

Chrysosporthe cubensis (Bruner) Gryzenhout & M.J. Wingf. EN PLANTACIONES DE *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden EN OAXACA

Chrysosporthe cubensis (Bruner) Gryzenhout & M. J. Wingf. IN *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden PLANTATIONS OF OAXACA

Esther Paredes-Díaz ¹, Jesús Jasso-Mata ¹, Javier López-Upton ¹ y Dionicio Alvarado-Rosales ²

RESUMEN

Eucalyptus grandis es afectado por *Chrysosporthe cubensis*, hongo causante de cancro en el tallo, que merma la calidad de la madera. A pesar de ello la especie se utiliza en plantaciones comerciales, establecidas en ambientes tropicales. Se delimitaron tres sitios de muestreo de 25 x 25 m en plantaciones de seis años localizadas en el municipio Santiago Yaveo, Oax. Los árboles fueron medidos en diámetro a 1.3 m de altura (DAP) y altura total (AT). Además se registró la ausencia o presencia, así como la severidad de la enfermedad, para estudiar su relación con el DAP y AT. Se recolectaron muestras de corteza de 10 x 10 cm en árboles con hundimiento del tejido maderable (cancro), fisura de la corteza o indicios que mostraban las fases de reproducción del hongo. Se encontraron signos y síntomas de la enfermedad en 43.6% de los individuos, los cuales eran imperceptibles en 21.8%. La infección presentó una relación directa con el DAP, así los árboles de mayor diámetro fueron más afectados. No hubo una relación del patógeno con la altura. Se determinaron las fases sexual y asexual del hongo, lo que puede incrementar su variación genética. El exceso de humedad y la fácil diseminación del patógeno dificultan su control. Se sugiere la eliminación de la vegetación del sotobosque.

Palabras clave: Cancro, *Chrysosporthe cubensis*, eucalipto, *Eucalyptus grandis*, municipio Santiago Yaveo, Oaxaca

ABSTRACT

Eucalyptus grandis is affected by *Chrysosporthe cubensis*, fungus causing the stem canker, which reduces wood quality. Despite this fact, this tree is used in comercial plantation in tropical environments. In this study three plots of 25 x 25 m each were delimited, in a six years-old plantation located at the municipality of Santiago Yaveo, Oax. Diameter breast height (DBH) at 1.3 m and total height (TH) were recorder for all trees. The absence or presence and severity of the disease in living trees were registered, to study the relationship of the disease with the DBH and the TH of the trees. Bark samples of 10 x 10 cm, of 10 trees which showed canker, cracking the crust or showing signs of reproductive stages of the fungus were taken. Forty-four percent of the sampled trees were found infected, but in 21.8% of the trees the symptoms of the disease were not visible at first sight. Trees with higher DBH tend to have the disease and were more affected. A relationship with total height of the trees was not found. Both reproduction phases, sexual and asexual of the fungus were found, thus the genetic variation of the canker may be increased. The excess of humidity in this environment and the high dissemination capability of the pathogen make difficult the canker's control. Weed control is suggested.

Key words: Canker, *Chrysosporthe cubensis*, eucalipt, *Eucalyptus grandis*, municipio Santiago Yaveo, Oaxaca

Fecha de recepción: 30 de abril de 2009

Fecha de aceptación: 25 de octubre de 2010

¹ Programa Forestal. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. Correo-e: estherpd@colpos.mx; jejama@colpos.mx

² Programa de Fitopatología. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados.

INTRODUCCIÓN

México es un país que cuenta con grandes extensiones de bosques y selvas, sin embargo en 2004 tuvo un déficit de 793.5 millones de dólares en el sector forestal causado, principalmente, por la importación de productos para papel (SEMARNAT, 2004). Algunos países sudamericanos han llegado a ser líderes en la producción de celulosa con especies de eucalipto (Obregón y Restrepo, 2006). El género *Eucalyptus* tiene un enorme potencial para la obtención de una gran variedad de productos maderables (Meskimen y Francis, 1990).

Eucalyptus grandis Hill ex Maiden es importante en la producción de papel, dado que su pulpa es más clara y suave en comparación con la de otras especies de eucalipto (Turnbull y Pryor, 1984). Además presenta fustes largos, limpios y rectos por lo que se usa para postes y chapa decorativa (Meskimen y Francis, 1990). Este árbol es nativo de la costa este de Australia (Queensland y New South Wales) (Meskimen y Francis, 1990), se distribuye en lugares con altitudes de entre 0 y 300 msnm e incluso hasta 900 m, precipitaciones anuales de 1,020 a 1,800 mm (Turnbull y Pryor, 1984), y con temperaturas extremas que varían de 5 a 32° C (FAO, 1981; Meskimen y Francis, 1990).

A pesar de la susceptibilidad al cancro producido por *Chrysosporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M.J. Wingf. (Boerbomm y Maas, 1970; Gibson, 1981; Cibrián y García, 2007), *E. grandis* es apreciado por su rápido crecimiento (Easley y Lamberth, 1989), razón por la cual se usa ampliamente en plantaciones de zonas tropicales y subtropicales (Turnbull y Pryor, 1984). El daño causado por el hongo se detectó por primera vez en Surinam, afectando hasta 90 % del arbolado. El inicio de la infección se observó en individuos después de un año de establecidos en campo (5 cm o más de diámetro del fuste a 1.3 m de altura).

Chrysosporthe cubensis pertenece a la clase Ascomycota, del orden Diaporthales y familia Valsaceae (Gryzenhout *et al.*, 2004), su denominación anterior era *Cryphonectria cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M.J. Wingf (Rodas *et al.*, 2005; Barreto *et al.*, 2006). Este hongo causa la formación de canchros en el tallo, y es uno de los problemas más severos de salud en los eucaliptos; ya que reduce su crecimiento y la calidad de sus productos, pues altera la coloración de la madera y deforma el tronco. Además provoca la eventual muerte de los árboles infectados (Boerboom y Maas, 1970). Dicha enfermedad tiene una distribución geográfica amplia, debido a que sigue la distribución de sus huéspedes, los eucaliptos de ambiente tropical. En América se localiza en Brasil, Colombia, Cuba, México, Venezuela y en las partes tropicales de Estados Unidos de América: Florida, Hawaii y Puerto Rico (Gryzenhout *et al.*, 2004). Se presenta en diferentes especies de la familia Myrtaceae y

INTRODUCTION

Mexico has large territories of temperate woods and rainforests, but in 2004 had a US\$ 793.5 million deficit in the forest sector caused, mainly, by the paper-products imports (SEMARNAT, 2004). Some South American countries have become leaders in cellulose production through eucalypt species (Obregon and Restrepo, 2006). The *Eucalyptus* genus has a great potential to produce a good variety of wood products (Meskimen and Francis, 1990).

