

## Comportamiento de cultivares de *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake ante la necrosis foliar causada por *Harknessia* sp.<sup>1</sup>

Response of cultivars of *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake to leaf necrosis caused by *Harknessia* sp.<sup>2</sup>

J. O. Montilla y D. Rodriguez<sup>2</sup>

### Resumen

La producción comercial de Eucalipto en Venezuela se inició hace solo dos décadas y en la misma se utiliza la propagación clonal. En 1999, se detectó la necrosis foliar, ocasionada por una especie del hongo *Harknessia*, la cual puede amenazar la explotación nacional del árbol. Con el fin de evaluar la resistencia del germoplasma, se llevó a cabo una prueba en umbráculo con cinco cultivares promisorios. Las plantas de 6 meses de edad, cultivadas en bolsas de polietileno, fueron inoculadas con una suspensión de esporas del hongo, incubadas a  $26 \pm 3^\circ\text{C}$  y 100% HR por 4 días y posteriormente transferidas a un lugar sombreado y ventilado. Se evaluó la incidencia de la necrosis foliar y la defoliación a los 45 días, así como también la severidad de la enfermedad a los 15, 30, 45, 60 y 75 días después de inoculación. Se encontraron diferencias significativas ( $P < 0,01$ ) entre los cultivares en cuanto a las tres variables. No se observó correlación entre la incidencia o la severidad con la defoliación. Los cultivares SMVEN-213, SMVEN-241 y SMVEN-256 presentaron una menor incidencia y severidad que los materiales SMVEN-191 y SMVEN-341. Aún cuando se detectaron materiales resistentes a la enfermedad se sugiere sembrarlos todos en forma sistemática para evitar epidemias severas.

**Palabras clave:** Eucalipto, hongos, variabilidad fenotípica

### Abstract

Commercial production of Eucalyptus in Venezuela began two decades ago. Clonally propagated material is used regularly for planting. Leaf necrosis, caused by *Harknessia* sp. was detected in 1999, which might become a threat to Eucalypt plantations. To evaluate resistance to the disease in the germplasm, a test

---

Recibido el 5-2-2002 • Aceptado el 6-9-2002

1 Proyecto T03-2A-99, financiado por el Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico de la Universidad Centroccidental "LisandroAlvarado" (UCLA).

2 UCLA. Decanato de Agronomía. Postgrado de Fitopatología. E-mail: rdorian@ucla.edu.ve

was performed on five six-month old elite cultivars, grown in polyethylene bags. Plants were inoculated with a spore suspension, incubated at  $26 \pm 3^{\circ}\text{C}$  and 100% RH for 4 days, and then transferred to a shaded place. Incidence of leaf necrosis and defoliation were evaluated at 45 days. Disease severity was registered at 15, 30, 45, 60, and 75 days after inoculation. Significant difference ( $P < 0,01$ ) between cultivars was found for the three variables. No correlation was observed between disease incidence or severity and defoliation. Cultivars SMVEN-213, SMVEN-241, and SMVEN-256 showed less incidence and severity than SMVEN-191 and SMVEN-341. Although resistance to leaf necrosis was detected, all cultivars should be considered in a systematic planting to prevent a severe epidemic.

**Key words:** Eucalyptus, fungus, phenotypic variability

## Introducción

La producción comercial de Eucalipto (*Eucalyptus* sp.) en Venezuela se inició en la década de los 80 (6) y en la actualidad constituye un importante renglón agrícola que abastece de pulpa a la industria nacional del papel (7). El material de siembra para las plantaciones se obtiene mediante la propagación clonal de especies e híbridos del género *Eucalyptus*, seleccionados por su calidad, rendimiento y precocidad (7).

Una de las enfermedades recientemente detectadas en Venezuela, atacando *E. urophylla*, es la necrosis foliar, ocasionada por una especie del género *Harknessia* Cooke, aún no identificada (8). Aunque *Eucalyptus* es el principal hospedante, *Harknessia* se ha encontrado en un amplio rango de especies de la familia Myrtaceae (4). La enfermedad se caracteriza por presentar manchas en las hojas del tercio medio e inferior de la planta, de tamaño variable, color marrón claro, mas o menos redondeada, con bordes irregulares y una zona de avance generalmente asociada con el margen

de la hoja; los picnidios del hongo se desarrollan en forma concéntrica sobre el área necrótica (7).

