

Posibilidad de manejo de la mancha amarilla del eucalipto: una enfermedad con fuerte impacto sobre el sector agroforestal de Uruguay

Foto: Carlos A. Pérez

Nazaret Ramirez

Departamento Protección Vegetal, EEMAC, Facultad de Agronomía, Udelar, Paysandú, Uruguay

Sofía Simeto

Programa Forestal, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Tacuarembó, Uruguay

Gustavo Balmelli

Programa Forestal, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Tacuarembó, Uruguay

Oscar Bentancur

Departamento Biométrica, Estadística y Computación, EEMAC, Facultad de Agronomía, Udelar, Paysandú, Uruguay

Michael Wingfield

Forestry and Agricultural Biotechnology Institute, University of Pretoria, Pretoria, Sudáfrica

Carlos A. Pérez

Departamento Protección Vegetal, EEMAC, Facultad de Agronomía, Udelar, Paysandú, Uruguay

A partir del año 2011, se ha observado que el eucalipto colorado, llamado así por el color de la madera de especies como *E. camaldulensis* y *E. tereticornis*, está siendo severamente afectado por la mancha amarilla del eucalipto, enfermedad causada por *Teratosphaeria pseudoeucalypti*. Esta especie fúngica, recientemente descrita por Andjic *et al* (2010), fue simultáneamente reportada en Argentina ocasionando severos daños en plantaciones de *E. camaldulensis* x *E. grandis* (Ramos *et al.*, 2014); en Brasil afectando plantaciones de *E. globulus*, *E. urophylla* x *E. globulus* y *E. nitens* x *E. globulus* (De Souza *et al.*, 2014); y en Uruguay en plantaciones de *E. globulus* y *E. maidenii* (Soria *et al.*, 2014).



Figura 1. Plantación de eucalipto colorado severamente afectada por la enfermedad



Figura 2. Síntoma típico de mancha amarilla observado en hojas de *E. camaldulensis*

Este patógeno ocasiona severos daños en las plantaciones forestales al tener la capacidad de causar manchas necróticas y defoliación tanto en follaje juvenil como adulto. A su vez, la brotación de las ramas (estimulada por la caída prematura de hojas) y la re-infección de los rebrotes, agotan las reservas de los árboles, por lo que la reiteración de estos procesos es la principal causa de mortandad de eucaliptos colorados observada a nivel nacional (Figura 1).

El principal síntoma causado por este patógeno es una mancha subcircular a irregular de 2-15 mm de diámetro, inicialmente de color verde pálido, luego clorótica antes de convertirse en necrótica, con margen de color rojo-púrpura en la superficie superior e inferior (Figura 2). La enfermedad representa una seria amenaza para la totalidad del sector agropecuario al comprometer las áreas de producción durante todo el ciclo de rotación del cultivo, afectando la supervivencia de los montes de abrigo y sombra, de las cortinas cortaviento en plantaciones frutícolas y cítricas, así como de las plantaciones comerciales con fines de producción de madera sólida. Las características del sistema de producción forestal (cultivo extensivo, perenne y de relativamente baja inversión por hectárea), junto al período durante el cual el cultivo es susceptible (toda la rotación), llevan a que la resistencia genética durable sea la principal medida de manejo frente a este patógeno. En este caso, el mejoramiento genético se justifica por la distribución geográfica de la enfermedad ya que se encuentra presente en todo el país y por el gran impacto productivo y económico que ésta ocasiona.

Estudios realizados por Balmelli *et al.* (2014) indican la existencia de variabilidad en el comportamiento de distintos germoplasmas de *E. camaldulensis* y *E. tereticornis* ante *T. pseudoeucalypti*, por lo que caracterizar la estructura genética del patógeno permitiría una mejor evaluación del comportamiento sanitario de distintos germoplasmas e identificar a su vez individuos resistentes. Este trabajo tuvo como principal objetivo realizar estudios respecto al organismo causal, tendientes a generar la información y metodología necesaria para asistir a programas de mejoramiento genético por resistencia al patógeno, y así minimizar el impacto en el desarrollo económico y en la sustentabilidad del sector agroforestal.

