



ARTÍCULO / ARTICLE

IMPACTO DE *Chrysoporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M. J. Wingfield EN DOS ÁREAS SEMILLERAS DE *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake EN SANTIAGO YAVEO, OAXACA

IMPACT OF *Chrysoporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M. J. Wingfield IN TWO SEED PRODUCTION AREAS OF *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake IN SANTIAGO YAVEO, OAXACA

Ludmila Hebe Mizerit Trivi¹, Jesús Jasso Mata², Javier López Upton², Dionicio Alvarado Rosales² y Aurelio Manuel Fierros González²

RESUMEN

Plantaciones Tehuantepec (Planteh) estableció en Santiago Yaveo, Oaxaca dos áreas semilleras de seis años de *Eucalyptus urophylla* para la producción de semilla mejorada con fines de producción de celulosa. *Chrysoporthe cubensis*, es un hongo que produce canchales en el tallo de los eucaliptos que afectan su productividad. La principal opción para el control de este patógeno es la selección y uso de genotipos resistentes. A fin de observar la evolución de la enfermedad en árboles dejados en pie se evaluaron el diámetro normal y la incidencia en agosto del 2007, previo al establecimiento de las áreas semilleras. Un año después de que se realizó la selección de los árboles superiores y el aclareo de los inferiores quedó 10%, aproximadamente, de la población original; en agosto del 2008 se evaluaron los parámetros antes indicados, además de la severidad. Y se tomaron muestras de corteza para detectar la fase sexual o asexual de *Ch. cubensis*. La incidencia antes de establecer las áreas semilleras fue de 15.4%, pero hubo parcelas con más de 20%. Posterior a la remoción total de los árboles enfermos, a los 12 meses, 58.1% de los individuos se mantuvieron sanos; 28.0 % con daño imperceptible, 9.5 % con dañado ligero; 3.0 % daño moderado; y 1.4 % con daño notorio. Se observó que el hongo está presente en ambas fases, la sexual indica que el hongo puede crear mayor variabilidad genética, lo cual representa un severo problema para estas plantaciones de proseguir su expansión.

Palabras clave: Área semillera, celulosa, *Chrysoporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M.J. Wingfield, *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake, plantaciones, variabilidad genética.

ABSTRACT

Plantaciones Tehuantepec (Planteh) company established in Santiago Yaveo, Oaxaca, two six-years-old seed areas of *Eucalyptus urophylla* for production of improved seed aimed for pulp production. *Chrysoporthe cubensis*, a fungus that causes stem cankers on eucalypts, affects its growth. The main management option for this pathogen is the selection and use of resistant genotypes. In order to observe the evolution of the disease in left standing trees normal diameter and the fungus incidence in August 2007 were assessed before setting the seed areas. A year later, after the selection of superior trees and thinning the undersized, around 10% of the original population remained. In August 2008, the above parameters as well as the severity were evaluated. In addition, samples of bark were analyzed to detect the sexual or asexual stage of the fungus. The incidence before setting the seed areas was 15.4%. The incidence before setting seed areas was 15.4%, but there were sites with more than 20%. After the removal of all diseased trees, at 12 months, 58.1% of individuals remained healthy, 28.0% with undetectable damage, 9.5% slightly damaged, 3.0% with moderate damage, and 1.4% with noticeable damage. It was observed that the fungus is present in both phases, indicating that the sexual fungus can create greater genetic variability, can recreate genetic variability, which represents a severe problem for these plantations if further expansion occurs.

Key words: Seed production area, cellulose, *Chrysoporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M. J. Wingfield, *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake, plantations, genetic variability.

Fecha de recepción / date of receipt: 12 de noviembre de 2010. Fecha de aceptación / date of acceptance: 16 de diciembre de 2012

¹ Postgrado Forestal, Colegio de Postgraduados. Correo-e: ludmila@colpos.mx

² Colegio de Postgraduados.

INTRODUCCIÓN

Los eucaliptos tienen una gran plasticidad y adaptabilidad a condiciones muy diversas, lo que sumado a su rápido crecimiento les da un gran potencial para cubrir la demanda de celulosa. Sin embargo, hay muchos registros de patógenos del tallo en *Eucalyptus*, de los cuales, por lo menos dos, *Chrysosporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M. J. Wingfield y *Corticium salmonicolor* Berk. & Broome han provocado pérdidas importantes en Brasil, Camerún, Costa Rica, Congo, Cuba, Puerto Rico, Surinam y Estados Unidos de América (Florida y Hawaii) (FAO, 1981). El daño por *Chrysosporthe* se observó por primera vez en plantaciones experimentales de *E. saligna* Sm. y *E. grandis* Hill ex Maiden en Surinam de tres años de edad, con 90% de muertes en rodales infectados, lo que propició suspender ulteriores plantaciones (Hodges y Reis, 1974; Hodges *et al.*, 1976).

Las enfermedades de tallo incluyen canchros, formación de agallas y muerte apical ocasionadas principalmente por la presencia de especies fúngicas que parasitan en sus inicios el cambium y albura del hospedante; de tal manera que se induce la reducción de la capacidad de reproducción vegetativa y rebrote, la disminución en crecimiento y en ocasiones la muerte (Ciesla *et al.*, 1996; FAO, 1981).

Chrysosporthe cubensis, que se ha citado en la literatura como *Cryphonectria cubensis* (Bruner) Hodges y *Diaphorte cubensis* C. S. Hodges, es el causante de la formación de canchros en el tallo y de una de las enfermedades más severas en los eucaliptos (Rodas *et al.*, 2005; Barreto *et al.*, 2006). Sus infecciones en el sureste mexicano han generado grandes pérdidas de árboles, hasta de 70 % en el caso de *E. grandis* (Alvarado, 2007).