Una de las medidas más utilizadas en el control de enfermedades forestales es la resistencia inter e intraespecífica del hospedante (12,15,21). Las pruebas en vivero y plantaciones clonales para identificar cultivares élite con resistencia han constituido uno de los medios más exitosos para reducir el riesgo de enfermedades (17).

Entre los escasos trabajos de patología forestal realizados en el país, no se encuentra experiencia alguna sobre la selección de materiales por resistencia a enfermedades (1,2,5,6,9,10,13,18). Con el objeto de seleccionar materiales resistentes a la necrosis foliar, se llevó a cabo la evaluación de cinco de los mejores cultivares de *E. urophylla* seleccionados por el programa de mejoramiento de la empresa Smurfit Carton de Venezuela. Los resultados de la prueba se reportan en este trabajo.

## Materiales y métodos

### Material experimental

La prueba se realizó en umbráculo. El material utilizado constó de cinco cultivares de *Eucalyptus urophylla* identificados como SMVEN-191, SMVEN-213, SMVEN-241-256 y SMVEN-341, de seis meses de edad. Estos materiales fueron suministrados por la Gerencia Técnica de la empresa Smurfit Carton de Venezuela, quien los seleccionó por su importancia comercial reflejada en el rendimiento y las características de crecimiento. Las plantas se transplantaron en bolsas de polietileno con un sustrato compuesto por arena, fibra de coco y tierra franco-limosa, en la proporción 1:1:2, respectivamente. Se suministró riego con frecuencia de tres días.

### Inoculación e incubación

El hongo se aisló de plantas infectadas de la finca "Garachico" de la empresa antes mencionada (8), utilizando técnicas convencionales de esterilización superficial del tejido foliar y siembra en medio agar-agua. El inóculo se preparó con cultivo en papa-dextrosa-agar de 12 días de edad, incubado a  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  en oscuridad. Se recolectaron las esporas con agua destilada estéril y se filtraron a través de cuatro capas de gasa. La suspensión de esporas se ajustó a  $1,2 \times 10^4$  esporas/mL (7) utilizando un hematocímetro. Se agregó una gota de Tween 20 por cada 100 mL de suspensión.

Las hojas de las plantas se inocularon con aproximadamente 10 mL/planta de la suspensión de esporas, utilizando un atomizador manual y se

incubaron en cámara húmeda a 100% de humedad relativa y  $26^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  por 4 días, luego se transfirieron a un lugar sombreado y ventilado para permitir el desarrollo de la enfermedad.

### Diseño y evaluación del ensayo

Se utilizó un diseño de bloques al azar con seis repeticiones y cinco tratamientos representados por los cultivares. Cada planta representó una unidad experimental. Se evaluó la incidencia, severidad y la defoliación. Se evaluaron las primeras 14 hojas de cada planta contadas de la base hacia el ápice, este número se escogió basado en la planta con el menor número de hojas al inicio de la prueba (20). La incidencia se determinó mediante el cálculo del porcentaje de hojas con lesiones de las 14 evaluadas, la defoliación se determinó como el porcentaje de hojas inoculadas y desprendidas con síntomas de la enfermedad. Ambas variables se evaluaron 45 días después de inoculadas las plantas.

Para evaluar la severidad, se elaboraron diagramas en papel de las hojas de cada planta inoculada y se le determinó el porcentaje de área foliar con necrosis mediante el método gravimétrico (7). Se tomó el peso total de los diagramas, luego se cortó el área que representaba la lesión de cada diagrama y se pesó, con lo cual se calculó el porcentaje de área dañada. La evaluación se llevó a cabo a los 15, 30, 45, 60 y 75 d después de la inoculación.

Con los datos de severidad se

construyó la curva de progreso de la enfermedad inducida en cada clon, se determinó la tasa de infección aparente ( $r$ ) (16) y el área bajo la curva de la enfermedad (ABC) (14). La evaluación del último día se utilizó para calcular la tasa final de la enfermedad.

