



**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
MAGISTER EN CIENCIAS FORESTALES**

**EFECTO DE LAS PRECIPITACIONES EN LA SUSCEPTIBILIDAD
DE CLONES DE *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* AL
CANCRO DEL EUCALIPTO CAUSADO POR *Chrysosporthe cubensis***

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad de
Concepción para optar al grado académico de magister en ciencias
forestales

POR PILAR KARIN ROMINA HEMMELMANN PISON

Profesor(a) Guía: Dr. Eugenio Alfredo Sanfuentes Von Stowasser

Profesor(a) Co-guía: Dr. Simón Pedro Sandoval Rocha

diciembre, 2023

Concepción, Chile

© 2023

Pilar Karin Romina Hemmelmann Pison

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento.

I. AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad de Concepción y la empresa Reforestadora del Sinú de Colombia, como mis principales guías de aprendizaje e inspiración en el campo de la silvicultura y gestión forestal.

A mi familia, gracias a su apoyo incondicional y creencia inquebrantable en mis capacidades, que me llevan día a día a seguir superándome.

Un especial reconocimiento a mi profesor y mentor, Eugenio Sanfuentes Von Stowasser. Su pasión por la fitopatología es parte fundamental en mi formación académica y profesional.

A mis amistades, mis queridos *cables a tierra*.

Finalmente, extendiendo mi gratitud a la ciencia, la fuerza motriz de mi vida. Que la exploración y el descubrimiento científico siga siendo mi constante fuente de pasión e inspiración, forjando mi determinación en la búsqueda incansable del conocimiento.

II. TABLA DE CONTENIDOS

I.	AGRADECIMIENTOS	iii
II.	TABLA DE CONTENIDOS.....	iv
III.	ÍNDICE DE TABLAS	vi
IV.	ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
V.	RESUMEN.....	xii
VI.	ABSTRACT.....	xiii
VII.	MARCO TEÓRICO.....	1
1.1	Plantaciones de <i>Eucalyptus</i> en Colombia y su situación fitosanitaria.....	1
1.2	<i>Chrysoporthe cubensis</i> : Origen y distribución.....	3
1.3	Enfermedad del cancro producida por <i>Chrysoporthe</i> en <i>Eucalyptus</i>	6
1.4	Programas de mejoramiento de <i>Eucalyptus</i> y control de <i>Chrysoporthe</i> en regiones tropicales.....	11
1.5	Efecto de las condiciones ambientales en la susceptibilidad de árboles a enfermedades forestales y su relevancia en la selección genética.....	16
1.6	Pregunta de investigación.....	21
1.7	Hipótesis.....	21
VIII.	OBJETIVOS	22
2.1	Objetivo general	22
2.2	Objetivos específicos.....	22
IX.	METODOLOGÍA	24

3.1	Aislamiento y selección de <i>Chrysosporthe cubensis</i>	24
3.1.1	Ubicación	24
3.1.2	Colecta de muestras de <i>C. cubensis</i>	24
3.1.3	Aislamiento y purificación de <i>C. cubensis</i>	25
3.1.4	Determinación de agresividad de los aislados de <i>C. cubensis</i>	26
3.2	Ensayos de inoculación de <i>C. cubensis</i> en campo.....	28
3.2.1	Descripción de los ensayos	28
3.2.2	Datos climáticos	31
3.2.3	Clones de <i>Eucalyptus grandis</i> x <i>E. urophylla</i> utilizados en inoculaciones	35
3.2.4	Aislado de <i>C. cubensis</i> y producción de inóculo	37
3.2.5	Método de inoculación.....	37
3.2.6	Evaluación del tamaño de lesión y severidad externa del cancro.	39
3.2.7	Análisis estadístico.....	44
X.	RESULTADOS.....	47
XI.	DISCUSIÓN	73
XII.	CONCLUSIÓN.....	86
XIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	88

III. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Información de los ensayos asociados a las pruebas de patogenicidad en campo.	30
Tabla 2 Datos colectados de precipitaciones mensuales para sitio Los Palmitos y sitio No te Arrepientas.	32
Tabla 3 Descripción de clones de <i>Eucalyptus grandis</i> x <i>E. urophylla</i> que se utilizaron en los ensayos de inoculación de <i>Chrysosporthe cubensis</i> en condiciones de campo.	35
Tabla 4 Análisis de Varianza (ANOVA) para la Longitud de lesión en clones de <i>Eucalyptus grandis</i> x <i>E. urophylla</i> inoculados con <i>C. cubensis</i> en sitio Los Palmitos y sitio No te Arrepientas.	48
Tabla 5 Análisis de Varianza (ANOVA) para la Longitud de lesión en clones de <i>Eucalyptus grandis</i> x <i>E. urophylla</i> inoculados con <i>C. cubensis</i> en sitio Los Palmitos y sitio No te Arrepientas considerando la exclusión de bloques con datos anómalos.	49
Tabla 6 Árboles quebrados (%) y longitud de lesión (cm) para 24 clones de eucalipto utilizados en ambos ensayos. Medias con letras iguales no presentan diferencias con una significancia del 95% utilizando test de Scott-Knott. Medias con letras iguales no presentan diferencias significativas entre clones, con significancia de 95% utilizando Test de Scott-Knott. (AQ = Arboles quebrados; LL = Longitud de lesión; PVES = Promedio valor escala de severidad.)	59

IV. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Síntomas y signos de <i>Chrysosporthe cubensis</i> en plantaciones jóvenes de <i>Eucalyptus grandis</i> x <i>E. urophylla</i> . Resquebrajamiento de la corteza y zonas de hundimiento e hinchazón en la zona infectada (A); Formación del cancro con anillamiento, necrosis de tejidos y acompañado de resinación (B). Peritecios en la corteza de los árboles infectados (C). Lesión interna debido a la infección del patógeno en un árbol susceptible (D).	8
Figura 2 Protocolo para determinar la agresividad de los aislados de <i>Chrysosporthe</i> en varetas de <i>Eucalyptus grandis</i> x <i>E. urophylla</i> . Selección de varetas visiblemente sanas (A). Desinfestación superficial de varetas y herida realizada con bisturí (B). Las varetas inoculadas depositadas en cámaras húmedas (C). Varetas inoculadas y selladas con algodón humedecido y film plástico para preservar las condiciones de humedad (D). ...	27
Figura 3 Mapa de Córdoba, Colombia con ubicación de sitios de ensayo. Sitio lo palmitos y sitio No te Arrepientas utilizados para los ensayos de inoculación en campo y ciudad de Valencia como referencia.	29
Figura 4 Método de inoculación. Se retiró el disco de corteza desde el árbol a inocular (A). Se realizó la inoculación con disco de micelio (B). Se selló la herida con algodón (C), el cual se humedece con abundante agua (D) y se selló con film plástico (E).	39
Figura 5 Corte longitudinal de árbol inoculado artificialmente, la línea continua señala el crecimiento posterior a la inoculación y la línea punteada señala el tamaño de la lesión interna producida por la inoculación.	40
Figura 6 Aspecto externo de cancro producido por inoculación artificial en <i>Eucalyptus grandis</i> x <i>E. urophylla</i> y nivel de severidad de daño asociado. A) nivel 1: Resquebrajamiento de la corteza muy leve o sin síntomas; B) nivel 2: Agrietamiento de la corteza en la zona de la inoculación, presencia leve de hinchazón; C) nivel 3: Formación de cancro característico con zonas hundidas y zonas hinchadas en la corteza; D) nivel 4: Cancro completamente formado.	42

Figura 7 Clasificación de acuerdo con escala visual de severidad de aspecto externo de cancro producido por inoculación artificial en <i>Eucalyptus grandis</i> x <i>E. urophylla</i> y nivel de severidad de daño asociado. A) nivel 1: Resquebrajamiento de la corteza muy leve o sin síntomas; B) nivel 2: Agrietamiento de la corteza en la zona de la inoculación, presencia leve de hinchazón; C) nivel 3: Formación de cancro característico con zonas hundidas y zonas hinchadas en la corteza; D) nivel 4: Cancro completamente formado.	43
Figura 8 Longitud de lesión promedio en varetas del clon JDH1 inoculados con 7 aislados de <i>Chrysosporthe cubensis</i> . Barras corresponden a error estándar y medias con letras iguales no presentan diferencias significativas, con significancia de 95% utilizando Test de Tukey.....	47
Figura 9 Longitud de lesión promedio para clones de <i>Eucalyptus grandis</i> x <i>E. urophylla</i> inoculados con cepa de <i>Chrysosporthe cubensis</i> en finca Los Palmitos. Barras corresponden a error estándar y medias con letras iguales no presentan diferencias significativas, c con significancia de 95% utilizando Test de Scott-Knott.	51
Figura 10 Longitud de lesión promedio para 24 clones de <i>Eucalyptus grandis</i> x <i>E. urophylla</i> inoculados con cepa de <i>Chrysosporthe cubensis</i> en finca No te Arrepientas. Barras corresponden a error estándar y medias con letras iguales no presentan diferencias significativas, con una significancia del 95% utilizando el test de Scott-Knott.	52
Figura 11 Árboles inoculados con presencia de termitas internas o lesiones producto de otro patógeno. Clon RSA08 con presencia de termitas interna y lesión mayor a 100 cm de longitud (A); Árbol control del clon RSB25 con presencia de patógenos (B) y árboles de clones RSB26 (C); clon BN46 (D), clon RSV01 (E) y clon RSA13 (F) con termitas en la zona de la inoculación.	53
Figura 12 Aislamientos realizados desde zonas de avance de lesión en árboles inoculados y control. <i>Chrysosporthe cubensis</i> obtenida desde lesiones de árboles inoculados, en clones AS16 (A), clon JD01 (B); clon RSA08 (C); morfotipo grisáceo desde árbol control en el clon BA03 (D); <i>Trichoderma</i> sp. desde árbol control del clon HV01; morfotipo grisáceo desde árbol control del clon JD01 (F).	55

Figura 13 Relación entre incidencia de árboles quebrados (%) y longitud de lesión (cm) en ensayo de sitio Los Palmitos.	57
Figura 14 Relación entre incidencia de árboles quebrados (%) y longitud de lesión (cm) en ensayo Finca No te Arrepientas.....	58
Figura 15 Árboles quebrados desde la zona de la lesión producida por la inoculación con <i>Chrysosporthe cubensis</i>	62
Figura 16 Distribución de la severidad de cancos en fuste en los clones de <i>Eucalyptus grandis-x E. urophylla</i> inoculados con <i>Chrysosporthe cubensis</i> en finca Los Palmitos. Nivel 1 (Azul): Resquebrajamiento de la corteza muy leve o sin síntomas; nivel 2 (Naranja): Agrietamiento de la corteza en la zona de la inoculación, presencia leve de hinchazón; nivel 3 (Verde): Formación de cancro característico con zonas hundidas y zonas hinchadas en la corteza; nivel 4 (Rojo): Cancro completamente formado y con anillamiento del árbol; Nivel 5 (Morado): Árbol quebrado.	63
Figura 17 Distribución de severidad externa en clones de <i>Eucalyptus grandis-x E. urophylla</i> inoculados con <i>Chrysosporthe cubensis</i> en finca Los Palmitos. Se clasificaron según escala de severidad donde nivel 1 (Azul): Resquebrajamiento de la corteza muy leve o sin síntomas; nivel 2 (Naranja): Agrietamiento de la corteza en la zona de la inoculación, presencia leve de hinchazón; nivel 3 (Verde): Formación de cancro característico con zonas hundidas y zonas hinchadas en la corteza; nivel 4 (Rojo): Cancro completamente formado y con anillamiento del árbol; Nivel 5 (Morado): Árbol quebrado.	64
Figura 18 Distribución de severidad externa en clones de <i>Eucalyptus grandis-x E. urophylla</i> inoculados con <i>Chrysosporthe cubensis</i> en finca No te Arrepientas. Se clasificaron según escala de severidad donde nivel 1 (Azul): Resquebrajamiento de la corteza muy leve o sin síntomas; nivel 2 (Naranja): Agrietamiento de la corteza en la zona de la inoculación, presencia leve de hinchazón; nivel 3 (Verde): Formación de cancro característico con zonas hundidas y zonas hinchadas en la corteza; nivel 4 (Rojo): Cancro completamente formado y con anillamiento del árbol; Nivel 5 (Morado): Árbol quebrado.	65

Figura 19 Distribución de severidad externa en clones de <i>Eucalyptus grandis</i> -x <i>E. urophylla</i> inoculados con <i>Chrysoporthe cubensis</i> en finca No te Arrepientas. Se clasificaron según escala de severidad donde nivel 1 (Azul): Resquebrajamiento de la corteza muy leve o sin síntomas; nivel 2 (Naranja): Agrietamiento de la corteza en la zona de la inoculación, presencia leve de hinchazón; nivel 3 (Verde): Formación de cancro característico con zonas hundidas y zonas hinchadas en la corteza; nivel 4 (Rojo): Cancro completamente formado y con anillamiento del árbol; Nivel 5 (Morado): Árbol quebrado.....	66
Figura 20 Crecimiento Post-Inoculación de 24 Clones de <i>Eucalyptus grandis</i> x <i>E. urophylla</i> inoculados con <i>Chrysoporthe cubensis</i> en el Sitio Los Palmitos. Las barras representan el error estándar, y las medias indicadas por letras iguales no muestran diferencias estadísticamente significativas con un 95% de confianza a través del test de Scott-Knott.	67
Figura 21 Crecimiento Post-Inoculación de 24 Clones de <i>Eucalyptus grandis</i> x <i>E. urophylla</i> inoculados con <i>Chrysoporthe cubensis</i> en el Sitio No te Arrepientas. Las barras representan el error estándar, y las medias indicadas por letras iguales no muestran diferencias estadísticamente significativas con un 95% de confianza a través del test de Scott-Knott.	68
Figura 22 Matriz de correlación a través del método de Spearman para la finca Los Palmitos. Los valores de correlación varían de -1 a +1, con 1 significando una correlación positiva perfecta, -1 una correlación negativa perfecta, y 0 ninguna correlación. P-values obtenidos a través de prueba t-Student con un 95% de confianza.	70
Figura 23 Relación entre la escala de severidad (Valores entre 1 y 4) y la longitud de lesiones (cm) para la finca Los Palmitos.....	71
Figura 24 Matrices de correlación para el sitio No te Arrepientas. Los valores de correlación varían de -1 a +1, con 1 significando una correlación positiva perfecta, -1 una correlación negativa perfecta, y 0 ninguna correlación. P-values obtenidos a través de prueba t-Student con un 95% de confianza.	71