Eucalyptus grandis Hill ex Maiden is important for the paper industry, since its pulp is more clear and soft compared with other eucalypt species (Turnbull and Pryor, 1984). It also has long, clean and straight stems that are used to make poles and decorative veneer (Meskimen and Francis, 1990). This is a tree native of the Eastern Australia coast (Queensland and New South Wales) (Meskimen and Francis, 1990); it is mainly distributed in places with altitudes between 0 and 300 m and even 900m, 1,020 a 1,800 mm of annual rainfall (Turnbull and Pryor, 1984), and extreme temperatures from 5 to 32°C (FAO, 1981; Meskimen and Francis, 1990).

In spite of the susceptibility of canker produced by *Chrysosporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M.J. Wingf. (Boerbomm and Maas, 1970; Gibson, 1981; Cibrián and García, 2007), *E. grandis* is appreciated for its fast growth (Easley y Lamberth, 1989), which has favored its broad use for plantations in tropical and subtropical zones (Turnbull and Pryor, 1984). The damage caused by the fungus was detected for the first time in Surinam, where it affected up to 90 per cent of the trees. At the beginning, the infection was observed on examples after a year of their establishment at the field (5 cm of stem diameter at 1.3 m).

Chrysosporthe cubensis belongs to Ascomycota, of the order Diaporthales and Valsaceae family (Gryzenhout *et al.*, 2004) and was formerly known as *Cryphonectria cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M. J. Wingf (Rodas *et al.*, 2005; Barreto *et al.*, 2006). This fungus forms canker wounds on the stem and is one of the most severe health problems of eucalypts, since it reduces their growth and lessens the quality of its product, since it modifies the color of wood and deforms the trunk. Eventually it causes the death of the infected trees (Boerboom and Maas, 1970). This disease has a very broad distribution, since it follows its hosts, that is, the warm weather eucalypts. In the American Continent, it can be found in Brazil, Colombia, Cuba, Mexico, Venezuela and in the tropical parts of the United States: Florida, Hawaii and Puerto Rico (Gryzenhout *et al.*, 2004). It is present at different species of the Myrtaceae and the Melastomataceae family (Gryzenhout *et al.*, 2004; Rodas *et al.*, 2005) and is more common in the asexual phase; however, in places with rainfall over 2,000 mm and temperature near 30°C, the sexual phase can develop (Ciesla *et al.*, 1996; Gryzenhout *et al.*, 2004).

Melastomataceae (Gryzenhout *et al.*, 2004; Rodas *et al.*, 2005). Es más común hallar su fase asexual; sin embargo, en sitios con precipitación superior a los 2,000 mm y temperatura alrededor de 30° C puede desarrollarse la fase sexual (Ciesla *et al.*, 1996; Gryzenhout *et al.*, 2004).

En el sureste mexicano, se han registrado infecciones en *E. grandis* de hasta de 70 % de *Ch. cubensis* (Cibrián y García, 2007), por lo que una de las opciones para su manejo es la selección mediante pruebas de patogenicidad que permiten identificar individuos tolerantes o resistentes a *Chrysosporium cubensis*. Actualmente, hay empresas mexicanas como Plantaciones Tehuantepec, S.A. de C.V. (PLANTEH) que están desarrollando las primeras etapas de una estrategia de mejoramiento genético para obtener individuos con resistencia al hongo. PLANTEH tiene plantado *E. grandis* en aproximadamente 910 ha, en la microregión Bajo-Mixe-Choapan del Istmo de Tehuantepec, que incluye distintos municipios de los estados de Oaxaca y Veracruz (Gómez, 2006).

La sanidad del arbolado es la principal característica que se considera en la selección de rodales para el establecimiento de fuentes semilleras, como etapa inicial en los programas de mejoramiento genético, así mismo la información de la relación de la enfermedad con las dimensiones del arbolado es exigua, el presente estudio tuvo como objetivos evaluar la relación de la incidencia y severidad de la enfermedad con respecto al diámetro a 1.3 m de altura (DAP) y la altura total de árboles de *E. grandis* en plantaciones coetáneas de Santiago Yaveo, Oaxaca. Además de determinar si ambas fases reproductivas, sexual y asexual, ocurren en las plantaciones y describir su morfología, según lo descrito por Bernal *et al.* (2009).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El predio denominado La Colmena se seleccionó para la evaluación, se ubica en Santiago Yaveo, Oax., en las coordenadas 17° 33' 05" N. y 95° 19' 45" W (Figura 1). La temperatura media anual es 24° C la precipitación pluvial anual de 2,000 mm (INEGI, 2004). La pendiente del terreno es casi nula, con una ligera exposición al noroeste, y los suelos de acuerdo con Reyes (2006) varían de franco a arcillosos.

Fase de campo

Delimitación de los sitios de muestreo.- Se eligió el predio La Colmena por su accesibilidad, ser representativo del ambiente promedio de las plantaciones de PLANTEH propias para el desarrollo del patógeno (24° C y 1,900 mm precipitación anual) y por contar con árboles de seis años de edad, con un espaciamiento de 3 x 3 m (Figura 2), los cuales en

In Southeastern Mexico, infections by *Ch. cubensis* have been detected on *E. grandis* up to 70 per cent (Cibrián and García, 2007); thus, an option for its management is to make selections through pathogenicity tests in order to determine possible tolerant or resistant individuals to this fungus. At present, some Mexican companies such as Plantaciones Tehuantepec, S.A. de C.V. (PLANTEH) are carrying out the first stages of a genetic improvement strategy to obtain examples resistant to this pathogenic organism, and which *E. grandis* has been planted in 910 ha in Bajo-Mixe-Choapan of Istmo de Tehuantepec as well as in several *municipios* of the states of Oaxaca and Veracruz (Gómez, 2006).

Tree health is the major factor that is taken into account when stand selection for the establishment of seed sources, as an initial stage of the genetic improvement programs. In addition, information is rather scarce about the relation of the disease with the dimensions of the tree; thus, the actual study was proposed with the aims of assessing the relation of the incidence and severity of the disease in regard to DBH and total height of *E. grandis* trees in coetaneous plantations of Santiago Yaveo, state of Oaxaca, and to describe their morphology, according to Bernal *et al.* (2009).