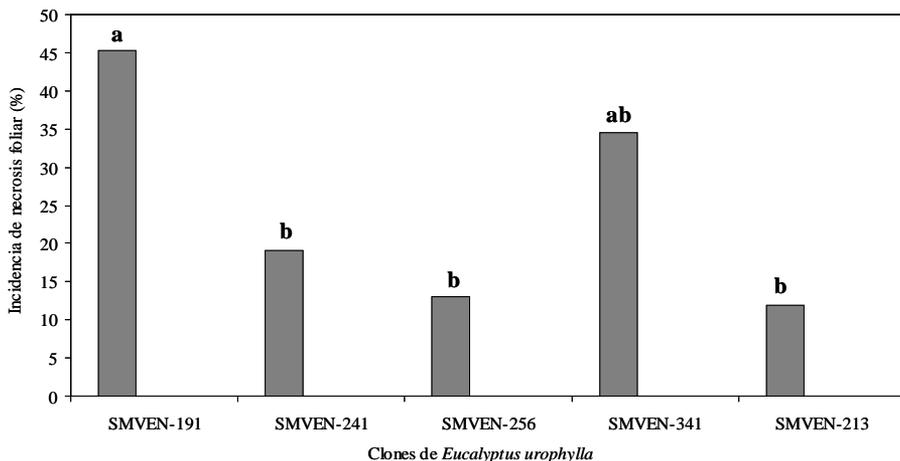
Se realizó el análisis de varianzas para incidencia, defoliación, severidad

y ABC. La comparación de medias se realizó por medio de la prueba de Tukey. Así mismo, se evaluó la correlación de la incidencia y la severidad con la defoliación. Los datos se procesaron con el programa SYSTAT<sup>®</sup>, Versión 5.04 (Systat, Inc. 1800 Sherman Ave. Evanston, IL, USA 60201).

## Resultados y discusión

Los resultados mostraron diferencias altamente significativas ( $P < 0,01$ ) entre los cultivares en cuanto a incidencia y severidad de la necrosis foliar (figura 1 y cuadro 1). Todos los cultivares mostraron una tendencia similar para ambas variables. El cultivar SMVEN-191 presentó los mayores valores, mientras que SMVEN-213 los menores valores, con una reducción de 74% de la incidencia en relación a SMVEN-191. Sin em-

bargo, SMVEN-213 fue estadísticamente similar a SMVEN-241 y SMVEN-256. El cultivar SMVEN-341 tuvo, igualmente, una alta incidencia de necrosis foliar y estadísticamente ocupó una posición intermedia entre los otros cultivares. Los resultados fueron consistentes dentro de cada período de evaluación. Considerando la media de cada período de evaluación, se encontró que los resultados de severidad a los 45, 60 y



Barras con la misma letra no fueron significativamente diferentes ( $P < 0,01$ ).

**Figura 1. Incidencia de necrosis foliar causada por *Harknessia* sp. en cinco cultivares de *Eucalyptus urophylla* 45 días después de inoculadas.**

**Cuadro 1. Progreso de la severidad (%) de la necrosis foliar producida por *Harknessia* sp. en cinco cultivares de *Eucalyptus urophylla* durante cinco períodos de evaluación. Tasa de infección diaria (r) y área bajo la curva de la enfermedad en proporción (ABC).**

Cultivares	Periodos (Días) <sup>1</sup>						r	ABC
	15	30	45	60	75			
SMVEN-191	3,3 a	10,73a	13,71 a	15,0a	15,88a	0,0285	7,358 a	
SMVEN-241	1,76ab	3,13 b	4,34 b	4,92 b	5,56ab	0,0198	2,426 b	
SMVEN-256	1,36abc	2,7 b	4,07 b	4,7 b	5,09b	0,0226	2,204 b	
SMVEN-341	3,6 ac	8,92 a	15,5 a	17,02a	18,04a	0,0296	7,839 a	
SMVEN-213	1,01 bc	1,94 b	4,08 b	4,56 b	5,12b	0,0278	2,046 b	
Promedio	2,21 a	5,48 b	8,34 c	9,24 c	9,94 c			

Valores promedio con la misma letra indican diferencia no significativa. Prueba de Tukey ( $P < 0.01$ ).