Figura 25 Relación entre escala de severidad (Valores entre 1 y 4) y longitud de lesión (cm) para el sitio No te Arrepientas.72

v. RESUMEN

El creciente interés por plantaciones de *Eucalyptus* spp. en Colombia se enfrenta al desafío de controlar la enfermedad del cancro causada por *Chrysosporthe cubensis*, este hongo que ataca el cambium de los árboles puede ocasionar la muerte o quiebre del fuste afectando la productividad de las plantaciones en regiones tropicales. Su gestión se centra en el uso y selección de híbridos y clones resistentes. En este estudio se examinó el rol de las precipitaciones en la respuesta de híbridos de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* a la enfermedad del cancro en condiciones de campo en Córdoba, Colombia. Para ello, se establecieron ensayos en localidades con niveles de precipitación contrastante. Árboles de 24 genotipos de distinto origen fueron inoculados con una cepa agresiva de *C. cubensis* y luego de 9 meses se fotografiaron y midieron los canchros y sus lesiones internas asociadas. Se encontró una interacción significativa de ClonxSitio, siendo el sitio con menor rango de precipitaciones el que presentó una mayor mortalidad y longitud de lesiones formadas, así como una correlación significativa entre la severidad externa e interna de las lesiones producidas por la inoculación.

vi. ABSTRACT

The growing interest in plantations of *Eucalyptus* spp. Colombia faces the challenge of controlling the canker disease caused by *Chrysosporthe cubensis*, this fungus that attacks the cambium of trees can cause the death or breakage of the stem, affecting the productivity of plantations in tropical regions. Its management focuses on the use and selection of resistant hybrids and clones. In this study, the role of precipitation in the response of *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* hybrids to canker disease was examined under field conditions in Córdoba, Colombia. To this end, trials were established in locations with contrasting precipitation levels. Trees of 24 genotypes of different origin were inoculated with an aggressive strain of *C. cubensis* and after 9 months the cankers and their associated internal lesions were photographed and measured. A significant ClonxSite interaction was found, with the site with the lowest rainfall range having the highest mortality and length of lesions formed, as well as a significant correlation between the external and internal severity of the lesions produced by inoculation.

vii. MARCO TEÓRICO

1.1 Plantaciones de *Eucalyptus* en Colombia y su situación fitosanitaria

Colombia es un país tropical con abundantes recursos forestales que poseen un área potencial para plantaciones comerciales de más de siete millones de hectáreas. Actualmente, 550.000 ha corresponden a reforestación comercial, y se estima que para el año 2025 el número se aproxime a 1,5 millones de hectáreas (Martínez-Cortés et al., 2022). Entre las principales especies utilizadas, las del género *Eucalyptus* destacan por abarcar más del 23% de la superficie total de plantaciones (Boletín Estadístico Forestal, 2021), las que se encuentran localizadas en regiones del país con diferentes condiciones climáticas.

El potencial impacto del cambio climático y las variaciones climáticas pueden afectar la salud de estas plantaciones. De acuerdo con estudios en Brasil, el estrés hídrico y las anomalías climáticas están afectando negativamente a las plantaciones de eucalipto, especialmente en regiones con

climas tropicales y subtropicales (Alvares et al., 2013a; Gonçalves et al., 2013). Estas condiciones ambientales adversas pueden tener implicaciones significativas para la sanidad en Colombia, exacerbando el estrés en los árboles y, por lo tanto, haciendo que sean más susceptibles a enfermedades y plagas (Ferraz et al., 2013; Lima et al., 2012).

Además de los desafíos fitosanitarios existentes, como la mancha y tizón foliar del eucalipto causados por *Cylindrocladium spathulatum*, el secamiento de yemas por *Botryosphaeria ribis* (Pinzón-Florián, 2020), y la enfermedad del cancro producida por *Chrysosporthe cubensis* (Gryzenhout et al., 2004), las plantaciones enfrentan nuevos riesgos emergentes. Estos incluyen daños por vientos fuertes en áreas previamente no afectadas y un aumento en brotes de plagas debido al estrés hídrico (Assis, 2014). En este contexto, la adaptación a las condiciones cambiantes del clima se ha convertido en un área crítica de investigación y gestión. Estrategias como la 'hydrosolidarity' y la planificación del uso del suelo que incorpora la conservación de hábitats nativos se están volviendo cada vez más importantes para la gestión sostenible de las plantaciones (Lima et al., 2012).

Asimismo, existe un llamado a una mejor comprensión y modelado de las interacciones entre el material genético, las condiciones climáticas y las prácticas silviculturales para predecir con más precisión la productividad y el uso del agua en las plantaciones de eucalipto de regiones tropicales (Venegas-González et al., 2016; Nouvellon et al., 2011).

1.2 *Chrysoporthe cubensis*: Origen y distribución

Chrysoporthe cubensis pertenece al género *Chrysoporthe* que además lo componen otras nueve especies, algunas consideradas crípticas: *C. austroafricana*, *C. deuterocubensis*, *C. doradensis*, *C. hodgesiana*, *C. inopina*, *C. puriensis*, *C. colombiana*, *C. syzygiicola*, *C. zambiensis*. Se han descrito tres centros de origen para las especies de este género: América del sur, Sudáfrica y Sudeste Asiático (Oliveira et al., 2021, Oliveira et al., 2022), con nuevas evidencias sustanciales sobre el origen latinoamericano para *C. cubensis* (Oliveira et al., 2022). Todas estas especies son relevantes como patógenos causantes del cancro en árboles y arbustos de bosques naturales y plantaciones comerciales; siendo responsables de grandes pérdidas

económicas en plantaciones de *Eucalyptus* de todo el mundo, principalmente en zonas de climas tropicales y subtropicales como lo son el Sudeste de Asia, África, Australia, América del sur y Centroamérica. El rango hospedero de *Chrysoportha* ssp. abarca especies arbustivas y arbóreas de la familia Melastomataceae y Myrtaceae, dentro la cual se encuentra el género *Eucalyptus* (Gryzenhout et al., 2004, Chungu et al., 2010, Oliveira et al., 2022).

El primer reporte de *C. cubensis* fue en Cuba el año 1917, que originalmente se describió como *Diaporthe cubensis* Bruner (Bruner, 1917) y que a partir de la década de los 70 se comenzó a reportar masivamente en distintas partes del mundo, En el año 1980 la especie fue redescrita como *Cryphonectria cubensis* debido a sus características morfológicas y culturales (Hodges 1980). No fue hasta comienzos del 2000, gracias a los análisis moleculares, que la especie se reubicó en el género *Chrysoportha* y se nombró como *Chrysoportha cubensis* (Gryzenhout et al., 2004), además, se describió el anamorfo como *Chrysoporthella* (Gryzenhout et al., 2006).

En un comienzo se asoció su origen al comercio de especias entre Indonesia y América del Sur, siendo introducida accidentalmente entre árboles de clavo

(Myrtaceae). Años después se aislaría *C. cubensis* desde la especie nativa *Miconia rugibinosa* (familia Melastomataceae) desde bosques naturales de Colombia (Rodas et al., 2005), y que junto con los aislados de *C. cubensis* obtenidos desde especies nativas en Brasil y Ecuador estarían demostrando que *C. cubensis* hospeda diversas especies nativas en condiciones naturales en América del Sur (Gryzenhout et al., 2005, Gryzenhout et al., 2006). Estudios filogenéticos de aislados de *C. cubensis*, demostraron que existen dos subclados distintos, uno que incluye aislamientos de América de Sur, América Central y África Oriental (Myburg et al., 2004) y otro subclado con aislados provenientes de países del sudeste asiático, Australia, Tanzania y Hawai (Myburg et al., 2003). Los hongos de estos dos subclados son idénticos morfológicamente, pero representan grupos geográficos diferentes (Senanayake et al., 2018).

Los factores ambientales, particularmente bajo el escenario del cambio climático, juegan un papel crucial en la distribución y agresividad de patógenos forestales como *C. cubensis*. El cambio climático, al intensificar los estresores abióticos como la sequía y las temperaturas extremas, no solo aumenta la vulnerabilidad de los árboles a los patógenos, sino que también

facilita la expansión de los rangos de distribución de estos organismos nocivos (Lawson et al., 2021; Dennert et al., 2020). Estudios recientes han demostrado que la sequía y el aumento de la temperatura pueden incrementar significativamente el daño causado por patógenos necrótrofos en especies como el pino y el eucalipto, como en caso de la reducir la resistencia de especies como *Eucalyptus* a *Phytophthora cinnamomi* (Teshome et al., 2020). Además, la variabilidad en la temperatura y la precipitación influye en la incidencia de enfermedades en especies forestales, potencialmente produciéndose brotes en regiones donde anteriormente no eran comunes (Dennert et al., 2020). Estos factores, junto con el movimiento global de patógenos y plagas, pueden resultar en brotes más extensos y severos, aumentando la agresividad y el alcance de patógenos como *C. cubensis* en los ecosistemas forestales.

1.3 Enfermedad del cancro producida por *Chrysoporthe* en *Eucalyptus*

La enfermedad del cancro producida por *C. cubensis* en *Eucalyptus* se expresa en plantas jóvenes a través del anillado del tallo debido a una necrosis del cambium que conduce normalmente a la muerte de las plantas. En en

plantaciones desde los dos años, comienzan a aparecer síntomas en forma de zonas hundidas en el fuste producto de la necrosis del floema y en árboles adultos o de mayor susceptibilidad es visible el típico cancro ubicado en la base del árbol, lo que genera una hinchazón basal acompañado de una lesión profunda debido a la muerte de parte del cambium. En estos casos la enfermedad del cancro normalmente no ocasiona la muerte del árbol, sin embargo, el debilitamiento y daño al fuste lo vuelve susceptible al ataque de patógenos secundarios o al quiebre que pueden conllevar la muerte. El hongo coloniza rápidamente los tejidos necrosados formándose en la corteza abundantemente cuerpos fructíferos asexuales (picnidios) y sexuales (peritecios), permitiendo la diseminación de conidias y ascosporas, respectivamente, constituyendo la fuente de inóculo para los árboles cercanos (Seixas et al., 2004).

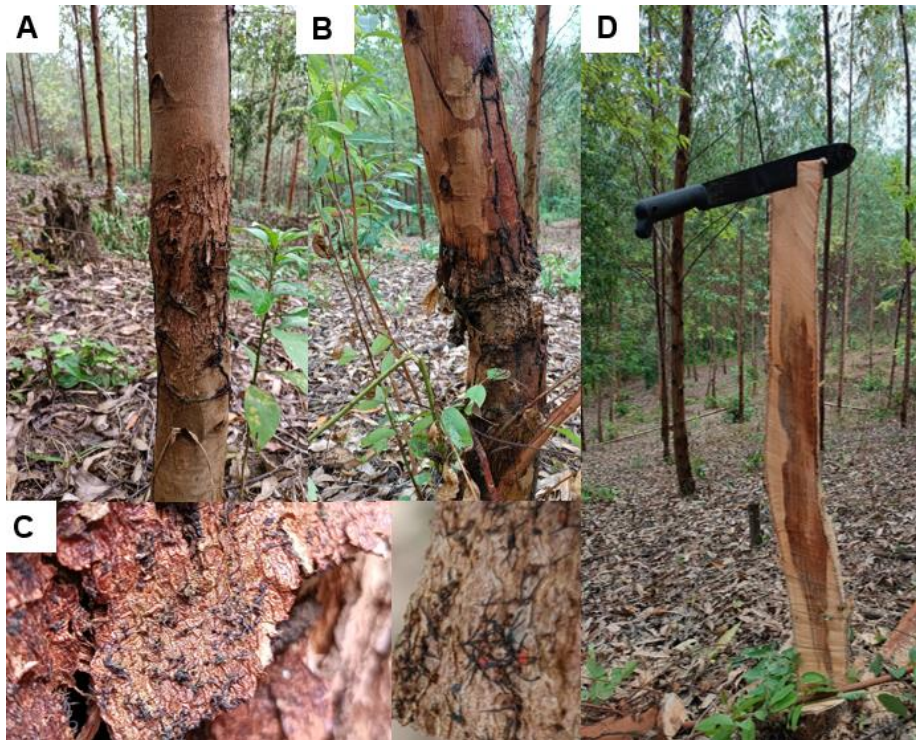


Figura 1 Síntomas y signos de *Chrysosporthe cubensis* en plantaciones jóvenes de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. Resquebrajamiento de la corteza y zonas de hundimiento e hinchazón en la zona infectada (A); Formación del cancro con anillamiento, necrosis de tejidos y acompañado de resinación (B). Peritecios en la corteza de los árboles infectados (C). Lesión interna debido a la infección del patógeno en un árbol susceptible (D).

La resistencia al cancro en *Eucalyptus* varía entre especies, siendo especies altamente susceptibles *E. saligna* y *E. grandis*, reportando una mortalidad de hasta 50% en plantaciones de *E. grandis* (Rezende et al., 2021). Las especies de *Eucalyptus* que poseen una resistencia biótica natural son *E. urophylla* y *E. pellita*. En el caso de *E. pellita* es una especie originaria de Australia que

ha cobrado importancia en programas de mejoramiento en zonas tropicales húmedas por ser resistente a plagas y enfermedades y podría ser de interés en hibridaciones con *E. urophylla* (Gonçalves et al., 2013). *Eucalyptus urophylla* es un árbol originario de Indonesia que se introdujo en Brasil en los años 70 y brindó una solución a la susceptibilidad al cancro por *C. cubensis* en *E. grandis*, además *E. urophylla* contribuyó a mejorar la capacidad de rebrote, de enraizamiento, tolerancia a otras enfermedades como la roya y una mayor densidad de la madera (Silva et al., 2019).

Los factores ambientales tales como la temperatura, las precipitaciones y la composición del suelo influyen directa o indirectamente en la tasa de propagación e impacto de los patógenos dentro o entre las poblaciones hospedantes (Van Drunen et al., 2018). El cancro producido por *Chrysosporthe* aumenta a mayores temperaturas (iguales o superiores a 23°C), por lo tanto, árboles creciendo en áreas más cálidas presentarían mayor susceptibilidad a la enfermedad y también correlacionándose con un mayor número de esporas en el aire (Van Heerden et al., 2005). Regiones con precipitaciones abundantes también se han relacionado con una mayor incidencia de la enfermedad producida por *C. cubensis*, en especial

precipitaciones superiores a 2000 mm/año (Van Heerden & Wingfield, 2002; Li et al., 2017). En el contexto del estrés hídrico, períodos de déficit hídrico agudo seguidos de estaciones lluviosas pueden exacerbar la incidencia de la enfermedad. El estrés hídrico provoca el agrietamiento de la corteza del árbol, lo que facilita la penetración del patógeno (Pinzón-Florián, 2020).

Estudios recientes en *Eucalyptus* han demostrado que el estrés hídrico y nutricional altera la expresión de numerosas familias de genes relacionados con la respuesta a estímulos, procesos metabólicos y de desarrollo, así como en la organización de componentes celulares, revelando una compleja red de señalización en respuesta al estrés (Esmailpour, 2022).