1. CARACTERIZACIÓN DE *T. pseudoeucalypti*

Se estudió una colección de 217 cepas perteneciente al Laboratorio de Fitopatología de la EEMAC, Facultad de Agronomía, generada a partir de colectas en plantaciones de eucalipto colorado en todo el territorio nacional. La caracterización del patógeno se realizó a nivel morfológico y genético. En cuanto a la morfología se tuvo en cuenta el color y forma de la colonia, dimensiones de las esporas y número de septos de las mismas. La caracterización genética se basó en un estudio multi-génico mediante amplificación de cuatro regiones genómicas conservadas para la especie (ITS-2, β -tubulina 2, EF1- α y ATP-6); donde el estudio de polimorfismos en nucleótidos simples, permitió conocer la estructura genética de la población. A su vez, se secuenció el genoma de dos cepas de la colección, a partir de lo cual se desarrollaron cebadores para amplificar las regiones genómicas que definen el tipo de apareamiento (*mating type*, genes MAT 1-1 y MAT 1-2). Esta región genómica determina la compatibilidad de dos individuos para llevar a cabo la reproducción sexual. La compatibilidad sexual ocurre cuando el MAT1-1 se encuentra con el MAT1-2. Un individuo que tenga ambos genes se considera homotático ya que puede autofecundarse. Mientras que un individuo que contenga sólo uno de los genes, deberá encontrarse con otro individuo con el gen complementario para poder ser compatibles y poder recombinarse mediante la reproducción sexual. En este último caso se consideran individuos heterotáticos. Esta es una característica de la especie, y el estudio del tipo de reproducción permite estimar la capacidad de reproducción sexual del organismo en estudio (Conde-Ferrández, 2007). La información sobre la estructura genética de la población resulta muy valiosa para determinar medidas estratégicas de prevención.

2. CARACTERIZACIÓN DE RESISTENCIA DE GERMOPLASMAS A CAMPO

Se instalaron tres ensayos a campo, ubicados en Paysandú, Tacuarembó y Florida, donde se evaluó el comportamiento sanitario de 16 materiales, 5 de origen clonal y 11 de origen seminal, de las especies: *E. camaldulensis* (2, seminal), *E. tereticornis* (3, seminal), *E. dunnii* (1, seminal y 2, clonal), *E. globulus* (2, seminal), *E. grandis* (1, seminal y 3, clonal) y *E. maidenii* (2, seminal). La evaluación se realizó a los 6 y 12 meses de instalados, considerando dos estaciones del año (otoño y primavera), durante las que se dan distintas condiciones ambientales para el desarrollo de la enfermedad. Se determinó la incidencia de mancha amarilla (%), severidad de mancha amarilla (%), defoliación ocasionada por mancha amarilla (%), altura de los individuos y presencia de otros patógenos. Los datos fueron analizados mediante un índice de daño en copa el cual considera la incidencia, severidad y defoliación: $IDC = Defoliación + ((1 - Defoliación/100) \times (Incidencia de Necrosis \times Severidad de Necrosis)/100)$.

3. RESULTADOS

La población del patógeno resultó morfológicamente diversa, con siete grupos morfológicos (Figura 3) y genéticamente homogénea. La totalidad de las cepas analizadas presentaron idéntica secuencia en las cuatro regiones genómicas analizadas

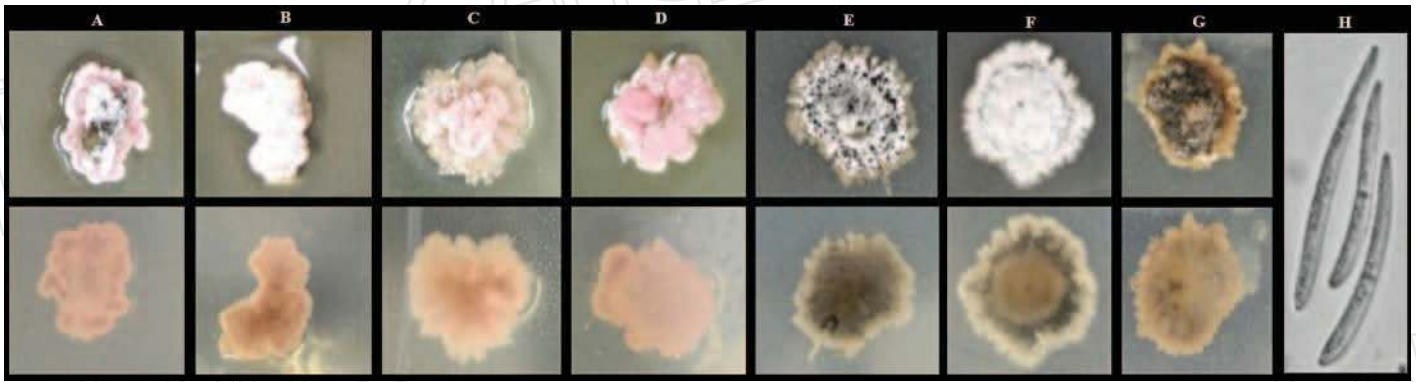


Figura 3. Distintas morfologías de colonia observadas en la colección de estudio de *Teratosphaeria pseudoecalypti*.
h) aspecto de los conidios producidos por este patógeno