<sup>1</sup> Días después de la inoculación

<sup>2</sup> Promedio de treinta repeticiones

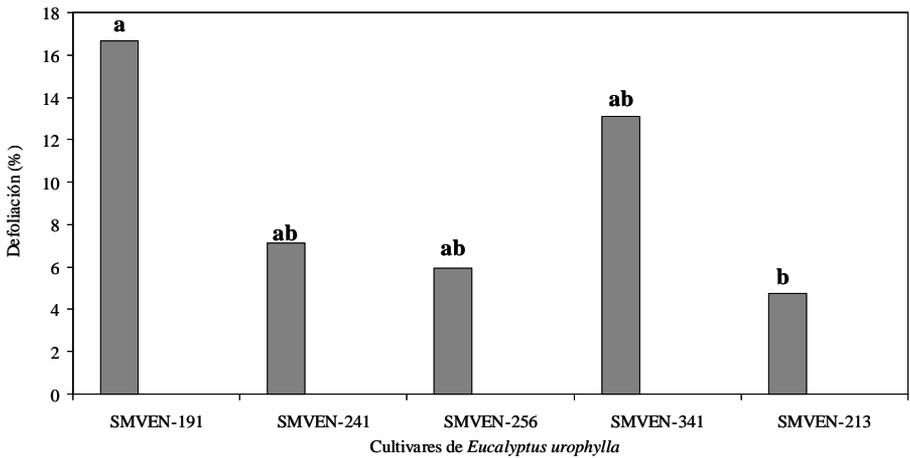
75 días fueron estadísticamente similares (cuadro 1), lo cual indica que la evaluación a los 45 días es suficiente para observar las diferencias entre los cultivares.

Los resultados indicaron variabilidad entre los cultivares de *E. urophylla* al ataque de *Harknessia* sp. La variabilidad en la respuesta de cultivares de *Eucalyptus* se ha observado también contra otros patógenos como *Coniothyrium zuluense*, *Sporothrix eucalypti* y *Mycosphaerella* sp. (3,19,20). Así mismo, las diferencias en susceptibilidad a patógenos entre cultivares ha sido encontrada en otras especies forestales, tales como *Pinus radiata* a *Sphaeropsis sapina* (15) y

*Populus* sp. a diferentes patógenos (11).

En cuanto a defoliación, igualmente se observaron diferencias significativas ( $P < 0.01$ ) entre los materiales (figura 2). En general, no se encontró correlación entre ésta y las variables incidencia y severidad (cuadro 2), excepto para SMVEN-213, donde se obtuvo un coeficiente de Pearson de 0,94 entre la incidencia y la defoliación.

Los resultados de la prueba son contrarios a los observados en el patosistema *Eucalyptus-Mycosphaerella*, donde se ha demostrado que la defoliación es una consecuencia directa del ataque del patógeno (3). La defoliación observada en el campo, en el tercio medio e infe-



Barras con la misma letra no fueron significativamente diferentes ( $P < 0,01$ ).

**Figura 2. Defoliación en cinco cultivares de *Eucalyptus urophylla* 45 días después de inoculadas con *Harknessia* sp.**

rior de la planta (7), puede estar relacionada con una menor radiación solar en esta área (3). La presencia del hongo en las hojas caídas (4,7), sin embargo, puede indicar una predisposición de éstas a su desprendimiento.

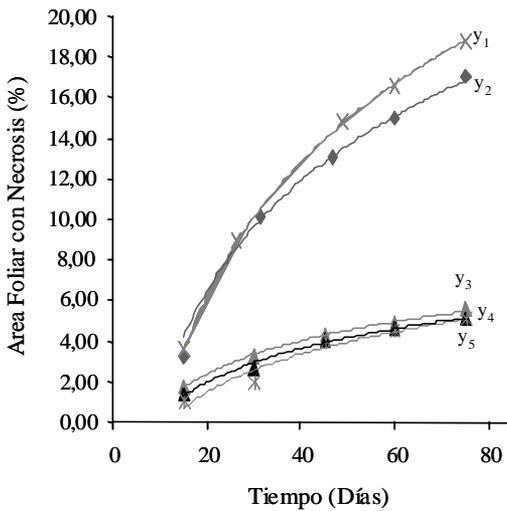
Los valores de  $r$  y ABC confirman los resultados de incidencia y severidad. Los cultivares SMVEN-191 y SMVEN-341 presentaron una tasa

de infección diaria mas alta y una infección total (ABC) mayor que SMVEN-241, SMVEN-256 y SMVEN-213 (cuadro 1).