Además, investigaciones en otras especies forestales, como los castaños, han mostrado que la coocurrencia de sequías y enfermedades fúngicas puede incrementar significativamente las tasas de mortalidad, aunque no necesariamente agrave la severidad de las infecciones. Esto sugiere que los patógenos, incluido *C. cubensis*, podrían beneficiarse de condiciones de estrés hídrico, lo que podría aumentar su distribución y prevalencia (Waldboth, 2009). Las interacciones entre el estrés hídrico y los agentes bióticos siguen siendo un área de estudio en evolución, siendo crucial

comprender cómo los patrones cambiantes de estrés ambiental afectarán la agresividad y la distribución de patógenos como *C. cubensis*.

1.4 Programas de mejoramiento de *Eucalyptus* y control de *Chrysoporthe* en regiones tropicales

La eficacia en el control del cancro del eucalipto, en invernadero y en campo, reside en la selección cuidadosa de genotipos resistentes y vigorosos. En las zonas tropicales, la adopción de clones híbridos es predominante, ya que combinan genotipos deseables con vigor híbrido, garantizando productos forestales homogéneos (Gonçalves et al., 2013, Silva et al., 2019a, Silva et al., 2019b).

La diversidad genética entre las especies de *Eucalyptus* ofrece un vasto potencial para la mejora genética, particularmente a través de la hibridación interespecífica (Sharma et al., 1985, Conradie et al., 1992). Este método no solo aumenta la tolerancia al estrés biótico y abiótico, sino que también potencia la heterocigosis, lo que conduce a individuos de mayor rendimiento, adaptabilidad y calidad de madera (Guimarães et al., 2010).

El uso de clones en lugar de plántulas provenientes de semilla permite una transferencia de la variabilidad genética total, sin embargo, es importante considerar que las plantaciones clonales son poco plásticas por la baja variabilidad genética que poseen; lo que las vuelve susceptibles a una incompatibilidad genotipo-ambiente. Es por esto que la asignación específica de un genotipo a un sitio debe ser basado en pruebas de campo y vivero, que permitan estudiar la interacción de la especie con las condiciones ambientales del sitio, así como las interacciones locales entre patógenos y árboles (Nakabonge et al., 2006, Li et al., 2017, Nakabonge et al., 2020).

La gran variedad de especies e híbridos de *Eucalyptus* le han dado un alto potencial en plantaciones clonales para reforestación comercial, en especial por su versatilidad frente a diversas condiciones climáticas y geográficas (Silva et al., 2019). Un ejemplo de esto son las plantaciones de *Eucalyptus* en Brasil, las cuales producto de las reformas forestales e incentivos fiscales a partir de los años 60 tuvieron un fuerte auge que impulsó la silvicultura en el país, pasando de tener 37 mil hectáreas a más de 270 mil. En los primeros años sus plantaciones tuvieron baja productividad debido a hibridaciones descontroladas que ocasionaron cambios en el vigor y calidad de la madera.

Sin embargo, estas hibridaciones también produjeron una alta variabilidad fenotípica de las especies más plantadas que eran *E. grandis*, *E. urophylla* y *E. saligna*, lo que permitió seleccionar individuos con las mejores características de madera y encontrar rasgos de resistencia biótica, como la resistencia al cancro que afectó clones de *E. grandis* en el Norte de Brasil. Entre los años 80 y 2000 se consolidó el sector forestal brasileño al llegar los programas de fitomejoramiento que produjeron cruces interespecíficos entre *E. grandis* y *E. urophylla*, obteniendo el híbrido *Urograndis*, de gran relevancia en zonas tropicales del país y también en otros países donde se ha exportado por sus características de resistencia biótica y adaptabilidad ambiental (Gonçalves et al., 2013). El híbrido entre *E. grandis* y *E. urophylla* ha sido ampliamente estudiado en Brasil; en especial su resistencia a enfermedades como el cancro en zonas tropicales. Ensayos de campo con plantas de seis meses inoculadas artificialmente con *C. cubensis* demostraron que la resistencia al cancro es un carácter multigénico y que exhibe alta dominancia alélica o epistasis, además corroboraron que las lesiones internas asociadas al cancro son un criterio apropiado para detectar variabilidad en la resistencia a la enfermedad (Guimarães et al., 2010). En Brasil también se ha probado la patogenicidad de *C. doradensis* en clones de *Urograndis*

encontrándose diferencias en la susceptibilidad de los clones (Soares et al., 2018).

Otro caso de análisis es el observado en Sudáfrica, en donde se han establecido extensas plantaciones clonales de eucalipto, seleccionados principalmente por criterios de apariencia y uniformidad, pero debido a la susceptibilidad de estas plantaciones al cancro por *Chrysoporthe*, han tenido que incorporar la resistencia biótica a sus criterios de selección. En inoculaciones artificiales con *C. cubensis* obtuvieron que los niveles de resistencia de los clones probados fueron distintos a los resultados reportados en Brasil (Conradie et al., 1990), lo que años más tarde fue explicado a que el aislado inoculado correspondía a una nueva especie de *Chrysoporthe*: *C. austroafricana*. (Heath et al., 2006). Producto de ese resultado estudiaron la agresividad de aislados de diferentes procedencias y determinaron una interacción significativa clon x aislado del patógeno (Van Heerden et al., 2005).

Otros estudios sobre la resistencia a *C. cubensis* en clones de *E. grandis* en Sudáfrica encontraron una relación entre los clones que cicatrizan más rápido las heridas por daño mecánico y su resistencia a la enfermedad del cancro.

Esto se relaciona con una mayor deposición de capas de suberina en árboles resistentes y podría permitir que la tasa de cicatrización a heridas se utilice como una indicación de su tolerancia a *C. cubensis* (van Zyl & Wingfield 1999, Van Heerden & Wingfield 2002).

En Colombia, *C. cubensis* fue aislado desde plantaciones de *E. grandis* en el año 2002, y años más tarde se identificó *C. doradensis* en plantaciones de *E. urograndis*. También se aisló *C. cubensis* desde árboles nativos del género *Tibouchina* (Oliveira et al., 2022). Ensayos de patogenicidad realizados en clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* y en especies nativas brasileras; aislados de *C. cubensis* y *C. doradensis* provocaron canchros en todas las plantas inoculadas (Oliveira et al., 2021). La presencia de varias especies de *Chrysosporthe* podría ser un problema adicional para el manejo de la enfermedad sumado a la diversidad de huéspedes que presenta, pudiendo significar un riesgo para las plantaciones de eucalipto próximas de áreas con especies nativas hospederas de este patógeno (Soares et al., 2018).

Los programas de mejoramiento de eucaliptos están empezando a reconocer la importancia de considerar el estrés hídrico como un factor crítico en la selección de genotipos resistentes a enfermedades. Esta consideración es

esencial, especialmente en regiones sujetas a variabilidad climática y condiciones de sequía. Por ejemplo, en condiciones de baja precipitación, los árboles de eucalipto pueden experimentar un estrés hídrico moderado a severo, lo que lleva a una reducción en su crecimiento y un aumento en la vulnerabilidad a patógenos como *Cylindrocladium* (Silva et al., 2019).

1.5 Efecto de las condiciones ambientales en la susceptibilidad de árboles a enfermedades forestales y su relevancia en la selección genética.

Los ensayos que se realizan en diferentes condiciones climáticas contrastantes permiten estudiar de forma detallada el comportamiento de los árboles entregando importante información de las interacciones genotipo por ambiente (GxA) que no solo permiten seleccionar los mejores genotipos para una región específica, sino que también podrían predecir el comportamiento de estos árboles en escenarios de cambio climático (Rubilar et al., 2020). En este tipo de ensayos se incorpora la resistencia a enfermedades, se podría predecir información no solo el comportamiento del árbol sino también del agente patógeno en un contexto de cambio climático, indicando la

susceptibilidad de bosques y plantaciones a un agente patógeno de acuerdo a las condiciones ambientales (Pegg et al., 2010).

Se ha comprobado que factores como la temperatura, precipitaciones y humedad influyen en la incidencia y severidad de distintas enfermedades en especies forestales, favoreciendo los ciclos de vida de los hongos patógenos, así como también al predisponer a los huéspedes a través de estrés abiótico. Enfermedades como el declive en *Populus tremuloides* o el tizón del pino blanco (*Pinus monticola*) en América del Norte se han relacionado con el efecto de sequías prolongadas, provocando un deterioro fisiológico de los árboles y volviéndolos susceptibles al ataque de patógenos secundarios (Sturrock et al., 2011, Hennon et al., 2020).

La variabilidad en la humedad relativa y del suelo también pueden ser factores en determinar la abundancia e infectividad de fitopatógenos. En general, las enfermedades fúngicas requieren alta humedad para la germinación de esporas y la infección de sus plantas huésped. Sin embargo, durante periodos de sequía, la disponibilidad reducida de agua afecta drásticamente estas condiciones, llevando a una disminución en las tasas de infección. En general, en condiciones de sequía, se espera que patógenos

necrotrofos provoque mayor mortalidad, contrariamente, con patógenos biotrofos las enfermedades podrían ser menos severas debido a la relación entre el rendimiento del patógeno y el estado nutricional del árbol (Singh et al., 2023). En el caso de *Dothistroma septosporum* causando el tizón de las acículas del pino, veranos cálidos y húmedos (Columbia Británica, Canadá) se estimula la esporulación y colonización del patógeno, resultando en un aumento del inóculo y en una mayor incidencia y severidad de la enfermedad (Woods et al., 2005, Wang et al., 2006, Welsh et al., 2014). En eucalipto canchros causados por especies de los hongos *Botryosphaeria*, *Quambalaria* y *Chryphonectria* la sequía y consecuente defoliación, predispone a los árboles a un incremento en el desarrollo de canchros y contribuye con la muerte regresiva de ramas (Old et al., 1990, Mphahlele et al., 2021). Cuando los árboles están bajo estrés por sequía, su metabolismo se ve restringido, disminuyendo la traslocación y producción de metabolitos involucrados en defensa contra plagas y patógenos (Hossain et al., 2019). Las precipitaciones, que no solo influyen en la disponibilidad de agua para los árboles, son también un factor clave en la abundancia y diversidad taxonómica de hongos, y se ha demostrado que un aumento en las precipitaciones incide

directamente en la abundancia de hongos fitopatógenos de la filosfera en plantaciones de eucalipto en Australia (Chen et al., 2021).

La susceptibilidad al cancro causado por especies de *Chrysoporthe* podrá ser afectado por las condiciones ambientales. En Zambia, un ensayo de patogenicidad en *E. grandis*, *E. camaldulensis*, *E. cloeziana* y *E. tereticornis* inoculando *C. austroafricana*, *C. syzygiicola* y *C. zambiensis* en dos sitios con ambientes contrastantes, evidenciaron una variación en el tamaño de lesión entre especies y entre sitios, confirmando no solo la interacción huésped-patógeno, sino también con el ambiente. En inoculaciones realizadas con *C. cubensis* en dos condiciones ambientales contrastantes en Sudáfrica, se constató una interacción significativa genotipo (clon) x ambiente, encontrándose además una relación entre los clones con mayor resistencia y la capacidad de recuperación a las heridas por daño mecánico (Van Heerden & Wingfield, 2002). En Brasil, en un ensayo de progenie empleando clones de *E. grandis* en dos condiciones ambientales diferentes y con inóculo natural de *C. cubensis* (Rezende et al., 2021), se constató que en el sitio más cálido y con mayores precipitaciones, aumentaba la incidencia

de la enfermedad y que la respuesta de resistencia de los clones era variable de acuerdo con el sitio.

Los procesos de selección clonal de *Eucalyptus* en Colombia han estado principalmente dirigidos hacia la producción de pulpa, lo que ha implicado enfocarse en criterios de selección como la forma, volumen y apariencia sana. Sin embargo, en los últimos años han surgido programas de mejoramiento que se centran en rasgos de resistencia biótica. En el caso de *C. cubensis* se han seleccionado especies e híbridos resistentes a este patógeno provenientes de regiones con condiciones ambientales similares de otros países. Sin embargo, no se ha estudiado el comportamiento de estos clones en condiciones naturales de campo en regiones tropicales de Colombia. Es esencial comprender y evaluar el desempeño de estos clones en condiciones naturales del país, para verificar que las variedades seleccionadas sean realmente resistentes a la enfermedad del cancro y contribuyan al desarrollo de plantaciones de *Eucalyptus* más productivas y sostenibles para el país.

1.6 Pregunta de investigación

¿Sitios con diferencias en el nivel de precipitaciones podrán tener un efecto en la susceptibilidad de clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* al cancro del eucalipto causado por *Chrysoporthe cubensis*?

1.7 Hipótesis

Clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* serán más susceptibles al cancro del eucalipto causado por *Chrysoporthe cubensis* en un sitio con menor nivel de precipitaciones.

VIII. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Determinar el nivel de susceptibilidad de clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* a la enfermedad del cancro causado por *Chrysoporthe cubensis* en sitios con diferente nivel de precipitaciones.

2.2 Objetivos específicos

Evaluar la susceptibilidad al cancro del eucalipto causado por *Chrysoporthe cubensis* en clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* en sitios con diferentes niveles de precipitaciones.

Determinar la relación entre síntomas en fuste y longitud de lesión en leño de canchros causados por *Chrysoporthe cubensis* en clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

Analizar la correlación entre características físicas de los clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* y su susceptibilidad al cancro del eucalipto causado por *Chrysosporthe cubensis* en sitios con diferentes niveles de precipitación.

IX. METODOLOGÍA

3.1 Aislamiento y selección de *Chrysosporthe cubensis*

3.1.1 Ubicación

La investigación se realizó en el Laboratorio de la Reforestadora Del Sinú ubicado en Montería-Córdoba en el corregimiento de Jaraquiel, en las instalaciones del vivero la Ribera. Las inoculaciones de campo fueron realizadas en ensayos establecidos en las fincas Palmitos y No te Arrepientas, localizadas en Valencia, Departamento de Córdoba, Colombia.

3.1.2 Colecta de muestras de *C. cubensis*

Se recolectaron muestras de *C. cubensis* en cuatro áreas específicas pertenecientes al patrimonio de la empresa denominadas Volcanes, Guadual, Mono Mancho y Las Platas. Las muestras fueron obtenidas desde la corteza de árboles que presentaron signos de infección (peritecios) y desde la lesión del cambium en árboles con cancro más severos. Para la selección de

muestras se consideraron dos clones por cada área: clon con registros de mayor susceptibilidad al patógeno y otro clon que presentaba algún nivel de resistencia o tolerancia a la enfermedad. Para evitar posible contaminación, las muestras fueron colocadas individualmente en bolsas de cierre hermético para su posterior transporte al laboratorio.