MATERIALS AND METHODS

Study area

The landed property known as La Colmena was chosen for the assessment and it is located in Yaveo, state of Oaxaca, between 17° 33' 05" North and 95° 19' 45" West (Figure 1). Annual average temperature is 24°C and annual rainfall, 2000 mm. Slope is almost non existent, with a slight Northeast exposure, and soils, according to Reyes (2006) vary from clay to loam.

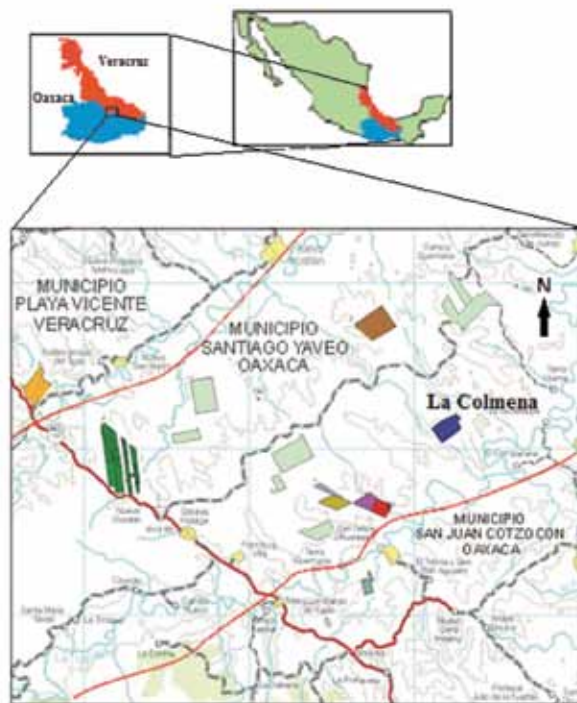
Field stage

Sampling lots.- La Colmena was selected for being easy to reach, as well as it has the right environment in the PLANTEH plantations where the pathogen may live (24° C and 1,900 mm annual rainfall) and since it has six year old trees, with a 3 x 3 m spacing (Figure 2), which, at a first survey showed signs and symptoms of the disease, such as: swelling of the tree base, canker wounds, fissures and cortex loosening and sporomes. In the land, three square 625 m² sampling lots were marked, with a 50 m distance between each of them. To all the living trees, dbh (1.30 m high) with Forestry Suppliers modelo 283D diametric tape and total height (AT) with a Haga caliper.

Collection and canker identification.- Cortex samples from 10 sick trees were collected in August, 2008. They were taken from 10 x 10 cm sections and were put into 27 x 28 cm air-tight bags, tagged with the following data: collection date and sample number. Later,

una primera inspección presentaban signos y síntomas de la enfermedad, entre éstos: hinchamiento en la base del árbol, formación de canchales, fisuras y desprendimiento de corteza y esporomas. Dentro del predio se delimitaron tres sitios de muestreo cuadradales de 625 m² y con 50 m de separación

they were placed into a freezer in order to keep them fresh and avoid a possible contamination during their transportation to the Phytopathology lab of the phytosanitary area of Colegio de Posgraduados (Figure 3). The handling of the examples was made at 5°C until they were used.



Fuente: Archivos cartográficos de PLANTEH.
Source: Cartographic files of PLANTEH

Figura 1. Ubicación geográfica del predio La Colmena donde se delimitaron los sitios para el estudio de *Chrysosporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M.J. Wingf.

Figure 1. Geographic location of La Colmena where sites to study *Chrysosporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M. J. Wingf. were selected.



Figura 2. Vista panorámica de uno de los sitios con afectados por *Chrysosporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M.J. Wingf. en el predio La Colmena.

Figure 2. Sightseeing of one of the plots with *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden affected by *Chrysosporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M.J. Wingf. in La Colmena

entre cada uno de ellos. A todos los individuos vivos se les midieron el diámetro a 1.30 m (DAP) con cinta diamétrica marca Forestry Suppliers modelo 283D y la altura total (AT) con un altímetro marca Haga (pistola Haga).

Colecta e identificación del cancro. Se recolectaron 10 muestras de corteza de 10 árboles enfermos en agosto del 2008. Estas fueron obtenidas de porciones de 10 x 10 cm, se colectaron en bolsas con cierre hermético de 27 x 28 cm y se etiquetaron con los siguientes datos: fecha de colecta y número de muestra. Posteriormente se acomodaron en una hielera para mantenerlas frescas y evitar una posible contaminación durante su traslado al laboratorio de Fitopatología del área de Fitosanidad

In order to bring out the fungus spores, a drop of KOH al 5% in distilled water was put to the carpophores, even over the cortex, to ease their extraction and observe them by the light microscope. To determine the reproductive phase, melon-orange and creamy-white rings, that were formed on the sporome apex, were put on a slide and a drop of lactophenol was added before de slide cover was set. The description and photographic record of the structures were made with the aid of the electronic microscope at 20, 40 y 100 X. The identification of the sexual and asexual stages of the fungus was made following the descriptions of Hodges (1980), Gryzenhout *et al.* (2004) and Bernal *et al.* (2009) which are based on the perithecia and picnidia, as well as on the typical spores of the species.



Figura 3. a) Recolecta de muestras de corteza de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden infectadas con *Chrysosporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M.J. Wingf. b) Conservación de muestras en campo para su transporte al laboratorio.

Figure 3. a) Collection of cortex samples of *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden infected by *Chrysosporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M. J. Wingf. b) Field sample conservation for their transfer to the lab.

del Colegio de Postgraduados (Figura 3). El manejo de los ejemplares consideró su refrigeración a 5° C, hasta su utilización.

Para evidenciar las esporas del hongo, se agregó una gota de KOH al 5% en agua destilada a los cuerpos fructíferos, aún sobre la corteza, para facilitar su extracción y observarlas al microscopio de luz. Para determinar la fase reproductiva, se colocaron los zarcillos color naranja melonado y blanco cremoso, que se formaron en el ápice de los esporomas en un portaobjetos y se les agregó una gota de lactofenol, antes de poner el cubreobjetos. La descripción y el registro fotográfico de las estructuras se hicieron con el microscopio electrónico a 20, 40 y 100 X. La identificación de las etapas sexuales y asexuales del hongo se realizó con base en las descripciones de Hodges (1980), Gryzenhout *et al.* (2004) y Bernal *et al.* (2009), a partir de la revisión de los peritecios (sexuales) y los picnidios (asexuales) así como de las esporas típicas de la especie.

