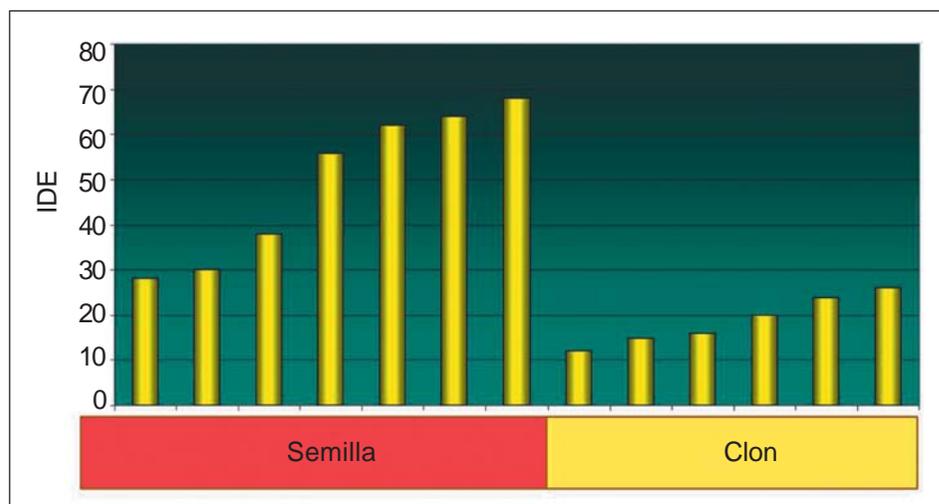
**Figura 3.** Índice de Daño por MLD en la primavera 2008, en plantaciones de *E. globulus*, según tipo de plantación y región.

donde el sudeste presentó mayores IDE que el litoral oeste, pero fundamentalmente explicado por una mayor proporción de plantaciones de origen seminal, ya que al analizar según tipo de plantación, los valores de IDE son similares entre regiones (Figura 3).

Se observaron claras diferencias entre los genotipos, tanto entre lotes de semilla como dentro de los clones (Figura 4). A su vez los

clones mostraron consistentemente menor daño que el observado en las plantaciones seminales, lo que podría estar explicado por una mayor resistencia a la infección y/o por un escape asociado al cambio precoz de follaje juvenil a follaje adulto.

En el otoño 2009 se incluyó la visita a plantaciones de *E. dunnii* en el litoral y se visitaron nuevos sitios que luego fueron



**Figura 4.** Índice de daño por MLD en primavera 2008 según genética. Cada barra corresponde al promedio de IDE de todas las transectas de ese mismo genotipo.

revisitados en la prospección de la primavera del 2009 y el otoño del 2011. En la prospección de otoño del 2009 tanto la MLD como *Ctenarytaina eucalypti* nuevamente estuvieron presentes en todas las plantaciones visitadas, mientras que *Gonipterus* spp. estuvo presente en todas las transectas del litoral, pero solo en el 6% de las del sureste (Cuadro 3). Esta diferencia entre regiones se explica por las edades de las plantaciones en una y otra región. Mientras en el litoral la mayoría de las transectas tenían un año de plantación, en el sureste la gran mayoría eran de 6 meses.

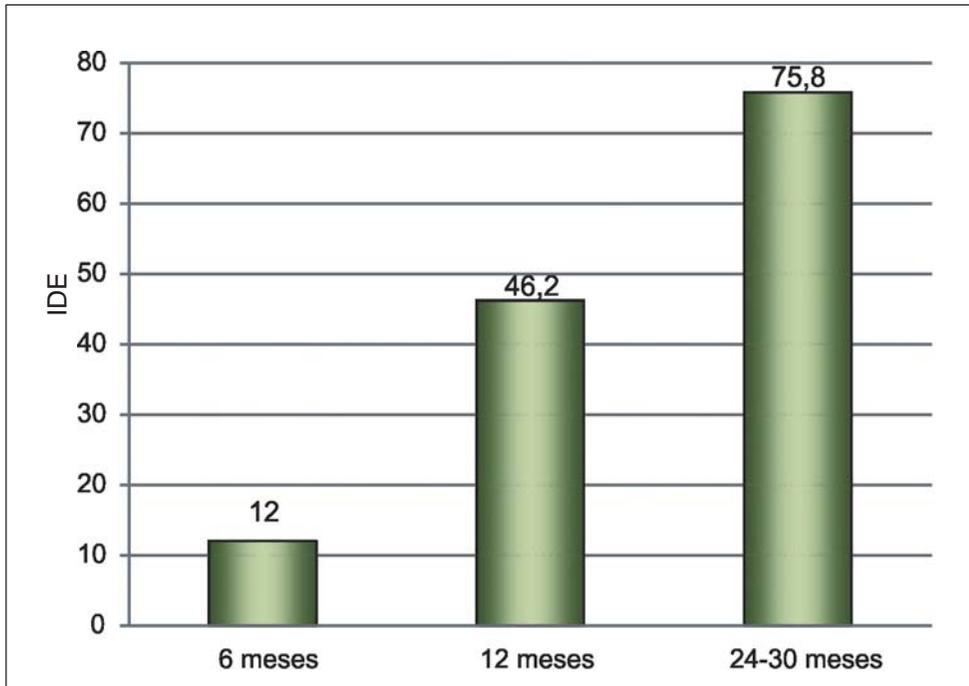
En esta oportunidad, llamó la atención la alta prevalencia de la roya en la región sureste y la aparición del tizón apical bacteriano

(causado por *Erwinia psidii*) en el litoral, asociado principalmente a *E. dunnii*.

La evolución de los niveles de daño por MLD cuantificados desde el otoño del 2009 hasta el otoño del 2011 en *E. globulus* en la región sureste, indica una creciente defoliación a medida que se acumulan estaciones de crecimiento (Figura 5). Luego de la primera estación de crecimiento (plantaciones de 6 meses), los árboles tenían sólo un 12% de daño, principalmente asociado al manchado de las hojas pero sin defoliación. Luego de la segunda estación de crecimiento (12 meses), el índice de daño promedio alcanzó el 46%, con gran parte del daño explicado por la alta severidad y una importante proporción del follaje caído. A los 24-30

**Cuadro 3.** Prevalencia de las distintas problemáticas sanitarias observadas en el otoño y en la primavera 2009

	Sureste		Litoral	
	Otoño	Primavera	Otoño	Primavera
Mancha foliar	100%	100%	100%	100%
Roya	57%	0%	0%	2%
Tizón apical bacteriano	0%	0%	19%	9%
<i>Ctenarytaina</i> spp.	100%	100%	100%	54%
<i>Thaumastocoris peregrinus</i>	25%	2%	50%	76%
<i>Glycaspis brimblecombei</i>	1%	0%	0%	0%
<i>Gonipterus</i> spp.	6%	6%	100%	74%



**Figura 5.** Índice de daño por MLD en *E. globulus* (promedio de todas las transectas) para la región sureste. Los 6, 12 y 24-30 meses de edad corresponden a las prospecciones realizadas en otoño 2009, primavera 2009 y primavera 2010-otoño 2011, respectivamente.

meses los árboles presentaban una defoliación promedio del 70%, lo cual sumado al manchado de las hojas remanentes representaba una pérdida total de follaje fotosintéticamente activo del 75%.

En el año 2012 sólo se realizó prospección en el litoral, donde se visitaron plantaciones del 2010 y 2011. El índice de daño asociado a enfermedades fue del 18% para el promedio general, siendo del 15.9% y 20,6% para *E. dunnii* y *E. grandis*, respectivamente. Este daño estuvo asociado a manchas foliares causadas por hongos, donde llama la atención el aumento relativo que se evidencia en la defoliación causada por *Teratosphaeria suttonii* (sin. *Kirramyces epicoccoides*) y en algunos casos bacterias.

Los distintos genotipos de *E. dunnii* y *E. grandis* mostraron claras diferencias en el nivel de daño asociado a enfermedades. Son evidentes las diferencias en el comportamiento sanitario dentro de cada especie, donde dependiendo del genotipo, el índice de daño estuvo comprendido entre 0-34% para *E. dunnii* y 3-52% para *E. grandis*.

A su vez en este año se observó una nueva epidemia del tizón apical bacteriano causado por *Erwinia psidii*, aunque en un nivel de ataque menor que el observado en el 2009.

El índice de defoliación por insectos estuvo asociado estrictamente a *Gonipterus* spp. y promedió 1,7%, siendo 2,7% y 1% para *E. dunnii* y *E. grandis*, respectivamente. *Gonipterus* spp. tuvo una prevalencia del 61,5%. A su vez se encontró *Ctenarytaina* spp. con una prevalencia del 36,5% y *Glycaspis brimblecombei* con una prevalencia del 5,2%.

Cabe destacar el severo daño de heladas ocurridas a inicios de junio, que causaron la muerte de un área importante de plantaciones de hasta 2 años de edad.

## CONSIDERACIONES FINALES

La ejecución de este proyecto permitió:

- Detectar la inesperada presencia de *Thaumastocoris peregrinus* en plantaciones jóvenes y la severa mortalidad en

esta plaga a causa de una epizootia de hongos entomopatógenos en los años 2009 y 2011.

- La cuantificación del daño causado por *Teratosphaeria nubilosa* en *E. globulus* en el litoral y en la zona sureste.
- Comprobar la ausencia de patrones de distribución geográfica de esta enfermedad, la cual presenta una amplia dispersión en el país.
- Determinar la inexistencia de factores de sitio o de manejo silvicultural que tengan efecto apreciable sobre el nivel de daño causado por MLD.
- Concluir que, en el caso de *E. globulus*, la utilización de clones, por su mayor precocidad en el cambio de follaje, permite reducir los daños provocados por MLD.
- La detección de la epidemia del tizón apical causado por *Erwinia psidii* a partir del 2009 y su reaparición en el otoño 2012.
- La alta incidencia de roya del eucalipto en *E. globulus* en el sureste del país en el 2009.
- El aumento en la importancia relativa de manchas foliares asociadas a bacterias en *E. grandis*, manchas por *Mycosphaerella* en *E. dunnii* y la defoliación causada por *Teratosphaeria suttonii* en ambas especies.

Este tipo de prospección realizada en forma periódica permite identificar y cuantificar la importancia relativa de los problemas sanitarios presentes y la detección temprana de los problemas emergentes, además de generar información epidemiológica de los mismos.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo estuvo financiado por INIA y contó con el co-financiamiento de la Sociedad de Productores Forestales para las prospecciones del año 2009. Un agradecimiento al Tec. Agr. Darío Fros, e Ing. Agr. Daniel Bercianos quienes formaron parte de las prospecciones realizadas al inicio del proyecto.

## BIBLIOGRAFÍA

- BALMELLI, G.; SIMETO, S.; MARTINEZ, G.; TORRES, D.; PÉREZ, C.; FROS, D.; 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. En: Jornada Técnica de Protección Forestal. Tacuarembó: INIA. (Serie Actividades de Difusión; 567). p. 51-65.
- BALMELLI, G.; SIMETO, S.; MARTÍNEZ, G.; TORRES, D.; GONZÁLEZ, P.; FROS, D.; BENTANCUR, O.; PÉREZ, C.** 2009b. Relevamiento sanitario de otoño en plantaciones jóvenes de *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus dunnii* en el sureste y litoral oeste. En: Seminario Técnico de Sanidad Forestal. Tacuarembó: INIA. (Serie Actividades de Difusión; 594). p. 51-72.
- SIMETO, S.; BALMELLI, G.; MARTÍNEZ, G.; TORRES, D.; GONZÁLEZ, P.; FROS, D.; BENTANCUR, O.; PÉREZ, C.** 2010. Relevamiento sanitario de *Eucalyptus* spp. en el sureste y litoral oeste del país. En: Jornada Técnica de Protección Forestal. Las Brujas: INIA. (Serie Actividades de Difusión; 629). p. 41-51.
- STONE, C.; MATSUKI, M.; CARNEGIE, A.** 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. 30 p.

# IDENTIFICACIÓN Y CONTROL DE ENFERMEDADES BACTERIANAS EN PLANTACIONES JÓVENES DE *Eucalyptus dunnii* Y *E. grandis*

Cintia Palladino<sup>1</sup>,  
Guillermo Pérez<sup>2</sup>,  
Raquel Alonso<sup>3</sup>,  
Carlos A. Pérez<sup>1</sup>

## INTRODUCCIÓN

A partir del año 2001 se comenzaron a observar epidemias de manchas foliares y tizón apical asociados a bacterias. En el año 2009 se observó una severa epidemia de tizón apical causado por *Erwinia psidii* en el litoral oeste del país, y niveles importantes de ataques de manchas foliares asociadas a bacterias (Balmelli *et al.*, 2009, Simeto *et al.*, 2010). La etiología de las manchas foliares no ha sido aún estudiada en Uruguay, por lo que se desconocen las especies bacterianas involucradas. En Brasil las manchas foliares están asociadas a *Xanthomonas axonopodis*, *X. campestris*, *Pseudomonas syringae*, *P. putida*, *P. cichorii*, *Erwinia* spp. y *Rhizobiaceae*; aunque *X. axonopodis* parece ser la especie predominante (Gonçalves *et al.*, 2008).

Respecto al tizón apical, las especies bacterianas reportadas en Uruguay son *Erwinia psidii* y *Pantoea ananatis* (Coutinho *et al.*, 2002; Coutinho *et al.*, 2011). *Erwinia psidii* fue reportada en Argentina y Uruguay en el año 2011, afectando plantaciones jóvenes de *Eucalyptus grandis*, *E. dunnii*, *E. globulus* y *E. maidenii* (Coutinho *et al.*, 2011). Los primeros síntomas de la enfermedad son lesiones necróticas en hojas recién formadas que con frecuencia presentan un esmaltado que corresponde a

la zooglea bacteriana (Figura 1a y 1b). La infección avanza por el pecíolo hacia las ramas y forma pequeños canchros (Figura 1c) (Coutinho *et al.*, 2011).

Por su parte, *Pantoea ananatis* fue aislada de graves lesiones en el año 2001 en la zona norte del país, afectando plantaciones jóvenes y viveros de *E. grandis* (FAO, 2006). Esta bacteria provoca muerte de hojas, formando ampollas dentro de las cuales se encuentran masas bacterianas (Coutinho *et al.*, 2002). En plántulas de *E. grandis*, las ampollas evolucionan a lesiones necróticas y en ataques graves ocasiona la muerte de la planta (FAO, 2006).

Si bien la utilización de germoplasma resistente es un pilar fundamental en el manejo sanitario forestal, la selección de germoplasma de *E. grandis* y *E. dunnii* resistente a estas enfermedades bacterianas, que además satisfagan las demanda de la industria, es un proceso a mediano-largo plazo. Por lo tanto, es fundamental explorar alternativas de manejo que permitan minimizar el impacto de estas enfermedades en el corto plazo.

En este sentido, la aplicación foliar de productos químicos que permitan disminuir los niveles de infección, y así minimizar el impacto de estas enfermedades sobre la producción, surge como una alternativa de interés para el sector. Existen evidencias del

<sup>1</sup>Departamento de Protección Vegetal, EEMAC, Facultad de Agronomía, UdelaR. EEMAC. Ruta 3, km 363, Paysandú, Uruguay. Correo electrónico: cintiapalladino@fagro.edu.uy

<sup>2</sup>Polo de Desarrollo Universitario Forestal, Centro Universitario de Tacuarembó, UdelaR. Tacuarembó.

<sup>3</sup>Laboratorio de Micología. Facultad de Ciencias – Facultad de Ingeniería. UdelaR, Julio Herrera y Reissig 565, Montevideo.



**Figura 1.** A) Tizón apical, afectando ápices laterales, distribuido en todo el árbol, B) acercamiento de un ápice lateral afectado y C) descenso del tizón hacia el fuste, resultando en cancro y anillando al mismo.

efecto de diversos productos químicos que pueden reducir los niveles de enfermedad, ya sea mediante su efecto directo sobre el desarrollo del patógeno como por su efecto sobre la planta mediante una inducción de la resistencia a la infección (Pinkard *et al.*, 2006).

El uso de quitosanos ha sido ampliamente utilizado para controlar varias enfermedades causadas por hongos en diversos cultivos (Gómez y Reis, 2011). Los quitosanos han mostrado tener acción fungicida contra varios fitopatógenos (Stössel y Leuba, 1984), así como también se ha demostrado actividad antibacteriana (He *et al.*, 2011). Incluso se ha observado que la aplicación foliar de quitosanos induce la expresión de resistencia local y sistémica afectando diversas vías metabólicas que involucran una variada gama de enzimas que actúan en la defensa de la planta (Yin *et al.*, 2010).

Por su parte el uso de fosfitos también ha mostrado ser efectivo en el control de varias enfermedades en diversos cultivos. Los

fosfitos tienen un modo de acción complejo, pudiendo directamente inhibir al patógeno, así como activar los mecanismos de defensa de las plantas mediante la estimulación de la síntesis y transporte de metabolitos secundarios como las fitoalexinas (Deliopoulos *et al.*, 2010). A su vez, se ha encontrado un efecto directo en el crecimiento de bacterias (Wen *et al.*, 2009). Un incremento en la concentración de polygalacturonasa, quitinasas e inhibidores de proteinasa ha sido observado en plantas con aplicaciones de fosfitos (Olivieri *et al.*, 2012).

Otra alternativa innovadora para el manejo de enfermedades es mediante la aplicación de extractos de algas. Específicamente, *Ascophyllum nodosum* es un alga marina con alto contenido de micronutrientes y compuestos bioactivos (Craigie, 2010). La aplicación de extractos provenientes de esta alga ha permitido reducir los niveles de enfermedades foliares en diversos cultivos (Jiménez *et al.*, 2011). Si bien el modo de acción no está claramente identificado, las plantas con

aplicación de este tipo de extracto han mostrado tener una mayor concentración de quitinasa, B-1,3-glucanasa, peroxidasa, polyfenol oxidasa, fenilalanina amonía liasa y lipoxigenasa, todas estas enzimas involucradas en los mecanismos de defensas contra patógenos (Jayaraman *et al.*, 2011). Estas cualidades inductoras de las respuestas de defensa de las plantas han sido atribuidas al alto contenido de polisacáridos que posee *A. nodosum* (Sangha *et al.*, 2010). La gran actividad bioestimulante de estos extractos han ubicado a este tipo de productos en la mira del manejo sustentable de enfermedades debido a su capacidad de reducir enfermedades causadas tanto por hongos como por bacterias (Subramaniam *et al.*, 2011).