3.1.3 Aislamiento y purificación de *C. cubensis*

Desde la muestra con síntomas, corteza y rodela de madera, se seccionaron trozos de 1x1 cm que incluyeron tejido necrosado y sano (zona de avance de la lesión). Los trozos se lavaron con agua destilada y luego se desinfectaron superficialmente con alcohol al 70% por 30 s, seguido de 3 min en solución de hipoclorito de sodio al 3%, finalmente se enjuagaron en agua destilada tres veces durante 3 min. Los trozos de tejido se secaron en papel absorbente para eliminar el exceso de agua y se sembraron en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA). Además, se dejaron trozos de corteza en cámara húmeda para inducir la producción de picnidios y peritecios (cirros) para realizar aislamientos directos al medio PDA. Después de ocho días, los aislados

obtenidos se repicaron a PDA hasta obtener cultivos puros, los cuales se almacenaron en frío (5°C) hasta su posterior uso.

3.1.4 Determinación de agresividad de los aislados de *C. cubensis*.

Para evaluar la agresividad de los aislados de *C. cubensis* se realizaron inoculaciones en segmentos de tallo de árboles (varetas) (Péros & Berger, 1994). Para la obtención de las varetas, en la finca Los Palmitos se seleccionaron árboles desde un rodal de cuatro años del clon híbrido JD01, que no presentaban daños físicos y síntomas de enfermedades. Las varetas tenían 15 cm de largo y de 3-4 cm de diámetro, las que se desinfectaron superficialmente en hipoclorito de sodio al 5% durante 5 min, enjuagadas en agua destilada estéril dos veces y secadas en papel absorbente. En condiciones de laboratorio, la inoculación consistió en depositar un disco de micelio (1.2 cm de diámetro), obtenido desde el borde de la colonia en activo crecimiento en PDA, en una herida de 2 cm de largo que se realizó con bisturí. Luego, la porción de la vareta inoculada fue sellada con Parafilm y en su interior un algodón humedecido (cámara húmeda). Por cada aislado de *C. cubensis* en prueba se inocularon tres varetas, siguiendo un diseño

completamente aleatorizado. En el caso del control se inocularon con medio de cultivo PDA.



Figura 2 Protocolo para determinar la agresividad de los aislados de *Chrysosporthe* en varetas de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. Selección de varetas visiblemente sanas (A). Desinfestación superficial de varetas y herida realizada con bisturí (B). Las varetas inoculadas depositadas en cámaras húmedas (C). Varetas inoculadas y selladas con algodón humedecido y film plástico para preservar las condiciones de humedad (D).

Las varetas inoculadas se depositaron en cajas plásticas esterilizadas con un cerrado hermético, en donde se colocó toalla de papel humedecida con agua destilada estéril, colocándose entre la vareta y la toalla una malla plástica para

evitar el contacto con el agua. Las cajas se mantuvieron a una temperatura de 28°C (Figura 2).

Después de 30 días de incubación se realizó la evaluación que consistió en medir la longitud de las lesiones (cancro) formadas en las varetas. Para ello, se retiró superficialmente la corteza, permitiendo una visualización clara de la lesión desarrollada. La medición se realizó de forma longitudinal y se utilizó un análisis de varianza y comparación múltiple a través del test de Tukey entre los diferentes aislados para determinar cuál de ellos era el más agresivo.

3.2 Ensayos de inoculación de *C. cubensis* en campo

3.2.1 Descripción de los ensayos

Los ensayos de inoculación en campo fueron realizados en las fincas No te Arrepientas y Los Palmitos, códigos 1ES220 y 1ES120, respectivamente, ambas en Valencia, Córdoba (Tabla 1 y Figura 3), de propiedad de la empresa Reforestadora del Sinú.



Figura 3 Mapa de Córdoba, Colombia con ubicación de sitios de ensayo. Sitio lo palmitos y sitio No te Arrepientas utilizados para los ensayos de inoculación en campo y ciudad de Valencia como referencia.

Tabla 1 Información de los ensayos asociados a las pruebas de patogenicidad en campo.

Ensayo	1ES220	1ES120
Departamento	Córdoba	Córdoba
Ciudad	Valencia	Valencia
Predio	No te Arrepientas	Los Palmitos
Diseño	Bloques completos al azar	Bloques completos al azar
Tratamientos	24	24
Bloques	4	4
D. entre plantas	3*3	3*3
Fecha de plantación	25/07/2020	10/07/2020
Fecha de inoculación	23/09/2021	13/09/2021
Coordenadas sitio	76°17'40,8623"W	76°8'36,5863"W
	8°5'32,734"N	8°20'22,6475"N
Altitud	240 m s.n.m.	70 m s.n.m.

Las unidades experimentales consistieron en árboles de 1.5-2 años de 24 genotipos distintos del híbrido entre *Eucalyptus grandis* y *E. urophylla*, multiplicados por producción clonal. Se contó con diez unidades experimentales por cada tratamiento, de las cuales siete fueron inoculadas con el patógeno *C. cubensis*, mientras que las tres restantes fueron inoculadas con medio de cultivo APD (Agar papa dextrosa).

3.2.2 Datos climáticos

Los sitios donde se realizaron los ensayos presentan históricamente diferencias en el nivel de precipitaciones. En cada local de ensayo mediante una estación meteorológica se obtuvo un registro mensual de las precipitaciones desde julio de 2020 hasta diciembre de 2022 (Tabla 2).

Tabla 2 Datos colectados de precipitaciones mensuales para sitio Los Palmitos y sitio No te Arrepientas.

AÑO	MES	PRECIPITACIONES (mm) SITIO LOS PALEMITOS	PRECIPITACIONES (mm) SITIO NO TE ARREPIENTAS
2020	Junio	106	86
2020	Julio	219	261
2020	Agosto	129	192
2020	Septiembre	103	250
2020	Octubre	77	139
2020	Noviembre	157	155
2020	Diciembre	72	81
2021	Enero	65	16
2021	Febrero	6	0

AÑO	MES	PRECIPITACIONES (mm) SITIO LOS PALEMITOS	PRECIPITACIONES (mm) SITIO NO TE ARREPIENTAS
2021	Marzo	110	118
2021	Abril	125	100
2021	Mayo	122	235
2021	Junio	242	157
2021	Julio	126	272
2021	Agosto	212	372
2021	Septiembre*	169	341
2021	Octubre	67	173
2021	Noviembre	53	205
2021	Diciembre	30	9

AÑO	MES	PRECIPITACIONES (mm) SITIO LOS PALEMITOS	PRECIPITACIONES (mm) SITIO NO TE ARREPIENTAS
2022	Enero	41	22
2022	Febrero	54	56
2022	Marzo	101	219
2022	Abril	222	351
2022	Mayo	366	570
2022	Junio	165	217
2022	Julio	169	245
Total acumulado		3308	4842

* Fecha de inoculaciones con *C. cubensis*

3.2.3 Clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* utilizados en inoculaciones

Para el desarrollo de los ensayos se utilizaron 24 clones, cuatro proporcionados por una empresa de Brasil y 17 provenientes del programa de mejoramiento de la empresa y tres desarrollados en Colombia (Tabla 3).

Tabla 3 Descripción de clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* que se utilizaron en los ensayos de inoculación de *Chrysosporthe cubensis* en condiciones de campo.

Clon (n)	Código	Origen	País	Densidad (kg/m ³)	Operación
1	BN46	BNF	Brasil	563	no
2	BA03	BNF	Brasil	559	si
3	HV01	BNF	Brasil	498	si
4	JD01	BNF	Brasil	398	no
5	DT04	CONIF	Colombia	497	si
6	LE07	Cumare	Colombia	460	si
7	PS02	Cumare	Colombia	418	si

Clon (n)	Código	Origen	País	Densidad (kg/m³)	Operación
8	RSV01	RSSC	Colombia	519	En prueba
9	RSA05	RSSC	Colombia	459	En prueba
10	RSA06	RSSC	Colombia	448	En prueba
11	RSA08	RSSC	Colombia	466	En prueba
12	RSA13	RSSC	Colombia	472	En prueba
13	RSA14	RSSC	Colombia	473	En prueba
14	RSA16	RSSC	Colombia	477	En prueba
15	RSA17	RSSC	Colombia	515	En prueba
16	RSA19	RSSC	Colombia	469	En prueba
17	RSG20	RSSC	Colombia	467	En prueba
18	RSP21	RSSC	Colombia	497	En prueba
19	RSP22	RSSC	Colombia	504	En prueba
20	RSA23	RSSC	Colombia	460	En prueba
21	RSB24	RSSC	Colombia	479	En prueba
22	RSB25	RSSC	Colombia	408	En prueba
23	RSB26	RSSC	Colombia	460	En prueba

Clon (n)	Código	Origen	País	Densidad (kg/m³)	Operación
24	RSB27	RSSC	Colombia	475	En prueba

3.2.4 Aislado de *C. cubensis* y producción de inóculo

Para los ensayos, se empleó el aislado de *C. cubensis* que presentó mayor agresividad en las pruebas preliminares en varetas. Este aislado fue repicado en 130 placas de PDA y se dejó crecer durante 7-10 días. Posteriormente, se obtuvieron discos de micelio de los márgenes de cada colonia, utilizando de 10 a 15 discos por placa para la posterior inoculación.

3.2.5 Método de inoculación

Para la inoculación de los árboles (14 meses) se retiró un disco de la corteza con un sacabocado de 12 mm de diámetro a los 60 cm de la base del árbol. En el lugar del disco retirado se colocó un disco de micelio de *C. cubensis* de las mismas dimensiones y la parte con micelio se colocó hacia el tallo.

Enseguida se volvió a colocar el disco de corteza retirado, lo que permitió evitar la desecación del inóculo del patógeno. Además, en esa zona se dispuso algodón humedecido que se cubrió con una cobertura plástica y así obtener una cámara húmeda (Figura 4) (Alfenas et al., 1983).

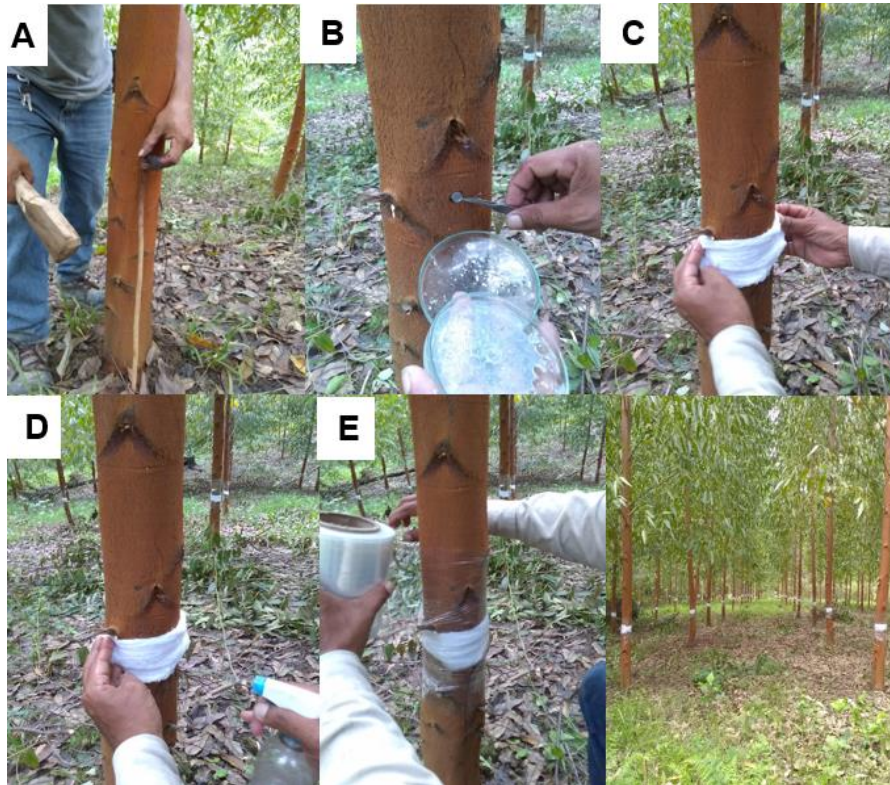


Figura 4 Método de inoculación. Se retiró el disco de corteza desde el árbol a inocular (A). Se realizó la inoculación con disco de micelio (B). Se selló la herida con algodón (C), el cual se humedece con abundante agua (D) y se selló con film plástico (E).

3.2.6 Evaluación del tamaño de lesión y severidad externa del cancro.

9 meses posterior a la inoculación, se procedió a registrar mediante fotografías la lesión externa del fuste (cancro), evaluando en la corteza la presencia de estructuras reproductivas del hongo, presencia de termitas y gomosis. Cada árbol fue cortado con motosierra a la altura de 1.3 m en

sentido vertical al eje del árbol. Luego, la sección del árbol obtenida fue seccionada horizontalmente para medir la necrosis interna asociada a la inoculación artificial (longitud en centímetros) y el crecimiento posterior a la inoculación desde el punto de la inoculación (Figura 5). Además, se registró la existencia de infecciones naturales que en caso de constatarse fueron medida igual que lo realizado en la inoculación artificial.



Figura 5 Corte longitudinal de árbol inoculado artificialmente, la línea continua señala el crecimiento posterior a la inoculación y la línea punteada señala el tamaño de la lesión interna producida por la inoculación.

Antes de cortar la sección de cada árbol, se evaluó la severidad del cancro en la superficie del fuste, mediante una escala visual de severidad de daño con

cinco grados diseñada para el ensayo. Nivel 1: Resquebrajamiento de la corteza muy leve o sin síntomas; nivel 2: Agrietamiento de la corteza en la zona de la inoculación, presencia hinchazón leve; nivel 3: Formación de cancro característico con zonas hundidas y zonas hinchadas en la corteza; nivel 4: Cancro completamente formado y con anillamiento del árbol; Nivel 5: Árbol quebrado en el punto de inoculación). (Figura 6). Para cada clon en cada sitio, se obtuvieron los porcentajes de árboles asignados a cada nivel. Con esto fue posible registrar el número de árboles caídos (Mortalidad), así como también el valor promedio de escala de severidad asignado a cada clon, que posteriormente se correlacionó con las variables de tamaño de lesión, densidad y crecimiento posterior a la inoculación.