Las características morfológicas que permiten su identificación son: ascostroma reducido, de color naranja, cuello peritecual largo, gris pardo-negro; conidios generalmente piriformes y superficiales, con cuellos atenuados de color gris, pardo-negro; teleomorfo con crecimiento óptimo en lugares con precipitación pluvial superior a 2 000 mm anuales y una temperatura media de 30 °C; y ascosporas con ápices afilados (Ciesla *et al.*, 1996; Gryzenhout *et al.*, 2004). Las estructuras reproductoras son los picnidios o peritecios, por lo general están en grupos numerosos (de cientos a miles), tienen un cuello largo y oscuro, y a veces miden más de 3 mm de altura (Ciesla *et al.*, 1996; FAO, 1981; Alvarado, 2007). Macroscópicamente se observan como manchas oscuras, con una textura de pelos finos, las áreas con estas estructuras pueden medir hasta 50 cm de diámetro y se reconocen fácilmente a varios metros de distancia. La forma del picnidio o peritecio, es de botella con fondo aplanado, está parcialmente embebido en la corteza y solo sobresale el cuello. Las ascosporas uniseptadas miden 4.4-9.5 x 1.9-3 µm. La fase asexual se conoce como *Chrysosporthella*, en ciertas regiones es la estructura de reproducción predominante. Los conidios miden 2.5-4 x 1.8-2.2 µm (Gibrián *et al.*, 2007). A simple vista se

INTRODUCTION

Eucalyptus trees have great plasticity and adaptability to widely varying conditions, which added to its rapid growth gives them a great potential to meet the demand of cellulose. However, there are many pathogens records of the *Eucalyptus* stem, of which, at least two, *Chrysosporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M. J. Wingfield and *Corticium salmonicolor* Berk. & Broome, have caused significant losses in Brazil, Cameroon, Costa Rica, Congo, Cuba, Puerto Rico, Suriname and the United States of America (Florida and Hawaii) (FAO, 1981). The *Chrysosporthe* damage was first observed in experimental plantations of *E. saligna* Sm. and *E. grandis* Hill ex Maiden in Suriname three years old, with 90% of deaths in infected stands, which led to suspend further plantations (Hodges and Reis, 1974; Hodges *et al.*, 1976).

Stem diseases include cankers, galls and apical death caused mainly by the presence of fungal species that parasitize in the beginning the cambium and sapwood of the host, so that is induced reduction of vegetative reproduction ability and regrowth, the decrease in growth and sometimes death (Ciesla *et al.*, 1996; FAO, 1981).

Chrysosporthe cubensis, which has been cited in the literature as *Cryphonectria cubensis* (Bruner) Hodges and *Diaphorte cubensis* C. S. Hodges is responsible for the formation of cankers on the stem and cause of a more severe disease in *Eucalyptus* (Rhodes *et al.*, 2005; Barreto *et al.*, 2006). Their infections in southeastern Mexico have generated large losses of trees, up to 70% in the case of *E. grandis* (Alvarado, 2007).

The morphological characteristics that allow identification are reduced orange ascostroma, long perithecial neck, taupe-black, usually pyriform and surface conidiomata with attenuated necks gray, brown-black; teleomorph with optimal growth in areas with precipitation rain than 2 000 mm per year and an average temperature of 30 °C, and ascospores with sharp apices (Ciesla *et al.*, 1996; Gryzenhout *et al.*, 2004). The reproductive structures are the pycnidia or perithecia usually are in large groups (hundreds to thousands), have a long neck, dark, and sometimes measure more than 3 mm in height (Ciesla *et al.*, 1996; FAO, 1981; Alvarado, 2007). Macroscopically observed as dark spots with a fine hair texture, areas with these structures can measure up to 50 cm in diameter and are easily recognized several feet away. The pycnidia or perithecia look like a flat bottomed bottle is partially embedded in the cortex and only excels neck. Unisepted ascospores measured 4.4-9.5 x 1.9-3 microns. Asexual stage known as *Chrysosporthella* in certain regions reproduction structure is predominant. The conidia measure 2.5-4 x 1.8-2.2 microns (Gibrián *et al.*, 2007). At a first glance their reproductive structures are seen on the surface of infected bark.

When infected, trees have leaves of reduced size, branch dieback and proliferation of new branches in the solid part

observan sus estructuras reproductoras en la superficie de la corteza infectada.

Al ser infestados, los árboles presentan hojas de tamaño reducido, muerte de ramas y proliferación de nuevas en la parte sana que está por debajo de las áreas dañadas (Hodges y Reis, 1974; Hodges *et al.*, 1976). Para reducir el ataque de este hongo ha sido necesario llevar a cabo actividades como la selección y utilización de individuos resistentes en plantaciones experimentales bajo distintas condiciones de sitio, para identificar procedencias y clones; registrar el impacto de la enfermedad en el crecimiento en diámetro y altura, y la tasa de mortalidad y susceptibilidad. Tales pruebas deben efectuarse en plantaciones de al menos tres años de edad, en diferentes condiciones ambientales (Osorio *et al.*, 2003). Asimismo para disminuir las pérdidas económicas se usan genotipos tolerantes a la enfermedad (Van Zyl y Wingfield, 1999); es decir, que presentan la afectación, pero continúan creciendo en diferentes proporciones. Por ejemplo, se emplean pruebas de patogenicidad mediante la inoculación de árboles sanos con cultivos aislados del hongo, y con base en la respuesta se hace dicha selección (Van Heerden *et al.*, 2005). Para determinar la susceptibilidad es necesario evaluar, de manera precisa, la severidad del daño y su avance en el tiempo, ya que pueden existir diversos mecanismos de resistencia genética al desarrollo de la enfermedad.

De acuerdo con la FAO (1981) *E. urophylla* es una especie altamente tolerante al hongo; sin embargo, en las plantaciones de la empresa Planteh en María Lombardo, Oaxaca, se han detectado afectaciones de hasta 40 % del arbolado. Esto puede deberse a que existen las condiciones ambientales óptimas para el desarrollo del patógeno: temperatura superior a 23°C y una precipitación pluvial mayor a 2 000 mm anuales (Ciesla *et al.*, 1996).

Por lo anterior, con el fin de evaluar el impacto de dicha enfermedad en los individuos de *Eucalyptus urophylla* en dos áreas semilleras se llevó a cabo esta investigación que incluye la incidencia a seis años de edad e incidencia y severidad a los siete años una vez depurado el huerto, así como la definición de las fases de reproducción de dicho hongo y la relación de la incidencia y severidad con el diámetro de los árboles selectos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las plantaciones de la empresa Planteh en María Lombardo, Oaxaca se localizan a 140 m sobre el nivel del mar, el clima corresponde al tipo cálido húmedo. En agosto del 2007 en la zona con *Eucalyptus urophylla* se seleccionaron dos superficies (U01 y U02) de nueve hectáreas establecidas con árboles de seis años, con un diseño de marco real a un distanciamiento de 3 x 3 m; y con un promedio de 839 y 683 de árboles supervivientes por hectárea en U01 y U02, respectivamente. Entre cada área semillera hay 500 m de separación. La última presentaba antes de su establecimiento mayor cantidad de vegetación inferior que U01, por lo cual se

that is below the damaged areas (Hodges and Reis, 1974, Hodges *et al.*, 1976). To reduce the attack of this fungus it has been necessary to carry out activities such as the selection and use of resistant individuals in experimental plantations under different site conditions to identify backgrounds and clones, record the impact of the disease on growth in diameter and height and the mortality rate and susceptibility. Such tests must be performed in plantations at least three years old, in different environmental conditions (Osorio *et al.*, 2003). Also to reduce the economic losses tolerant genotypes used disease (Van Zyl and Wingfield, 1999), *i.e.* having involvement, but continue to grow at different rates. For example, tests are used pathogenicity by inoculating healthy trees fungal isolates, and based on the answer becomes the selection (Van Heerden *et al.*, 2005). To determine the susceptibility, it is necessary to assess accurately the severity of the damage and advancement time, because there may be different mechanisms of genetic resistance to the development of the disease.