Por su parte, las aplicaciones foliares de oxiclورو de cobre para el caso de enfermedades bacterianas, han mostrado ser una alternativa de manejo en diversos cultivos. Sin embargo, no hay antecedentes nacionales respecto al uso de estos productos en plantaciones de *Eucalyptus*. Sin dudas, la limitante más importante que enfrentan este tipo de productos es la escasa residualidad cuando se lo compara con el período de susceptibilidad del hospedero (Simeto *et al.*, 2010), y el continuo lavado del producto con las sucesivas lluvias.

Con el objetivo de buscar alternativas de manejo que minimicen el impacto de las enfermedades y evitar que se repitan epidemias como las observadas en los últimos años es que se evalúan estas alternativas de corto plazo que permitan una producción sustentable, en conocimiento de que los programas de mejoramiento deben priorizar la selección de germoplasma resistente a las enfermedades en cuestión.

En este marco, se viene implementando el proyecto de investigación «Alternativas de manejo de enfermedades en plantaciones de eucalipto», cofinanciado por la CSIC-UdelaR y la Sociedad de Productores Forestales en el marco del programa «Vinculación Universidad - Sector Productivo». El presente estudio se enmarca en dicho proyecto y tiene como objetivos específicos la identificación y el control de enfermedades bacterianas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Identificación de las especies bacterianas involucradas

El proceso de identificación bacteriana se realizó a partir material vegetal con síntomas característicos de bacterias (Figura 2a y 2b),



**Figura 2.** A) síntoma de manchas foliares en *Eucalyptus dunnii* causadas por bacterias, B) síntoma de tizón apical bacteriano en *E. dunnii*.

el cual fue recolectado en diferentes campos forestales.

Inicialmente se realizó en el laboratorio una microcorrida bajo el microscopio de un trozo del tejido vegetal en transición de sano a enfermo. En aquellas muestras donde se confirmó la presencia de flujo bacteriano, se procedió al aislamiento, siguiendo la metodología descrita por Gonçalves *et al.* (2008). La misma tiene como primer paso la desinfección superficial del material con alcohol al 50%, luego hipoclorito de sodio al 2% y posterior enjuague con agua destilada estéril. Luego de la desinfección se maceró el tejido en un mortero estéril y se sembró el macerado mediante la técnica de estriado en placas con medio nutritivo para bacterias, en este caso NAD (Nutriente dextrosa agar) y se incubaron a 28°C por 48 hrs en oscuridad. Las colonias con morfología predominante se repicaron a nuevas placas para obtener cultivos puros. Éstos se conservan en suspensión de glicerol al 15% en freezer (Dhingra y Sinclair, 1995).

Luego de la obtención de una colección de cepas bacterianas, se realizó la prueba de hipersensibilidad en tabaco (planta no huésped) siguiendo la metodología descrita por Gonçalves *et al.* (2008), en la cual se inocula una concentración conocida de bacterias mediante infiltración y heridas. Si a las 48 h se observa clorosis en la zona donde se realizó la inoculación se puede afirmar que la cepa inoculada es fitopatógena y por lo tanto se pasa a realizar la prueba de patogenicidad en eucalipto. La misma consiste en inocular cada cepa en planta huésped (eucalipto). La especie de eucalipto a inocular dependerá de la especie de la cual haya sido aislada la cepa.

En los casos en que se logró reproducir los síntomas, se volvió a realizar una microcorrida y se realsó la bacteria, completando de esta forma los postulados de Koch, para luego proceder a las pruebas bioquímicas y moleculares. Las pruebas bioquímicas y moleculares están en aún en ejecución, por lo cual no se presentan resultados en esta oportunidad.

### Evaluación de distintas alternativas químicas para su control

Para la evaluación del impacto de las aplicaciones foliares de estos productos sobre el desarrollo de epidemias, en la primavera 2011, se instaló una red de 6 experimentos localizados en las regiones litoral oeste y noreste del Uruguay, en plantaciones de *E. dunnii* y *E. grandis* (Cuadro 1).

El diseño experimental es de bloques completos con parcelas aleatorizadas, con cuatro repeticiones. La unidad experimental correspondió a parcelas de 10 árboles ubicados en dos filas de 5 árboles cada una. Las parcelas estaban separadas por una fila y los bloques separados por 2 filas, para minimizar el riesgo de deriva durante las aplicaciones. El Cuadro 2 muestra los tratamientos evaluados y las dosis, aplicadas éstas hasta punto de goteo.

Los tratamientos fueron iniciados en el vivero, con una primera aplicación realizada tres semanas antes del despacho y una segunda aplicación al despacho, con el objetivo de que las plantas lleguen con el menor inóculo posible al campo, con mejor sanidad y fortificación. Una vez en el campo, la pri-

**Cuadro 1.** Ubicación de los distintos experimentos instalados en la primavera 2011

Experimento	Campo	Especie	Ubicación	Fecha Plantación	Empresa
1	Las Yucas	<i>E. dunnii</i>	Soriano	26-set	Montes del Plata
2	Santo Tomás	<i>E. dunnii</i>	Río Negro	12-oct	Montes del Plata
3	La Celeste	<i>E. dunnii</i>	Paysandú	21-oct	Forestal Oriental
4	San José	<i>E. dunnii</i>	Río Negro	28-oct	Forestal Oriental
5	Vetorelo	<i>E. grandis</i>	Rivera	5-oct	COFUSA
6	Santa Sofía	<i>E. grandis</i>	Cerro Largo	4-oct	Forestal Atlántico Sur

**Cuadro 2.** Detalle de dosis y momento de aplicación de los distintos productos evaluados

Tratam.	Principio	Producto	Empresa	Dosis cc/100L	Momento					
					Despacho 21 días	Despacho - 15 días	Despacho	3 meses	6 meses	12 meses
1	-	Testigo enfermo	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Extracto de algas	Wuxal Ascofol + Wuxal Doble	Maisor	1000 + 1000	X	-	X	X	X	X
3	Quitosano	Biorend + Fosfirend	Marwald	variable	150 Biorend Cu + 1000 Biorend	1000 Fosfirend	1500 Biorend (*) + 150 Biorend Cu	150 Biorend Cu	2000 Fosfirend	2000 Fosfirend
4	Fosfito	Afital Zinc	Enfoque	300	X	-	X	X	X	X
5	Fosfito	Fanafos K	Fanaproqui	400	X	-	X	X	X	X
6	Oxiclورو de cobre	Fanavid Flowable	Fanaproqui	400	X	-	X	X	X	X
7	Oxiclورو de cobre	Fanavid Flowable (Test. protegido)	Fanaproqui	400	X	-	mensual			

(\*) Baño de raíces con Biorend y aplicación foliar de Biorend Cu.

X: indica aplicación del tratamiento      -: indica que no se aplica tratamiento

mera aplicación se realizó a los 3 meses de plantación, la segunda aplicación se realizó a los 6 meses, y la tercera a los 12 meses.

A los 3, 6 y 12 meses de plantación se determinó la altura de cada árbol, y estado sanitario de cada árbol. Para determinar incidencia y severidad de manchas se adaptó la escala visual de Stone *et al.*, (2003). En cuanto a tizón bacteriano se cuantificó solo el porcentaje de ápices afectados (incidencia) en cada árbol. A los 12 meses de la plantación se cuantifican las enfermedades y la defoliación en dos estratos, el superior y el inferior.

## RESULTADOS

### Identificación de las especies bacterianas involucradas

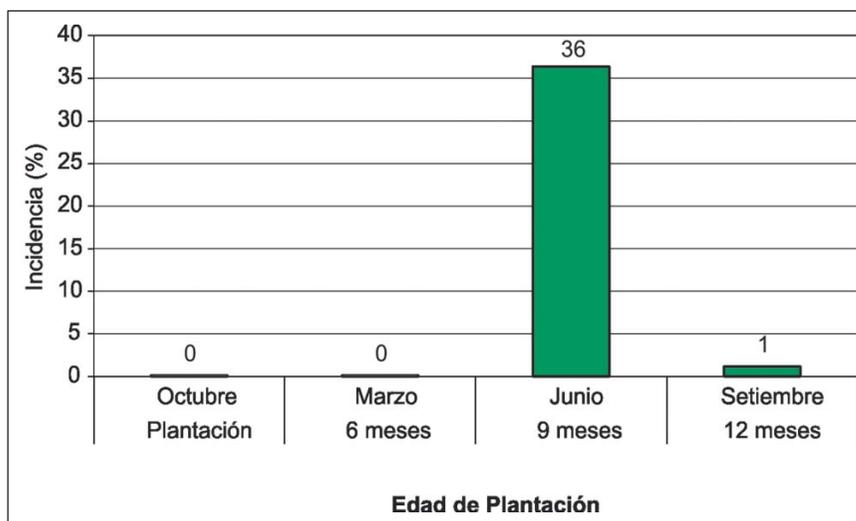
Se lograron aislar cepas bacterianas desde manchas foliares asociadas a una importante diversidad de síntomas, y desde tizón apical de ambas especies de *Eucalyptus*. Actualmente, se cuenta con una colección de 100 cepas ya caracterizadas por su patogenicidad en tabaco (planta no huésped) y por su patogenicidad en eucalipto, se procederá ahora a la caracterización bioquímica e identificación molecular.

### Evaluación de distintas alternativas químicas para su control

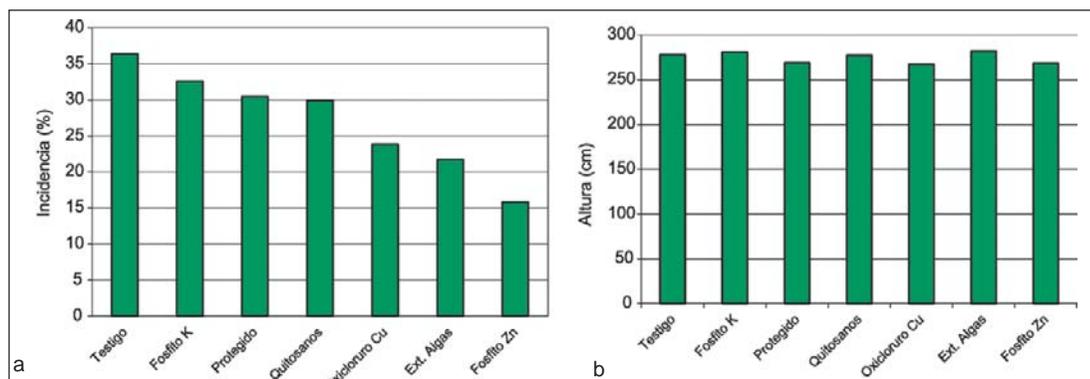
Sólo se han observado epidemias de enfermedades bacterianas en los establecimientos de «Las Yucas» y «Santo Tomás» en el litoral oeste. En la región noreste en el establecimiento de «Santa Sofía» no se ha observado epidemia de enfermedades origen bacteriano sino de origen fúngico.

En «Las Yucas» hubo una variación importante en el año en cuanto a las enfermedades bacterianas. Al inicio del experimento no se observó epidemia, hasta que a los 9 meses (junio 2012) se observó una epidemia importante de tizón apical bacteriano con el 36% de las plantas afectadas en el tratamiento testigo. Esta epidemia fue muy puntual y los niveles de incidencia bajaron al 1% en la primavera siguiente (Figura 3).

Los distintos tratamientos no mostraron efecto significativo sobre el desarrollo de la epidemia, a pesar de tener una variación de entre 16-36% de incidencia de bacteriosis (Figura 4a). A su vez, los árboles de los diferentes tratamientos se recuperaron de las infecciones, no observándose diferencias significativas en altura, medida a los 3 meses post epidemia (setiembre 2012) (Figura 4b).



**Figura 3.** Evolución de la incidencia (% de árboles afectados) del tizón apical bacteriano en el tratamiento testigo sin aplicación de productos, a lo largo de los primeros 12 meses, en el experimento instalado en Las Yucas.



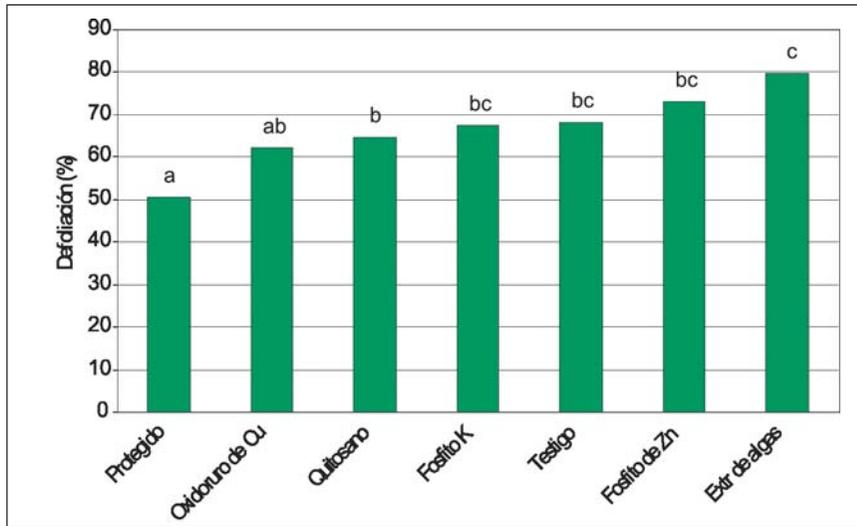
**Figura 4.** Efecto del tratamiento sobre a) incidencia de bacteriosis a los 9 meses de la plantación (Experimento Las Yucas) (izquierda) ( $P = 0,51$ ,  $CV=33\%$ ), b) altura promedio a los 12 meses de edad (derecha) ( $P = 0,96$ ,  $CV = 8\%$ ).

En el establecimiento de «Santo Tomás» se observó una incidencia promedio de 28% de tizón apical, en el mes de agosto, aunque no se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos, en la incidencia de la enfermedad ni en altura ( $P = 0,30$ ,  $CV = 37\%$ ;  $P = 0,63$ ,  $CV = 16\%$ , respectivamente).

En el experimento instalado en «Santa Sofía» no se ha observado epidemia de tizón apical bacteriano, sin embargo han ocurrido epidemias de manchas foliares causadas por *Teratosphaeria suttonii* (sin. *Kirramyces epicoccoides*), *T. suberosa* y roya causada por *Puccinia psidii*.

A los 12 meses de plantación (octubre 2012), se cuantificó un 12% de incidencia (% de hojas con mancha) y 4% de severidad (% de la hoja con tejido necrosado) de mancha foliar causada por *T. suberosa* en el testigo, no encontrándose diferencias significativas entre los tratamientos ( $P = 0,98$ ,  $CV=74\%$ ;  $P = 0,54$ ,  $CV = 96\%$ , respectivamente).

Para el caso de la mancha foliar causada por *T. suttonii*, los niveles de infección para dicha fecha fueron del 23% de incidencia y 22% de severidad para el tratamiento testigo, no encontrándose diferencias significativas entre los tratamientos ( $P = 0,14$ ,  $CV = 23\%$ ;

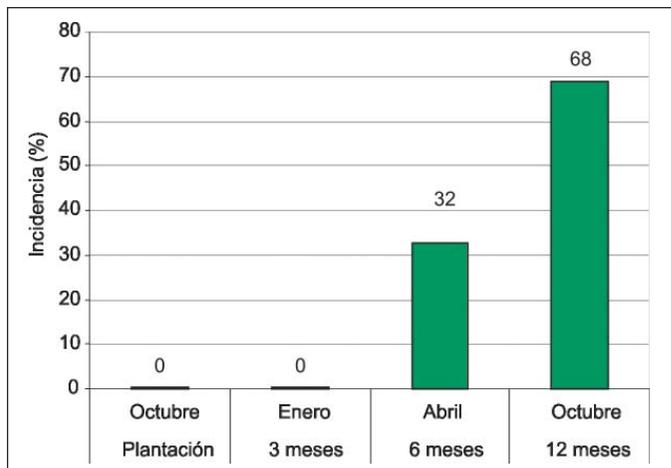


**Figura 5.** Efecto del tratamiento sobre la defoliación del estrato inferior del árbol causada por *T. suttonii*, en el experimento instalado en Santa Sofía. Medias con distinta letra difieren significativamente al 5% (Tukey = 0,05).

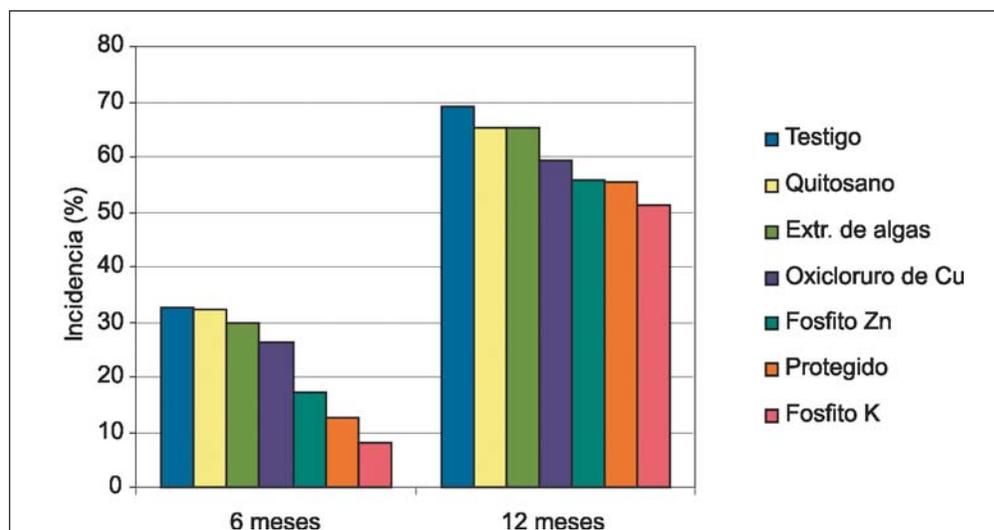
$P = 0,62$ ,  $CV = 59\%$ ). Este patógeno causa una defoliación del árbol debido a una caída prematura de las hojas infectadas. En este sentido, se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos en la defoliación (caída de hojas) causada por este patógeno, donde el tratamiento con aplicaciones periódicas de oxiduro de Cu redujo un 18% la defoliación del estrato inferior del árbol (mitad inferior de la copa) respecto al testigo sin aplicaciones (Figura 5). El resto de los tratamientos no lograron reducir significativamente la defoliación en relación al testigo.