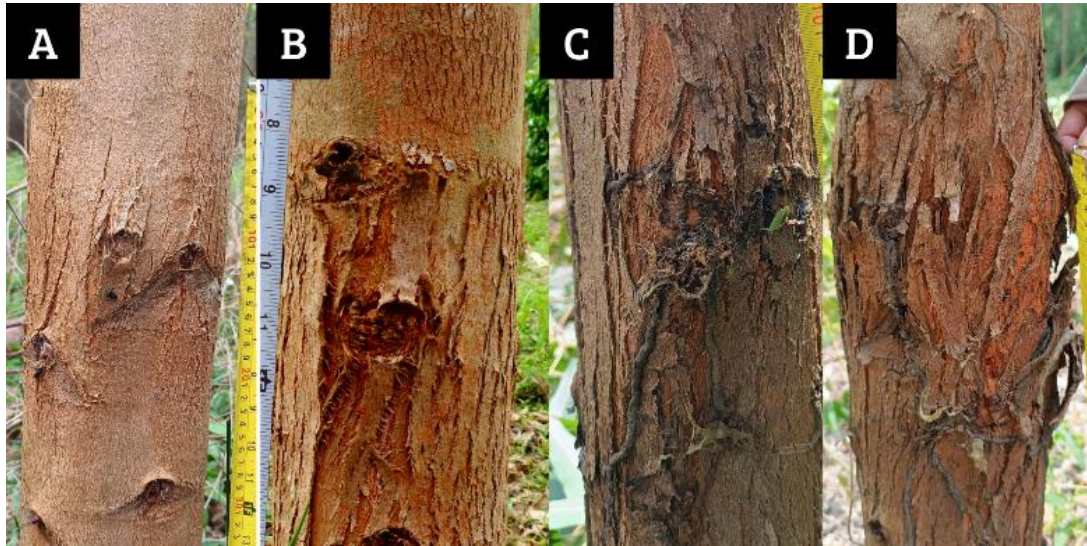


Figura 6 Aspecto externo de cancro producido por inoculación artificial en *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* y nivel de severidad de daño asociado. A) nivel 1: Resquebrajamiento de la corteza muy leve o sin síntomas; B) nivel 2: Agrietamiento de la corteza en la zona de la inoculación, presencia leve de hinchazón; C) nivel 3: Formación de cancro característico con zonas hundidas y zonas hinchadas en la corteza; D) nivel 4: Cancro completamente formado.

La clasificación de los árboles se realizó mediante un riguroso análisis de las fotografías obtenidas, para ejemplificar el criterio de clasificación se elaboró una figura con árboles correspondientes a distintos clones evaluados en ambos sitios clasificados entre los 4 niveles de la escala de severidad desarrollada (Figura 7).

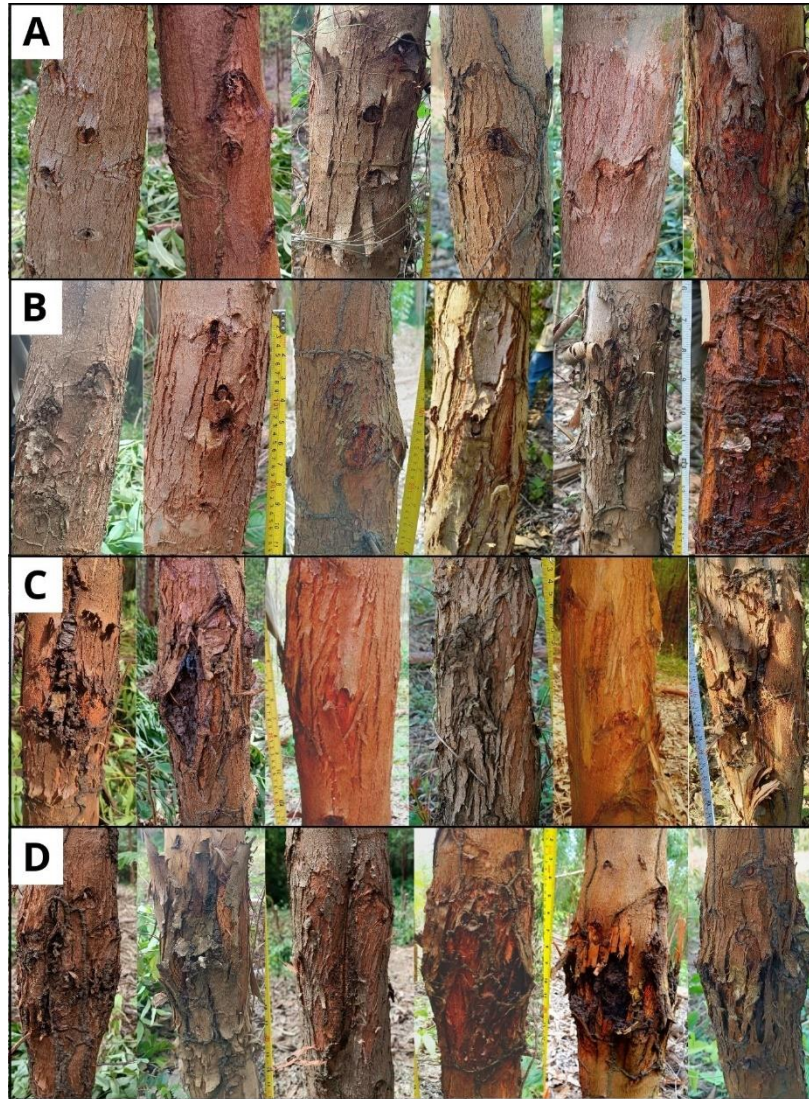


Figura 7 Clasificación de acuerdo con escala visual de severidad de aspecto externo de cancro producido por inoculación artificial en *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* y nivel de severidad de daño asociado. A) nivel 1: Resquebrajamiento de la corteza muy leve o sin síntomas; B) nivel 2: Agrietamiento de la corteza en la zona de la inoculación,

presencia leve de hinchazón; C) nivel 3: Formación de cancro característico con zonas hundidas y zonas hinchadas en la corteza; D) nivel 4: Cancro completamente formado.

Desde el establecimiento de las plantaciones se registró el DAP y la altura de los árboles cada seis meses y hasta finalizar el ensayo: 6, 12, 18 y 24 meses.

3.2.7 Análisis estadístico

Para analizar la influencia de los clones, los sitios y las covariables DAP y densidad de la madera en la longitud de las lesiones de cancro en los árboles, se utilizó un modelo de análisis de varianza de dos vías con un diseño factorial que se describe a continuación:

$$Y_{ijkl} = \mu + \text{Clon}_i + \text{Sitio}_j + \text{Bloque}_k(j) + \text{Cov}_l + (\text{Clon} * \text{Sitio})_{ij} + \varepsilon_{ijkl}$$

Y_{ijkl} Representa la longitud de las lesiones internas producidas por la inoculación para la i -ésima combinación de clon, j -ésimo sitio, k -ésimo bloque y l -ésima repetición.

μ : Es la media general.

Clon_i: Es el efecto del i-ésimo clon.

Sitio_j: Es el efecto del j-ésimo sitio.

Bloque_{k(j)}: Es el efecto del k-ésimo bloque dentro del j-ésimo sitio.

Cov₁: Es el efecto de las covariables (DAP y densidad de la madera) en estudio.

(Clon*Sitio)_{ij}: Es el efecto de la interacción entre clon y sitio.

ε es el error asociado a cada medición.

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Scott-Knott (95% confianza), para determinar diferencias significativas en el tamaño de lesión interna (cm) entre los clones inoculados y tratamiento control. El análisis se llevó a cabo mediante el software R a través de Rstudio. Antes de realizar el análisis se verificaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de las varianzas a los datos previamente filtrados.

Al ser un diseño de bloques completos al azar, el efecto de los sitios contrastantes, así como la interacción genotipo x ambiente, se determinó mediante un análisis de varianza de los tamaños de lesión de los clones entre

sitios y las diferencias entre las medias de los tamaños de lesión inoculada en los clones se obtuvieron a través de la prueba de Scott-Knott.

Finalmente se realizaron análisis de covarianza para calcular el coeficiente de correlación de Spearman entre la longitud de lesión (inoculación artificial) y el grado de severidad de la lesión externa. También se calculó el coeficiente entre otras variables adicionales que se midieron como el DAP y la densidad de los clones estudiados proporcionada por la empresa. A todos los coeficientes de correlación se les calculó su valor de significancia a través del t de Student con un 95% de confianza.

x. RESULTADOS

En el estudio de agresividad realizado sobre varetas, el aislado A2, procedente de la parcela Guadual, registró la mayor longitud de lesión a los 30 días después de la inoculación en condiciones de laboratorio (Figura 8). De acuerdo con el análisis de varianza y posterior test de Tukey realizado, se constató una diferencia estadísticamente significativa entre la longitud de lesión provocada por la cepa A2 en comparación con las otras cepas evaluadas. Basándose en estos resultados, la cepa A2 fue seleccionada para sucesivas pruebas en condiciones de campo.

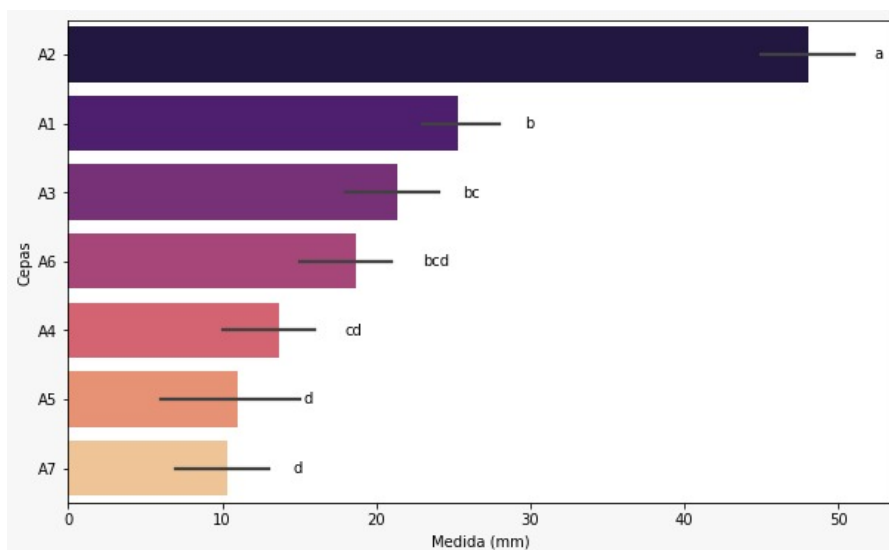


Figura 8 Longitud de lesión promedio en varetas del clon JDH1 inoculados con 7 aislados de *Chrysosporthe cubensis*. Barras corresponden a error estándar y medias con letras

iguales no presentan diferencias significativas, con significancia de 95% utilizando Test de Tukey.

Los resultados obtenidos de la inoculación de *C. cubensis* en campo revelaron diferencias estadísticamente significativas entre clones, sitios y bloques para el tamaño de lesión asociado a los canchales (Tabla 4) verificándose una interacción significativa entre clon y sitio (CxS), pero también entre bloques. En el caso del sitio los palmitos, el bloque 2 se diferenció con un promedio 3 cm por debajo del promedio general de los otros bloques. En el sitio No te Arrepientas, el bloque 1 se diferenció con lesiones promedio significativamente mayores.

Tabla 4 Análisis de Varianza (ANOVA) para la Longitud de lesión en clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* inoculados con *C. cubensis* en sitio Los Palmitos y sitio No te Arrepientas.

Factores	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Bloque	462	6.544	0.00022 ***
Clon	1193	16.894	< 2e-16 ***
Sitio	3965	56.154	1.45e-13 ***
Clon:Sitio	502	7.103	< 2e-16 ***
Residuals	71		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Se realizó una inspección detallada de los árboles inoculados, tanto externa como interna, y de los cultivos derivados de las lesiones. Se observó que estos bloques presentaron una mayor severidad en las lesiones, evidenciada por valores anómalos. Además, hubo una elevada incidencia de termitas y patógenos secundarios (Figura 11). Esta situación se asoció también con una mayor mortalidad y un menor porcentaje de árboles establecidos en la inoculación. Debido a estos factores, se decidió excluir estos bloques del análisis para evitar sesgos. Se realizó un segundo análisis de varianza al conjunto de datos filtrados, utilizando tres bloques en cada sitio (Tabla 5). El análisis reveló diferencias entre sitios y entre clones, pero homogeneidad entre los 3 bloques seleccionados de cada sitio de estudio.

Tabla 5 Análisis de Varianza (ANOVA) para la Longitud de lesión en clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* inoculados con *C. cubensis* en sitio Los Palmitos y sitio No te Arrepientas considerando la exclusión de bloques con datos anómalos.

	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Bloque	51	0.838	0.433
Clon	863	14.221	< 2e-16 ***
Sitio	5650	93.128	< 2e-16 ***
Clon:Sitio	351	5.782	7.33e-16 ***
Residuals	61		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

En el sitio de Los Palmitos, los clones inoculados obtuvieron tamaños de lesión entre 6 cm a 27 cm, diferenciándose estadísticamente en tres grupos a través del test de Scott-knott (Figura 9), en contraste con el sitio No te Arrepientas, donde las lesiones alcanzaron un máximo de 21 cm y se diferenciaron estadísticamente en 4 grupos (Figura 10). Específicamente, el clon RSA05 presentó un promedio de 27 cm en Los Palmitos, mientras que el clon RSG 20 registró un promedio de 21 cm en No te Arrepientas. Esta tendencia se extendió a la severidad media de las lesiones en todos los clones

evaluados, con un promedio de 11.81 cm en Los Palmitos y 7.75 cm en No te Arrepietas.

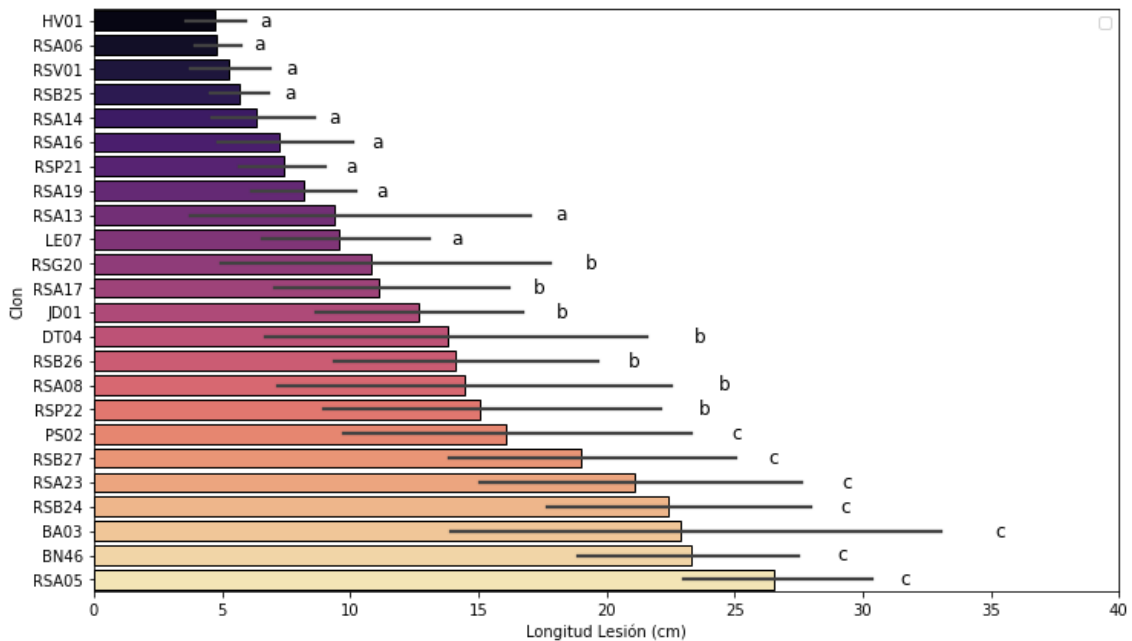


Figura 9 Longitud de lesión promedio para clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* inoculados con cepa de *Chrysosporthe cubensis* en finca Los Palmitos. Barras corresponden a error estándar y medias con letras iguales no presentan diferencias significativas, c con significancia de 95% utilizando Test de Scott-Knott.