According to FAO (1981) *E. urophylla* is highly tolerant to the fungus, but in Planteh company, located in María Lombardo, Oaxaca, damages have been detected up to 40% of the woodland. This may be due to the fact that environmental conditions are optimal for pathogens: temperature above 23 °C and rainfall over 2 000 mm per year (Ciesla *et al.*, 1996).

Therefore, in order to assess the impact of the disease on individuals of *Eucalyptus urophylla* in two seed areas this research was conducted that included the incidence at six years old and incidence and severity at age seven once the plantation was cleansed, as well as the definition of the phases of the fungus reproduction and the relationship of the incidence and severity with the diameter of the selected trees.

MATERIALS AND METHODS

The plantations of Planteh company in María Lombardo, Oaxaca, are located at 140 m asl, where the climate is warm and humid. In August 2007 in the *Eucalyptus urophylla* area, two nine-hectares stands (U01 and U02) were selected, which were established with trees six years old following an actual frame design at a 3 x 3 m distance and an average number of 839 and 683 surviving trees per hectare in U01 and U02, respectively. Between both seed areas there is a 500 m separating distance. The latter showed more undergrowth vegetation than U01 before its establishment, so it is inferred that there is a higher environmental humidity. These germplasm producing units were numerically defined clockwise (Figure 1).

It was decided to establish the areas with two different densities, (100 and 150), but the excessive attack of *Ch. cubensis* forced to reduce the number of selected individuals per acre, 97 and 137 trees ha⁻¹ at most. The main criterion for selection to leave the trees standing was the absence of the fungus. Of the nine acres that make up the surface of each seed area, five plots were evaluated, which form a cross in the center (Figure 1). The stem

infiere que existe mayor humedad ambiental. Estas unidades productoras de germoplasma se delimitaron numerándose en el sentido de las manecillas del reloj (Figura 1).

Se decidió establecer las áreas con dos diferentes densidades (100 y 150); sin embargo, el excesivo ataque de *Ch. cubensis* obligó a reducir el número de individuos selectos por hectárea, 97 y 137 árboles ha^{-1} como máximo. El principal criterio de selección para dejar en pie a los árboles fue la ausencia del hongo. De las nueve hectáreas que mide la superficie de cada área sembrera, se evaluaron cinco denominadas parcelas, estas conforman una cruz en la parte central (Figura 1). Se registró el diámetro del tallo a 1.3 m de altura (DAP) de cada ejemplar en pie. En el caso de los árboles inferiores también se registró el DAP y el estado sanitario para determinar sus dimensiones y la incidencia (número de árboles enfermos) en la población inicial. Estos individuos fueron derribados y extraídos en noviembre 2007.

diameter at 1.3 m height (DBH) of each copy stand was recorded. In the case of low trees also the DBH and the health status were registered to determine its size and the incidence (number of diseased trees) in the initial population. These individuals were felled and extracted from the seed areas in November 2007.

A year after the first assessment, diseased trees were detected in both seed production areas; thus, in August 2008 DBH of all trees and the severity of the disease were recorded, based upon the following categories of damage: 0 = healthy, 1 = imperceptible, 2 = slightly attacked, 3 = notorious, 4 = intensely attacked (Paredes-Díaz *et al.*, 2010). DAP were statistically analyzed as well as the incidence for 2007 and 2008; the DBH and incidence and severity in the cross plots to determine differences in diameter between U01 and U02, between healthy and diseased trees, and among the trees with different degrees of canker severity.

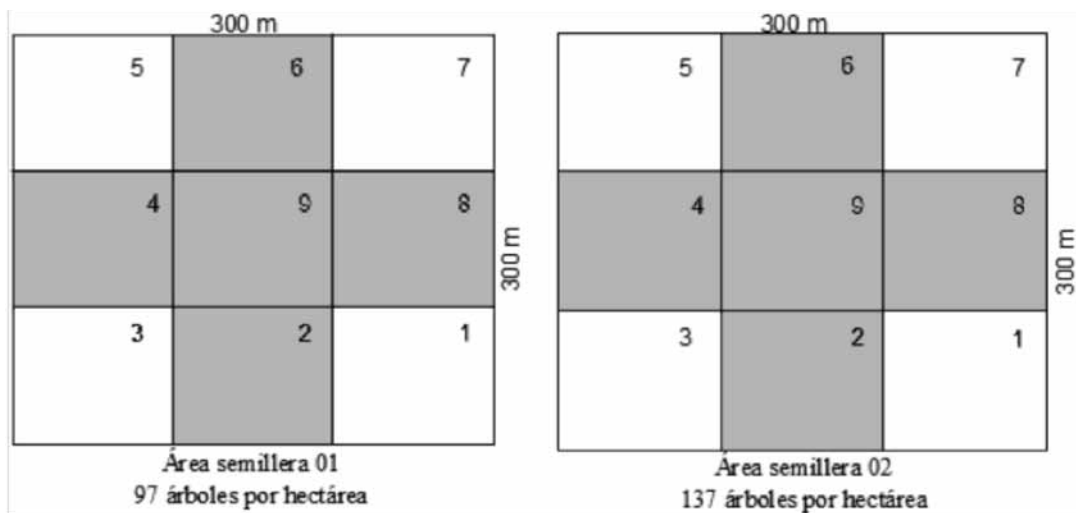


Figura 1. Croquis de las parcelas muestreadas en las áreas sembreras de *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake en Santiago Yaveo, Oax.

Figure 1. Sample plots in the *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake seed areas of Yaveo, Oaxaca.