Disease assessment

The presence or absence and the intensity of the disease were recorded according to the criteria in Table 1. In order to determine of DBH and total height of the trees have any relation with the intensity of the disease, an analysis of variance was made within the four diametric categories and height organized as quartiles, in a way that each one had the same number of individuals. The statistical model was:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \xi_{ij}$$

Where:

Y_{ij} = the observed value,

μ = the general mean value,

T_i = the permanent effect of the diametric category or height,

Evaluación de la enfermedad

Se registró la ausencia o presencia de la enfermedad y su severidad, de acuerdo a los criterios definidos en el

$i = 1, 2, 3 \text{ or } 4,$

ξ_{ij} = experimental error associated to the observations in each category

Cuadro 1. Categorías de severidad de *Chrysoporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M.J. Wingf. en plantaciones de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden del municipio de Santiago Yaveo, Oax.

Table 1. Intensity categories of *Chrysoporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M.J. Wingf. on *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden plantations of Santiago Yaveo, Oax.

Severidad	Criterios
0	Sin hinchamiento de la base del árbol ni formación de grietas superficiales en la corteza.
1	Follaje de tono desde pálido-amarillento hasta el típico de la especie. Presencia de estructuras del hongo no visibles, sólo al revisar la corteza.
2	Signos visibles sin necesidad de remover la corteza.
3	Fisuras sin desprendimiento de la corteza.
4	Fisuras profundas y desprendimiento de la corteza.

Nomenclatura para severidad: 0=sano; 1=imperceptible; 2=ligero; 3=moderado; 4=severo.
Severity key: 0=healthy; 1=imperceptible; 2=light; 3=mild; 4=severe

Cuadro 1. Con el fin de comparar si el DAP y la altura total de los árboles se asocian a la severidad de la enfermedad se realizó un análisis de varianza entre cuatro categorías diamétricas y de altura que se definieron en cuartiles, de tal manera que cada una tuviera el mismo número de observaciones (individuos).

El modelo estadístico fue:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \xi_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} es el valor observado

μ es la media general

T_i es el efecto fijo de la categoría diamétrica o de altura

$i=1, 2, 3 \text{ o } 4$

ξ_{ij} es el error experimental asociado a las observaciones en cada categoría

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se cuantificaron 156 eucaliptos vivos (75% de supervivencia), con un promedio de 16.0 cm de DAP y 15.8 m de altura, a seis años de edad. Se determinaron 56.4% de los árboles

RESULTS AND DISCUSSION

Six years old 156 live eucalypts were counted (75 per cent of survival), with an average dbh of 16.0 cm and a height of 15.8 m. 56.4 per cent of the trees were healthy. The incidence of disease from sampling (43.6 per cent) was close to the numbers reported by literature (50 to near 100 per cent) of *Eucalyptus grandis* plantations (Boerboom y Maas, 1970; FAO, 1981; Cibrián and García, 2007).

The affected trees (43.6 per cent) were concentrated mostly on the severity categories 1 (21.8 per cent) and 2 (11.5 per cent), while the disease with severity degree of 3 and 4 occurred in 5.8 and 4.5 per cent of the population sample. This means that there is a significant number of eucalypts (52) with an initial stage of the infection (imperceptible and light) and 16 (out of 156) with a mild to severe incidence (Table 2). These results would support the application of a phenotypic selection and a seed collection within the 56.4 per cent of the healthy trees in order to guarantee a disease-tolerance increment of the following generation.

Disease-tree diameter relation

The average severity distribution by diametric categories (quartiles) showed a direct relation with the tree diameter (Table 3), which reduces the possibility to select among the 56.4 per cent made up by six year old healthy trees. However, the selection might be focused on the examples with a more qualified phenotype in terms of diameter and health.

sanos. La incidencia de la enfermedad (43.6%) obtenida del muestreo es cercana a la citada en la bibliografía, cuyos valores son del 50% y hasta cerca del 100% de los individuos en plantaciones de *Eucalyptus grandis* (Boerboom y Maas, 1970; FAO, 1981; Cibrián y García, 2007).

Los árboles atacados (43.6%) se concentraron en mayor proporción en las categorías de severidad 1 (21.8 %) y 2 (11.5 %), mientras que la enfermedad con grado de severidad 3 y 4 se presentó en 5.8 y 4.5 % de la muestra de la población considerada, respectivamente. Lo anterior indica que existe un número significativo de eucaliptos (52) en etapa inicial de infección (imperceptible y ligera) y 16 (de 156 árboles) árboles con incidencia moderada o severa (Cuadro 2). Estos resultados avalarían la aplicación de una selección fenotípica y la recolecta de semilla dentro del 56.4% de los individuos sanos para asegurar un incremento de la tolerancia a la enfermedad en la siguiente generación.

Relación de la enfermedad con el diámetro de los árboles

La distribución de la severidad promedio por categorías diamétricas (cuartiles) presentó una relación directa con el

Cuadro 3. Categorías diamétricas y su respectiva frecuencia por categoría de severidad en infectados por *Chrysosporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M.J. Wingf.

Table 3. Diametric categories and their respective frequency by severity category of *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden infected by *Chrysosporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M.J. Wingf.

Categoría Diamétrica	Diámetro a 1.3 m	Severidad					Severidad promedio
		0	1	2	3	4	
1	< 11.6	36	3	0	0	0	0.0769 c
2	11.6-15.9	22	12	4	1	0	0.5897 b
3	16.0-20.5	20	11	5	0	3	0.8462 b
4	>20.5	10	8	9	8	4	1.6923 a

Categoría: 1=Mínima; 2=Media inferior; 3=Media superior; 4=Máxima. Letras diferentes indican diferencias significativas con $p < 0.05$.
Categories: 1=Minimum; 2= Lower Mean; 3=Higher Mean; 4=Maximum. Different letters mean there are significant differences $p < 0.05$.

diámetro (Cuadro 3), lo cual disminuye la posibilidad de elegir sobre 56.4% de los árboles sanos a los 6 años. Sin embargo, la selección puede enfocarse en los ejemplares fenotípicamente superiores de mayor diámetro y sanos.

Se determinó una tendencia de que a mayor diámetro se incrementa la cantidad de árboles infectados con más severidad. Las diferencias en la severidad promedio entre categorías de diámetro fueron significativas ($p < 0.03$) para todas las comparaciones de clases de DAP, sólo la diferencia en la severidad promedio entre las clases 2 vs. 3 no fue estadísticamente significativa (Cuadro 3).