La roya del eucalipto, causada por *Puccinia psidii*, alcanzó niveles epidémicos en el otoño (abril 2012), donde el tratamiento testigo presentaba el 32% de los brotes (ápices laterales) infectados por este patógeno. La epidemia se agravó hacia la primavera (octubre 2012), momento en que se encontraba afectando el 62% de los brotes en el tratamiento sin aplicación (Figura 6).

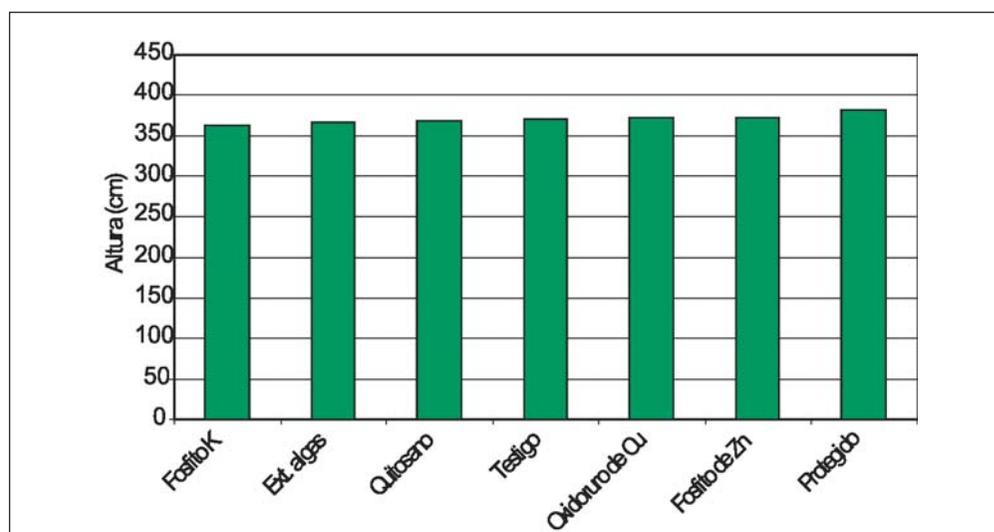
Pese a las diferencias observadas en la incidencia de la enfermedad entre los distintos tratamientos, las mismas no fueron



**Figura 6.** Evolución de la incidencia de roya (% de brotes con síntoma) en el experimento instalado en Santa Sofía.



**Figura 7.** Incidencia de roya a los 6 y 12 meses post-plantación en el experimento de Santa Sofía, según tratamiento. Las medias no difieren estadísticamente entre sí ( $P = 0,32$ , CV 66%;  $P = 0,88$ , CV = 30%, respectivamente).



**Figura 8.** Altura promedio según tratamiento, medido a los 12 meses de edad en el experimento de Santa Sofía. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $P = 0,98$ , CV = 6%).

estadísticamente significativas, probablemente explicado por la gran variabilidad en la resistencia genética entre individuos por ser plantación de semilla (Figura 7), donde evidentemente la resistencia genética tiene un efecto mayor al efecto de los tratamientos evaluados. No se observó un efecto significativo del tratamiento sobre la altura de los árboles medida a los 12 meses de edad (Figura 8).

## CONSIDERACIONES FINALES

Los resultados aquí presentados son resultados preliminares de experimentos que aún están siendo evaluados por lo cual deben ser tomados como tal.

Durante la primera mitad del período evaluado ocurrió un severo déficit hídrico que limitó el desarrollo de epidemias tanto de enfermedades bacterianas como fúngicas, lo

cual limitó las posibilidades de evaluación de los productos en estudio.

Pese a las epidemias ocurridas en la segunda mitad del período en estudio, sólo se detectaron diferencias estadísticamente significativas para la defoliación del estrato inferior observada en Santa Sofía como resultados de las infecciones de *T. suttonii*, patógeno este que recientemente ha comenzado a evidenciar mayores niveles de infección y defoliación en las plantaciones comerciales.

La continuidad de estos experimentos, junto a la instalación prevista de 4 experimentos adicionales a instalarse en el 2013, permitirá tener mayor información respecto a la epidemiología y al impacto de los distintos productos evaluados sobre las distintas enfermedades.

Resta también completar la identificación de las bacterias involucradas tanto a las manchas foliares como al tizón apical bacteriano, lo cual junto con la colección de cepas que se está generando, constituirán un gran paso hacia la posibilidad de evaluar la resistencia genética de los distintos genotipos de eucalipto a plantar.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece la financiación del proyecto por la Sociedad de Productores Forestales (SPF) y CSIC-UdeLaR en su programa VUSP. También se agradece especialmente a COFUSA, Forestal Atlántico Sur, Forestal Oriental y Montes del Plata, por ceder el área experimental y apoyar la logística de los experimentos. Así como también a Enfoque, Fanaproqui, Maisor, Marwald, por su apoyo al presente estudio.

## BIBLIOGRAFÍA

- 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. En: Seminario Técnico de Sanidad Forestal. Tacuarembó: INIA. (Serie Actividades de Difusión; 594). p. 51-72.
- COUTINHO, T.A.; PREISIG, O.; MERGAERT, J.; CNOCKAERT, M.C.; RIEDEL, K.H.; SWINGS, J.; WINGFIELD, M.J.** 2002. Bacterial blight and dieback of *Eucalyptus* species, hybrids, and clones in South Africa. *Plant Disease* 86: 20-25.
- COUTINHO, T.A.; BRADY, C.L.; VAN DER VAART, M.M.; VENTER, S.N.; TELECHEA, N.; ROLFO, M.; PÉREZ, C.; WINGFIELD, M.J.** 2011. A new shoot and stem disease of *Eucalyptus* species caused by *Erwinia psidii*. *Australasian Plant Pathology* 40: 55-60.
- CRAIGIE, J.S.** 2010. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *Journal of Applied Phycology* 23(3): 371-393.
- DHINGRA, O.D.; SINCLAIR, J.B.** 1995. Basic plant pathology methods. Boca Raton LA. CRC Press Inc.
- DELIOPOULOS, T.; KETTLEWELL, P.S.; HARE, M.C.** 2010. Fungal disease suppression by inorganic salts: A review. *Crop Protection* 29: 1059-1075.
- FAO.** 2006. Manual de campo de plagas y enfermedades de Eucaliptos y Pinos en el Uruguay: «Apoyo a la defensa y protección de las plantaciones forestales en el Uruguay» MGAP. Dirección general forestal.
- GÓMEZ, D.; REIS, E.** 2011. Inductores abióticos de resistencia contra fitopatógenos. *Revista Química Viva* 10(1): 6-17.
- GONÇALVES, R.C.; LAU, D.; OLIVEIRA, J.R.; MAFFIA, L.A.; CASCARDO, J.C.M.; ALFENAS, A.C.** 2008. Etiology of bacterial leaf blight of *Eucalyptus* in Brazil. *Tropical Plant Pathology* 33: 180-188.
- HE, G.; CHEN, X.; YIN, Y.; ZHENG, H.; XIONG, X.; DU, Y.** 2011. Synthesis, characterization and antibacterial activity of salicyloyl chitosan. *Carbohydrate Polymers* 83: 1274-1278.
- JAYARAMAN, J.; NORRIE, J.; PUNJA, Z.K.** 2011. Commercial extract from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* reduces fungal diseases in greenhouse cucumber. *Journal of Applied Phycology* 23: 353-361.
- JIMÉNEZ, E.; DORTA, F.; MEDINA, C.; RAMÍREZ, A.; RAMÍREZ I.; PEÑA-CORTÉS, H.** 2011. Anti-phytopathogenic activities of macroalgae extracts. *Marine Drugs* 9: 739-756.

- OLIVIERI, F.P.; FELDMAN, M.L.; MACHINANDIARENA, M.F.; LOBATO, M.C.; CALDIZ, D.O.; DALEO, G.R.; ANDREU, A.B.** 2012. Phosphite applications induce molecular modifications in potato tuber periderm and cortex that enhance resistance to pathogens. *Crop Protection* 32: 1-6.
- PINKARD, L.; MOHAMMED, C.; BATTAGLIA, M.; WARDLAW, T.; STONE, C.; SMETHURST, P.; BAILLIE, C.; PATEL, V.** 2006. Fertilisation and Forest Health: Preventing or offsetting biotic leaf loss in eucalypt plantations. CRC for Sustainable Production Forestry. University of Tasmania. Final Report Project N° PN04.4003.
- SANGHA, J.; RAVICHANDRAN, S.; PRITHIVIRAJ, K.; CRITCHLEY, A.; PRITHIVIRAJ, B.** 2010. Sulfated macroalgal polysaccharides  $\lambda$ -carrageenan and  $\epsilon$ -carrageenan differentially alter *Arabidopsis thaliana* resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 75(1-2): 38-45.
- SIMETO, S.; BALMELLI, G.; MARTÍNEZ, G.; TORRES, D.; GONZÁLEZ, P.; FROS, D.; BENTANCUR, O.; PÉREZ, C.** 2010. Forestación: Relevamiento sanitario de *Eucalyptus* spp. en el sureste y litoral oeste del país. En: Jornada Técnica de Protección Forestal. Las Brujas: INIA. (Serie Actividades de Difusión; 629). p. 41-51.
- STONE, C.; MATSUKI, M.; CARNEGIE, A.** 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.
- STÖSSEL, P.; LEUBA, J.L.** 1984. Effect of chitosan, chitin and some aminosugars on growth of various soilborne phytopathogenic fungi. *Phytopathology* 111: 82-90.
- SUBRAMANIAN, S.; SANGHA, J.S.; GRAY, B.A.; SINGH, R.P.; HILTZ, D.; CRITCHLEY, A.T.; PRITHIVIRAJ, B.** 2011. Extracts of the marine brown macroalga, *Ascophyllum nodosum*, induce jasmonic acid dependent systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 and *Sclerotinia sclerotiorum*. *European Journal of Plant Pathology* 131: 237-248.
- WEN, A.; BALOGH, B.; MOMOL, M.T.; OLSON, S.M.; JONES, J.B.** 2009. Management of bacterial spot of tomato with phosphorous acid salts. *Crop Protection* 28: 859-863.
- YIN, H.; ZHAO, X.; DU, Y.** 2010. Oligochitosan: A plant diseases vaccine - A review. *Carbohydrate Polymers* 82: 1-8.

# ALTERNATIVAS DE MANEJO DE ENFERMEDADES FOLIARES EN PLANTACIONES JÓVENES DE *Eucalyptus globulus*

Raquel Alonso<sup>1</sup>, Silvina Soria<sup>1</sup>,  
Sandra Lupo<sup>1</sup>, Lina Bettucci<sup>1</sup>,  
Carlos Pérez<sup>2</sup>

## INTRODUCCIÓN

En Uruguay, la producción de *Eucalyptus* ha mostrado un aumento explosivo en los últimos 15 años, convirtiéndose en uno de los principales productos de exportación. Las plantaciones de eucalipto representan el 70% del área total forestada. Si bien las condiciones ambientales del Uruguay son favorables para un excelente desarrollo y crecimiento del eucalipto, existen claras evidencias del aumento de las problemáticas sanitarias en los últimos años que han afectado el rendi-

miento esperado. Un ejemplo evidente es la mancha foliar causada por *Mycosphaerella* spp. y *Teratosphaeria* spp. (MLD), siendo *Eucalyptus globulus* una de las especies más susceptibles. En el año 2007 *Teratosphaeria nubilosa* causó una epidemia muy importante que produjo severa defoliación de *E. globulus*, con pérdidas de 5000 hectáreas en el litoral oeste, siendo esta enfermedad el principal problema fitosanitario desde entonces (Figura 1).

La principal característica de esta enfermedad es la presencia de manchas en hojas



**Figura 1.** Defoliación provocada por *T. nubilosa* en *E. globulus* en el año 2007.

<sup>1</sup>Laboratorio de Micología. Facultad de Ciencias – Facultad de Ingeniería. UdelaR, Julio Herrera y Reissig 565, Montevideo. Correo electrónico: raquela@fing.edu.uy

<sup>2</sup>Departamento de Protección Vegetal, EEMAC, Facultad de Agronomía, UdelaR. EEMAC. Ruta 3, Km 363, Paysandú, Uruguay.

juveniles que se observan desde ambos lados de las mismas (Crous, 1998). Cuando existen altos niveles de infección, manchas adyacentes se fusionan para dar origen a grandes manchas irregulares que pueden ocupar la casi totalidad de la lámina foliar (Park, 1988; Park & Keane, 1982). Por otra parte, cuando el ataque es severo también se produce defoliación. Los agentes causales de MLD en *Eucalyptus* lo constituyen un grupo de más de 120 especies de *Mycosphaerella* y *Teratosphaeria* (Crous, 1998, Crous *et al.*, 2007; Crous *et al.*, 2006). Dentro de este conjunto de especies, las más agresivas son *T. nubilosa* y *T. cryptica* debido al daño que generan ya que son patógenos primarios capaces de colonizar tejido foliar sano fotosintéticamente activo (Carnegie, 2007; Carnegie y Ades, 2002; Hunter *et al.*, 2009; Pinkard *et al.*, 2006). La infección por estas especies tiene efecto sobre el crecimiento de *Eucalyptus* spp., dado que produce una disminución en el consumo de CO<sub>2</sub>, afectando así la eficiencia de la carboxilación.

La infección es causada por ascosporas, producidas en los pseudotecios, que se liberan cuando la humedad relativa es superior al 95%. Para que éstas produzcan nuevas infecciones se requieren períodos prolongados de alta humedad (mínimo 24h) y temperaturas de 15 a 20 °C (Park, 1988).

La principal medida de manejo de esta enfermedad es el desarrollo y uso de germoplasma con resistencia genética (Manion, 1991), siendo este un proceso a largo plazo y costoso. Por lo tanto, es fundamental explorar alternativas de manejo que permitan minimizar el impacto de la enfermedad en el corto plazo. Existe evidencia de que fertilizantes y fungicidas pueden ser utilizados para mejorar y proteger los cultivos, ya sea reduciendo los niveles de inóculo o a través de la inducción de resistencia en las plantas (Pinkard *et al.*, 2006). El uso de fertilizantes y de bioestimulantes podría acelerar el cambio de hoja juvenil a adulta y/o mejorar la resistencia de las plantas, y así reducir la incidencia de la enfermedad. La aplicación de fungicidas sistémicos en forma estratégica en la plantación podría reducir la capacidad de infección de las distintas especies de hongos que producen manchas.

El objetivo del presente trabajo es evaluar estrategias de manejo a fin de reducir el impacto de esta enfermedad sobre la producción de madera de *E. globulus*. Para ello se están evaluando diferentes productos como fosfitos, quitosanos, extractos de algas marinas y fungicidas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

En octubre de 2011 se instalaron dos experimentos en la zona sureste del país (Lavalleja y Rocha). El diseño experimental es un factorial completo de dos factores (germoplasma y producto químico), en bloques con parcelas aleatorizadas, con cuatro repeticiones. La unidad experimental corresponde a 10 árboles, distribuidos en dos filas de 5 árboles cada una.

El factor germoplasma tiene 2 tratamientos: i) genética seminal (Jeeralang) y ii) genética clonal (Odiel); mientras que el factor producto químico tiene 8 tratamientos: i) testigo sin aplicación, ii) extracto de algas, iii) fosfito de potasio, iv) quitosano, v) mezcla de fosfito de potasio, extracto de algas y micronutrientes, vi) fungicida aplicado a inicios de primavera y otoño, vii) fungicida aplicado a mediados de primavera y otoño, viii) protegido con aplicaciones mensuales de fungicida. Los productos comerciales utilizados y las dosis se detallan en el Cuadro 1. Las aplicaciones foliares se realizaron en vivo, al momento del despacho y a los tres, seis y doce meses de instalada la plantación.

La evaluación del efecto de los distintos tratamientos se realizó mediante la lectura de incidencia, severidad y defoliación por MLD, altura total y diámetro a la altura del pecho de los árboles, a los tres, seis, doce y dieciocho meses. Se calculó el índice de daño de copa (CDI) según la ecuación:

$$\text{Defoliación} + ((1 - \text{Defoliación}/100) * (\text{Incidencia} * \text{Severidad})/100)$$

A partir de hojas con síntoma se aislaron e identificaron las especies de hongos asociadas, siguiendo la metodología de Crous, 1998. La verificación de la identificación de las especies se realizó mediante métodos moleculares.

**Cuadro 1.** Productos y dosis aplicados en los distintos tratamientos

Producto	Principio activo	Característica	Dosis
Wuxal + Wuxal doble	<i>Ascophyllum nososum</i> + micronutrientes	Fertilizante micronutrientes	10 cc/L
Fanafos	Fostitos	Bioestimulante	4 cc/L
Biorend/Fosfirend	Quitosano + Fosfito de K	Bioestimulante	1,5 cc/L 10 cc/L
Basfoliar	Fosfito de K, algas micronutrientes	Fertilizante NPK	5 cc/L
Nativo*	Trifloxistrobin y Tebuconazole	Fungicida sistémico	10 cc/L

\*Aplicación mensual (Protegido) y aplicación estratégica a inicios y mediados de estación (Nativo Inicio y Nativo Mediadados).