Un año después de la primera evaluación se detectaron árboles enfermos en las dos áreas sembreras; así en agosto del 2008 se registró el DAP de todos árboles y la severidad de la enfermedad, con base en la siguientes categorías de daño: 0= sano, 1= imperceptible, 2= ligeramente atacado, 3= notorio y 4= altamente atacado (Paredes-Díaz *et al.*, 2010). Se analizaron estadísticamente el DAP e incidencia para 2007 y para 2008; el DAP e incidencia y severidad en las parcelas de la cruz para determinar diferencias en el diámetro entre U01 y U02, entre árboles sanos y enfermos, y entre los árboles con diferentes grados de severidad del cancro.

La identificación de estructuras reproductivas y de las fases del hongo en abril del 2008 se hizo a partir de muestras de corteza de 30 árboles enfermos, las cuales se cortaron en porciones de

The identification of the reproductive structures and phases of the fungus in April 2008 was made by using cortex samples of 30 diseased trees, which were cut into pieces of 20 x 10 cm, and were placed in sealed pouches and ice to keep them fresh. Once in the laboratory of Forest Graduate studies of the Colegio de Postgraduados, they were observed with a light microscope (American Optical Spencer Model 100x) to determine the sexual phase.



20 x 10 cm, y se colocaron en bolsas cerradas herméticamente y en hielo para mantenerlas frescas. Una vez en laboratorio del Postgrado Forestal del Colegio de Postgraduados se observaron al microscopio de luz (American Optical Modelo Spencer 100x) para determinar la fase sexual.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Incidencia del cancro en las parcelas con seis años de edad

A fines de agosto del 2007 las 10 parcelas muestreadas tenían 6 446 individuos vivos de un total de 11 110 plantados inicialmente; con una supervivencia de 72.1 y 63.5% para las áreas U01 y U02, respectivamente. Los valores más bajos en U02 respondieron a que el huracán Dean, de categoría V, afectó a 10% del arbolado. De los 6 446 árboles supervivientes para ambas áreas, 1 168 presentaron (530 + 638) daños por *Ch. cubensis*: 14.9% en U01 y 22.7 % en U02. El porcentaje de árboles enfermos varió notablemente de una parcela a otra dentro de las áreas, lo que puede deberse al microclima característico en cada una de ellas; además, los valores mínimos de ejemplares enfermos fueron de 4.4% en el área U01 y 9.6% en el área U02 con máximos para U01 de 20.7% y de 30.3% para U02 (Cuadro 1). En promedio el área más afectada por el hongo resultó la U02, con 22.9%.

El diámetro promedio de los árboles, independientemente de su estado sanitario, en el área U01 fue de 17.2 y 18.9 cm para la U02. El promedio de los diámetros de árboles enfermos siempre fue más bajo que el de los sanos dentro de las parcelas. También el promedio de individuos enfermos vs. sanos es menor en ambas áreas (16.8 vs. 17.6) para la U01 y (18.6 vs. 19.2 cm) para la U02 (Cuadro 2).

Cuadro 1. Número y proporción de árboles enfermos y sanos en dos áreas semilleras de *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake en Santiago Yaveo, Oax. (agosto 2007).

Table 1. Number and proportion of diseased and healthy trees in two seed areas of *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake in Santiago Yaveo, Oaxaca (August 2007).

Parcela	Área U01			Área U02		
	Enfermos	Sanos	Enfermos %	Enfermos	Sanos	Enfermos %
2	34	730	4.4	157	485	24.4
4	152	582	20.7	161	429	27.3
6	132	509	20.6	49	463	9.6
8	76	755	9.1	159	365	30.3
9	136	559	19.6	112	401	21.8
Total	530	3135	14.5	638	2143	22.9

N: Área U01 = 3 665 y Área U02 = 2 781 árboles.

N: U01 area = 3 665 and U02 area = 2 781 trees.

RESULTS AND DISCUSSION

Canker incidence in six year old plots

In late August 2007, the 10 sampled plots had 6446 living individuals from a total of 11 110 initially planted, with a survival of 72.1 and 63.5% per area, U01 and U02, respectively. The lowest values in U02 responded to the impact of Hurricane Dean, Category V, as it affected 10% of the trees. Of the 6 446 surviving trees for both areas, 1 168 (530 + 638) showed damage by *C. cubensis*: 14.9% in U01 and 22.7% in U02. The percentage of diseased trees varied considerably from one field to another within the areas, which may be due to the microclimate characteristic in each of them; in addition, the minimal values of the sick samples were 4.4% in the U01 area and 9.6% in U02, with a maximum of 20.7% in U01 and 30.3% for U02 (Table 1). On average, the most affected area by the fungus was U02, with 22.9%.

However, there is no significant relationship between the frequency of diseased trees with a greater diameter. It was expected that individuals with the highest growth may have more contact surface, and therefore a greater likelihood of being infected, against individuals of small diameter (Figure 2). In addition, microclimatic conditions such as humidity and temperature, favorable for tree growth, promote fungal infections.

Effect on seed areas to seven years of age

In August 2008, after removing all diseased trees, a year earlier, and thereby reduce tree density between 90 and 100 for the U01 area and 140 to 150 for U02, damaged individuals were observed within the study areas, with an overall average of 36.9% in the U01 area and 45.1% in the U02 area (Table 3). These results may

Cuadro 2. Diámetro promedio de los árboles sanos y enfermos por parcela previo a la formación de dos áreas semilleras de seis años de edad de *Eucalyptus urophylla* S.T Blake en Santiago Yaveo, Oax.

Table 2. Average diameter of healthy and diseased trees per plot prior to the formation of two six- year-old seed areas of *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake in Santiago Yaveo, Oaxaca.

Parcela	Área U01				Área U02			
	DAP sanos	N	DAP enfermos	N	DAP sanos	N	DAP enfermos	N
2	17.0	730	16.4	34	18.2	485	17.1	157
4	17.8	582	17.1	152	18.4	429	17.6	161
6	18.6	509	17.8	132	19.7	463	18.9	49
8	16.8	755	16.0	76	19.9	365	19.6	159
9	17.6	559	16.8	136	19.8	401	19.5	112
Promedio/Total	17.6	3135	16.8	530	19.2	2143	18.6	638

N: Área U01 = 3,665 y Área U02 =2,781árboles; DAP= Diámetro a la altura normal.

N: U01 area = 3 665 and U02 area = 2 781 trees; DBH= stem diameter at 1.3 m height.