En el sitio Los Palmitos, dentro de los genotipos que presentaron mayor susceptibilidad a *C. cubensis* se encuentran los clones BN46, RSB24, BA03, RSA05, RSA23, RSB27 y P202, con lesiones promedio fluctuando aproximadamente entre 26 y 16 cm de longitud, es decir con lesiones 2-5

veces mayores comparado con aquellos clones considerados más resistentes (lesiones de 4-8 cm).

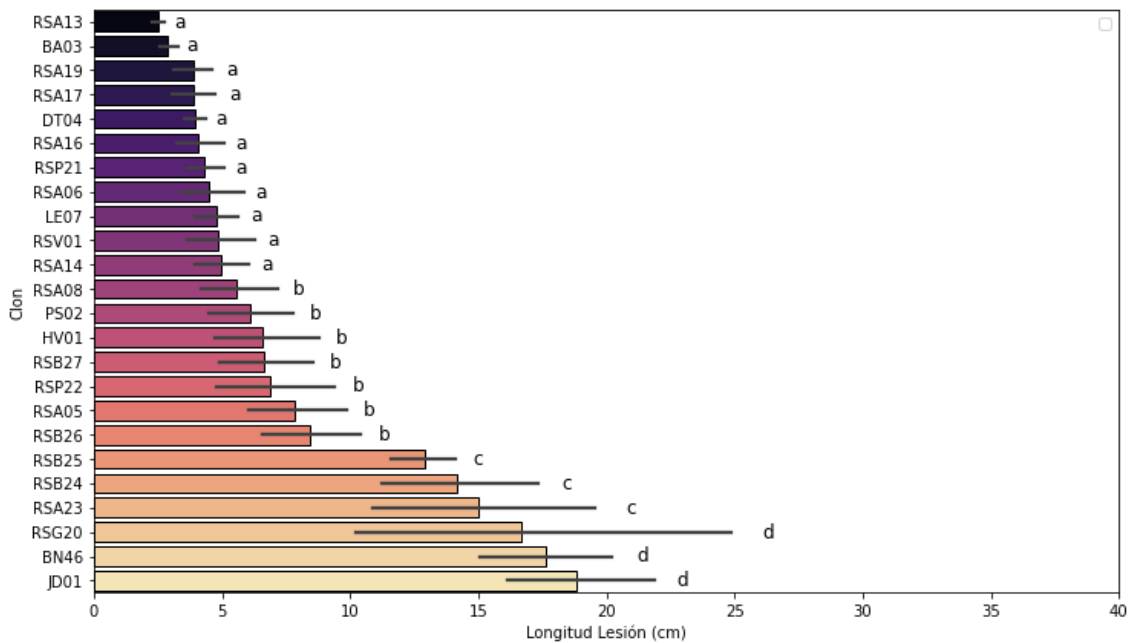


Figura 10 Longitud de lesión promedio para 24 clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* inoculados con cepa de *Chrysosporthe cubensis* en finca No te Arrepientas. Barras corresponden a error estándar y medias con letras iguales no presentan diferencias significativas, con una significancia del 95% utilizando el test de Scott-Knott.

En la finca No te Arrepientas también se determinaron diferencias significativas en respuesta a la inoculación *C. cubensis*, aunque entre los 24 clones probados, 16 de estos los tamaños de lesión promedio fueron menores a 7 cm (Figura 10). Los clones con mayor nivel de resistencia fueron RSA13, BA03, RSA19, DT04, RSA16, RSA17, RSP21, RSA06, LE07, RSA14 y

RSV01, con un promedio de longitud de cancro menor a 5 cm. Sin embargo, en los clones RSA19, DT04 y RSV01 presentaron una mortalidad mayor a 25% (Tabla 6).

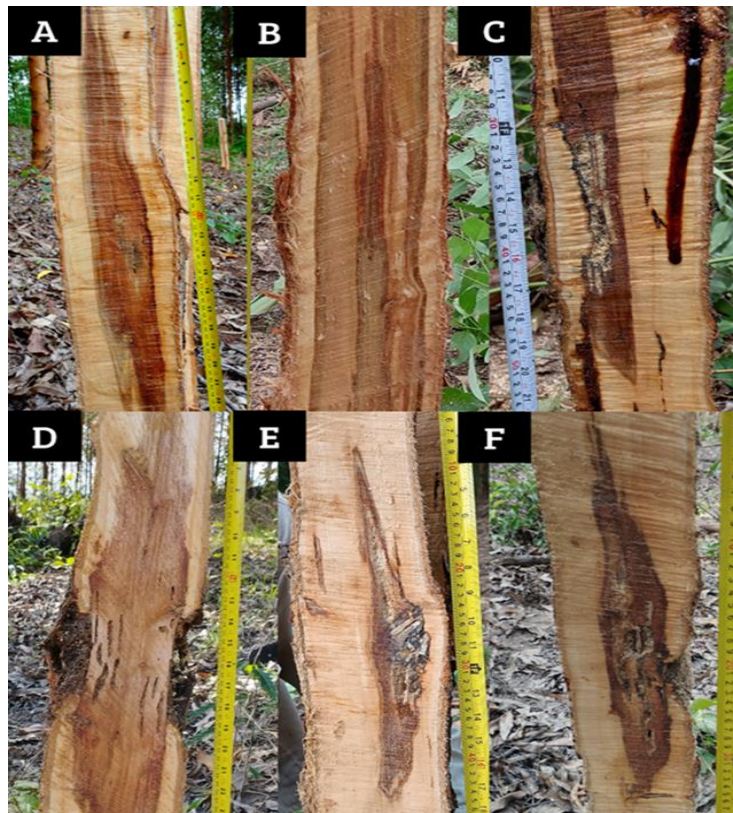


Figura 11 Árboles inoculados con presencia de termitas internas o lesiones producto de otro patógeno. Clon RSA08 con presencia de termitas interna y lesión mayor a 100 cm de longitud (A); Árbol control del clon RSB25 con presencia de patógenos (B) y árboles de clones RSB26 (C); clon BN46 (D), clon RSV01 (E) y clon RSA13 (F) con termitas en la zona de la inoculación.

Desde ambos ensayos, se colectaron en forma aleatoria 50 muestras desde las zonas de avance de las lesiones, tanto desde los árboles inoculados como

desde los árboles control. Los aislamientos desde los trozos de madera arrojaron que el patógeno estaba presente en el 98.5% de las muestras analizadas (Figura 12A, 12B y 12C). Entretanto, en los aislamientos desde muestras de árboles control se obtuvo 91% a otros hongos como especies de *Trichoderma* y un morfotipo similar a *Botryosphaeria* sp (Figuras 12D, 12E y 12F) y en el 9% restante correspondió a *C. cubensis* producto posiblemente a infecciones naturales.

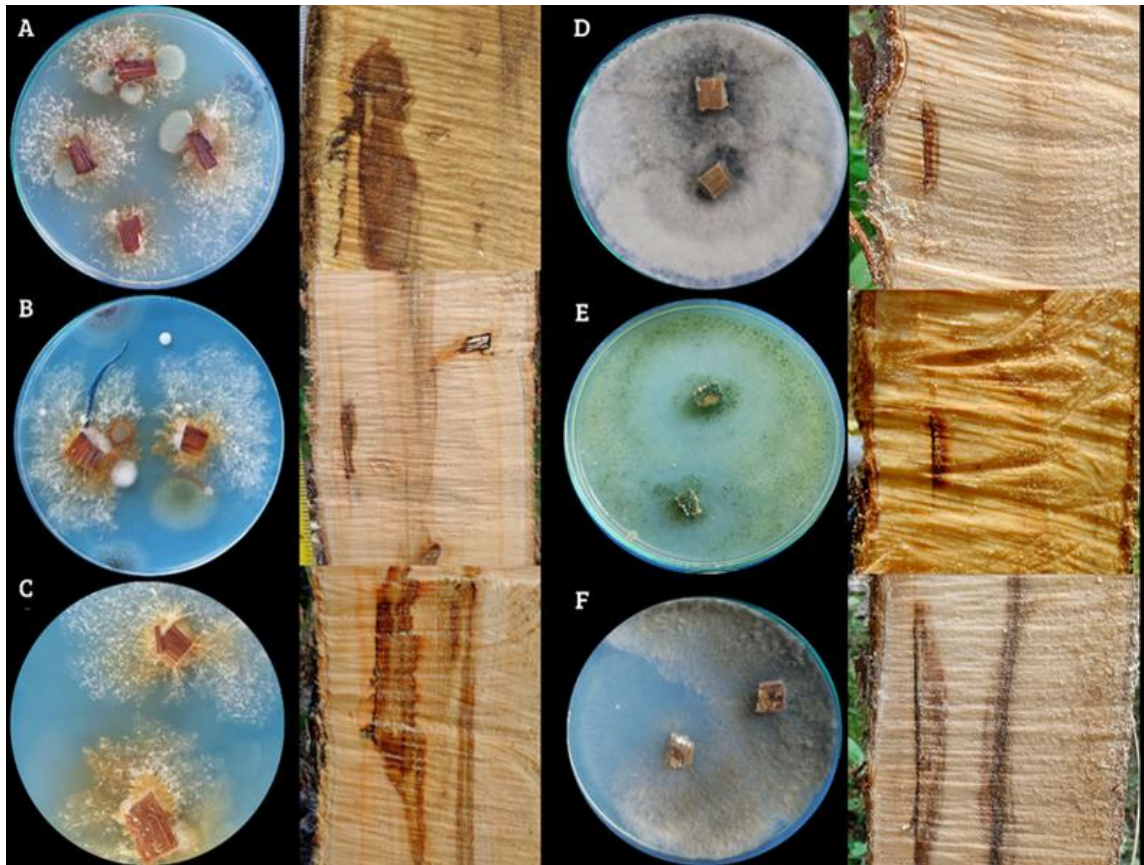


Figura 12 Aislamientos realizados desde zonas de avance de lesión en árboles inoculados y control. *Chrysosporthe cubensis* obtenida desde lesiones de árboles inoculados, en clones AS16 (A), clon JD01 (B); clon RSA08 (C); morfotipo grisáceo desde árbol control en el clon BA03 (D); *Trichoderma* sp. desde árbol control del clon HV01; morfotipo grisáceo desde árbol control del clon JD01 (F).

Un aspecto evidenciado en los resultados fue una relativamente baja correlación ($p= 0.349$) entre el tamaño de lesión y la incidencia de árboles quebrados (Figuras 13 y 14), siendo este valor 0,0015 y 0,1007, para las fincas de Los Palmitos y No te Arrepientas, respectivamente. Estos datos

sugieren que el tamaño de la lesión no está directamente relacionado con la incidencia de árboles quebrados. Se observó que, a pesar de presentar tamaños de lesión pequeños en sentido longitudinal, algunos clones experimentaron una necrosis significativa en profundidad (sentido perpendicular). Este fenómeno indica variaciones en la eficacia de las respuestas defensivas, como la compartimentalización, entre diferentes clones. La evaluación simultánea del tamaño de la lesión y la incidencia de árboles quebrados se presenta como un enfoque necesario para estimar de manera integral la resistencia al cancro en el material genético examinado.

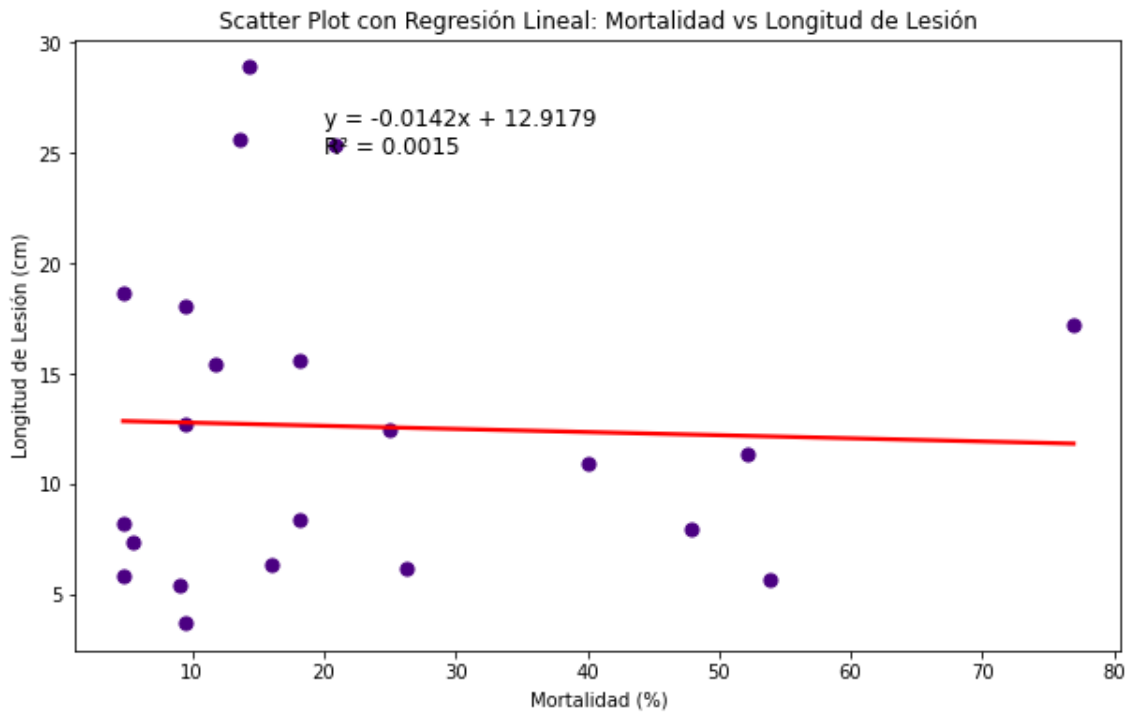


Figura 13 Relación entre incidencia de árboles quebrados (%) y longitud de lesión (cm) en ensayo de sitio Los Palmitos.

Otra posibilidad para explicar esta escasa correlación es que la medición del tamaño de lesión excluyó a los árboles quebrados, lo que significa que al evaluarse sólo aquellos árboles indemnes (no quebrados) hasta el final del ensayo se estuviese subestimado la severidad al evaluarse árboles con menores tamaños de lesión.