## RESULTADOS PRELIMINARES

Hasta la segunda evaluación los resultados mostraron la presencia de manchas típicas de MLD en todos los tratamientos, sin embargo, se observaron diferencias en el momento de aparición de manchas foliares y defoliación entre los ensayos ubicados en las distintas localidades. En el ensayo instalado en Lavalleja la aparición de manchas comenzó a los tres meses y la defoliación a los seis. En Rocha las manchas se observaron a los cinco meses y no se observó defoliación hasta un año después de la instalación. Por otro lado, si bien en todos los tratamientos hubo infección por *T. nubilosa* (Figura 2), el índice de daño de copa fue me-

nor en los tratamientos con fungicida de aplicación mensual (protegido) y estratégico a inicios de estación (Figura 3 a y b). El comportamiento frente a la infección por *T. nubilosa* fue similar en los dos materiales genéticos utilizados. Sin embargo el clon Odiel comenzó a cambiar a follaje adulto a partir de los seis meses, mientras que las plantas de Jeeralang el cambio de tipo de hoja comenzó a observarse a partir del año de plantados.

En cuanto al crecimiento no se encontraron diferencias evidentes en la altura de los árboles entre los distintos tratamientos dentro de cada ensayo.

En la evaluación correspondiente a los 12 meses en Rocha se observaron diferencias



**Figura 2.** Manchas típicas de *T. nubilosa* en hojas juveniles de *E. globulus*.

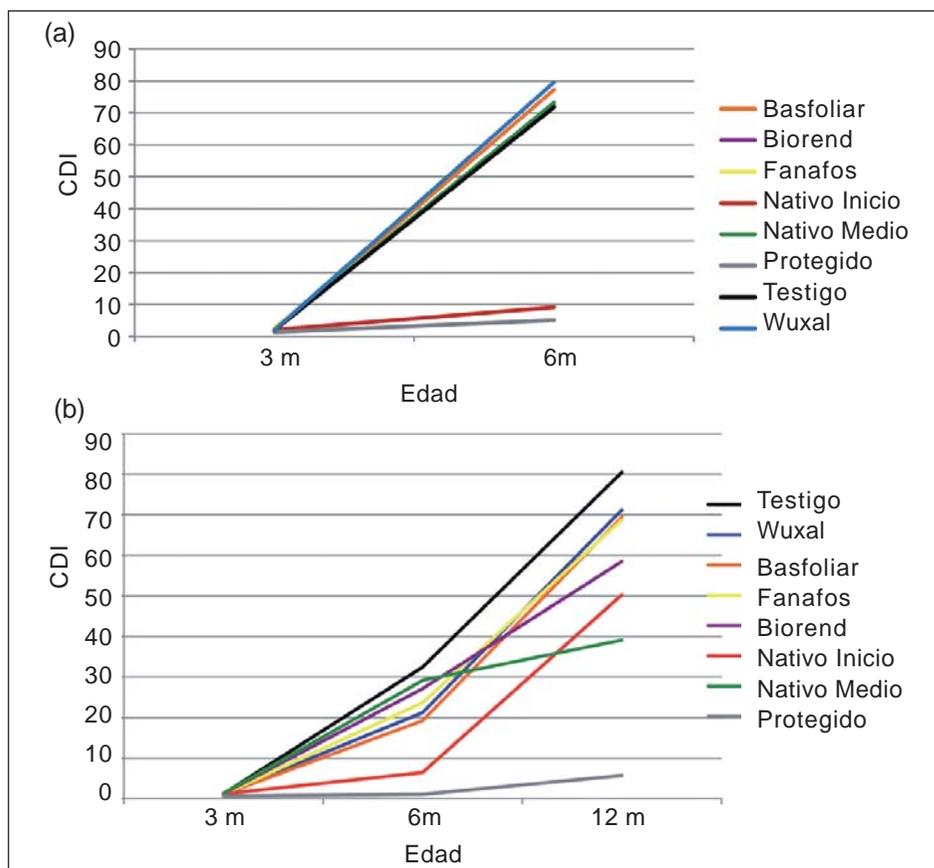


Figura 3. Índice de daño de copa para cada tratamiento a los seis meses de instalado el ensayo: (a) Lavalleja, (b) Rocha.

significativas en los tratamientos con fungicida respecto al testigo y a los demás tratamientos. En cuanto a la genética, no se

observaron diferencias significativas en la respuesta a los tratamientos a los 12 meses (Figura 4).

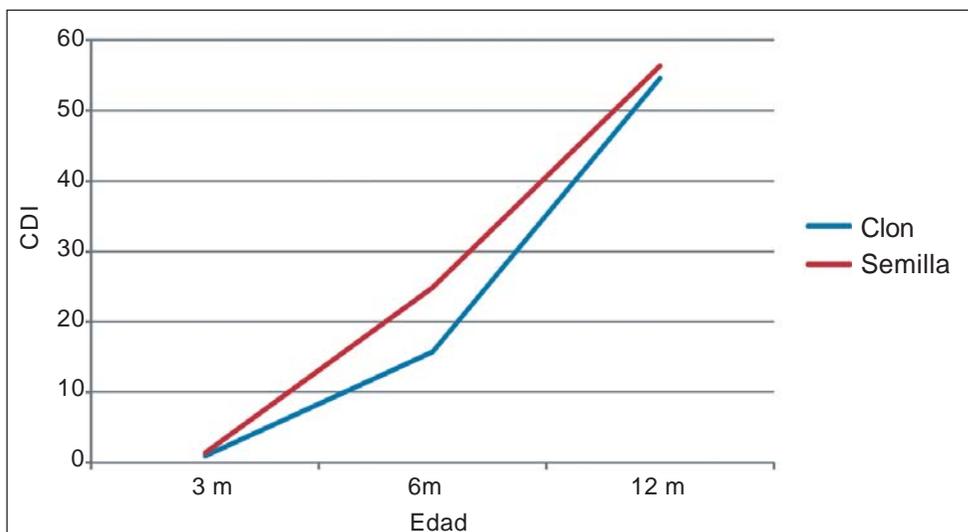
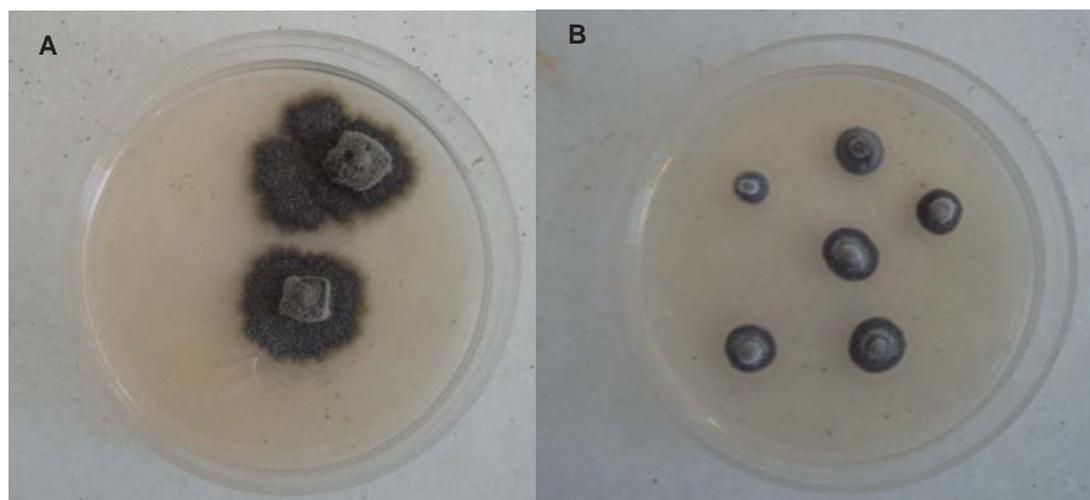


Figura 4. Índice de daño de copa según genética de las plantas a los 12 meses en Rocha.



**Figura 5.** (A) Colonias de *Mycosphaerella lateralis* y (B) *Teratosphaeria nubilosa*, provenientes de manchas foliares.

El ensayo correspondiente a la plantación ubicada en Lavalleja fue severamente afectado por las heladas ocurridas en el mes de junio de 2012, causando la muerte de los árboles. Debido a ello, fue sustituido por otro ensayo instalado en la misma zona en octubre de 2012.

Las especies de hongos asociadas a la mayoría de las manchas correspondieron a *T. nubilosa* y *M. lateralis* (Figura 5) en los dos sitios. Otros hongos frecuentemente encontrados fueron *Kirramyces* sp. y *Puccinia psidii*.

El proyecto plantea la instalación de otros dos ensayos, uno a inicios de otoño 2013 y otro a inicios de primavera 2013.

## CONSIDERACIONES FINALES

Se corroboró la prevalencia de *T. nubilosa* como la especie causante de MLD en ambos sitios y genetos. Si bien otras especies de *Mycosphaerella* y *Teratosphaeria* se encontraron presentes, la frecuencia fue muy baja. También se observó un efecto del sitio tanto en el momento de la infección como en la incidencia de la enfermedad debido probablemente a la diferencia en el crecimiento de las plantas por el factor suelo y por las condiciones ambientales.

La aplicación estratégica de fungicida a inicios y mediados de otoño y primavera,

cuando las condiciones para la infección por *T. nubilosa* son óptimas, parecería ser una alternativa efectiva para disminuir la incidencia de MLD. Los resultados parciales indican también que se podría lograr un efecto positivo sobre el control de la enfermedad con la aplicación de algunos productos estimuladores del crecimiento y vigor de las plantas.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Sociedad de Productores Forestales (SPF) y a la CSIC por el financiamiento del proyecto. También a las empresas forestales por proporcionar los campos, plantines y apoyo logístico. En especial agradecemos a la Ing. Agr. Andrea Regucci por el apoyo y sus gestiones en SPF. A las empresas de agroquímicos Agromil, Enfoque, Fanaproqui, Maisor y Marwald.

## BIBLIOGRAFÍA

**CARNEGIE, A. J.; ADES, P. K.** 2002. The proportion of leaf spots caused by *Mycosphaerella cryptica* and *M. nubilosa* on *Eucalyptus globulus*, *E. nitens* and their F1 hybrids in a family trial in Tasmania, Australia. *Australasian Mycologist* 21: 53-63.

- CARNEGIE, A. J.** 2007. Forest health condition in New South Wales, Australia, 1996-2005. II. Fungal damage recorded in eucalypt plantations during forest health surveys and their management. *Australasian Plant Pathology* 36: 225-239.
- CROUS, P. W.** 1998. *Mycosphaerella* spp. and their anamorphs associated with leaf spot diseases of *Eucalyptus*. *Mycologia Memoir* 21: 1-70.
- CROUS, P. W.; WINGFIELD, M.J.; MANSILLA, J.P.; ALFENAS, A.C.; GROENEWALD, J.Z.** 2006. Phylogenetic reassessment of *Mycosphaerella* spp. and their anamorphs occurring on *Eucalyptus*. II. *Studies in Mycology* 55: 99-131.
- CROUS, P. W.; BRAUN, U.; GROENEWALD, J. Z.** 2007. *Mycosphaerella* is polyphyletic. *Studies in Mycology* 58: 1-32.
- HUNTER, G. C.; CROUS, P. W.; CARNEGIE, A. J.; WILNGFIELD, M. J.** 2009. *Teratosphaeria nubilosa*, a serious leaf disease pathogen of *Eucalyptus* spp. in native and introduced areas. *Molecular Plant Pathology* 10: 1-14.
- MANION, P.** 1991. Disease control through genetic resistance. In: *Tree disease concepts*. Prentice-Hall, New Jersey. p. 361-369.
- PARK, R. F.** 1988. Effect of certain host, inoculum, and environmental factors on infection of *Eucalyptus* species by two *Mycosphaerella* species. *Transactions of the British Mycological Society* 90: 221-228.
- PARK, R. F.; KEANE, P. J.** 1982. Three *Mycosphaerella* species from leaf diseases of *Eucalyptus*. *Transactions of the British Mycological Society* 79: 95-100.
- PINKARD, L.; MOHAMMED, C.; BATTAGLIA, M.; WARDLAW, T.; STONE, C.; SMETHURST, P.; BAILLIE, C.; PATEL, V.** 2006. *Fertilization and Forest Health: Preventing or offsetting biotic leaf loss in eucalypt plantations*. CRC for Sustainable Production Forestry. University of Tasmania. Final Report Project N° PN04.4003.

# VARIABILIDAD GENÉTICA DE LA ROYA DEL EUCALIPTO

Sofía Simeto<sup>1</sup>, Diego Torres-Dini<sup>1</sup>,  
Gustavo Balmelli<sup>1</sup>, Gonzalo Martínez<sup>1</sup>,  
Carlos Pérez<sup>2</sup>, Nora Altier<sup>1</sup>,  
Lina Bettucci<sup>3</sup>

## INTRODUCCIÓN

El sector forestal uruguayo ha tenido en los últimos 20 años un crecimiento exponencial, que lo ha ubicado entre los tres sectores agroindustriales exportadores más importantes del país, junto con la ganadería y la agricultura (Pou, 2011). Este incremento en el área forestada ha propiciado la aparición de nuevos patógenos y plagas, tendencia que ha sido observada también a nivel mundial, en países con plantaciones comerciales con especies exóticas como *Eucalyptus* y *Pinus*. En esos países, el número de plagas y enfermedades no registradas previamente constituyeron una importante y creciente amenaza para el sector (Wingfield, 2003). Muchos de los patógenos presentes en especies forestales exóticas han sido presumiblemente introducidos de forma accidental, pero también existen casos en que patógenos de especies nativas han «saltado» hacia los nuevos hospederos. Un claro ejemplo de este tipo de salto de hospedero es el de *Puccinia psidii* Winter, el agente causal de la enfermedad conocida como «roya del eucalipto». En Uruguay fue encontrada por primera vez sobre *Psidium guajava* L. en 1981 (Koch de Brotos *et al.*, 1981). Posteriormente, en el año 2003 se la registró sobre *Eucalyptus globulus* Labill. causando daños severos en una plantación de un año (Telechea *et al.*, 2003). A partir de ese momento se la ha observado a campo sobre diferentes huéspedes y con diversos

grados de incidencia y severidad (Balmelli *et al.*, 2004, 2009; Pérez *et al.*, 2010). Se la considera originaria de América del Sur y América Central y es capaz de infectar un amplio rango de hospederos dentro de la familia Myrtaceae, estando presente en 24 especies de *Eucalyptus* todas ellas de importancia comercial para la forestación (Simpson *et al.*, 2006). En Uruguay, se han reportado infecciones de *P. psidii* en: *Myrrhinium atropurpureum* var. *octandrum* Benth. (palo de fierro), *Myrcianthes pungens* (O.Berg) D.Legrand (guaviyú), *Psidium guajava* (guayabo brasileiro), *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden (Pérez *et al.*, 2010; Koch de Brotos *et al.*, 1981; Telechea *et al.*, 2003).

En *Eucalyptus*, *P. psidii* infecta tejidos jóvenes y afecta desde plantas de vivero hasta plantas de dos años en el campo, así como rebrotes de tocones. En materiales altamente susceptibles la enfermedad causa deformaciones, hipertrofia y necrosis de las porciones afectadas pudiendo, en caso de ataques severos, matar los ápices con la consiguiente pérdida de dominancia apical y el desarrollo de un hábito arbustivo (Figura 1). Las lesiones sobre los órganos afectados (láminas y pecíolos de hojas juveniles y yemas y brotes jóvenes) comienzan como muy pequeñas puntuaciones que, transcurridos un par de días se transforman en pústulas conteniendo uredosporas de color amarillo intenso. A partir de ese momento las pústulas aumentan de tamaño y se producen infec-

<sup>1</sup>Programa Nacional de Producción Forestal. INIA. Ruta 5, km 386, Tacuarembó, Uruguay. Correo electrónico: ssimeto@tb.inia.org.uy

<sup>2</sup>Departamento de Protección Vegetal, EEMAC, Facultad de Agronomía, UdelaR. EEMAC. Ruta 3, km 363, Paysandú, Uruguay.

<sup>3</sup>Laboratorio de Micología. Facultad de Ciencias – Facultad de Ingeniería. UdelaR, Julio Herrera y Reissig 565, Montevideo.



**Figura 1.** Infecciones de *Puccinia psidii* sobre (a) *Eucalyptus globulus*, (b y c) *Eucalyptus grandis*; (d) tallo de *E. grandis* afectado por *P. psidii*; (e) follaje de *E. grandis* de 14 meses afectado por *P. psidii*; (f y g) hábito arbustivo e impacto sobre el crecimiento en árboles de *E. grandis* de 6 meses de edad, afectados por *P. psidii*.

ciones secundarias dentro de una misma planta, principalmente debido al rocío o a la lluvia.

Desde el punto de vista productivo la enfermedad puede tener efectos directos debidos a la reducción del crecimiento o a la muerte de la planta (en casos de mayor severidad) y efectos indirectos debidos al estrés provocado en la planta, que la hace más susceptible a factores abióticos y bióticos (Balmelli *et al.*, 2004). Debido a su gran capacidad de dispersión y a su amplio rango de hospederos esta enfermedad es considerada de gran importancia ya que bajo condiciones favorables y en materiales susceptibles su severidad e incidencia pueden ser muy altas y ocasionar importantes pérdidas económicas. En Brasil esta enfermedad constituye un problema de gravedad y una limitante en el cultivo de *Eucalyptus* en algunas regiones en las que la temperatura y precipitaciones son adecuadas para el desarrollo de la misma. La pérdida de volumen de madera debida a *P. psidii* se estima entre un 20% y un 40% (Takahashi, 2002; Masson, 2009).