Sin embargo, no existe una relación significativa entre la frecuencia de árboles enfermos con un diámetro mayor. Se esperaba que los individuos con más crecimiento pudieran tener más superficie de contacto; y por lo tanto, una posibilidad más grande de ser infectados que los individuos de diámetro pequeño (Figura 2). Además, las condiciones microclimáticas como la humedad y temperatura, favorables para el crecimiento de los árboles, promueven las infecciones del hongo.

be due in part to some individuals that were already infected (imperceptible), but not yet developed the disease and not perceived as affected. Therefore, this reduced the number of standing trees to almost half (November 2007). However, the homogeneity in healing between plots is greater in the U02, which generates differences at the time of selection of individuals, since in U01 the different genotypes would be in a less similar environmental conditions than in U02 (Table 3).

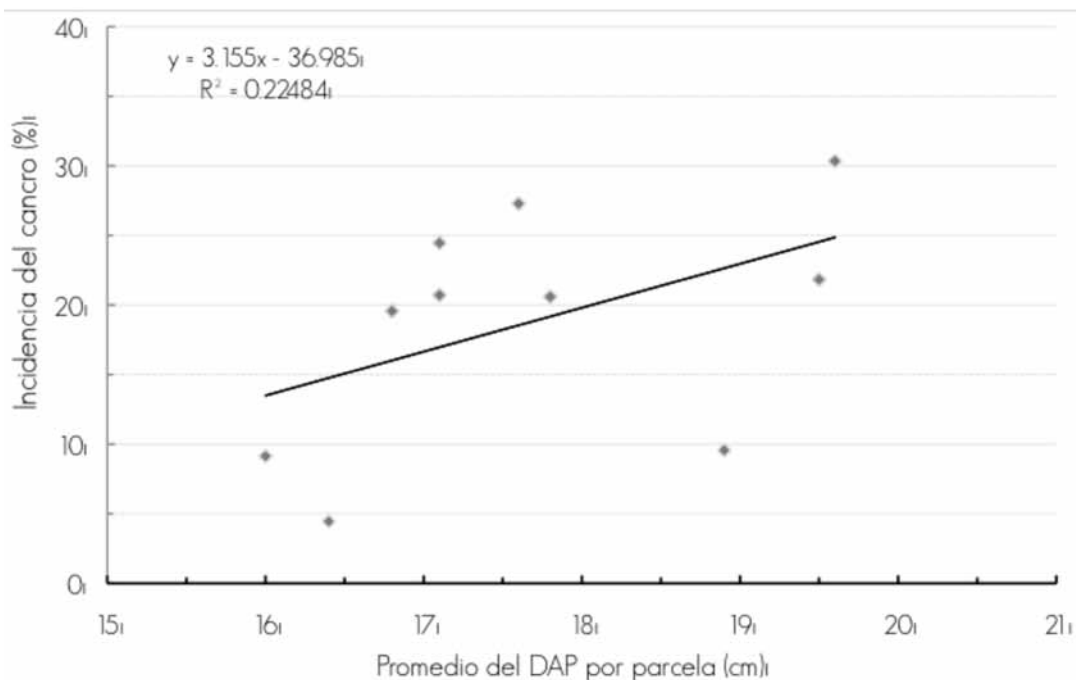


Figura 2. Relación diámetro de árboles enfermos con la incidencia del cancro a los seis años de edad para *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake, en Santiago Yaveo, Oax.

Figure 2. Diameter ratio of diseased trees with canker incidence at six years old for *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake, in Santiago Yaveo, Oaxaca.

Incidencia en las áreas semilleras a siete años de edad

En agosto del 2008 después de eliminar todos los árboles enfermos, un año antes, y con ello reducir la densidad de árboles entre 90 y 100 para el área U01 y de 140 a 150 para la U02 se observaron individuos dañados dentro de las áreas de estudio, con un promedio general de 36.9% en el área U01, y 45.1% en el área U02 (Cuadro 3). Estos resultados pueden deberse, parcialmente, a que algunos individuos ya estaban infectados (imperceptible), pero aún no desarrollaban la enfermedad y no se percibían como afectados. Por lo tanto, esto redujo el número de árboles en pie a casi la mitad (noviembre del 2007). Sin embargo, la homogeneidad en sanidad entre parcelas es mayor en la U02, lo que genera diferencias al momento de la selección de individuos, ya que en el área U01 los distintos genotipos estarían en condiciones ambientales menos similares que en la U02 (Cuadro 3).

Also, diameter homogeneity was recorded in the U02 seed area 23.1 cm vs. 24.2 cm healthy, and 23.1cm vs. 24.1cm diseased and greater heterogeneity in the U01 area: 25.1cm vs. 28.8 cm healthy and 23.2 cm vs. 25.8 cm diseased (Table 4).

Additionally, the diameters of the diseased trees for both seed areas in 2008 indicate a reverse trend (Figure 3) compared with that described in Figure 2.

The plots where the greatest average diameters are present, belong to the U01 area and have a lower incidence of sick individuals ($r^2 = 0.6388$) (Figure 3), probably because the trees showed better growth in the last year, after application of greater intensity of thinning.



Cuadro 3. Número y porcentaje de árboles sanos y enfermos de *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake por área semillera (siete años de edad) en Santiago Yaveo, Oax.

Table 3. Number and percentage of healthy and diseased trees of *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake per seed area (seven years old) in Santiago Yaveo, Oaxaca.

Parcela	Área U01			Área U02		
	Enfermos	Sanos	Enfermos (%)	Enfermos	Sanos	Enfermos (%)
2	39	58	40.2	67	83	44.6
4	39	56	41.5	70	71	49.6
6	37	63	37.0	68	81	45.6
8	21	75	22.8	49	64	43.3
9	44	55	44.4	54	76	41.5
Total	180	307	36.9	308	375	45.1

N: Área U01= 487 y Área U02=683 árboles.
N: U01 area = 487 and U02 area = 683 trees.

Cuadro 4. Diámetro promedio (cm) de árboles sanos y enfermos por parcela en dos áreas semilleras de *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake de siete años en Santiago Yaveo, Oax.

Table 4. Average diameter (cm) of healthy and diseased trees per plot in two seed areas of seven years old *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake in Santiago Yaveo, Oaxaca.