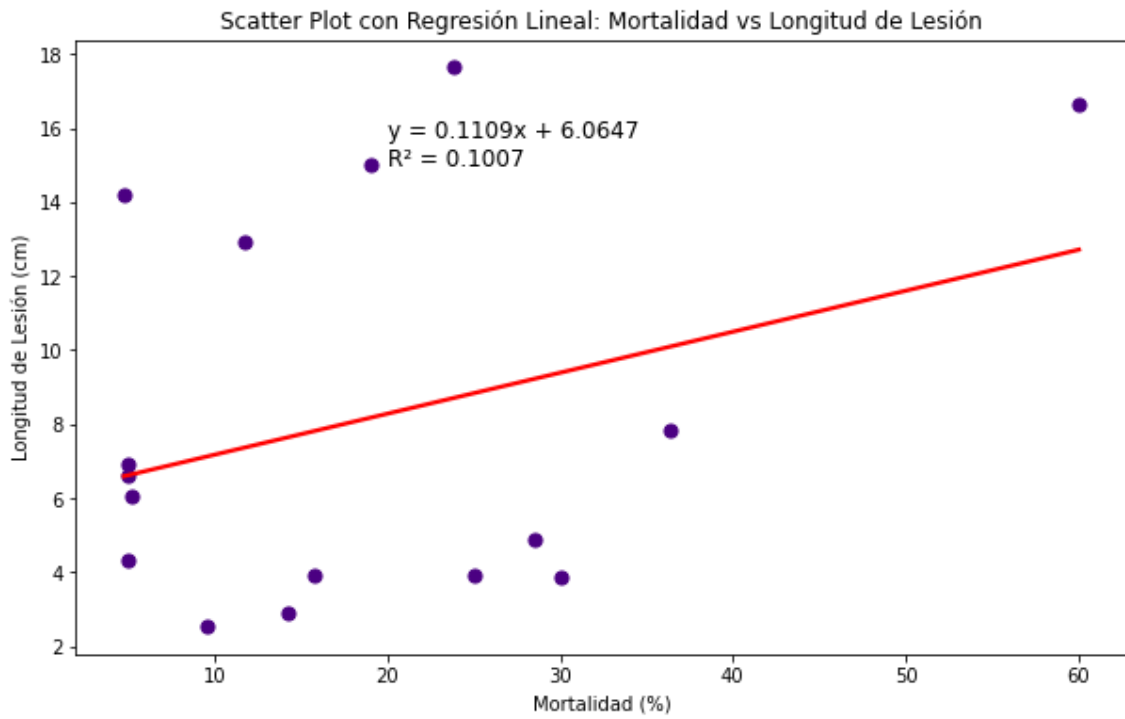


Figura 14 Relación entre incidencia de árboles quebrados (%) y longitud de lesión (cm) en ensayo Finca No te Arrepientas.

Tabla 6 Árboles quebrados (%) y longitud de lesión (cm) para 24 clones de eucalipto utilizados en ambos ensayos. Medias con letras iguales no presentan diferencias con una significancia del 95% utilizando test de Scott-Knott. Medias con letras iguales no presentan diferencias significativas entre clones, con significancia de 95% utilizando Test de Scott-Knott. (AQ = Arboles quebrados; LL = Longitud de lesión; PVES = Promedio valor escala de severidad.)

Sitio	Los Palmitos			No te Arrepientas		
	Clon	AQ (%)	LL (cm)	PVES	AQ (%)	LL (cm)
RSA06	9.5	4.38 (1.45)* A	1.3	0	4.46 (1.16) A	1.3
RSA13	47.8	9.53 (2.23) A	2.6	9.5	2.60 (1.16) A	1.3
RSA14	0	6.13 (1.51) A	1.3	0	5.01 (1.14) A	1.6
RSV01	6.2	5.68 (1.58) A	1.4	28.6	4.79 (1.44) A	2.4
RSA16	8.7	7.48 (1.48) A	1.8	0	4.11 (1.21) A	1.4
RSP21	5.3	7.48 (1.51) A	1.5	5.0	4.30 (1.21) A	1.5
HV01	5.6	4.65 (1.45) A	1.4	0	6.63 (1.149) B	1.4
LE07	4.8	7.58 (1.45) A	1.2	0	4.72 (1.19) A	1.2
RSA17	27.8	10.24 (1.79) B	2.3	15.8	3.86 (1.269) A	1.6
RSA08	9.5	14.52 (1.65) B	1.6	0	5.59 (1.16) B	1.3
DT04	76.9	15.06 (2.34) B	3.3	25.0	3.91 (1.36) A	2
RSB25	0	5.7 (1.42) A	1	11.8	13.01 (1.40) C	1.5

Sitio	Los Palmitos			No te Arrepietas		
	Clon	AQ (%)	LL (cm)	PVES	AQ (%)	LL (cm)
RSP22	15.0	15.06 (1.91) B	2	5.0	6.48 (1.16) B	1.3
PS02	25.0	15.99 (1.65) C	2	5.3	6.22 (1.24) B	1.5
RSB27	9.5	19.03 (1.58) C	1.7	5.0	8.40 (1.16) B	1.3
RSA19	14.3	6.72 (1.48) A	1.5	30.0	3.91 (1.40) A	1.9
RSB26	5.6	12.78 (1.54) B	1.5	0	8.40 (1.26) B	1.4
BA03	13.6	22.92 (1.91) C	2	14.3	2.96 (1.21) A	1.7
RSG20	50.0	7.07 (1.98) B.	2.6	60.0	16.52 (1.71) D	2.9
RSA23	15.0	21.12 (1.65) C	2	19.0	15.04 (1.21) C	1.5
RSA05	20.8	26.56 (1.91) C	2	36.4	7.94 (1.29) B	2
JD01	52.2	12.17 (2.13) B	2.4	0	18.84 (1.19) D	1.2
BN46	4.8	23.33 (1.61) C	1.6	14.3	17.53 (1.36) D	2.3
RSB24	13.6	22.39 (1.74) C	1.8	4.8	14.60 (1.14) C	1.5

* Valor entre paréntesis corresponde a error estándar de la media.

La mortalidad en este estudio fue asimilada a los árboles quebrados producto en la mayoría de los casos a la infección de *C. cubensis*. Este patógeno

normalmente no causa la muerte del hospedero, pero sí una necrosis en los tejidos del cambium, floema y parte del xilema, además de la corteza, y que en condiciones de fuertes vientos produce el quiebre del árbol. Estos árboles pueden rebrotar bajo el punto de quiebre no siendo incluidos como mortalidad, aunque el árbol perdería su valor productivo (Figuras 15).



Figura 15 Árboles quebrados desde la zona de la lesión producida por la inoculación con *Chrysosporthe cubensis*.

Respecto a la escala de severidad, donde cada árbol fue categorizado entre los niveles 1 (Resquebrajamiento de la corteza muy leve o sin síntomas visibles) al 5 (Árbol quebrado), para cada clon en cada sitio, se obtuvieron los porcentajes de árboles asignados a cada nivel (Figuras 16, 17, 18 y 19).

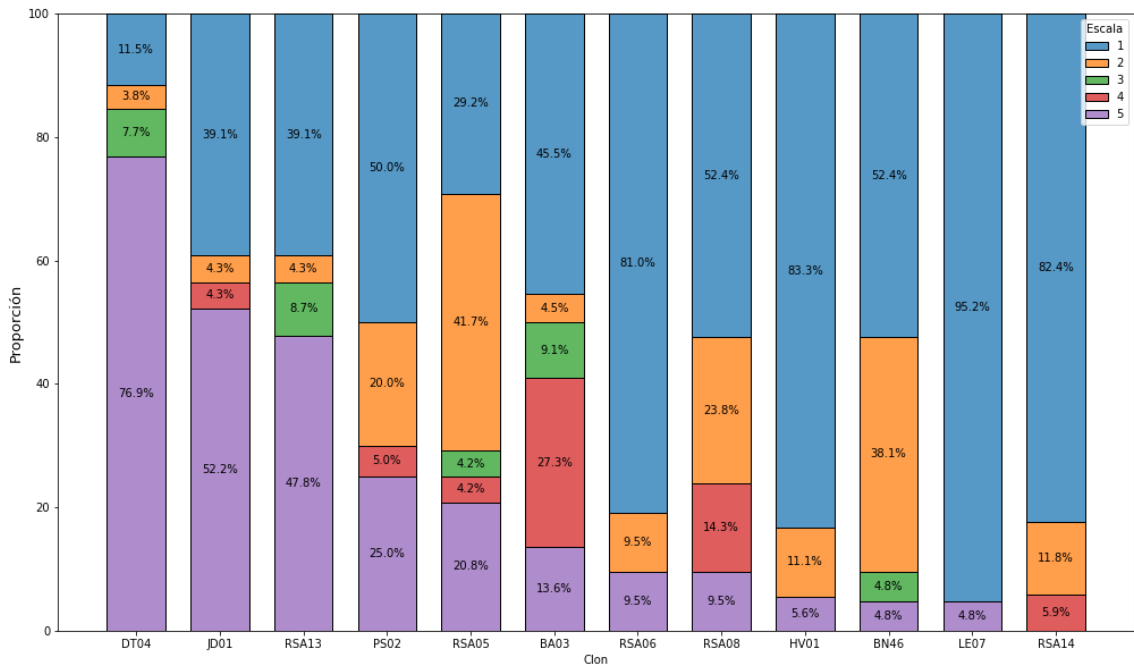


Figura 16 Distribución de la severidad de cancos en fuste en los clones de *Eucalyptus grandis*-x *E. urophylla* inoculados con *Chrysosporthe cubensis* en finca Los Palmitos. Nivel 1 (Azul): Resquebrajamiento de la corteza muy leve o sin síntomas; nivel 2 (Naranja): Agrietamiento de la corteza en la zona de la inoculación, presencia leve de hinchazón; nivel 3 (Verde): Formación de cancro característico con zonas hundidas y zonas hinchadas en la corteza; nivel 4 (Rojo): Cancro completamente formado y con anillamiento del árbol; Nivel 5 (Morado): Árbol quebrado.

Para el sitio Los Palmitos, los clones DT04, RSG20, JD01 y RSA13, sobre el 48% de los árboles presentaron cancos con nivel de severidad 5, con niveles promedios entre 2.4 y 3.3, lo que se traduce en una alta mortalidad.

Los clones RSA23, RSB24, PS02 RSA05 y BA03 presentaron mortalidad entre 10-20% y más de un tercio de los árboles clasificados en severidad 1.

Estos clones tuvieron como promedio una severidad entre 1.8 y 2 puntos y presentaron un comportamiento heterogéneo en la apariencia externa de los canchros formados.

Finalmente, los clones RSB25 y RSA14 no presentaron árboles quebrados (nivel 5), y con canchros más leves entre 2-3, 16,7% el clon RSA14 y 7,4% el clon RSB25, además, que lesiones promedio menores a 6,5 cm, siendo los que evidenciaron mayor nivel de resistencia en esta finca.

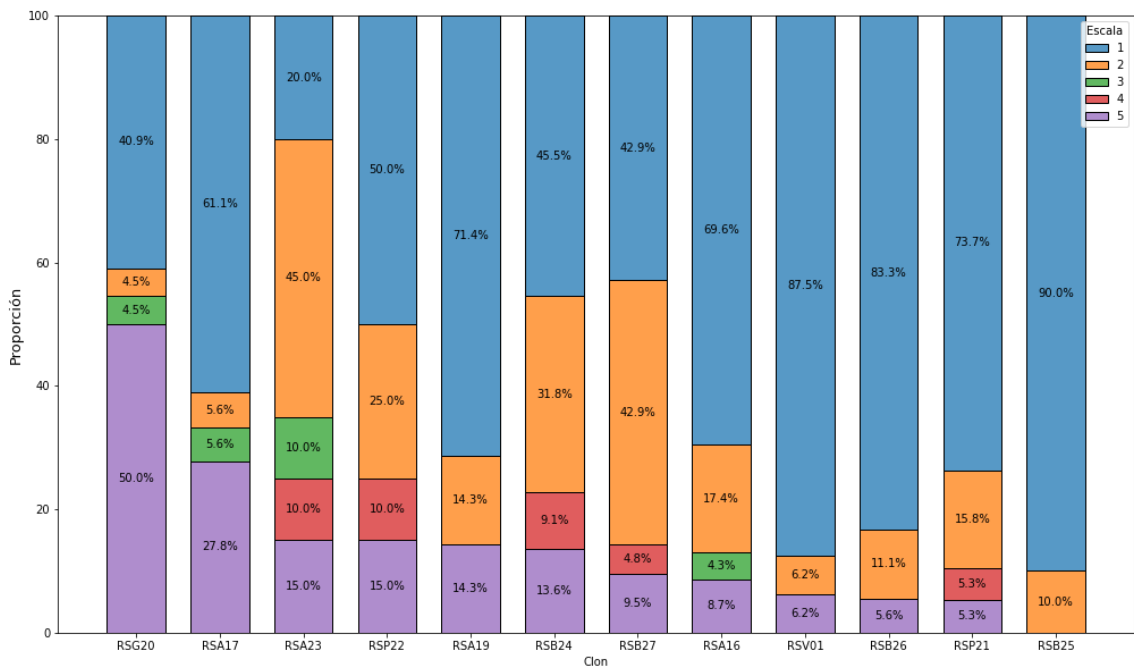


Figura 17 Distribución de severidad externa en clones de *Eucalyptus grandis-x E. urophylla* inoculados con *Chrysosporthe cubensis* en finca Los Palmitos. Se clasificaron según escala de severidad donde nivel 1 (Azul): Resquebrajamiento de la corteza muy leve o sin síntomas; nivel 2 (Naranja): Agrietamiento de la corteza en la zona de la inoculación, presencia leve de hinchazón; nivel 3 (Verde): Formación de cancro

característico con zonas hundidas y zonas hinchadas en la corteza; nivel 4 (Rojo): Cancro completamente formado y con anillamiento del árbol; Nivel 5 (Morado): Árbol quebrado.