y todas amplificaron el gen MAT 1-1, no encontrándose MAT 1-2, pudiéndose considerar al patógeno un organismo heterotálico (Figura 4). Los resultados del análisis de polimorfismos de nucleótido simple para las cuatro regiones genómicas estudiadas indican que la población de *T. pseudoecalypti* corresponde al haplotipo KE8, reportado en el centro y sur de Queensland, Australia en el año 2010 (Andjic *et al.*, 2010) (Figura 5).

Por otro lado, los ensayos de campo indicaron que *E. camaldulensis*, *E. tereticornis* y *E. globulus* presentaron la mayor susceptibilidad frente a esta enfermedad, aunque dentro de estas especies, y aún dentro de un mismo germoplasma seminal, se observaron individuos con buen comportamiento.

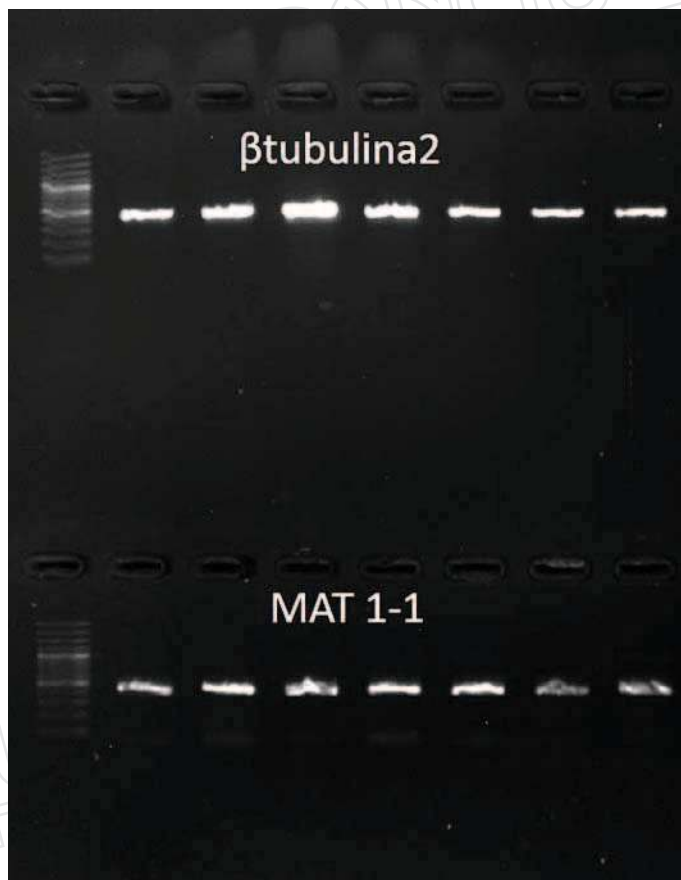


Figura 4. Amplificación gen MAT 1-1 y βt_2 (esta última región se incluyó como testigo positivo). A modo de ejemplo se presenta el resultado obtenido para siete cepas, habiéndose obtenido el mismo resultado para la totalidad de las cepas analizadas. La presencia de amplificación de la región MAT1-1 indica que todas las cepas presentan dicha región.

Haplotipo	EF-1 α				β -tubulin						ATP-6		ITS-2			
	31	34	52	143	73	91	93	98	201	209	236	236	295	146	193	249
KE8	T	C	T	T	C	G	A	G	C	A	T	G	A	T	G	T
KE9	T	C	T	T	C	G	A	A	C	A	T	G	A	T	G	T
KE10	T	C	T	T	C	G	A	G	C	A	T	G	A	C	T	T
KE11	T	C	T	T	C	G	A	G	C	A	T	T	A	T	G	T
KE12	T	C	T	T	C	G	A	G	C	A	T	G	T	T	G	T
Aislados UY	T	C	T	T	C	G	A	G	C	A	T	G	A	T	G	T

Figura 5. Posición de los nucleótidos polimórficos, parsimoniosamente informativos, de las secuencias alineadas de las cuatro regiones génicas, y la secuencia tipo de los aislados de Uruguay; para los cuatro haplotipos de *Teratosphaeria pseudoecalypti*.