A nivel nacional, hacia fines de 2001 y principios de 2002 se registraron ataques severos de *P. psidii* sobre plantas de *E. globulus* de un año de edad (Telechea *et al.*, 2003). Balmelli *et al.* (2004; 2009) también reportaron infección de plantas de *E. globulus* de 6 a 12 meses de edad. A fines de 2009 y principios de 2010 el ataque de *P. psidii* sobre clones de *E. grandis* en la zona centro del país llevó a un importante retraso en el crecimiento en plantas de un año. Las dos epidemias de roya que causaron gran preocupación en nuestro país (2001-2002 y 2009-2010), coincidieron con veranos y otoños lluviosos. Recientemente (fines de noviembre 2012) se observó una importante infección de roya sobre plantaciones de *E. grandis* de un año en el departamento de Cerro Largo, también asociada a las abundantes lluvias de octubre.

El mejoramiento genético a través de la selección y cruzamiento de genotipos resistentes es considerado como la estrategia más apropiada en el manejo de enfermedades forestales. Dicha selección se realiza principalmente a través de ensayos de campo o mediante la inoculación artificial del

patógeno en condiciones controladas. En el caso de la roya, es posible realizar la inoculación artificial, asegurando de esta forma la presencia del patógeno y las condiciones controladas que favorezcan el desarrollo de la enfermedad. A su vez, es posible realizar una selección temprana sobre plantines jóvenes para evaluar la expresión de resistencia/susceptibilidad de diferentes materiales. Un aspecto importante a tener en cuenta es que la resistencia seleccionada de esta forma debe contemplar la variabilidad de la población del patógeno presente en la naturaleza. El quiebre en una resistencia seleccionada sin haber tenido en cuenta este aspecto, puede tener consecuencias devastadoras en el cultivo de *Eucalyptus*, donde la sustitución por un genotipo más resistente es dificultosa y onerosa (Simpson y Podger, 2000). Existen numerosos trabajos en otros países donde a través de inoculaciones artificiales con *P. psidii* se puso en evidencia la existencia de variabilidad en la virulencia sobre diferentes hospederos (MacLachlan 1938, Rayachhetry *et al.*, 2001; Ferreira, 1983; Coelho *et al.*, 2001; Xavier, 2002; Aparecido *et al.*, 2003). Al igual que para otros patógenos, es esperable que la población de *P. psidii* posea variabilidad genética. En Uruguay, Pérez *et al.* (2010) encontraron cierto grado de variabilidad entre cepas aisladas de *Eucalyptus* y algunas mirtáceas nativas, a través de inoculaciones artificiales y del análisis genético de la región ITS de los aislamientos. Si bien se trata de resultados preliminares, éstos estarían indicando la existencia de variabilidad en la población de *P. psidii* presente en nuestro país. Por lo tanto, la correcta caracterización de la población de *P. psidii* en Uruguay resulta imprescindible para el manejo de la enfermedad a través de la identificación y uso de genotipos de *Eucalyptus* resistentes a la misma. Actualmente, se encuentra en ejecución la tesis de maestría PEDECIBA «Estudio de la variabilidad de *Puccinia psidii* en *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus grandis* en Uruguay» enmarcada a su vez en el proyecto INIA FO06 «Biología y epidemiología de las plagas y enfermedades prioritarias para el sector forestal». Su principal objetivo es analizar la variabilidad de *P. psidii* en *E. globulus* y *E. grandis* con el propósito de manejar la inci-

dencia de la enfermedad en el Uruguay. En el presente trabajo se analiza la variabilidad genética de *P. psidii*, mediante diversas técnicas moleculares.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Colecta y extracción de ADN

Se realizó una colecta de hojas de *E. globulus* y *E. grandis* infectadas por *P. psidii* en plantaciones jóvenes ubicadas en diferentes departamentos (Lavalleja, Rocha, Florida y Tacuarembó). Las pústulas presentes en las hojas fueron recortadas y transferidas a tubos Eppendorff de 2 ml en presencia de tres esferas de borosilicato de 3 mm de diámetro y 25 mg de tierra de diatomeas. La ruptura de las mismas se realizó por agitación en Tyssue Lyser II, a máxima potencia durante 3 min. Posteriormente se aplicó un protocolo de purificación estándar basado en el buffer CTAB (Graça, 2011).

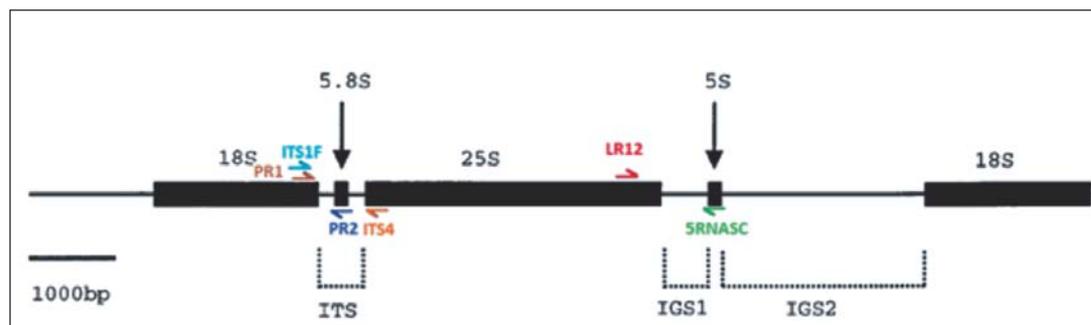
### Análisis del ADNr (ITS, IGS1)

Para la identificación de especie y análisis de la variabilidad genética intraespecífica se analizaron dos secuencias del gen que codifica para el ARNr. La región ITS (*Internal Transcribed Spacer*) fue amplificada con las combinaciones de cebadores ITS1F - ITSrust1 y PR1 - PR2 de acuerdo con lo propuesto por Kroop *et al.* (1995) y Langrell *et al.* (2008). Adicionalmente se analizó la

región IGS1 (*Intergenic Spacer*) del ADN ribosomal. Para caracterizar esta región se utilizaron los cebadores LR12 y 5SRNASC (James *et al.*, 2001). La ubicación de cada uno de los cebadores descritos se muestra en la representación esquemática de la Figura 2. Los productos de PCR (*Polymerase chain reaction*) fueron corridos en geles de agarosa 1% y posteriormente secuenciados. La confirmación de la especie se realizó mediante el software Blast empleando el algoritmo BlastN. Posteriormente, se realizó el alineamiento de las secuencias usando el software ClustalW y finalmente se construyeron árboles de distancias Neighbour-Joining mediante el software MEGA (Tamura *et al.*, 2011). En el Cuadro 1 se resumen las secuencias utilizadas para los análisis de la variabilidad de las regiones ITS e IGS1.

### Análisis de SSRs (Simple Sequence Repeats, microsatélites)

Para la SSR-PCR se utilizaron los cebadores reportados PpSSR012, PpSSR022, PpSSR087, PpSSR102, PpSSR136, PpSSR161, PpSSR195, PpSSR208 para la amplificación de microsatélites de esta especie (Zhong *et al.*, 2008). Todos los productos de PCR fueron enviados a un servicio externo de genotipificación mediante secuenciador automático (Macrogen Inc.).



**Figura 2.** Representación esquemática de los genes del ADN ribosomal y del posicionamiento de los cebadores empleados en este trabajo.

**Cuadro 1.** Lista de cepas utilizadas en el análisis. Cepas obtenidas en este trabajo (UYTB) y en otros trabajos nacionales e internacionales (NCBI GenBank)

ID #	Roya	Hospedero	Referencia
AB232547	<i>Puccinia hemerocallidi</i>	<i>Hemerocallis</i> spp.	Chatasiri <i>et al.</i> , 2006
EF210141.1	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Psidium guajava</i>	Langrell <i>et al.</i> , 2008
EF490601	<i>Puccinia cygnorum</i>	<i>Kunzea ericifolia</i>	Langrell <i>et al.</i> , 2008
EF599767.1	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Metrosideros polymorpha</i>	Zhong, 2008
EF599768.1	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Metrosideros polymorpha</i>	Zhong, 2008
EU436721.1	<i>Phakospora pachyrhizi</i>	<i>Glycine max</i>	Barnes <i>et al.</i> , 2009
<i>Puccinia graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>	<i>Puccinia graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>	<i>Triticum</i> spp.	<i>Puccinia graminis</i> sequencing project
UY1371	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Eucalyptus grandis</i>	Pérez <i>et al.</i> , 2010
UY1372	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Eucalyptus grandis</i>	Pérez <i>et al.</i> , 2010
UY1374	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>	Pérez <i>et al.</i> , 2010
UY1375	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>	Pérez <i>et al.</i> , 2010
UY1731	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Eucalyptus grandis</i>	Pérez <i>et al.</i> , 2010
UY1732	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Syzygium jambos</i>	Pérez <i>et al.</i> , 2010
UY217	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Eucalyptus grandis</i>	Pérez <i>et al.</i> , 2010
UY220	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Myrrhinium atropurpureum</i> var. <i>octandrum</i>	Pérez <i>et al.</i> , 2010
UY221	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Myrcianthes pungens</i>	Pérez <i>et al.</i> , 2010
UY894	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>	Pérez <i>et al.</i> , 2010
UY895	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>	Pérez <i>et al.</i> , 2010
UYTB 20	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Eucalyptus grandis</i>	Este estudio
UYTB 26	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>	Este estudio
UYTB 29	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>	Este estudio
UYTB 31	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>	Este estudio
UYTB 33	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>	Este estudio
UYTB 36	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>	Este estudio
UYTB 39	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Psidium guajava</i>	Este estudio
UYTB 41	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>	Este estudio
UYTB 42	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>	Este estudio
UYTB 45	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>	Este estudio
UYTB 49	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>	Este estudio
UYTB 52	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>	Este estudio
UYTB 71	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>	Este estudio
UYTB 75	<i>Puccinia psidii</i>	<i>Psidium guajava</i>	Este estudio

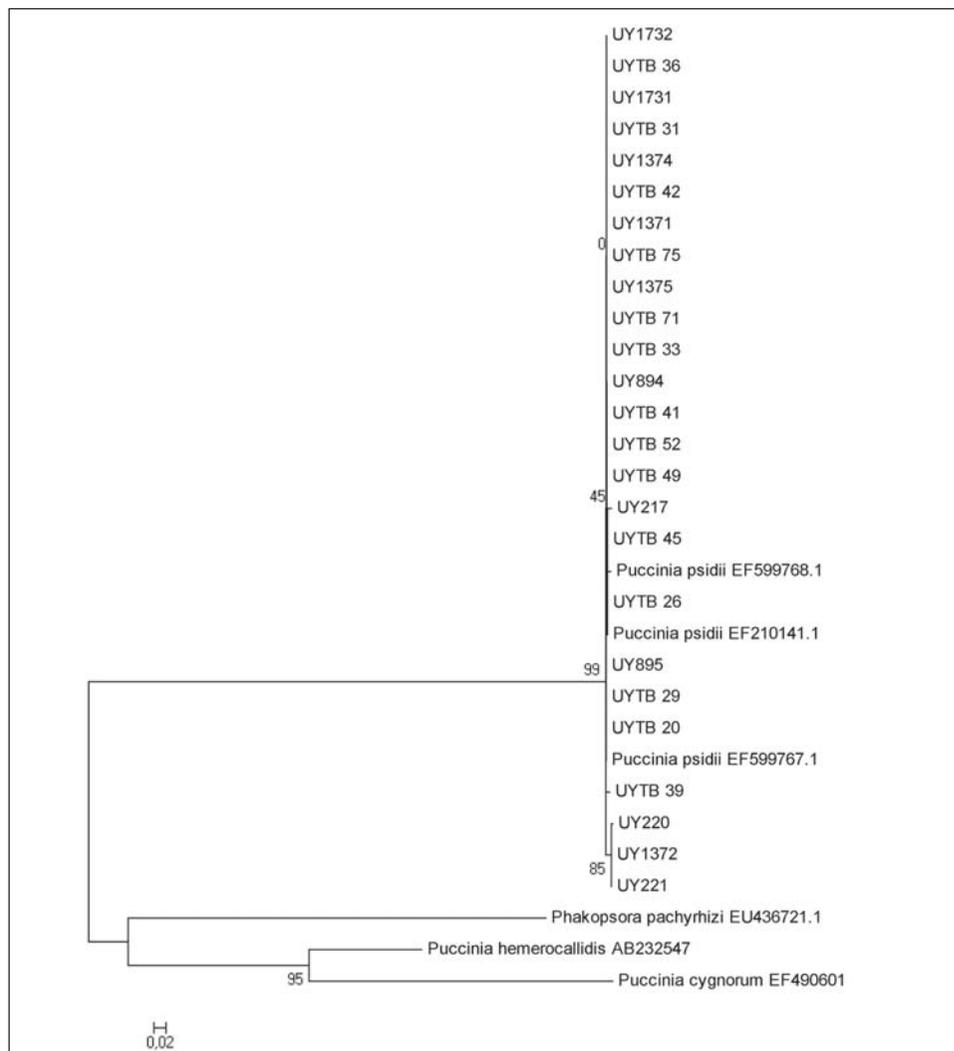
## RESULTADOS

### Análisis del ADNr

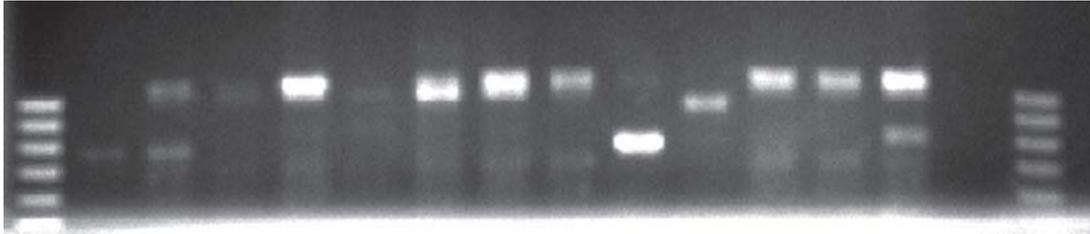
Los análisis de Blast de las secuencias generadas de la región ITS permitieron en todos los casos confirmar la identificación de la especie como *P. psidii*, con e-value = 0, una cobertura de secuencia (querycover) de 100% y un reconocimiento de identidad de 100% para cada una de la muestras analizadas. Estos resultados indican que no existe variabilidad genética para este locus, como puede observarse además en el árbol

de distancias Neighbour-Joining construido a partir de estas secuencias (Figura 3). Si bien se confirma el valor taxonómico de la secuencia ITS como herramienta de diagnóstico a nivel especie para *P. psidii*, resulta evidente su limitado potencial para estudios de variabilidad genética dentro de la especie.

El análisis de la región IGS1 exhibió polimorfismo a distintos niveles. En electroforesis de agarosa se detectó polimorfismo de peso molecular (Figura 4). Adicionalmente se observó que muchas muestras tienen un patrón de amplificación di-alélico de tipo codominante, similar al esperado para geno-



**Figura 3.** Árbol de distancias Neighbour-Joining en base a la región ITS de *Puccinia psidii* sobre *Eucalyptus* spp. y *Psidium guajava* y secuencias de otras royas. Los nodos muestran valores de Bootstrap analizado en base a 1000 réplicas.



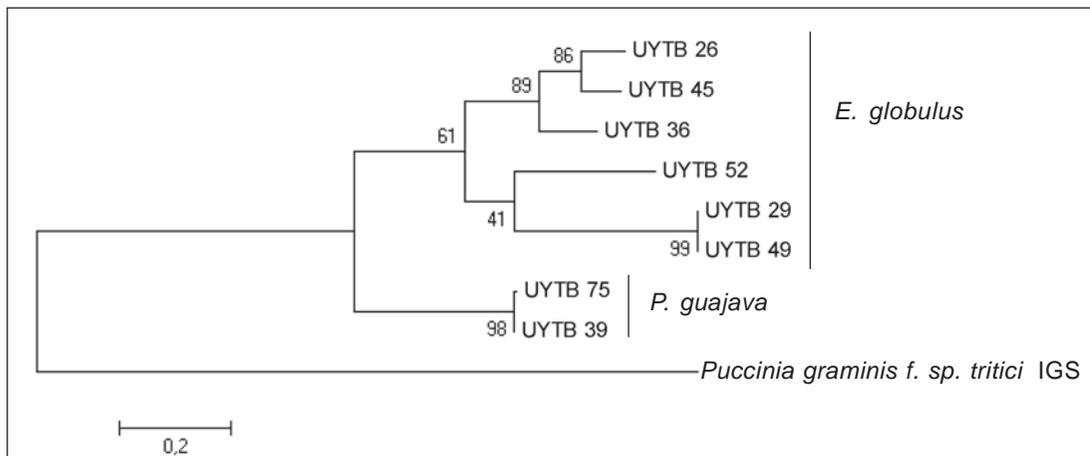
**Figura 4.** Electroforesis en gel de agarosa de la amplificación realizada con los cebadores LR12 – 5RNASC. Se observa variabilidad genética en el tamaño del amplicon así como también un patrón de amplificación de tipo codominante.

tipos diploides o dicarióticos (James *et al.*, 2001). Los resultados de BlastN de las secuencias correspondientes a estas bandas evidenciaron su variabilidad genética a nivel nucleotídico. Sin embargo, no fue posible confirmar la homología con *P. psidii* ya que las secuencias IGS1 generadas en este reporte son las primeras reportadas para esta especie. A su vez, presentaron homologías con regiones IGS1 de otras especies fúngicas con e-valores diferentes de cero y coberturas de secuencia inferiores al 64%. Como era de esperar de la comparación con otras especies fúngicas, el porcentaje de identidad en ningún caso llegó al 100%. El potencial de la región IGS1 para estudios de variabilidad genética intraespecífica en *P. psidii* se puede observar en el árbol de distancias de la Figura 5, en la que las secuencias de

*P. psidii* quedaron separadas en dos grandes grupos: uno formado por secuencias de roya provenientes de *E. globulus* y otro por secuencias provenientes de una mirtácea nativa.