Parcela	Área U01		Área U02	
	Sanos	Enfermos	Sanos	Enfermos
2	25.1	23.2	23.1	23.9
4	26.0	25.1	23.5	23.1
6	26.0	24.8	24.2	23.9
8	28.8	25.5	24.0	24.1
9	25.3	25.8	23.3	23.8
Promedio	26.2	24.8	23.6	23.8

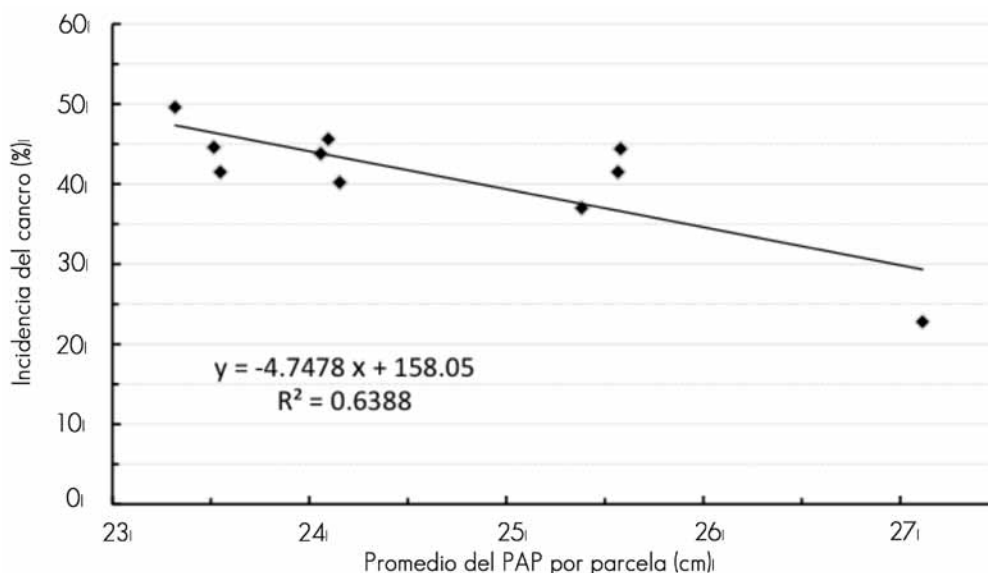


Figura 3. Relación del diámetro de individuos enfermos e incidencia del cancro en árboles de siete años de *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake en Santiago Yaveo, Oax.

Figura 3. Relación del diámetro de individuos enfermos e incidencia del cancro en árboles de siete años de *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake en Santiago Yaveo, Oax.

Adicionalmente los diámetros de los árboles enfermos para ambas áreas semilleras en 2008 indican una tendencia inversa (Figura 3), comparada con la descrita en la Figura 2.

Las parcelas donde se ubican los promedios de diámetros más grandes corresponden al área U01 y tienen una incidencia menor de individuos enfermos ($r^2 = 0.6388$) (Figura 3), probablemente porque los árboles mostraron mejor crecimiento en el último año, después de la aplicación de una mayor intensidad de aclareo.

Severidad en las áreas semilleras en 2008

A pesar de la remoción total de los árboles aparentemente enfermos, un año después (agosto 2008), y con base en las dos áreas semilleras, 58.1% de los árboles resultaron sanos (categoría 0); 28.0% con daño imperceptible (categoría 1); 9.5% con daño ligero (categoría 2); 3.0% con daño moderado (categoría 3); y 1.4% con daño notorio (categoría 4). Los resultados indican un porcentaje alto de árboles sanos: 62.8 y 54.8% para U01 y U02, respectivamente. En el área U01, 20% de los árboles enfermos correspondieron a la categoría 1; 10.9% categoría 2; 10.9% con categoría 3 y 2.4% categoría 4.

En el área U02, los individuos enfermos se agruparon de la siguiente manera: 33.8% en la categoría 1, 8.5% en la 2, 2.3% en la 3 y 0.6% en la 4 (Cuadro 5). Esto indica que a mayor severidad, menor número de árboles infectados y cuando la severidad disminuye, incluso en los sanos (categoría 0), es más alto el número de árboles infectados. Los bajos porcentajes en las categorías de mayor daño pueden deberse, en parte, a la eliminación de los ejemplares enfermos un año antes, y a la de los genotipos susceptibles.

Severity in seed production areas in 2008

In spite of the total removal of the trees apparently sick, a year later (August 2008), and based on the two seed areas, 58.1% of the trees were healthy (category 0); 28.0% with undetectable damage (Category 1), 9.5% with slightly damaged (category 2), 3.0% with moderate damage (category 3), and 1.4% with noticeable damage (category 4). The results indicate a high percentage of healthy trees: 62.8 and 54.8% for U01 and U02, respectively. In the U01 area, 20% of diseased trees correspond to category 1, 10.9% category 2, 10.9% with 2.4% category 3 and category 4.

In the U02 area, diseased individuals were grouped as follows: 33.8% in category 1; 8.5% in the 2; 2.3% in 3 and 0.6% at 4 (Table 5). This indicates that the more severe, fewer infected trees, and as severity decreases, even in healthy (category 0), the higher the number of infected trees. The low percentages in the categories of most damage can be caused, in part, by the elimination of diseased samples a year earlier, and the susceptible genotypes.

The previous description that states that, at greater severity, less number of trees, is not observed in the same way in regard to diameters, since there is not a clear correlation between severity and diameters (Table 6), in contrast to the incidence and stem diameters (Figure 3).

Morphological analysis of the fungus

The presence of *Chrysosporthe cubensis* fungus was confirmed from the gender-specific morphological characteristics described by Gryzenhout et al. (2004): reduced orange ascostroma, long

Cuadro 5. Frecuencia de severidad en el ataque de *Crysophorte cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M.J. Wingfield en árboles de siete años de *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake en Santiago Yaveo, Oax.

Table 5. Frequency of severity in the attack of *Crysophorte cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M. J. Wingfield in seven year old trees of *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake in Santiago Yaveo, Oax.

U01	CS	Núm. de árboles infectados by plot					Total No. (%)
		2	4	6	8	9	
	0	58	56	63	74	55	306 (62.8)
	1	18	20	24	13	22	97 (20.0)
	2	17	10	6	5	15	53 (10.9)
	3	2	5	4	3	5	19 (3.9)
	4	2	4	3	0	3	12 (2.4)
Total		97	95	100	95	100	486

U02	CS	Núm. de árboles infectados by plot					Total No. (%)
		2	4	6	8	9	
	0	83	71	81	64	76	375 (54.8)
	1	49	52	51	40	39	231 (33.8)
	2	13	14	11	9	11	58 (8.5)
	3	3	4	4	1	4	16 (2.3)
	4	2	0	2	0	0	4 (0.6)
Total		149	141	149	114	130	684

N = 1 170 árboles; CS= categoría de severidad; 0= sano, 1= imperceptible, 2= ligeramente atacado, 3= notorio y 4 = altamente atacado.