Cuadro 2. Distribución de árboles por categoría de severidad y su correspondiente proporción de individuos de atacados por *Chrysosporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M.J. Wingf.

Table 2. Tree distribution in severity category and their proportion of *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden attacked by *Chrysosporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M. J. Wingf.

Severidad	Árboles (No)	Árboles (%)
0	88	56.4
1	34	21.8
2	18	11.5
3	9	5.8
4	7	4.5
Total	156	100.0

Nomenclatura para severidad: 0=sano; 1=imperceptible; 2=ligero; 3=moderado; 4=severo.

Severity key: 0=healthy; 1=imperceptible; 2=light; 3=mild; 4=severe

A tendency was found that at a larger diameter, the number of more intensely infected trees becomes higher. The differences of the average severity among the diameter categories were significant ($p < 0.03$) for all the dbh classes; only the difference in the average severity between the 2 vs. 3 classes was not statistically different (Table 3).

Incidence has a positive relation with DBH since it is more frequent to find trees with broader diameters that are infected with the fungus than trees with smaller DBH, as the disease is more severe in those with bigger diameters (Table 3, Figure 4). According to Boerboom and Maas (1970), this could be due to

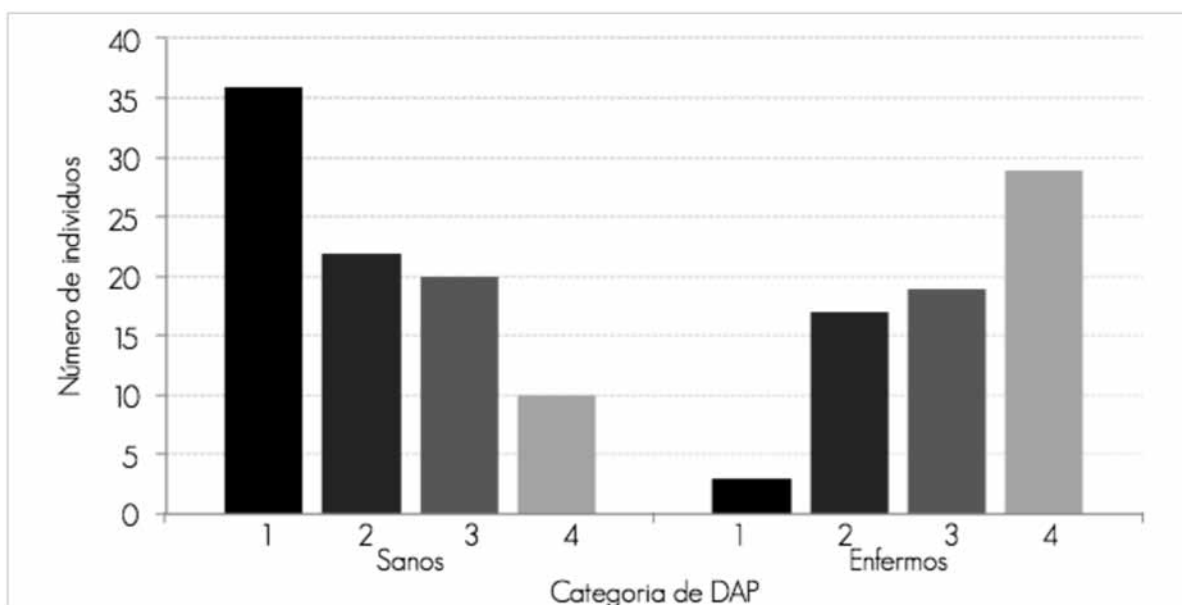


Figura 4. Frecuencia de árboles sanos y enfermos de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden para las categorías diamétricas.
 Figure 4. Frequency of healthy and sick trees *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden by diametric categories.

La incidencia tiene una relación positiva con el DAP, ya que es más frecuente que los árboles de mayores diámetros estén infectados con el hongo que los individuos de DAP inferior, además la enfermedad es más severa en aquellos con diámetro superior (Cuadro 3, Figura 4). De acuerdo a Boerboom y Maas (1970), esto podría deberse a que los individuos con fustes anchos tienen considerable superficie de contacto para que una gran cantidad de esporas se depositen en ella. Además de que poseen hendiduras suaves, donde el hongo se hospeda más fácilmente.

La relación entre el mayor DAP de los eucaliptos y el incremento en la severidad no es del todo genética, sino que puede ser fenotípica entre ambas características (Cruz *et al.*, 2001; López-Upton *et al.*, 1999). Es decir, los individuos más grandes tienen un área de contacto excesiva (mucho superficie succulenta por estar en crecimiento) que los hace menos resistentes, ya que una gran cantidad de esporas llegan a ellos y germinan lo que puede vencer otros mecanismos de resistencia (Boerboom y Maas, 1970; van Zyl y Wingfield, 1999; van Heerden *et al.*, 2005). La realización de estudios en los que se controlen las progenies de los árboles, permitiría establecer si hay correlación genética entre un diámetro superior y la susceptibilidad al hongo (Björkman, 1964).

Relación de la enfermedad con la altura de los árboles

Al analizar el comportamiento de la enfermedad en las distintas categorías de altura, se observó que no hay una tendencia

the fact that wide stems have a large contact surface to receive a great amount of spores, as well as that they have soft fissures that can easily host the fungus.

The relation between the greatest DBH of the eucalypts and the increment of severity is not quite genetic, it might be phenotypic in both elements (Cruz *et al.*, 2001; López-Upton *et al.*, 1999). That is, the biggest examples have an excessive contact area (very big succulent surface as they are growing), that makes them less resistant since a more important number of spores reach them and they germinate, which might surpass other resistance mechanisms (Boerboom and Maas, 1970; van Zyl and Wingfield, 1999; van Heerden *et al.*, 2005). Studies that control tree provenances could help to determine if there is a genetic correlation between the greatest diameter and the susceptibility to the fungus (Björkman, 1964).

Disease-tree height relation

When analyzing the behavior of the disease in different height categories, it was observed that there is no tendency in the distribution of the severity frequency between the categories of this variable (Table 4). As no relation was found between the severity of infection by *Ch.cubensis* and the height of eucalypts, there exists no limitation in terms of selection of trees in regard to this factor.