**Análisis de SSRs**

Los resultados obtenidos para los SSRs mostraron estar dentro de los rangos alélicos descritos por Zhong *et al.* (2008). De las ocho muestras analizadas sólo una mostró diferencias genotípicas con respecto a las demás, comportándose como monomórfica para el locus PpSSR102 mostrando un alelo de 287pb. Para el resto de los loci analizados no se detectó ningún tipo de variación (Cuadro 2).



**Figura 5.** Árbol de distancias Neighbour-Joining basado en las secuencias IGS1 de *Puccinia psidii* sobre *Eucalyptus globulus* y *Psidium guajava* y de *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* como grupo externo. Los nodos muestran valores de Bootstrap analizado en base a 1000 réplicas. Otros árboles Bootstrap (con 1000 réplicas) construidos utilizando UPGMA y Maximum Parsimony mostraron igual topología.

**Cuadro 2.** Alelos (tamaño representado por pares de base, pb) obtenidos a partir de *Puccinia psidii*, utilizando microsatélites (SSR) específicos para esta especie (Zhong *et al.*, 2008). El rango de tamaños (pb) de los SSR en el trabajo original se presenta entre paréntesis.

		Marcadores SSR												
		PpSSR012 (235-258)	PpSSR022 (151 – 166)	PpSSR087 (143 – 154)	PpSSR102 (255 – 295)	PpSSR136 (132 – 144)	PpSSR161 (276 – 287)	PpSSR195 (134 – 145)	PpSSR208 (85 – 96)					
Alelos		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2			
UYTB_26	233	239	154	135	140	287	132	144	277	291	115	130	83	102
UYTB_29	233	239	154	135	140	241	132	144	277	291	115	130	83	102
UYTB_36	233	239	154	135	140	241	132	144	277	291	115	130	83	102
UYTB_31	233	239	154	135	140	241	132	144	277	291	115	130	83	102
UYTB_39	233	239	154	135	140	241	132	144	277	291	115	130	83	102
UYTB_41	233	239	154	135	140	241	132	144	277	291	115	130	83	102
UYTB_42	233	239	154	135	140	241	132	144	277	291	115	130	83	102
UYTB_45	233	239	154	n/d	n/d	n/d	132	144	277	291	115	130	83	102

## CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

El análisis de las regiones ITS demostró ser de gran utilidad para el posicionamiento a nivel de especie y confirmación de la identidad de las muestras. Sin embargo, el potencial de esta técnica para explorar la variabilidad genética intraespecífica en *P. psidii* es bajo ya que en ninguna de las muestras analizadas en este trabajo se detectó polimorfismo. Asimismo, el análisis de microsatélites mostró muy baja variabilidad para los alelos analizados. El tener mayor grado de variabilidad genética con IGS1 que con SSR es un resultado inesperado. Los resultados del análisis de la región IGS1 muestran indicios de especialización de la roya entre *Eucalyptus* y *Psidium guajava*. Si bien se trata de resultados preliminares, la existencia de diferentes genotipos asociados a distintos hospederos coincide con lo observado por Graça *et al.* (2011a, b), quienes encontraron genotipos asociados a hospederos para poblaciones de roya en Hawaii y varios países de Sudamérica. En el caso de *Eucalyptus* un único genotipo estaría asociado a este hospedero. Estos autores postulan a su vez que la reproducción de *P. psidii* en las poblaciones observadas es clonal. En este contexto, en nuestro país también sería esperable encontrar un genotipo clonal de *P. psidii* asociado a especies de *Eucalyptus*, el cual correspondería al genotipo que efectuó el «salto» a este hospedero, y una mayor variabilidad entre *P. psidii* de mirtáceas nativas. De confirmarse esta hipótesis, este último aspecto resulta decisivo para los programas de mejoramiento genético ya que las mirtáceas nativas actuarían como un reservorio de diferentes cepas *P. psidii* con el potencial de efectuar nuevos «saltos» hacia el *Eucalyptus*. El análisis de un mayor número de cepas tanto de *Eucalyptus* como de mirtáceas nativas permitirá contar con resultados más robustos para probar esta hipótesis. A su vez, los resultados deberían ser contrastados con ensayos de patogenicidad para poder comprender el significado biológico en relación a su virulencia. Una vez caracterizados los diferentes genotipos del patógeno presentes en el país

y evaluada su patogenicidad, se podría incorporar a los programas de mejoramiento genético de *Eucalyptus* la evaluación de germoplasma para resistencia a la roya a través de la inoculación artificial del patógeno.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a las empresas Sierras Calmas y UPM – Forestal Oriental, por su apoyo logístico.

## BIBLIOGRAFÍA

- APARECIDO, C.C.; FIGUEIREDO, M.B.; FURTADO, E.L.** 2003. Groups of physiological variability in *Puccinia psidii* populations. *Summa Phytopathologica* 29: 234-238.
- BALMELLI, G.; MARRONI, V.; ALTIER, N.; GARCÍA, R.** 2004. Potencial del mejoramiento genético para el manejo de enfermedades en *Eucalyptus globulus*. Montevideo: INIA. (Serie Técnica; 143). 43 p.
- BALMELLI, G.; SIMETO, S.; MARTÍNEZ, G.; TORRES, D.; PÉREZ, C.; FROS, D.; BENTANCUR, O.** 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. Tacuarembó: INIA. (Serie Actividades de Difusión; 594). p.51-72.
- BARNES, C.W.; SZABO, L.J.; BOWERSOX, V.C.** 2009. Identifying and quantifying *Phakopsora pachyrhizi* spores in rain. *Phytopathology* 99: 328-338.
- CHATASIRI, S.; KITADE, O.; ONO, Y.** 2006. Phylogenetic relationships among *Puccinia hemerocallidis*, *P. funkiae*, and *P. patriniae* (Uredinales) inferred from ITS sequence. *Mycoscience* 47: 123-129.
- COELHO, L.; ALFENAS, A.C.; FERREIRA, F.A.** 2001. Physiologic variability of *Puccinia psidii* – the rust of *Eucalyptus*. *Summa Phytopathologica* 27: 295-300.
- FERREIRA, F.A.** 1983. Ferrugem do eucalipto. *Revista Árvore* 7: 91-109.
- GRAÇA, R.N.** 2011. Genetic diversity of *Puccinia psidii* populations. PhD tesis, Universidade Federal de Viçosa, Brasil.
- GRAÇA, R.N.; ROSS-DAVIS, A.L.; KLOPFENSTEIN, N.B.; KIM, M.; PEEVER, T.L.; CANNON, P.G.; UCHIDA, J.Y.; ALFENAS, A.C.** 2011a. Microsatellite profile of *Puccinia psidii* in Hawaii and South America. *Phytopathology* 101:S127.
- GRAÇA, R.N.; ROSS-DAVIS, A.L.; KLOPFENSTEIN, N.B.; KIM, M.; PEEVER, T.L.; CANNON, P.G.; AUN, C.P.; MIZUBUTI, E.S.; ALFENAS, A.C.** 2011b. Multilocus genotypes indicate selection by host in *Puccinia psidii* populations from Brazil. *Phytopathology* 101:S127.
- JAMES, T.Y.; MONCALVO, J.M.; LI, S.; VILGALYS, R.** 2001. Polymorphism at the ribosomal DNA spacers and its relation to breeding structure of the widespread mushroom *Schizophyllum commune*. *Genetics* 157: 149-161.
- KOCH DE BRODOS L.; BOASSO, O.; RICCIO DE MACHADO, C.; GANDOLFO ANTÚNEZ, C.** 1981. Enfermedades de las plantas, hongos superiores y saprófitas en Uruguay. Montevideo, Uruguay: Departamento de Comunicaciones, Dirección de Sanidad Vegetal, Ministerio de Agricultura y Pesca.
- KROOP, B.R.; ALBEE, S.; FLINT, K.M.; ZAMBINO, P.; SZABO, L.J.; THOMSON, S.V.** 1995. Early detection of systematic rust infections of Dyers Woad (*Isatis tinctoria* L.) using polymerase chain reaction. *Weed Science* 43: 467-472.
- LANGRELL, S.R.H.; GLEN, M.; ALFENAS, A.C.** 2008. Molecular diagnosis of *Puccinia psidii* (guava rust) – a quarantine threat to Australian eucalypt and Myrtaceae biodiversity. *Plant Pathology* 57: 687-701.
- MACLACHLAN, J.D.** 1938. A rust of the pimento tree in Jamaica. *Phytopathology* 28: 157-170.
- MASSON, M.V.** 2009. Ferrugem do eucalipto: planejamento evasivo, estimativa de dano e análise da viabilidade do controle químico. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 167p.
- PÉREZ, C.; ALTIER, N.; SIMETO, S.; WINGFIELD, M.J.; BLANCHETTE, R.A.** 2010. *Puccinia psidii* infecting cultivated *Eucalyptus* and native myrtaceae in Uruguay. *Mycological Progress* 10: 273-282.

- POU, R.** 2011. Agenda Forestal 2011 - Uruguay.
- RAYACHHETRY, M.B.; VAN, T.K.; CENTER, T.D.; ELLIOTT, M.L.** 2001. Host range of *Puccinia psidii*, a potential biological control agent of *Melaleuca quinquenervia* in Florida. *Biological Control* 22: 38-45.
- SIMPSON, J.A.; PODGER, F.D.** 2000. Management of eucalypt diseases: options and constraints. En: *Diseases and Pathogens of Eucalypts*. CSIRO, pp.427-444.
- SIMPSON, J.A.; THOMAS, K.; GRGURINOVIC, C.A.** 2006. Uredinales species pathogenic on species of Myrtaceae. *Australasian Plant Pathology* 35: 549-562.
- TAKAHASHI, S.S.** 2002. Ferrugem do eucalipto: Índice de infecção, análise temporal e estimativas de danos relacionados à intensidade da doença no campo. Botucatu, Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu. 101p.
- TAMURA, K.; PETERSON, D.; PETERSON, N.; STECHER, G.; NEI, M.; KUMAR, S.** 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731-2739.
- TELECHEA, N.; ROLFO, M.; COUTINHO, T.A.; WINGFIELD, M.J.** 2003. *Puccinia psidii* on *Eucalyptus globulus* in Uruguay. *Plant Pathology* 52: 427.
- WINGFIELD, M.J.** 2003. Increasing threat of diseases to exotic plantation forests in the Southern Hemisphere: lessons from *Cryphonectria* canker. *Australasian Plant Pathology* 32: 41-53.
- XAVIER, A.A.** 2002. Histopatologia da interação *Puccinia psidii* e virulência de isolados do patógeno em espécies de Myrtaceae. PhD tesis, Universidade Federal de Visoça, Brasil.
- ZHONG, S.; YANG, B.; ALFENAS, A.C.** 2008. Development of microsatellite markers for the guava rust fungus, *Puccinia psidii*. *Molecular Ecology Resources*, 8: 348-350.

# MEJORAMIENTO GENÉTICO EN *Eucalyptus globulus* Y *Eucalyptus maidenii* POR RESISTENCIA A *Teratosphaeria nubilosa*

Gustavo Balmelli<sup>1</sup>, Sofía Simeto<sup>1</sup>,  
Diego Torres-Dini<sup>1</sup>, Alicia Castillo<sup>1</sup>,  
Nora Altier<sup>1</sup>, Guillermo Pérez<sup>2</sup>,  
Juan Mac Gregor<sup>3</sup>, Alberto Peverelli<sup>4</sup>,  
Julio J. Diez<sup>5</sup>

## INTRODUCCIÓN

En Uruguay *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus maidenii* llegaron en conjunto a ocupar más de 300 mil hectáreas de plantaciones destinadas a la producción de madera para exportación (MGAP, 2012). Sin embargo, desde la aparición de *Teratosphaeria nubilosa* en el año 2007 (Pérez *et al.*, 2009) las plantaciones jóvenes de ambas especies han sufrido severos daños. La enfermedad que provoca este patógeno, conocida como Manchas de Mycosphaerella, afecta principalmente al follaje juvenil, produciendo inicialmente manchas foliares y posteriormente defoliación (Carnegie *et al.*, 1998; Hunter *et al.*, 2009). Cuando la infección es severa se produce la muerte de ápices y ramas. La pérdida de área foliar afecta el crecimiento y la sobrevivencia posterior (Balmelli *et al.*, 2012), disminuyendo por lo tanto la productividad del monte (Figura 1).

La alta susceptibilidad del follaje juvenil de *E. globulus* a esta enfermedad, sumado al gran volumen de inóculo producido por *T. nubilosa* y a que las condiciones ambientales predisponentes para la enfermedad (varios días de lluvia y alta humedad relativa)

son frecuentes en nuestro país, lleva a que en plantaciones jóvenes exista un alto riesgo de infección. Esto se comprueba año a año con los importantes daños producidos en plantaciones de uno y dos años (Balmelli *et al.*, 2009a, 2009b, 2009c; Balmelli *et al.*, 2011; Simeto *et al.*, 2010). Este hecho a su vez está generando el reemplazo de *E. globulus* por especies más resistentes, como *E. dunnii* y *E. grandis*, lo que hace suponer que en pocos años, si no se desarrolla una estrategia de manejo efectiva, la plantación de *E. globulus* podría ser totalmente abandonada en el país.

Debido a condicionantes económicas, ambientales y operativas las opciones silviculturales para minimizar el efecto de esta enfermedad son muy limitadas. Se han propuesto diferentes estrategias, como por ejemplo la elección del sitio (es decir, evitar plantar en sitios con alto riesgo de infección) (Carnegie, 2007), el incremento del vigor y la tolerancia de los árboles mediante una silvicultura intensiva o mediante la aplicación de activadores de las defensas de la planta (Mohammed *et al.*, 2003; Stone, 2001), la aplicación de fungicidas (Carnegie y Ades, 2003) y la re-fertilización para acelerar la re-

<sup>1</sup>Programa Nacional de Investigación en Producción Forestal. INIA. Ruta 5, km 386. Tacuarembó. Correo electrónico: gbalmeili@tb.inia.org.uy

<sup>2</sup>Polo de Desarrollo Universitario Forestal, Centro Universitario de Tacuarembó (CUT), UdelaR. Tacuarembó.

<sup>3</sup>Oficina Técnica. Sierras Calmas. Montevideo.

<sup>4</sup>Semillas Santa Rosa. Montevideo.

<sup>5</sup>Departamento de Producción Vegetal y Recursos Forestales. Instituto de Gestión Forestal Sostenible. Universidad de Valladolid. Palencia, España.



**Figura 1.** (a) Hoja de *E. globulus* con manchas típicas de *T. nubilosa*; (b) manchas en hojas nuevas; (c) manchas en hojas maduras; (d) defoliación y muerte de ramas, con rebrotes basales; (e) sobrevivencia y productividad comprometida en plantación muy afectada por la enfermedad.

cuperación de los árboles afectados (Carnegie, 2007; Pinkard *et al.*, 2006a, 2006b, 2007). Sin embargo, hasta el momento estas alternativas no han demostrado ser eficientes en el control de *T. nubilosa*. Por tal motivo se considera que la forma más efectiva para reducir el efecto de la enfermedad a niveles aceptables es la utilización de material genético resistente (Alfnas *et al.*, 2004; Carnegie *et al.*, 1994; Dungey *et al.*, 1997; Milgate *et al.*, 2005; Tibbits *et al.*, 1997).

Con el objetivo de desarrollar materiales de *E. globulus* y *E. maidenii* de buen comportamiento frente a *T. nubilosa* el INIA ha iniciado un nuevo proyecto, orientado a la selección y clonación de individuos que presenten resistencia en el follaje juvenil y/o precocidad en el cambio de follaje. Para aumentar la variabilidad genética el plan de mejora se basa en cruzamientos controlados, lo que permitirá utilizar los mejores progenitores existentes en el pool genético del

INIA y generar híbridos con especies más resistentes a la enfermedad. Por lo tanto, los objetivos del proyecto son la generación de clones de *E. globulus* y *E. maidenii*, así como híbridos de ambas especies con *E. grandis* y *E. dunnii*, con buen comportamiento frente a *T. nubilosa*. Para esto se implementarán las siguientes actividades: a) Selección en el pool genético de progenitores con características destacadas de resistencia y/o precocidad en el cambio de follaje; b) Obtención de genotipos promisorios mediante cruzamientos controlados; c) Caracterización del comportamiento de los cruzamientos frente a *T. nubilosa* (por inoculación artificial y/o en condiciones de campo); d) Clonación y multiplicación de los individuos seleccionados y e) Evaluación a campo del comportamiento sanitario y productivo de los clones.

El proyecto se inició en marzo de 2011, con la instalación en Lavallega de una prueba de progenies de *E. globulus* y *E. maidenii*.

Luego de una severa infección de *T. nubilosa* ocurrida en febrero de 2012 se evaluó la resistencia del follaje juvenil y la precocidad en el cambio de follaje. En el presente trabajo se analiza la variabilidad genética y las posibilidades de selección de materiales de buen comportamiento frente a la enfermedad.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La susceptibilidad a *T. nubilosa* y la precocidad del cambio de follaje fueron evaluados en una prueba de progenies de *E. globulus* y *E. maidenii* instalada en marzo de 2011 en el departamento de Lavalleja (Ruta 8, km 161). El material genético incluyó 194 familias de polinización abierta de *E. globulus* y 86 de *E. maidenii* provenientes de las poblaciones de cría del INIA. El diseño experimental fue de bloques completos al azar, con

3 repeticiones y parcelas de 8 plantas en línea. La densidad de plantación fue de 1428 plantas por hectárea (3.5 metros entre líneas y 2 metros entre plantas).