N = 1 170 trees; CS= severity category; 0= sano, 1= imperceptible, 2= slightly attacked, 3= notorious and 4 = highly attacked

La relación anterior de a mayor severidad, menor número de árboles no se observa de la misma manera en los diámetros, ya que no existe una correlación definida entre la severidad y los diámetros (Cuadro 6), a diferencia de la incidencia y los diámetros de los fustes (Figura 3).

perithecial neck, taupe-black; conidiomata usually pyriform, surface with attenuated necks, taupe-black; teleomorph present and ascospores with sharp apexes (figures 4, 5 and 6). In the same area, Paredes-Díaz *et al.* (2010) determined for *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden incidence and severity similar to that of *E. urophylla*.

Cuadro 6. Promedio del diámetro de árboles de siete años de edad de *Eucalyptus urophylla* de acuerdo a la severidad de la enfermedad causada por *Chrysophorte cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M.J. Wingfield en árboles de dos áreas semilleras.

Table 6. Average diameter of seven years old *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake trees according to the severity of disease caused by *Chrysophorte cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M. J. Wingfield in two seed area.

Daño	Diámetro a 1.30 (cm) por Parcela					Promedio	
	2	4	6	8	9		
AS U01	0	25.1	26.0	26.0	28.8	25.3	26.2
	1	23.2	25.5	24.9	25.3	26.0	25.0
	2	22.7	24.4	24.8	27.3	25.2	24.9
	3	27.2	26.7	25.7	23.7	25.7	25.8
	4	24.1	23.4	22.6	---	28.6	24.7
AS U02	0	23.1	23.5	24.2	24.0	23.3	23.6
	1	23.4	22.8	23.9	23.8	24.1	23.6
	2	24.9	24.1	22.9	25.2	23.8	24.2
	3	25.7	24.5	26.3	27.0	21.4	25.0
	4	27.2	---	25.0	---	---	26.1

AS= área semillera, 0= sano, 1= imperceptible, 2= ligeramente atacado, 3= notorio y 4 = altamente atacado. N total= 1170 árboles.

AS= seed area; 0= healthy, 1= imperceptible, 2= slightly attacked, 3= notorious y 4 = highly attacked. N total= 1170 trees.

Análisis morfológico del hongo

Se confirmó la presencia de hongo *Chrysosporthe cubensis* a partir de las características morfológicas específicas al género descritas por Gryzenhout *et al.* (2004): ascostroma reducido, de color naranja; cuello peritecial largo, gris pardo-negro; conidiomas generalmente piriformes, superficiales, con cuellos atenuados, gris pardo-negro; teleomorfo presente y ascosporas con ápices afilados (figuras 4, 5 y 6). En la misma zona, Paredes-Díaz *et al.* (2010) determinaron para *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden una incidencia y severidad similar a la de *E. urophylla*, e igualmente registraron las dos fases sexuales de *Chrysosporthe cubensis*.

Underneath the bark, were observed as signs of the disease, the perithecia (sexual part), and orange-yellow conidia, on the surface of the canker (Ciesla *et al.*, 1996; FAO, 1981). Conidiomata (pycnidia) of the sexual phase were identified, which were generally pyriform, superficial, with attenuated necks, taupe-black hyaline conidia, without septa and from nailed to oval shape. The presence of both phases, sexual and asexual, implies a high capacity to propagate and to infect, which should be related to the environmental-ecological conditions suitable for the development of the fungus; high moisture and temperature.



Figura 4. Cuellos de peritecios y pycnidios de *Chrysosporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M.J. Wingfield desarrollados en la corteza de *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake en plantaciones en Santiago Yaveo, Oax.

Figure 4. Necks of perithecia and pycnidia of *Chrysosporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M. J. Wingfield developed in the bark of *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake in plantations of Santiago Yaveo, Oaxaca.

Abajo de la corteza se observaron como signos de la enfermedad, los peritecios (parte sexual), y conidios naranja-amarillento, pycnidios, en la superficie del cancro (Ciesla *et al.*, 1996; FAO, 1981). Se identificaron los conidiomas de la fase asexual (pycnidios) que fueron en general piriformes, superficiales, con cuellos atenuados, de color gris pardo-negro, conidios hialinos, sin septos y de forma clavada a oval. La presencia de ambas fases, sexual y asexual, implica una capacidad de propagación e infección alta, lo que debe ser por las condiciones ambientales-ecológicas adecuadas en las que se está desarrollando el hongo; humedad y temperatura elevadas.



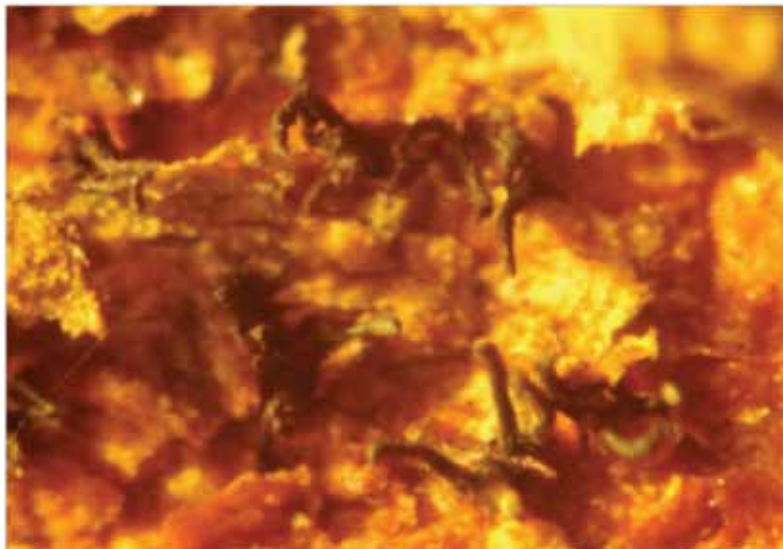


Figura 5. Cuellos de peritecios y picnidios de *Chrysosporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M.J. Wingfield desarrollados en *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake en plantaciones en Santiago Yaveo, Oax.

Figure 5. Necks of perithecia and pycnidia of *Chrysosporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M. J. Wingfield developed in *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake in plantations in Santiago Yaveo, Oaxaca.