What is interesting is that while the diameter is strongly influenced by the environment, it has a lower impact upon height, since it is linked to the genetic potential of the individual (Klepac, 1976, Shinitiro *et al.*, 1990). Thus, forestry activities that improve diameter growth, increase the incidence and the

en la distribución de la frecuencia de la severidad entre las categorías de esta variable (Cuadro 4). No se determinó relación de la severidad de la infección, por *Ch. cubensis*, respecto a la altura de los eucaliptos, por lo que no hay limitaciones en términos de selección de individuos respecto a esa variable.

intensity of disease (they increase the contact area of spores); on the opposite, labors such as herb removal and destruction of shrubs, that lower the relative humidity of the undergrowth, could reduce the presence and severity of the disease, as has been confirmed in other fungi attacks that harm the tree stems (López-Upton *et al.*, 1999).

Cuadro 4. Categorías de altura y su respectiva frecuencia por categoría de severidad en *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden infectados con *Chrysosporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M.J. Wingf.

Table 4. Height categories and their corresponding frequency by severity category in *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden infected by *Chrysosporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M.J. Wingf.

Categoría de altura	Altura (m)	Severidad					Severidad promedio
		0	1	2	3	4	
1	< 11.2	21	5	7	3	2	0.9474 α
2	11.2- 14.9	22	4	3	5	3	1.0000 α
3	15.0-200	22	15	2	1	1	0.6342 α
4	>200	23	10	6	0	1	0.6500 α

Categoría: 1=Mínima; 2=Media inferior; 3=Media superior; 4=Máxima. Letras diferentes indican que hay diferencias significativas con $p<0.05$.

Categories: 1=Minimum; 2= Lower Mean; 3=Higher Mean; 4=Maximum. Different letters mean there are significant differences $p<0.05$.

Lo interesante es que mientras el diámetro está fuertemente influenciado por el medio, para el caso de la altura este tiene menor impacto, y sí está ligada al potencial genético del individuo (Klepac, 1976, Shinitiro *et al.*, 1990). Por tanto, las actividades silvícolas que mejoran el crecimiento en diámetro a la vez incrementan la incidencia y severidad de la enfermedad (aumentan el área de contacto de las esporas), de manera opuesta labores como el deshierbe y la eliminación de otra vegetación arbustiva, que reducen la humedad relativa en el sotobosque, podrían disminuir la presencia y severidad de la enfermedad, como se ha registrado en otros ataques fúngicos que afectan al tallo de los árboles (López-Upton *et al.*, 1999).

Morfología de *Chrysosporthe cubensis*

Las muestras obtenidas de los árboles enfermos confirmaron la presencia de *Chrysosporthe cubensis*. Se observaron peritecios y picnidios típicos de la especie, de acuerdo a la descripción realizada por Hodges (1980) y Gryzenhout *et al.* (2004). La fase sexual (peritecios) se caracteriza por un ascostroma reducido, color naranja, cuello peritecual largo, gris pardo-negro y ascosporas de ápices afilados. Conidiomas de la fase asexual (picnidios) en general piriformes, superficiales, con cuellos atenuados, gris pardo-negro, conidios hialinos, sin septos y de forma clavada a ampliamente oval (Figura 5).

Morphology of *Chrysosporthe cubensis*

The samples from sick trees confirmed the presence of *Chrysosporthe cubensis*, where perithecia and typical picnidia of the species were observed, according to the description by Hodges (1980) and Gryzenhout *et al.* (2004). The sexual phase (perithecium) has a small ascostroma, orange, with a long perithecial neck, dark grey-black and ascospores with sharp apex. Conidiomata of the asexual phase (picnidia) are generally superficial, pyriform shape, with attenuated necks, dark-grey-black, hyaline conidia, without septia and of a broadly oval cleave form (Figure 5).

The fact of having found the two multiplication phases of the fungus means that the temperature and rainfall conditions of the study area are convenient for its presence, development and proliferation. However, probably there are times in which the environment is adverse and the sexual phase is necessary in order to create variability in the population and, thus, guarantee its survival (Ciesla *et al.*, 1996; Hodges, 1980). Sexual reproduction brings an increment in the genetic variation and, with it, the outcome of a great ability to overcome the mechanisms of resistance from the hosts, which makes this pathogen even more dangerous.

In order to design a management plant focused on plantation diseases, it is important to have a clear understanding of the

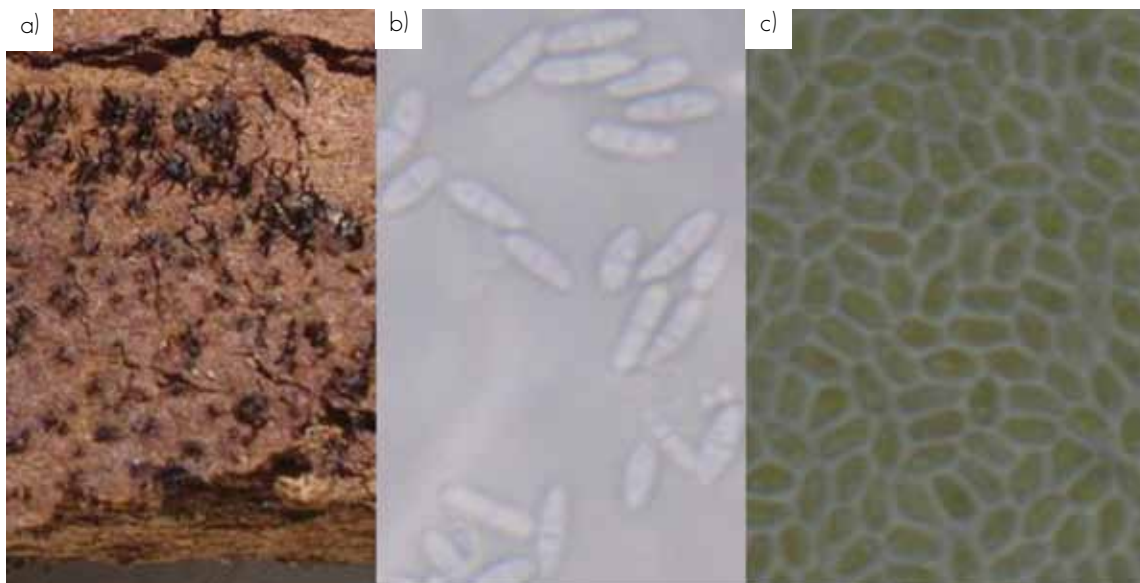


Figura 5. a) Picnidios y peritecios. b) Ascosporas. c) Conidios de *Chrysosporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M.J. Wingf. aislados en plantaciones de *E. grandis* Hill ex Maiden en Santiago Yaveo, Oaxaca.