En el análisis de regresión, se observó que el comportamiento global de los cultivares se ajustó a una curva logarítmica (figura 3) cuyos coeficientes de determinación ( $R^2$ ) variaron entre 94 y 99%. En las curvas (figura 3) se observan, además, dos

**Cuadro 2. Coeficiente de correlación de Pearson para las variables incidencia y severidad vs. defoliación, 45 días después de inoculación de cinco cultivares de *Eucalyptus urophylla* con *Harknessia* sp.**

Cultivares	Defoliación vs.	
	Incidencia	Severidad
SMVEN-191	- 0,486	- 0,175
SMVEN-241	- 0,349	- 0,273
SMVEN-213	0,940	0,058
SMVEN-256	0,281	- 0, 318
SMVEN-341	0,323	0,286



Cultivar	Ecuación de Regresión	R <sup>2</sup>
SMVEN-191	$y_2=9,5583\text{Ln}(x)-22,42$	0,9705
SMVEN-241	$y_3=2,3538\text{Ln}(x)-4,662$	0,9978
SMVEN-256	$y_4=2,4092\text{Ln}(x)-5,2472$	0,9894
SMVEN-341	$y_1=7,8725\text{Ln}(x)-17,129$	0,9640
SMVEN-213	$y_5=2,7169\text{Ln}(x)-6,6168$	0,9469

**Figura 3. Curvas de regresión del progreso de la epidemia producida por *Harknessia* sp. en cinco cultivares de *Eucalyptus urophylla*. R<sup>2</sup>= coeficiente de determinación.**

grupos homogéneos, el primero representado por los materiales SMVEN-341 y SMVEN-191 los cuales manifestaron una proporción más elevada de la enfermedad y el segundo grupo compacto con niveles de severidad de la enfermedad significativamente más bajos, representado por SMVEN-241, SMVEN-256 y SMVEN-213.

Los resultados del área bajo la curva y de la curva de regresión reflejaron dos grupos de cultivares

claramente definidos, sugiriendo dos fuentes genéticas diferentes de *E. urophylla*. Habiendo sido estos materiales seleccionados por su rendimiento y calidad de la pulpa, es conveniente mantenerlos en el programa de siembra con una estrategia adecuada de plantación, ya que la siembra de material clonal uniforme trae consigo riesgos fitopatológicos porque se estrecha la base genética del material (22).

### Conclusiones

Los cultivares de *Eucalyptus urophylla* SMVEN-191, SMVEN-213, SMVEN-241-256 y SMVEN-341, utilizados por su alto rendimiento y calidad de la pulpa en la explotación venezolana, poseen diferencias en su reacción a la necrosis foliar, causada

por *Harknessia* sp. Esta diferencia, que en algunos casos alcanzó el 74%, esta reflejada en la incidencia y la tasa de desarrollo de la enfermedad y no está relacionada con la defoliación de la planta.

La propagación clonal ha sido,

sin duda, uno de los aspectos importantes en el desarrollo de las plantaciones forestales, especialmente por el rendimiento y las características del producto final. Sin embargo, la siembra de material clonal uniforme puede traer problemas de poca

variabilidad genotípica, resultando en posible epidemias severas, por lo que se recomienda la siembra sistemática de materiales genéticamente diversos, especialmente si posee otras características beneficiosas.

## Agradecimiento

Al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico de la Universidad Centroccidental "Lisandro

Alvarado" (CDCHT N. T03-2A-98) por el financiamiento otorgado para la realización de esta investigación.