Las restantes especies *E. grandis*, *E. maidenii* y *E. dunnii* mostraron decrecientes niveles de susceptibilidad, en dicho orden (Figura 6). Los datos también indican que existe efecto localidad para los materiales de *E. camaldulensis* y *E. tereticornis* (Figura 7), los mayores niveles de enfermedad se observaron en Tacuarembó, seguido por Paysandú, mientras que Florida fue la localidad que mostró menores niveles de enfermedad. Estas diferencias entre localidades, si bien pueden estar explicadas por variaciones climáticas, la intensidad de la enfermedad coincide con lo mencionado por Arbut *et al.* (2016), quienes realizaron un mapeo de la intensidad de la enfermedad a nivel nacional y la ubicación de cada ensayo coincide con los niveles de intensidad de la enfermedad en el experimento de Tacuarembó, de acuerdo a dicho estudio, podría estar explicado por una mayor presión de inóculo en dicha zona. A su vez, se observó que, el síntoma de la enfermedad varió según la especie hospedera (Figura 8).

4. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio indican que la población de *T. pseudoecalypti* presente en Uruguay es homogénea en las diversas regiones genómicas analizadas, lo cual sugiere una población clonal, es decir, representada por un único genotipo. La ausencia de diversidad genética sugiere un efecto fundador, por lo que se puede plantear la hipótesis de que en Uruguay existió una única introducción del patógeno.

La estructura homogénea de la población representa una ventaja respecto al manejo de la enfermedad por resistencia, ya que un germoplasma resistente a una cepa presentará igual comportamiento frente a cualquier individuo que integre esta población del patógeno.

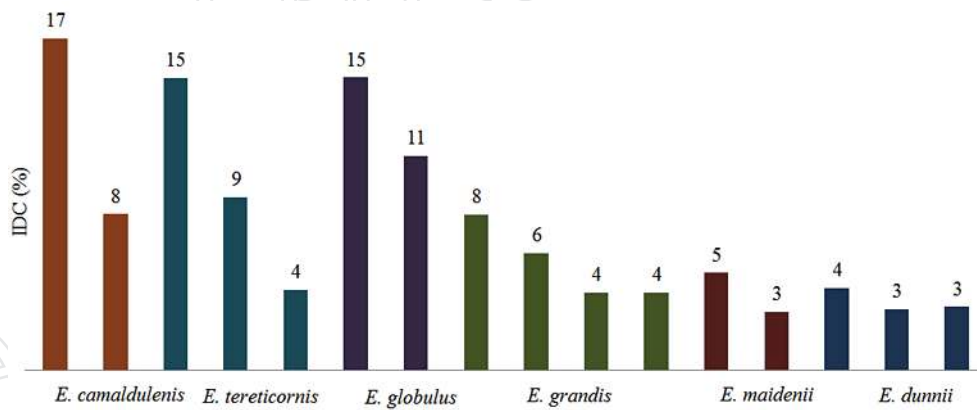


Figura 6. Índice de daño de copa (IDC) para las seis especies y los 16 germoplasmas evaluados. De izquierda a derecha: *E. camaldulensis*, *E. tereticornis*, *E. globulus*, *E. grandis*, *E. maidenii* y *E. dunnii*. Los valores son datos promedio de las tres localidades en la evaluación realizada a los 6 meses de edad.