Figure 5. a) Picnidia and perithecia. b) Ascospores. c) Isolated *Chrysosporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M. J. Wingf. conidia in plantations of *E. grandis* Hill ex Maiden in Santiago Yaveo, Oaxaca.

El hecho de haber encontrado las dos fases de multiplicación del hongo indica que las condiciones de temperatura y precipitación del sitio de estudio son adecuadas para su presencia, desarrollo y proliferación. Sin embargo, es probable que existan periodos en los que el ambiente es adverso y es necesario el desarrollo de la fase sexual para crear variación en la población y asegurar su supervivencia (Ciesla *et al.*, 1996; Hodges, 1980). La reproducción sexual genera un incremento de la variación genética y por tanto la aparición de mayor capacidad para vencer los mecanismos de resistencia de los hospedantes, lo que hace más peligroso a este patógeno.

Para establecer un plan del manejo adecuado de enfermedades en las plantaciones, es importante tener un entendimiento claro de la diversidad poblacional del patógeno. En el presente estudio se determinó que las fases sexual y asexual existen en las áreas tropicales del norte de Oaxaca, con la fase sexual se esperaría un alto nivel de diversidad genética, debido a la recombinación (van Heerden y Wingfield, 2001). Un nivel de diversidad alto reduce la posibilidad de controlar el patógeno, y apoya la hipótesis de que el hongo fue introducido hace tiempo.

Otra estrategia para mejorar la resistencia del hospedante es mediante pruebas de patogenicidad, las cuales deben efectuarse en plantaciones de al menos tres años de edad y realizarse en diferentes condiciones ambientales (Osorio *et al.*, 2003). Cada empresa plantadora tiene que desarrollar trabajos de mejoramiento genético contra *Ch. cubensis* en sus propios ambientes. Un parámetro

population diversity of the pathogen. In the actual study it was determined that the sexual and asexual phases take place in the tropical zones of northern Oaxaca; with the sexual phase a high degree of genetic diversity is expected due to recombination (van Heerden and Wingfield, 2001). A high level of diversity lessens the possibility to control the pathogen and supports the hypothesis that the fungus was introduced a long time ago.

Another strategy to improve the resistance of the host is through pathogenicity tests, which must be done in plantations at least of three years and under different environmental conditions (Osorio *et al.*, 2003). Each planting company must carry out genetic improvement tasks against *Ch. cubensis* in their own places. One way to assess resistance is to determine the degree of the advance of the infection, starting from the extension of canker (Conradie *et al.*, 1992), or by selection individuals with the ability to close the wounds produced by the fungus (van Zyl y Wingfield, 1999).

Even if the impact of the disease caused by *Chrysosporthe cubensis* in the tropical zone of northern Oaxaca is reduced by the cutting rotations, that are of eight years, companies such as PLANTEH and Forestaciones Operativas Mexicanas (FOMEX) have selected to use *E. urophylla* S.T. Blake in greater amounts than *E. grandis* for the establishment of commercial plantations, which is associated to a smaller incidence of the fungus on this specie, as Campinhos *et al.* (1988) confirmed it in Brazil.

Finally, in order to look for different options against the disease, controlled pollinations are being in South America

para evaluar la resistencia será determinar el grado de avance de la infección, a partir de la longitud del cancro (Conradie et al., 1992), o bien mediante la selección de individuos con capacidad para cerrar las heridas causadas por el hongo (van Zyl y Wingfield, 1999).

Aunque el impacto de la enfermedad causada por *Ch. cubensis* en la zona tropical del norte de Oaxaca se reduce con los turnos de corta, que son de ocho años de edad, empresas como PLANTEH y Forestaciones Operativas Mexicanas (FOMEX) han optado por utilizar *E. urophylla* S.T. Blake en mayor proporción que *E. grandis* para el establecimiento de plantaciones comerciales, lo que está relacionado con la menor incidencia del hongo en *E. urophylla*, como lo han observado Campinhos et al. (1998) en Brasil. Finalmente, con el propósito de buscar otras estrategias en contra de la enfermedad, en Sudamérica se realizan polinizaciones controladas para la producción del híbrido *E. urograndis* (*E. grandis* x *E. urophylla*), cuyos individuos muestran mejores características que los logrados a partir de las especies puras, con una producción superior de pulpa para papel otorgada por *E. grandis* y la notable resistencia al patógeno inducida por *E. urophylla* (Alfenas et al., 1983; Potts y Dungey, 2004).

CONCLUSIONES

Los árboles de mayor DAP son más afectados por *Chrysoporthe cubensis*, lo que evidencia la existencia de una relación positiva del diámetro con la enfermedad. Por otro lado, la altura no presentó asociación con la incidencia ni severidad de la enfermedad.

En plantaciones comerciales de *Eucalyptus grandis* establecidas en Oaxaca se observan las fases sexual y asexual de *Chrysoporthe cubensis*, por lo que se esperaría que el hongo continúe ampliando sus colonias. Esta situación hará más complicada la selección fenotípica de árboles sanos superiores con diámetro considerable.

REFERENCIAS

- Alfenas, A. C., R. Jeng and M. Hubbes. 1983. Virulence of *Cryphonectria cubensis* on *Eucalyptus* species differing in resistance. *Eur. J. For. Path.* 13: 197-205.
- Barreto, R. W., F. B. Rocha and F. A. Ferreira. 2006. First record of natural infection of *Marlierea edulis* by the *Eucalyptus* canker fungus *Chrysoporthe cubensis*. *Plant Pathology* 55: 577.
- Bernal L, I. C. Juárez P., R. Santos G., L. Vázquez S., H. A. Zavaleta M., H. S. Azpiroz R., C. Parraguirre L. y M. P. López L. 2009. Identificación del agente patógeno del cancro del eucalipto en plantaciones del sureste de México. *Rev. Cienc. Forest. en Méx.* 34(105): 20-37.
- Boerboom, J. H. A. and P. W. T. Maas. 1970. Canker of *Eucalyptus grandis* and *E. saligna* in Surinam caused by *Endothia havanensis*. *Turrialba* 20(1): 94-99.
- Blake, en el norte del Estado de Oaxaca. Tesis Doctoral. Postgrado Forestal. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo. de México, México. 118 p.

tested to produce the hybrid *E. urograndis* (*E. grandis* x *E. urophylla*) whose individuals have better characteristics than those obtained from pure species, with a higher paper pulp production than *E. grandis* and a notable resistance to the pathogen induced by *E. urophylla* (Alfenas et al., 1983; Potts and Dungey, 2004).