## Literatura citada

1. Bracamonte, L. 1992. Macromicetos Xilofagos de las Plantaciones de Pino del Oriente de Venezuela. Trabajo de grado para Magister Scientiarum. Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado". Barquisimeto, Venezuela. 123 p.
2. Bracamonte, L., O. Holmquist, A. Cadenas y S. Gil. 1996. Hongos Xilofagos sobre *Cupressus lusitanica* Mill. en Mérida, Venezuela. Revista Forestal Venezolana 40 (1): 27-36.
3. Carnegie, A., P. Keane, P. Ades y I. Smith. 1994. Variation in susceptibility of *Eucalyptus globulus* provenances to *Mycosphaerella* leaf disease. Canadian Journal Forest Research 24: 1751-1757.
4. Crous, P. W., M. Wingfield y T. Nag Raj. 1993. *Harknessia* species occurring in South Africa. Mycologia 85: 108-118.
5. Meza, M. y O. Holmquist. 1995. *Fulviformes fastuosus* (Lev) Holmquist (Basidiomycetes, Polyporaceae) Asociado a la pudrición del duramen del Caramacate (*Piranhea longipedunculata*) y de la Mora (*Mora gonggrijpii*). Revista Forestal Venezolana 39 (2): 62-66.
6. Mohali, S. 1989. Microorganismos asociados a semillas de *Eucalyptus sp.* Trabajo de grado para Magister Scientiarum. Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado". Barquisimeto, Venezuela. 97 p.
7. Montilla, J. 2000. Etiología de la Necrosis foliar de *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake y resistencia de cultivares a la enfermedad. Trabajo de grado para Magister Scientiarum. Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado". Barquisimeto, Venezuela. 164 p.
8. Montilla, J. y D. Rodríguez. 1999. Necrosis foliar de *Eucalyptus sp.* causada por *Harknessia sp.* en Venezuela. Memorias III Congreso Latinoamericano de Micología. p. 76. (Resumen).
9. Montilla, J., D. Rodríguez y A. Carrasco. 1999. Primer reporte de *Harknessia insueta* Sutton en Venezuela causando necrosis foliar sobre *Eucalyptus urophylla* Blake. Memorias XVI Congreso Venezolano de Fitopatología. Barquisimeto, Venezuela. p. 18. (Resumen).

10. Montilla, J., D. Rodríguez y A. Carrasco. 1999b. Especies de *Mycosphaerella* Johanson causantes de necrosis foliar sobre *Eucalyptus urophylla* Blake. Memorias XVI Congreso Venezolano de Fitopatología. Barquisimeto, Venezuela. p. 19. (Resumen)
11. Ostry, M., y H. McNabb. 1985. Susceptibility of *Populus* species and hybrids to disease in the north central United States. *Plant Disease* 69: 755-757.
12. Ostry, M., R. McRoberts, K. Ward y R. Resendez. 1988. Screening hybrid poplars *in vitro* for resistance to leaf spot caused by *Septoria musiva*. *Plant Disease* 72:497-499.
13. Rodríguez, C. 1992. Estudio Etiológico de la Podredumbre del duramen en árboles de importancia forestal en el lote boscoso San Pedro estado Bolívar. Trabajo de grado para Magister Scientiarum. Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado". Barquisimeto, Venezuela. 288 p.
14. Shaner, G. y R. E. Finney. 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology* 67:1051-1056
15. Swart, W., D. Donald y J. Theron. 1996. Screening of *Pinus radiata* progenies for resistance to *Sphaeropsis sapinea*. *South African Forestry Journal* 175 (1): 15-18.
16. Van der Plank, J. 1963. *Plant diseases: epidemics and control*. Academic Press. N.Y. USA. 349 p.
17. Wingfield, M. 1993. Field survey and diagnosis of *Eucalyptus* and pine disease in Colombia. University of the Orange Free State. Bloemfontein, South Africa. Mecanografiado. 22 p.
18. Wingfield, M. 1995. Field survey and diagnosis of *Eucalyptus* and pine disease in Venezuela. University of the Orange Free State. Bloemfontein, South Africa. Mecanografiado. 20 p.
19. Wingfield, M., P. Crous y T. Coutinho. 1996. A serious canker disease of *Eucalyptus* in South Africa caused by a new species of *Coniothyrium*. *Mycopathologia* 136: 139-145.
20. Wingfield, M., P. Crous y W. Swart. 1993. *Sporothrix eucalypti* sp nov., a shoot and leaf pathogen of *Eucalyptus* in South Africa. *Mycopathologia* 123: 159-164.
21. Wingfield, M. y W. Swart. 1994. Integrated management of forest tree diseases in South Africa. *Forest Ecology and Management* 65:11-16
22. Wingfield, M., W. Swart y G. Kemp. 1991. Pathology considerations in clonal propagation of *Eucalyptus* with special reference to the South African situation. Proceedings of the IUFRO symposium intensive forestry the role of *Eucalyptus*. p. 811-820.