En febrero de 2012 se registraron varios días consecutivos de lluvia y/o alta humedad relativa, lo cual desencadenó una severa infección de *T. nubilosa*. El crecimiento (altura), la severidad del daño foliar y la precocidad del cambio de follaje fueron evaluados en mayo de 2012, a los 14 meses de edad. La susceptibilidad a la enfermedad fue cuantificada en cada árbol utilizando dos parámetros: la severidad de las manchas foliares (porcentaje del área foliar con necrosis) y la defoliación (porcentaje de hojas caídas). En ambos casos se utilizaron escalas visuales adaptadas de Lundquist y Purnell (1987) y de Carnegie *et al.* (1994). Para la evaluación de la severidad de man-



**Figura 2.** (a) Vista del ensayo en el momento de la evaluación; (b) detalle de hojas con manchas y defoliación por *T. nubilosa*; (c) árbol sin follaje adulto; (d) árbol con 20% de follaje adulto; (e) árbol con 40% de follaje adulto y (f) árbol con más del 80% de follaje adulto.

chas (SEV) cada árbol se caracterizó de acuerdo a las siguientes clases de daño: 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40%, mientras que las clases utilizadas para la evaluación de la defoliación (DEF) fueron: 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60 y 70%. Con ambos parámetros se estimó el daño foliar total mediante un índice (con valores de 0 a 100). El Índice de Daño Foliar (IDF), adaptado de Stone *et al.* (2003), se calculó cómo:

IDF= Defoliación + (1 – Defoliación/100) x Severidad de manchas/100).

Para evaluar la precocidad del cambio de follaje se midió la proporción de follaje adulto (FOAD), utilizando las siguientes clases: 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 y 90% (ver Figura 2).

Para cada característica evaluada se estimaron los componentes de varianza mediante un modelo mixto en ASReml (Version 3.0) (Gilmour *et al.*, 2009). El modelo univariado utilizado fue:

$$Y = MU + REP + FAM + REP * FAM + ERROR$$

Donde Y es la observación, MU es la media general, REP es el efecto fijo de la repetición, FAM es el efecto aleatorio de la familia, REP \* FAM es la interacción de repetición por familia y ERROR es el residuo. La varianza fenotípica ( $\sigma_p^2$ ), la varianza aditiva ( $\sigma_a^2$ ) y la heredabilidad individual ( $h_{op}^2$ ) fueron calculadas como:

$$\sigma_p^2 = \sigma_f^2 + \sigma_{rf}^2 + \sigma_e^2$$

$$\sigma_a^2 = \frac{\sigma_f^2}{r}$$

$$h_p^2 = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_p^2}$$

Donde  $\sigma_f^2$  es la varianza de familias;  $\sigma_{rf}^2$  es la varianza de la interacción repetición por familia,  $\sigma_e^2$  es la varianza residual; y  $r$  es el coeficiente de parentesco, fijado en 0.4 para ajustar la desviación respecto a la relación de medios hermanos (asumiendo un 30% de autofecundación) (Volker *et al.*, 1990).

Análisis bivariados fueron también implementados en ASReml, ajustando el mismo modelo que en los análisis univariados y utilizando los componentes de varianza de dichos análisis como valores de inicio. Las correlaciones genéticas entre diferentes características ( $r_{a(i,j)}$ ) fueron calculadas con las varianzas y covarianzas aditivas como:

$$r_{a(i,j)} = \frac{\sigma_{a(ij)}}{\sqrt{\sigma_{a(i)}^2 \sigma_{a(j)}^2}}$$

Donde  $\sigma_{a(i)}^2$  y  $\sigma_{a(j)}^2$  son las varianzas aditivas para las características  $i$  y  $j$ , respectivamente, y  $\sigma_{a(ij)}$  es la covarianza aditiva entre ambas características.

Las ganancias genéticas esperadas mediante selección por resistencia y mediante selección por precocidad en el cambio de follaje fueron analizadas para dos estrategias: la transformación de la prueba de progenies en un huerto semillero y la selección y clonación de individuos. Para el primer caso se simuló la retención de las mejores 30 familias y del mejor individuo de cada parcela, mientras que para el segundo caso se simuló la selección de los mejores 200 individuos. Para la estimación de las ganancias genéticas ( $\Delta G$ ) esperadas, expresadas en porcentaje, se utilizaron los valores de cría parentales e individuales obtenidos para las diferentes características en los análisis univariados.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al momento de realizar la evaluación del ensayo, tres meses después de que se dieran condiciones de infección, el índice de daño foliar (IDF) provocado por *T. nubilosa* fue en promedio de 38,7% en *E. globulus* (con un rango a nivel de individuos entre 5 y 73%) y de 27,0% en *E. maidenii* (con un rango entre 0 y 55%). El valor medio para follaje adulto fue de 9,9% en *E. globulus* (con un rango entre 0 y 90%) y de 0,6% en *E. maidenii* (con un rango entre 0 y 50%). Estos resultados confirman que *E. globulus* es más susceptible a *T. nubilosa* que *E. maidenii*, pero que cambia el follaje más precozmente. La baja

proporción de follaje adulto se explica por lo temprano de la evaluación (14 meses), ya que el cambio de follaje en *E. globulus* se produce generalmente entre los 18 y los 24 meses y en *E. maidenii* entre los 24 y los 30 meses.

En *E. globulus* la variabilidad existente en la población evaluada para la precocidad del cambio de follaje fue mucho mayor que para el índice de daño foliar, mientras que en *E. maidenii* ambas características presentaron muy escasa variabilidad (Figura 3 y Cuadro 1). En el caso de *E. globulus* la escasa variabilidad observada en el nivel de daño probablemente se deba a la alta susceptibilidad que presenta esta especie a la enfermedad (Carnegie *et al.* 1998), mientras que en *E. maidenii* podría estar explicada por la reducida base genética evaluada.

La heredabilidad individual para el índice de daño foliar fue moderada en *E. globulus* ( $0,40 \pm 0,06$ ) y baja en *E. maidenii* ( $0,20 \pm 0,07$ ). Para el porcentaje de follaje adulto la heredabilidad en *E. globulus* fue alta ( $0,62 \pm 0,06$ ) y en *E. maidenii* fue muy baja ( $0,06 \pm 0,03$ ) (Cuadro 1). La escasa variabilidad observada en *E. maidenii* podría deberse a que la evaluación se realizó demasiado temprano, a que la base genética de la población evaluada es relativamente estrecha o a características intrínsecas de la especie. Lamentablemente, como esta especie es muy poco utilizada no existe información internacional ni para la variabilidad de la resistencia

a *T. nubilosa* ni para la precocidad en el cambio de follaje. Los valores de heredabilidad obtenidos en *E. globulus* para la susceptibilidad a *T. nubilosa* se encuentran dentro del rango de valores reportados por otros autores para esta especie. Potts *et al.* (2004) reportan una heredabilidad de 0.60 para la severidad de *T. nubilosa*; Reinoso (1992) entre 0,23 y 0,48 para la severidad del daño de *Mycosphaerella*; Dungey *et al.* (1997) entre 0,12 y 0,21 para el daño de *T. nubilosa* y *T. cryptica* y Carnegie y Ades (2005) entre 0,17 y 0,36 para el daño de *T. cryptica*. La heredabilidad obtenida para el porcentaje de follaje adulto en *E. globulus* también es similar a la obtenida por otros autores para la precocidad del cambio de follaje, por ejemplo López *et al.* (2002) reportan heredabilidades entre 0,54 y 0,65; Jordan *et al.* (1999) entre 0,43 y 0,74 y Hamilton *et al.* (2011) entre 0,44 y 0,65.

Los resultados obtenidos sugieren que para *E. maidenii* la variabilidad genética es muy baja y por lo tanto las posibilidades de selección son bastante limitadas y se restringen a la selección por resistencia a la enfermedad. En cambio en *E. globulus* es posible seleccionar tanto por resistencia a *T. nubilosa* como por precocidad en el cambio de follaje. Sin embargo, la varianza total, la varianza aditiva y la heredabilidad para la precocidad en el cambio de follaje son mayores que para la resistencia, lo cual indica que la respuesta a la selección por escape a

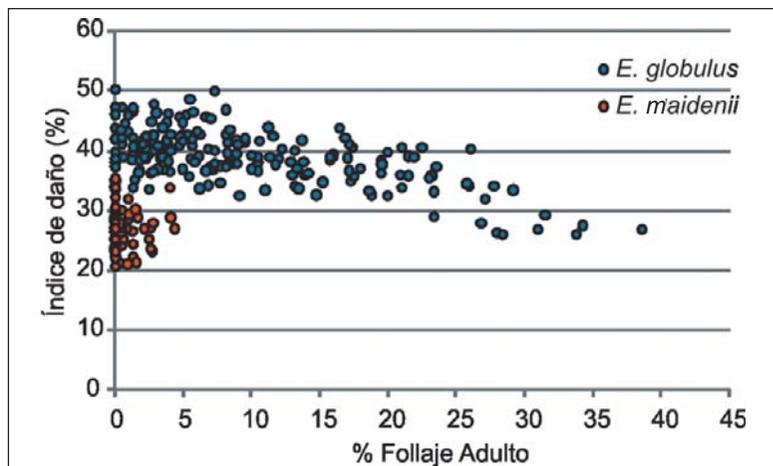


Figura 3. Variación a nivel de familias en el índice de daño foliar y en el porcentaje de follaje adulto a los 14 meses.

**Cuadro 1.** Varianza fenotípica ( $\sigma_p^2$ ), varianza aditiva ( $\sigma_a^2$ ) y heredabilidad individual ( $h_{op}^2$ ), y los correspondientes errores estándar (ee), para el índice de daño foliar (IDF) y el porcentaje de follaje adulto (FOAD) a los 14 meses.

	<i>E. globulus</i>		<i>E. maidenii</i>	
	IDF (%)	FOAD (%)	IDF (%)	FOAD (%)
$\sigma_p^2 + ee$	86,4 ± 2,7	251 ± 8,7	60,1 ± 2,4	14,7 ± 0,49
$\sigma_a^2 + ee$	35,0 ± 5,6	155,8 ± 19,3	11,7 ± 4,2	0,84 ± 0,39
$h_{op}^2 + ee$	0,40 ± 0,06	0,62 ± 0,06	0,20 ± 0,07	0,06 ± 0,03

la enfermedad sería mayor. Por otra parte, debido a que la evaluación de daño se realizó en el total de la copa, en aquellos árboles que presentaban follaje adulto (el cual presenta manchas pero no se cae) la resistencia a la enfermedad puede estar sobrestimada. Cuando en *E. globulus* se analiza el índice de daño foliar utilizando el porcentaje de follaje adulto como covariable, tanto la varianza aditiva (18,3 ± 3,7) como la heredabilidad (0,26 ± 0,05) presentan valores menores que los presentados en el Cuadro 1. Esto demuestra que la variabilidad genética real (*per se*) de la resistencia a la enfermedad es aún menor que la estimada inicialmente, lo cual limita aún más las posibilidades de selección por esta característica.

Las correlaciones fenotípicas y genéticas entre el índice de daño foliar y el crecimiento en altura en *E. globulus* fueron relativamente bajas y negativas, es decir que cuanto mayor es el crecimiento inicial menor es el daño foliar provocado por *T. nubilosa* (Cuadro 2). Por el contrario las correlaciones entre el porcentaje de follaje adulto y la altura fueron positivas, indicando que aquellos individuos y familias que crecen más rápido tienden a cambiar el follaje más temprano (Cuadro 2). De acuerdo a lo esperado las correlaciones entre el índice de daño foliar y la precocidad del cambio de follaje fueron altas y negativas (Cuadro 2). En otras palabras, cuanto mayor es el porcentaje de follaje adulto menor es el

nivel de daño provocado por la enfermedad. Hay que considerar sin embargo que, como se mencionó anteriormente, el índice de daño covaría con el porcentaje de follaje adulto, por lo que la correlación entre ambas características está sobreestimada.

Mediante la conversión de la prueba de progenies en un huerto semillero de *E. globulus*, las ganancias genéticas esperadas son relativamente bajas cuando se selecciona por bajo índice de daño foliar (Cuadro 3). Por el contrario, si la selección se realiza por porcentaje de follaje adulto se esperan muy altas ganancias genéticas (Cuadro 3). Similares resultados se esperan mediante la alternativa de selección y clonación de los mejores individuos (Cuadro 3).

La estrategia de transformación de la prueba de progenies en huerto semillero tiene dos limitantes: una es que la producción de semilla en *E. globulus* comienza aproximadamente a los 5 años y la otra, más importante, es la pobre producción de semillas que tiene *E. globulus* en Uruguay. La experiencia generada en INIA demuestra que un huerto semillero bien manejado produce en promedio 0,8 kilogramos de semilla limpia por hectárea, con una fuerte variación interanual. Considerando una densidad de plantación de 1400 árboles por hectárea, con un kilogramo de semilla limpia se pueden plantar aproximadamente 200 hectáreas. Por lo tanto la producción total en las 4,7 hectáreas de este

**Cuadro 2.** Correlaciones fenotípicas y genéticas entre el índice de daño foliar (IDF) y el porcentaje de follaje adulto (FOAD) en *E. globulus* a los 14 meses.

Características	Fenotípica	Genética
IDF vs Altura	-0,18 ± 0,02	-0,38 ± 0,11
FOAD vs Altura	0,38 ± 0,02	0,43 ± 0,09
IDF vs FOAD	-0,44 ± 0,02	-0,72 ± 0,06

**Cuadro 3.** Ganancias genéticas esperadas ( $\Delta G$  en %) en *E. globulus* para índice de daño foliar (IDF) y porcentaje de follaje adulto (ADFO) mediante la transformación de la prueba de progenies (PP) en un huerto semillero (HS) y mediante la selección y clonación de individuos.

Criterio de selección	Media actual	Transformación de PP en HS			Selección y Clonación de individuos		
		Media Pob. Selecta	Diferencial Selección	$\Delta G$ (%)	Media Pob. Selecta	Diferencial Selección	$\Delta G$ (%)
IDF (%)	38,7	19,7	-19,3	19,8	17,6	-21,4	21,9
ADFO (%)	9,9	51,4	41,5	259	51,6	41,7	260

hipotético huerto semillero sería de 3,8 kilogramos por año, con lo cual solamente se podrían plantar 760 hectáreas por año. De esta forma, aunque se obtuviesen buenas ganancias genéticas, la producción de semilla mejorada no es una solución al problema de *T. nubilosa* en *E. globulus*.

La estrategia de selección y clonación de los mejores individuos requiere un plazo similar: todo el proceso de clonación, evaluación y multiplicación de los clones a escala comercial puede realizarse en un período de cuatro o cinco años. Contando con las capacidades de vivero adecuadas, no habría limitantes en cuanto al área que puede plantarse con el material seleccionado. La desventaja de esta estrategia es la pobre capacidad de enraizamiento que tiene *E. globulus*, con lo cual sólo un pequeño porcentaje de los árboles seleccionados llegará a transformarse en clones comerciales. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la forestación clonal es mucho más riesgosa desde el punto de vista sanitario, por lo que para reducir los riesgos ante la aparición de nuevas enfermedades (y/o plagas) se deberían utilizar no menos de diez clones. Desde el punto de vista del mejoramiento genético, la selección clonal minimiza la variabilidad genética, por lo que para continuar la selección y clonación a mediano y largo plazo es imprescindible contar con un programa de multiplicación sexual.

## CONCLUSIONES Y CONSIDERACIONES FINALES

Los resultados obtenidos demuestran que las posibilidades de selección en *E. maidenii* tanto por resistencia a *T. nubilosa* como por escape a la enfermedad son muy limitadas.

Sin embargo, dado que la evaluación se realizó demasiado temprano, la información obtenida en esta especie podría no ser precisa. Por tal motivo la evaluación se repetirá en diciembre de 2012 y en abril de 2013, es decir a los 20 y a los 24 meses de edad. En el caso de *E. globulus* los resultados obtenidos indican que la variabilidad genética en resistencia a la enfermedad es muy baja, pero que en cambio existe una importante variabilidad, y por tanto amplias posibilidades de selección, en la precocidad del cambio de follaje. A su vez, la selección por esta característica no solo permite obtener mayores ganancias genéticas sino que además puede realizarse en forma segura, es decir con independencia de las condiciones ambientales.

El Plan de Mejoramiento Genético implementado por INIA tiene como objetivo de corto plazo obtener clones de rápido cambio de follaje, para lo cual se estableció un acuerdo de trabajo con las empresas Sierras Calmas y Semillas Santa Rosa. Los objetivos de mediano y largo plazo buscan mantener o aumentar la variabilidad genética mediante cruzamientos controlados, intra e inter específicos, para obtener clones con un buen nivel de resistencia en el follaje juvenil. La evaluación de esta prueba de progenies permitió estimar los valores de cría individuales para diferentes características y priorizando fuertemente la precocidad en el cambio de follaje se seleccionaron 87 individuos de *E. globulus* y 31 individuos de *E. maidenii*. Actualmente, luego del corte para promover el rebrote de las cepas, se están clonando los árboles seleccionados mediante el enraizamiento de estacas (macro-propagación) y mediante la introducción in-vitro de brotes epicórmicos (micro-propagación) (Figura 4).



**Figura 4.** (a, b, c) Ejemplos de árboles seleccionados por precocidad en el cambio de follaje (agosto de 2012); (d) rebrotes en la cepa de un árbol seleccionado; (e) brotes epicórmicos en trozos del fuste de árboles seleccionados; (f) introducción *in vitro*: primera etapa de la micro-propagación.

Para la selección de progenitores y su utilización en cruzamientos controlados se estimaron los valores de cría parentales y se seleccionaron las 25 mejores madres en *E. globulus*, principalmente por cambio precoz de follaje. En 2012 se realizaron 59 cruzamientos en el huerto semillero de segunda generación (ubicado en INIA Las Brujas), habiéndose polinizado 4356 flores. En 2013

se continuará el plan de cruzamientos en *E. globulus* y se comenzarán a realizar cruzamientos interespecíficos con *E. grandis*.