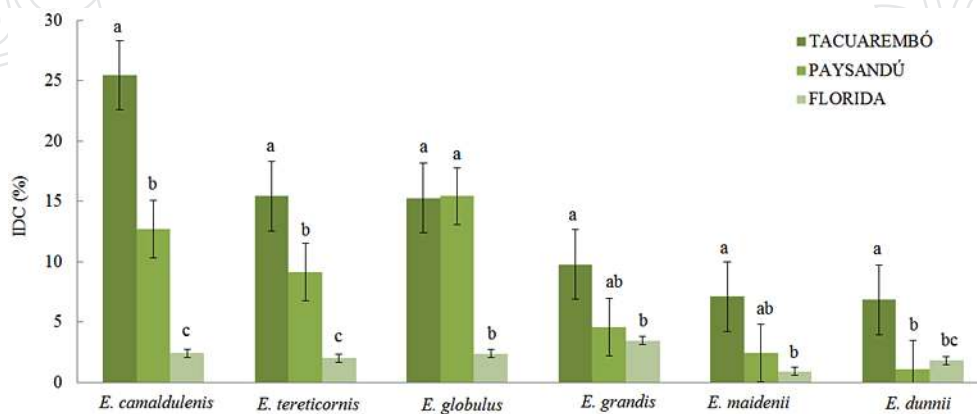


Figura 7. Índice de daño de copa (IDC) para las seis especies evaluadas en las tres localidades.



Figura 8. Síntomas de mancha amarilla del eucalipto en hojas de las distintas especies evaluadas, ordenadas según susceptibilidad. *E. camaldulensis*>*E. tereticornis*>*E. globulus* > *E. grandis* > *E. maidenii*>*E. dunnii*.

La presencia del alelo MAT1-1 y la ausencia del alelo MAT1-2 en todos los individuos analizados sugieren que el hongo es heterotálico auto-estéril. Este resultado es de gran importancia ya que la ausencia de ambos alelos en un mismo genoma indican heterotalismo (o sea, que hay individuos MAT1-1 e individuos MAT1-2), y la presencia de MAT1-1 en todos los individuos analizados sugiere la ausencia de individuos con la secuencia MAT1-2 en la población actual. Estos resultados remarcan la importancia de evitar la ocurrencia de nuevas introducciones de este patógeno que podrían incorporar variabilidad a la población.

El comportamiento sanitario de los distintos germoplasmas evidencia la existencia de variabilidad en la susceptibilidad frente a la mancha amarilla entre especies y dentro de cada especie, encontrándose individuos con excelente comportamiento, lo que indica que el mejoramiento por resistencia genética es una alternativa promisoría de manejo, permitiendo reducir los riesgos por mancha amarilla del eucalipto.

Los resultados aquí obtenidos representan un insumo fundamental para el sector agroforestal, generándose información básica para el manejo de una enfermedad que afecta severamente al eucalipto colorado, y amenaza la producción de otras especies de eucaliptos plantadas comercialmente.

5. AGRADECIMIENTOS

Agradecimiento a la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) por el apoyo en el financiamiento del proyecto Innovagro-FSA12961; a la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC) por el financiamiento de una pasantía al exterior; y a UPM e INIA Tacuarembó por el material vegetal, espacio para ensayos y cuadrillas de plantación.

A Pía Grignola y Cintia Palladino, como también a los funcionarios de la EEMAC por su apoyo durante las actividades de laboratorio. ♦

BIBLIOGRAFÍA

Andjic, V.; Pegg, G.S.; Carnegie, A.J.; Callister, A.; St J. Hardya, G.E.; Burgess, T.I. 2010. *Teratosphaeria pseudoecalypti*, new cryptic species responsible for leaf blight of *Eucalyptus* in subtropical and tropical Australia. *Plant Pathology*. 59: 900-912.

Balmelli, G.; Resquín, F.; Simeto S.; Torres-Dini, D.; Núñez, P.; Rodríguez, F.; González, G. 2014. Variabilidad genética en susceptibilidad a *Teratosphaeria pseudoecalypti* en eucaliptos colorados. Serie Técnica INIA 213: 85 – 91.

Conde-Ferrández L. 2007. El locus MAT (*mating-type*) de los ascomicetos: su evolución, estructura y regulación. *Revista Iberoamericana Micología* 24: 95-99.

De Souza, T.; Costa, A.; Da Silva, L.; Maciel, H.; Borges, N.; Couto, A. 2014. *Teratosphaeria pseudoecalypti* on eucalyptus in Brazil. *Tropical Plant Pathology*. 39 (5): 407-412.

Ramos, S.O.; Pérez, C.A. 2014. First report of *Teratosphaeria pseudoecalypti* on *Eucalyptus Hybrids* in Argentina. Consultado 9 de noviembre, 2016. Disponible en: <http://apsjournals.apsnet.org/doi/full/10.1094/PDIS-10-14-1087-PDN>.

Soria, S.; Alonso, R.; Bettucci, L.; Lupo, S. 2014. First report of *Teratosphaeria pseudoecalypti* in Uruguay. *Australasian Plant Disease Notes*. 9: 146.

CANQUE