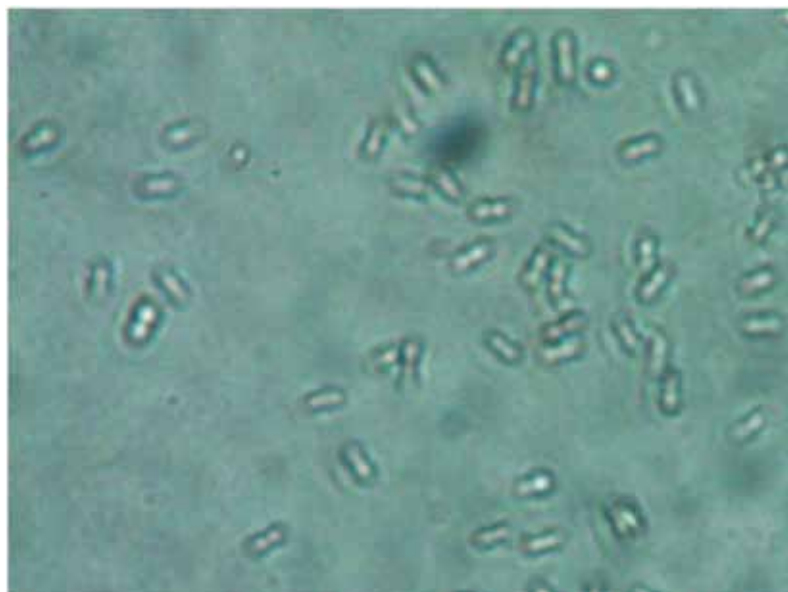


Figura 6. Ascosporas de *Chrysosporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M.J. Wingfield desarrollados en *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake en plantaciones en Santiago Yaveo, Oax.

Figura 6. Ascospores of *Chrysosporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M.

CONCLUSIONES

La dispersión de la enfermedad en las áreas semilleras de *Eucalyptus urophylla* resultó diferente entre parcelas. Su impacto en ambas áreas semilleras incrementó considerablemente de un año a otro.

Un año después de liberar a los árboles selectos dejados en pie, la mayoría (58.1%) no presentan la enfermedad o la tiene de manera imperceptible.

La incidencia no tuvo una relación con el diámetro del fuste, por lo que no existe una frecuencia mayor sobre alguno de ellos.

Las estructuras morfológicas características del hongo *Chrysosporthe cubensis*, estudiadas en los árboles infectados de la plantación, indican que existen ambas fases de reproducción, sexual y asexual, lo que implica una tasa alta de propagación y creación de variabilidad genética, lo que puede contrarrestar la resistencia de los eucaliptos. 🍄

REFERENCIAS

- Alvarado R, D. 2007. Enfermedades en Árboles de México. Conceptos, Diagnóstico y Manejo. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de Méx. México. 302 p.
- Barreto, R. W., F. B. Rocha and F. A. Ferreira. 2006. First record of natural infection of *Martiera edulis* by the eucalyptus canker fungus *Chrysosporthe cubensis*. Plant Pathology 55(4): 577.
- Cibrián T., D., D. Alvarado R. y S. E. García D. (eds.). 2007. Enfermedades Forestales en México/Forest Diseases in México. Universidad Autónoma Chapingo; CONAFOR-SEMARNAT, México; Forest Service USDA, EUA; NRCAN Forest Service Canada y Comisión Forestal de América del Norte, COFAN, FAO. Chapingo, Edo. de Méx. México. 587 p.
- Giesla, W. M., M. C. Deckmann and A. J. Putter. 1996. *Eucalyptus* spp. Technical Guidelines for the Safe Movement of Germplasm No. 17. FAO/IPGRI. Rome, Italy. 66 p.
- Food and Agriculture Organization (FAO). 1981. El Eucalipto en la Repoblación Forestal. FAO. Roma, Italia. 723 p.
- Gryzenhout, M., H. Myburg, N. A. van der Merwe, B. D. Wingfield and M. J. Wingfield. 2004. *Chrysosporthe*, a new genus to accommodate *Cryphonectria cubensis*. Studies in Mycology 50: 119-142.
- Hodges, C. S. and M. S. Reis. 1974. Influencia do cancro basal causado por *Diaporthe cubensis* Bruner nabrotacao de *Eucalyptus saligna* Sm. Brasil Florestal 5:25-28.

CONCLUSIONS

The spread of the disease in the seed areas of *Eucalyptus urophylla* was different between plots. Its impact in both areas increased significantly from one year to another.

One year after the release of the selected trees left standing, most of them (58.1%) did not have the disease or it was imperceptible.

Incidence had no relation to the diameter of the shaft, so that there is not a higher frequency upon any of them.

The characteristic morphological structures of the *Chrysosporthe cubensis* fungus studied on the infected trees of the plantation, indicate that both reproduction phases, sexual and asexual exist, which involves a high rate of propagation and creation of genetic variability, which can overcome the resistance of *Eucalyptus*. 🍄

End of the English version

- Hodges, C. S., M. S. Reis, F.A. Ferreira and J. D. M. Henfling. 1976. O cancro do eucalipto causado por *Diaporthe cubensis*. Fitopatologia Brasileira: 129-70.
- Osorio, L. F., T. L. White and D. A. Huber. 2003. Age-age and trait-trait correlations for *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden and their implications for optimal selection age and design of clonal trials. Theoretical and Applied Genetics 106: 735-743.
- Paredes-Díaz E., J. Jasso-Mata, J. López-Upton y D. Alvarado-Rosales. 2010. Presencia de *Chrysosporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M.J. Wingf. en plantaciones de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden en Oaxaca, México. Revista Mexicana de Ciencias Forestales 1 (2): 81-92.
- Rodas, C. A., M. Gryzenhout, H. Myburg, B. D. Wingfield and M. J. Wingfield. 2005. Discovery of the *Eucalyptus* canker pathogen *Chrysosporthe cubensis* on native *Miconia* (Melastomataceae) in Colombia. Plant Pathology 54: 460-470.
- van Heerden, S. W., H. V. Amerson, O. Preisig, B. D. Winfield and M. J. Winfield. 2005. Relative pathogenicity of *Cryphonectria cubensis* on *Eucalyptus* clones differing in their resistance to *C. cubensis*. Plant Disease 89: 659-662.
- van Zyl, L. M. and M. J. Wingfield. 1999. Wound response of *Eucalyptus* clones after inoculation with *Cryphonectria cubensis*. European Journal of Forest Pathology 29: 161-167.