Se espera que a mediano plazo la ejecución de este proyecto permita obtener clones con buen comportamiento frente a *T. nubilosa* y que su utilización a escala comercial minimice los daños provocados por esta enfermedad en el país.

## AGRADECIMIENTOS

A la empresa Sierras Calmas por proveer el sitio, por la preparación del terreno y por el mantenimiento del ensayo. Al personal de apoyo del Programa Forestal del INIA, Pablo Núñez, Federico Rodríguez, Wilfredo González y Marcelo Alfonso, por su colaboración en la preparación de las plantas, la instalación del ensayo y la evaluación del mismo. El estudio fue parcialmente financiado por una beca otorgada al primer autor por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) de España, en el marco del Programa de Formación del Sistema de los INIA de Iberoamérica.

## BIBLIOGRAFÍA

- ALFENAS, A.C.; ZAUZA, E.A.; MAFIA, R.G.; ASSIS, T.F.** 2004. Clonagem e Doenças do Eucalipto. Universidade Federal do Viçosa, MG. Brasil.
- BALMELLI, G.; SIMETO, S.; MARTINEZ, G.; TORRES, D.; PÉREZ, C.; FROS, D.; 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. En: Jornada Técnica de Protección Forestal. Tacuarembó: INIA. (Serie Actividades de Difusión; 567). p. 51-65.
- BALMELLI, G.; SIMETO, S.; MARTÍNEZ, G.; TORRES, D.; GONZÁLEZ, P.; FROS, D.; BENTANCUR, O.; PÉREZ, C.** 2009b. Relevamiento sanitario de otoño en plantaciones jóvenes de *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus dunnii* en el Sureste y Litoral Oeste. En: Seminario Técnico de Sanidad Forestal. Tacuarembó: INIA. (Serie Actividades de Difusión; 594). p. 51-72.
- BALMELLI, G.; MARTÍNEZ, G.; SIMETO, S.; TORRES, D.; PÉREZ, C.A.; FROS, D.; BENTANCUR, O.** 2009c. Daño foliar causado por enfermedades y plagas en plantaciones jóvenes de *Eucalyptus globulus* en Uruguay. Poster en XIII Congreso Forestal Mundial. 18-23 Octubre. Buenos Aires, Argentina.
- BALMELLI, G.; SIMETO, S.; MARTÍNEZ, G.; TORRES, D.; PÉREZ, C.A.; BENTANCUR, O.** 2011. Incidence and severity of pests and diseases on young plantations of *Eucalyptus globulus* in Uruguay. En: IUFRO Forest Protection Joint Meeting: pathogens, insects and their associations affecting forestry worldwide. 8-11 Noviembre. Colonia del Sacramento, Uruguay.
- BALMELLI, G.; SIMETO, S.; ALTIER, N.; MARRONI, V.; DIEZ, J.J.** 2013. Long term losses caused by foliar diseases on growth and survival of *Eucalyptus globulus* in Uruguay. *New Forests* 44(2): 249-263.
- CARNEGIE, A. J.** 2007. Forest health condition in New South Wales, Australia, 1996-2005. II. Fungal damage recorded in eucalypt plantations during forest health surveys and their management. *Australasian Plant Pathology* 36: 225-239.
- CARNEGIE, A.J.; ADES, P.K.** 2003. *Mycosphaerella* leaf disease reduces growth of plantation-grown *Eucalyptus globulus*. *Australian Forestry* 66: 113-119.
- CARNEGIE, A.J.; ADES, P.K.** 2005. Variation in *Eucalyptus globulus* Labill. and *E. nitens* Dean and Maiden in susceptibility of adult foliage to disease caused by *Mycosphaerella cryptica* (Cooke) Hansf. *Silvae Genetica* 54: 174-184.
- CARNEGIE, A.J.; KEANE, P.J.; ADES, P.K.; SMITH, I.W.** 1994. Variation in susceptibility of *Eucalyptus globulus* provenances to *Mycosphaerella* leaf disease. *Canadian Journal of Forest Research* 24: 1751-1757.
- CARNEGIE, A.J.; ADES, P.K.; KEANE, P.J.; SMITH, I.W.** 1998. *Mycosphaerella* disease of juvenile foliage in a eucalypts species and provenance trial in Victoria, Australia. *Australian Forestry* 61: 190-194.
- DUNGEY, H.S.; POTTS, B.M.; CARNEGIE, A.J.; ADES, P.K.** 1997. *Mycosphaerella* leaf disease: genetic variation in damage to *Eucalyptus nitens*, *Eucalyptus globulus*, and their F-1 hybrid. *Canadian Journal of Forest Research* 27: 750-759.
- GILMOUR, A.R.; GOGEL, B.J.; CULLIS, B.R.; THOMPSON, R.** 2009. ASReml User

Guide Release 3.0. VSN International Ltd: Hemel Hempstead, UK.

- HAMILTON, M.G.; TILYARD, P.A.; WILLIAMS, D.R.; VAILLANCOURT, R.E.; WARDLAW, T.J.; POTTS, B.M.** 2011. The genetic variation in the timing of heteroblastic transition in *Eucalyptus globulus* is stable across environments. *Australian Journal of Botany* 59: 170-175.
- HUNTER, G.C.; CROUS, P.W.; CARNEGIE, A.J.; WINGFIELD, M.J.** 2009. *Teratosphaeria nubilosa*, a serious leaf disease pathogen of *Eucalyptus* spp. in native and introduced areas. *Molecular Plant Pathology* 10: 1-14.
- JORDAN, G.J.; POTTS, B.M.; WILTSHIRE, R.** 1999. Strong, independent quantitative genetic control of vegetative phase change and first flowering in *Eucalyptus globulus* ssp. *globulus* (Tasmanian Blue Gum). *Heredity* 83: 179-187.
- LÓPEZ, G.A.; POTTS, B.M.; DUTKOWSKI, G.W.; APIOLAZA, L.A.; GELID, P.E.** 2002. Genetic variation and inter-trait correlations in *Eucalyptus globulus* base population trials in Argentina. *Forest Genetics* 9: 217-231.
- LUNDQUIST, J.E.; PURNELL, R.C.** 1987. Effects of *Mycosphaerella* leaf spot on growth of *Eucalyptus nitens*. *Plant Disease* 71: 1025-1029.
- MILGATE, A.W.; POTTS, B.M.; JOYCE, K.; MOHAMMED, C.; VAILLANCOURT, R.E.** 2005. Genetic variation in *Eucalyptus globulus* for susceptibility to *Mycosphaerella nubilosa* and its association with tree growth. *Australasian Plant Pathology* 34: 11-18.
- MGAP.** 2012. Recurso Forestal: bosques plantados registrados. <http://www.mgap.gub.uy>.
- MOHAMMED, C.; WARDLAW, T.; SMITH, A.; PINKARD, E.; BATTAGLIA, M.; GLEN, M.; TOMMERUP, I.; POTTS, B.; VAILLANCOURT, R.** 2003. *Mycosphaerella* leaf diseases of temperate eucalypts around the southern Pacific rim. *New Zealand Journal of Forestry Science* 33: 362-372.
- PINKARD, E.A.; BAILLIE, C.C.; PATEL, V.; MOHAMMED, C.L.** 2006a. Effects of fertilizing with nitrogen and phosphorus on growth and crown condition of *Eucalyptus globulus* Labill. experiencing insect defoliation. *Forest Ecology and Management* 231: 131-137.
- PINKARD, E.A.; BAILLIE, C.C.; PATEL, V.; PATERSON, S.; BATTAGLIA, M.; SMETHURST, P.J.; MOHAMMED, C.L.; WARDLAW, T.; STONE, C.** 2006b. Growth responses of *Eucalyptus globulus* Labill. to nitrogen application and severity, pattern and frequency of artificial defoliation. *Forest Ecology and Management* 229: 378-387.
- PINKARD, E.A.; BATTAGLIA, M.; MOHAMMED, C.** 2007. Defoliation and nitrogen effects on photosynthesis and growth of *Eucalyptus globulus*. *Tree Physiology* 27: 1053-1063.
- PÉREZ, G.; HUNTER, G.; SLIPPERS, B.; PÉREZ, C.A.; WINGFIELD, B.D.; WINGFIELD, M.J.** 2009. *Teratosphaeria* (*Mycosphaerella*) *nubilosa*, the causal agent of *Mycosphaerella* leaf disease (MLD), recently introduced into Uruguay. *European Journal of Plant Pathology* 125: 109-118.
- POTTS, B.M.; MILGATE, A.; JOYCE, K.; MOHAMMED, C.; VAILLANCOURT, R.E.; DUTKOWSKI, G.W.** 2004. Quantitative genetic control of *Mycosphaerella* resistance in *Eucalyptus globulus* and impact on growth. En: *Eucalyptus* in a changing world. Proceedings of IUFRO conference. Aveiro, Portugal. (Ed. by N Borralho, JS Pereira, C Marques, J Coutinho, M Madeira, M Tomé). p. 46-61.
- REINOSO, C.** 1992. Variation in *Eucalyptus globulus* in susceptibility to *Mycosphaerella* leaf diseases. Master of Forest Science thesis, University of Melbourne, Australia.
- SIMETO, S.; BALMELLI, G.; MARTÍNEZ, G.; TORRES, D.; GONZÁLEZ, P.; FROS, D.; BENTANCUR, O.; PÉREZ, C.A.** 2010. Relevamiento sanitario de *Eucalyptus* spp. en el Sureste y Litoral Oeste del país. En: *Jornada Técnica de Protección Forestal. Las Brujas: INIA. (Serie Actividades de Difusión; 629)*. p. 41-51.
- STONE, C.** 2001. Reducing the impact of insect herbivory in eucalypt plantations through management of extrinsic influences on tree vigour. *Australian Ecology* 26: 482-488.

- STONE, C.; MATSUKI, M.; CARNEGIE, A.** 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.
- TIBBITS, W.N.; BOOMSMA, D.B.; JARVIS, S.** 1997. Distribution, biology, genetics and improvement programs for *Eucalyptus globulus* and *E. nitens* around the world. In: Proc. 24th Southern Forest Tree Improvement Conference. Orlando, USA, p. 81-95.
- VOLKER, P.W.; DEAN, C.A.; TIBBITS, W.N.; RAVENWOOD, I.C.** 1990. Genetic parameters and gains expected from selection in *Eucalyptus globulus* in Tasmania. *Silvae Genetica* 39: 18-21.



# APÉNDICE



# COMITÉ EJECUTIVO DE COORDINACIÓN EN MATERIA DE PLAGAS Y ENFERMEDADES QUE AFECTAN A LAS PLANTACIONES FORESTALES (CECOPE)

El 9 de agosto del año 2001, el Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca resolvió constituir un Comité Ejecutivo de Coordinación, visto la incidencia de las plagas y enfermedades que afectan las plantaciones forestales.

Está integrado por el Director General Forestal (Presidente), el Director General de Servicios Agrícolas (o quien este designe), dos representantes de la Sociedad de Productores Forestales (SPF) y un representante del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA).

El cometido principal es definir e implementar la estrategia a seguir en el tema, así como la definición de las principales líneas de trabajo a encarar.

A tales efectos, el CECOPE podrá contar con el apoyo de un grupo de expertos nacionales e internacionales, si fuera necesario.

El Plan de Actividades deberá prever, entre otros puntos:

- \* Programas de Monitoreo.
- \* Protocolos para la detección, captura y/o recolección de muestras.
- \* Diagnóstico (identificación de agentes patógenos).
- \* Mecanismos de Control.
- \* Capacitación de personal.
- \* Principales líneas de investigación.
- \* Costo de las actividades.
- \* Financiamiento.
- \* Identificación de todo el sistema operativo (como participan los diferentes actores involucrados).

El Comité Ejecutivo de Coordinación sesiona en la Dirección General Forestal.

Los temas fitosanitarios tratados en el Comité en el último año han sido:

- *Thaumastocoris peregrinus*
- *Scolytidae*
- *Fusarium circinatum*
- *Teratosphaeria nubilosa*
- *Leptocybe invasa*
- Otros

Otros temas relacionados a la sanidad forestal y que también fueron planteados ante el CECOPE:

- Relevamiento fitosanitario en el marco del Inventario Forestal Nacional (INF)
- Plan Regional de Vigilancia y Control Biológico de la Chinche de los Eucaliptos *Thaumastocoris peregrinus*. (COSAVE)
- Proyecto PROCISUR.
- Proyecto BID RG-T1828 «Sistema Regional de Sanidad Forestal en los Países del Cono Sur y Bolivia»
- Proyecto CEBIOF
- Sistema informático para la gestión de datos de monitoreo de plagas forestales.
- Documento de Trabajo «Estrategia Nacional de Manejo Forestal para la Salud y Vitalidad de los Bosques Plantados»

El Documento sobre Estrategia de Manejo Forestal se basa en ocho Lineamientos Estratégicos a saber:

- Estructura organizacional para la protección forestal.
- Sistema Nacional de Vigilancia Fitosanitaria Forestal.
- Manejo forestal para la prevención y control de organismos y agentes perjudiciales de los ecosistemas forestales.
- Normativa y fiscalización.
- Investigación.
- Convenios internacionales.
- Transferencia técnica, capacitación y divulgación.
- Financiamiento.

En base al documento de trabajo, el Comité resolvió convocar a los técnicos pertenecientes a cada institución integrante, así como a toda aquella institución vinculada a esta temática (UdelaR, UDE), a realizar una propuesta de actividades que sean de su interés desarrollar para cada uno de los lineamientos planteados. En esa instancia fueron presentadas alrededor de 50 propuestas de actividades en total.

En la última reunión del Comité fueron seleccionadas como actividades prioritarias por parte de las instituciones integrantes, a todas aquellas comprendidas dentro del Lineamiento 2: Sistema de Vigilancia Fitosanitaria Forestal, por lo que se concluye será priorizado para comenzar a trabajar durante el presente año.

A continuación se detallan las acciones de fortalecimiento institucional instrumentadas por parte de cada uno de los integrantes del CECOPE en los últimos años:

## **DIRECCIÓN GENERAL FORESTAL**

En el actual período de gobierno fue planteado el fortalecimiento de los recursos humanos para el Área de Protección Forestal. Específicamente en el Área de Protección Fitosanitaria fue contratado un Ingeniero Agrónomo que coordina las actividades relevantes en este tema. En tal sentido, durante el presente año se han iniciado los trámites para la contratación de otros dos técnicos y dos

personas en la modalidad de «becarios» en apoyo a los mismos.

Con el fin de facilitar la labor de coordinación en los temas fitosanitarios, se continúa con el relacionamiento interinstitucional con la Dirección General de Servicios Agrícolas, para lo cual se ha destinado a un técnico para el trabajo directo con técnicos de dicho servicio.

## **DIRECCIÓN GENERAL SERVICIOS AGRÍCOLAS**

Dentro de las acciones de fortalecimiento se pueden mencionar la incorporación de un técnico para trabajar en desarrollo y coordinación del plan de vigilancia, la capacitación de entomólogos del Laboratorio Biológico en coordinación con recursos existentes en INIA Tacuarembó. Por último, para 2013 se prevé concretar la integración formal de DGSA al Polo Forestal en Tacuarembó.

## **INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA**

En el inicio del quinquenio anterior (2007-2011) el Programa Forestal incrementó el número de investigadores en las áreas de Fitopatología, Entomología y Biotecnología. Cada una de ellas concretó la adecuación de laboratorios para las tareas específicas que requieren los proyectos como así también la compra de numerosos equipos.

En el marco de la cooperación con el Centro Universitario de Tacuarembó, se propuso en 2009 la creación de un PDU (Polo de Desarrollo Universitario) en Protección Forestal, que contempla la creación de 3 cargos docentes radicados en Tacuarembó, formando parte de un equipo total de 7 investigadores (4 INIA y 3 Centro Universitario Tacuarembó). La concreción del Campus Universitario en conjunto con el INIA potencia las capacidades de trabajo en la temática.

## SOCIEDAD DE PRODUCTORES FORESTALES

A lo largo de los últimos años se ha dado un proceso de fortalecimiento de la Comisión de Sanidad de la Sociedad de Productores Forestales, abordándose desde ella los problemas sanitarios del sector.

En este sentido, en octubre de 2011 la Comisión Directiva de la Sociedad de Productores Forestales (SPF) aprobó la propuesta de Estrategia en Sanidad Forestal elaborada por la Comisión de Sanidad. Dicha estrategia establece a la Comisión de Sanidad como articulador inter e intrainstitucional e incluye, entre otras acciones, la generación de un Fondo de Sanidad y la contratación de una Coordinadora en Sanidad (febrero 2012).

## CONSIDERACIONES FINALES

La protección forestal es un tema de fundamental importancia para la sustentabilidad del sector, siendo clave coordinar los esfuerzos de los distintos actores involucrados, con el objetivo de lograr bosques sanos y productivos a lo largo y ancho del país.

Basado en su cometido principal, el CECOPE es principalmente un espacio de coordinación. Su gestión actual busca mejorar la comunicación y el flujo de información en la temática a nivel país.

El conjunto de investigadores del país y los técnicos de las instituciones que componen el CECOPE, son la base técnica de dicha instancia de coordinación.

El trabajo conjunto entre las instituciones públicas del estado y el sector privado, ha permitido un mejor relacionamiento considerando los cometidos y responsabilidades de cada uno de los integrantes.

La protección proactiva del Patrimonio Forestal actual es la mejor forma de lograr que se siga desarrollando el sector forestal a futuro.

### **CECOPE – Contacto:**

Ing. Agr. Patricia Escudero  
Dpto. Protección Forestal  
Dirección General Forestal  
M.G.A.P.

Correo electrónico:  
pescudero@mgap.gub.uy

Tel: (598) 2296 9017

Fax: (598) 2296 8972



---

Impreso en Editorial Hemisferio Sur S.R.L.  
Buenos Aires 335  
Montevideo - Uruguay

**Depósito Legal 362-419 /13**