CONCLUSIONS

The trees with a broader DAP are more susceptible to *Chrysoporthe cubensis*, which reveals a positive relation between the diameter and the disease. Thus, height did not show any association with the incidence or severity of the disease.

In commercial plantations of *Eucalyptus grandis* in Oaxaca the sexual and asexual phases of *Chrysoporthe cubensis* can be observed, which suggests that the fungus will continue to extend its colonies. This situation will difficult the phenotypic selection of healthy plus trees with an important diameter.

End of the English version

- Björkman, E. 1964. Mejora genética de la resistencia a las enfermedades en las especies forestales. <http://www.fao.org/docrep/03650s/03650s00.htm>. (25 de enero 2009).
- Campinhos, E. N., I. Peters-Robinson, F. L. Bertolucci and A. C. Alfenas. 1998. Interspecific hybridization and inbreeding effect in seed from a *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* clonal orchard in Brazil. *Genet. Mol. Biol.* 21(3): 369-374.
- Cibrian T., D. y S. E. García D. 2007. Cancro *Chrysoporthe cubensis* (Bruner) Gryzenhout & M. Wingf. (Diaporthales, Cryphonectriaceae). In: Cibrian D., Alvarado R. y S. E. García D. (Eds). Enfermedades Forestales en México Universidad Autónoma de Chapingo, Comisión Nacional Forestal, United States Department of Agriculture, Natural Resources Canada, Comisión Forestal de América del Norte. Chapingo, Edo. Méx. México. pp: 146-148.
- Ciesla, W. M., M. Deckmann and C. A. J. Putter. 1996. *Eucalyptus* spp. Technical Guidelines for the Safe Movement of Germplasm No. 17. FAO/IPGRI. Rome, Italy. 66 p.
- Conradie E., W. J. Swart and M. J. Wingfield. 1992. Susceptibility of *Eucalyptus grandis* to *Cryphonectria cubensis*. *Eur. J. For. Path.* 22:312-315.
- Cruz A., J. D. Cibrián T., H. Ramírez M. y S. E. García D. 2001. Etiología y síndrome de los cancores *Cryphonectria*, *Lasiodiplodia* y *Fusicoccum* en Eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh). *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 7: 23-37.
- Easley, D. F. y C. C. Lamberth. 1989. Resultados a los cinco años de cuarenta y cinco especies eucalipto en la región Andina de Colombia. Smurfit Cartón de Colombia Investigación Forestal. Informe de Investigación No. 123. Cali, Colombia. 9 p.
- Food and Agriculture Organization (FAO). 1981. El Eucalipto en la Repoblación Forestal. Depósito de documentos de la FAO, Departamento de Montes. Colección FAO Montes No. 11. Roma, Italia. 723 p.
- Gibson, I. A. S. 1981. Un chancro del eucalipto nuevo en África. Información sobre recursos genéticos forestales No. 10. Depósito de documentos de la FAO. <http://www.fao.org/docrep/006/p3565s/P3565S00.htm#TOC>. (24 de marzo 2009).
- Gómez T., J. 2006. Índice de sitio y rendimiento maderable en una plantación de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden y *Eucalyptus urophylla* S.T. Gryzenhout, M., H. Myburg, N. A. van der Merwe, B. D. Wingfield and M. J. Wingfield. 2004. *Chrysoporthe*, a new genus to accommodate *Cryphonectria cubensis*. *Studies in Mycology* 50:119-142.

- Hodges, C. S. 1980. The taxonomy of *Diaporthe cubensis*. *Mycologia* 72:542-548.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2004. Síntesis de Información Geográfica del Estado de Oaxaca. Aguascalientes, Ags. México. 166 p.
- Klepac, D. 1976. Crecimiento e Incremento de Árboles y Masas Forestales. Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Enseñanza, Investigación y Servicio en Bosques. Chapingo, Edo. de México. 365 p.
- López-Upton, J., T. L. White and D. A. Huber. 1999. Effects of site and intensive culture on family differences in early growth and rust incidence of loblolly and slash pine. *Silvae Genet.* 48(6): 284-293.
- Meskimen, G. and J. K. Francis. 1990. *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden. Rose gum eucalyptus. In: Burns, R. M. and B.H. Honkala (Tech. Coord.). Silvics of North America: 2. Hardwoods. Agric. Handb. 654. USDA, For. Serv. Washington D.C. USA. 877 p.
- Obregón S., C. y N. Restrepo. 2006. Especie El Eucalipto: Una opción de alta rentabilidad. Revista el mueble y la madera. Edición 53. Tecnología y Diseño de Avanzada. En línea (Colombia). <http://www.revista-mm.com/rev53/especie.pdf>.
- 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. *Theor. Apply. Genet.* 106: 735-743.
- Potts, B. D. and H. S. Dungey. 2004. Interspecific hybridization of *Eucalyptus*: key issues for breeders and geneticists. *New Forest* 27:115-138.
- Reyes V., J. R. 2006. Sistema de cubicación para *Eucalyptus grandis* y *E. urophylla* en los límites de Veracruz y Oaxaca. Tesis Profesional. División de Ciencias Forestales. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, Edo. de México. México. 67 p.
- 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.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 2004. Anuario Estadístico de la Producción Forestal 2004. Dirección General de Gestión Forestal y de Suelos. México, D. F. México. 161 p. En línea (México). <http://www.conafor.gob.mx>. (15 de mayo de 2007).
- Shinitiro, O., A. L. De Moraes M. and R. Vencovsky. 1990. Problems in the classical improvement of *Eucalyptus* as consequence of high selection intensities. *IPEF International*. Piracicaba 1:58-67.
- Turnbull, J. W. and L. D. Pyror, 1984. Species and seed source. In: Hillis, W. E. and G. A. Brown (Eds.). *Eucalypts for Wood Production*. 2nd ed. CSIRO and Academic Press. Sidney, Australia. 434 p.
- 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 Heerden, S. W. and M. J. Winfield. 2001. Genetic diversity of *Cryphonectria cubensis* isolates in South África. *Micological Research* 105:1:94-99.
- Van Zyl, L. M. and M. J. Winfield. 1999. Wound response of *Eucalyptus* clones after inoculation with *Cryphonectria cubensis*. *Eur. J. For. Path.* 29: 161-167.