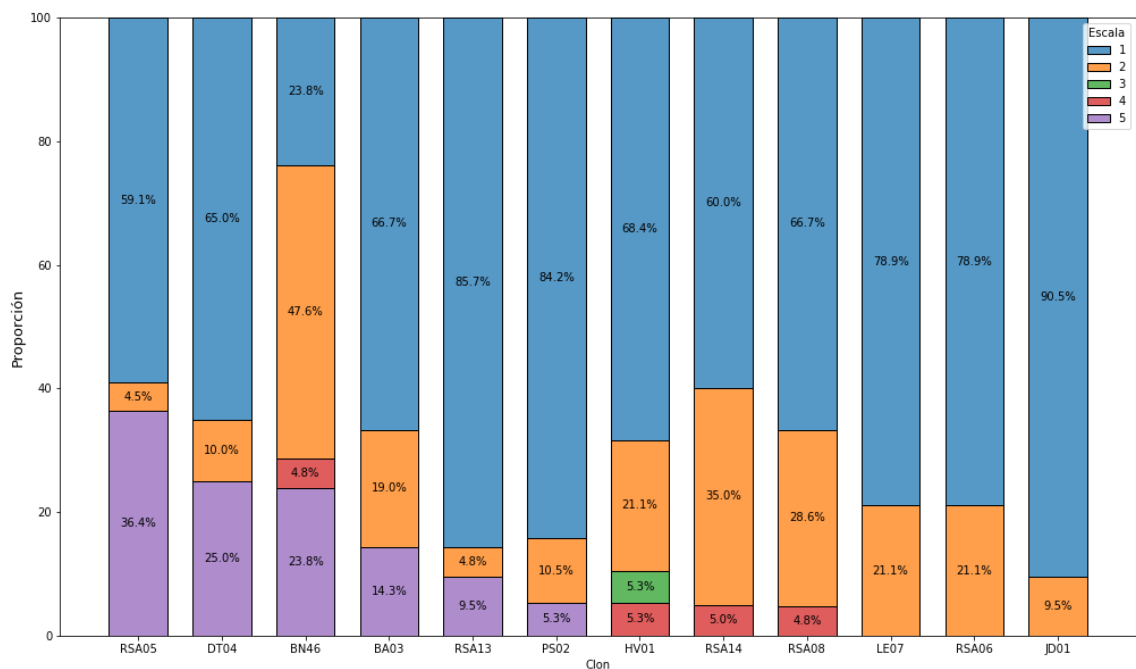


Figura 18 Distribución de severidad externa en clones de *Eucalyptus grandis-x E. urophylla* inoculados con *Chrysosporthe cubensis* en finca No te Arrepientas. Se clasificaron según escala de severidad donde nivel 1 (Azul): Resquebrajamiento de la corteza muy leve o sin síntomas; nivel 2 (Naranja): Agrietamiento de la corteza en la zona de la inoculación, presencia leve de hinchazón; nivel 3 (Verde): Formación de cancro característico con zonas hundidas y zonas hinchadas en la corteza; nivel 4 (Rojo): Cancro completamente formado y con anillamiento del árbol; Nivel 5 (Morado): Árbol quebrado.

Para el sitio No te Arrepientas, los clones con mayor porcentaje de árboles quebrados fueron RSG20, RSV01, RSA19 DT04, BN46 y RSA05. Si bien en esta finca la mortalidad fue menor que en Los Palmitos, los clones RSG20 y RSV01 presentaron una mortalidad superior al 40%; y los clones RSA19,

DT04, BN46 y RSA05 obtuvieron en promedio un 30% de mortalidad. Los valores promedio de severidad para este grupo de clones fluctuaron entre 1.9 y 2.4.

Los clones LE07, RSA06, RSA14, HV01, RSA08 y RSA16 no presentaron árboles categorizado en el nivel 5, con más del 50% de los árboles presentando canchros leves (nivel 1) y tamaños de lesión promedio entre 4 y 5 cm. Los valores promedio de severidad para estos clones variaron entre 1.2 y 1.6, siendo los que presentaron mayor nivel de resistencia en la finca No te Arrepientas.

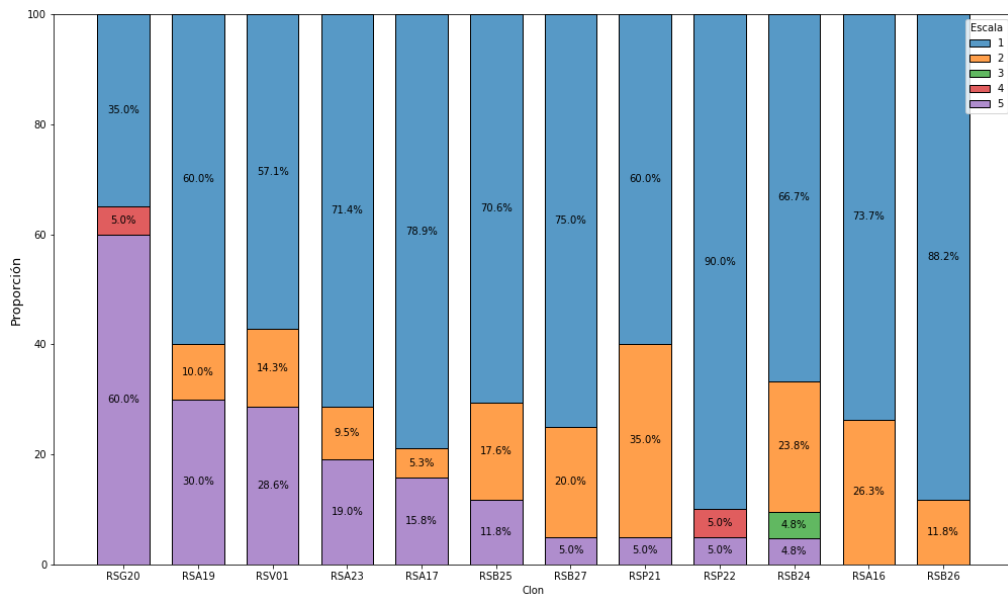


Figura 19 Distribución de severidad externa en clones de *Eucalyptus grandis-x E. urophylla* inoculados con *Chrysosporthe cubensis* en finca No te Arrepientas. Se

clasificaron según escala de severidad donde nivel 1 (Azul): Resquebrajamiento de la corteza muy leve o sin síntomas; nivel 2 (Naranja): Agrietamiento de la corteza en la zona de la inoculación, presencia leve de hinchazón; nivel 3 (Verde): Formación de cancro característico con zonas hundidas y zonas hinchadas en la corteza; nivel 4 (Rojo): Cancro completamente formado y con anillamiento del árbol; Nivel 5 (Morado): Árbol quebrado.

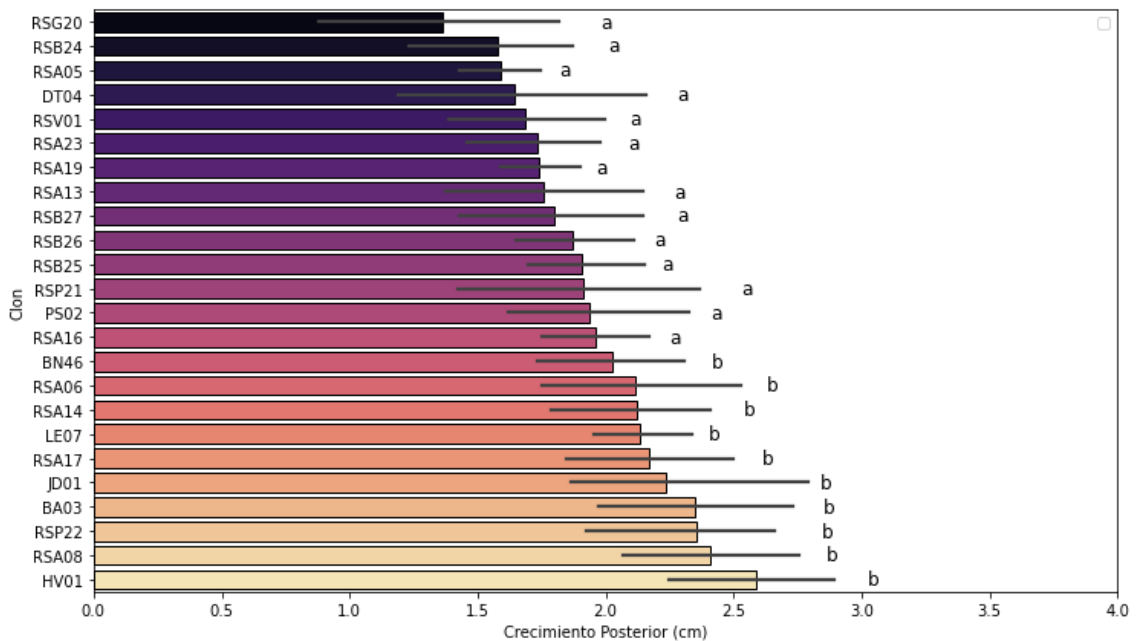


Figura 20 Crecimiento Post-Inoculación de 24 Clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* inoculados con *Chrysosporthe cubensis* en el Sitio Los Palmitos. Las barras representan el error estándar, y las medias indicadas por letras iguales no muestran

diferencias estadísticamente significativas con un 95% de confianza a través del test de Scott-Knott.

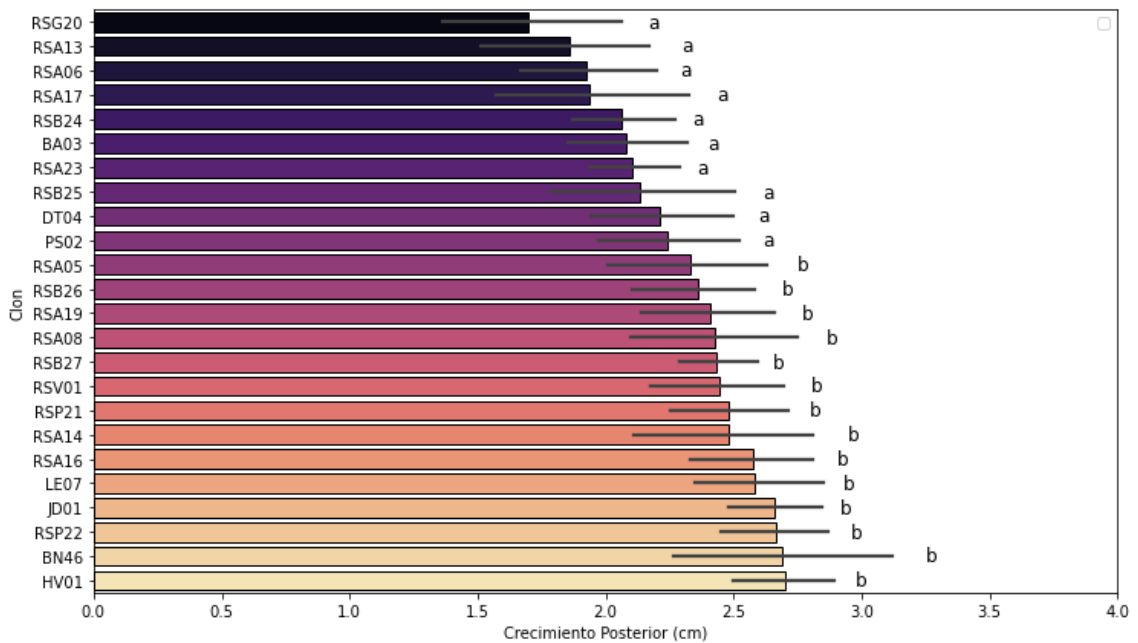


Figura 21 Crecimiento Post-Inoculación de 24 Clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* inoculados con *Chrysosporthe cubensis* en el Sitio No te Arrepientas. Las barras representan el error estándar, y las medias indicadas por letras iguales no muestran diferencias estadísticamente significativas con un 95% de confianza a través del test de Scott-Knott.

Referente al crecimiento posterior a la inoculación se encontraron diferencias significativas entre clones para cada sitio (Figuras 21 y 22), donde el clon RSG20 presentó el menor crecimiento (1.39 cm), posterior a la inoculación en ambos sitios. Los clones HV01, JD01, LE07, RSP22 y BN46, obtuvieron en los mayores crecimientos, con valores superiores a 2.50 cm.

En el sitio Los Palmitos, la matriz de correlación utilizando el método de Spearman reveló una asociación positiva y significativa entre la severidad externa observada en los clones y la longitud de las lesiones internas con un coeficiente de 0.49 ($p=0,01$) (Figura 22 y 23). El crecimiento de los clones después de la inoculación mostró una correlación negativa con la longitud de las lesiones internas ($r = -0.16$) y con la escala de severidad ($r = -0.19$), indicando que clones con un mayor crecimiento posterior a la inoculación podrían estar asociado con un menor tamaño de las lesiones y menor severidad de la enfermedad, denotando cierta resistencia a la enfermedad, sin, embargo ambas correlaciones fueron poco significativas con valores $p=0,46$ y $p=0,39$ respectivamente.

En el sitio No te Arrepientas, los valores de correlación entre las variables de estudio presentaron diferencias con respecto a Los Palmitos (Figura 24). La correlación mas pronunciada se encontró entre la densidad y la escala de severidad con un $r=0.36$ ($p=0.09$). A diferencia de Los Palmitos, en esta finca la relación entre la densidad y la longitud de las lesiones fue negativa ($r = -0.33$), pero poco significativa ($p=0.12$). También se encontró una relación negativa pero poco significativa ($p= 0.32$) entre el crecimiento posterior a la inoculación y la escala de severidad ($r = -0.21$) que implicaría un menor crecimiento posterior a la inoculación en árboles categorizados en valores más altos de severidad promedio.

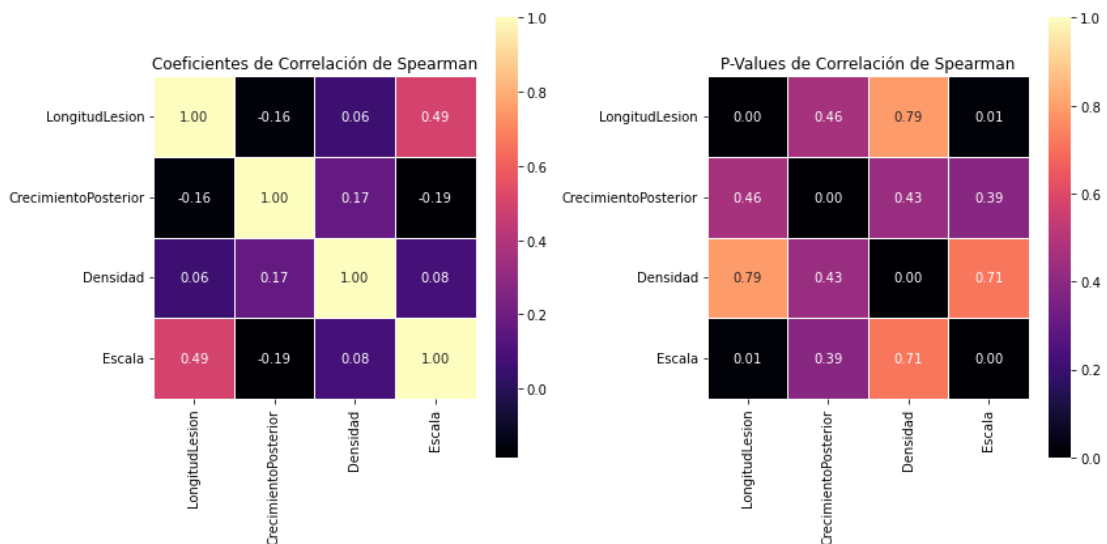


Figura 22 Matriz de correlación a través del método de Spearman para la finca Los Palmitos. Los valores de correlación varían de -1 a +1, con 1 significando una correlación

positiva perfecta, -1 una correlación negativa perfecta, y 0 ninguna correlación. P-values obtenidos a través de prueba *t*-Student con un 95% de confianza.

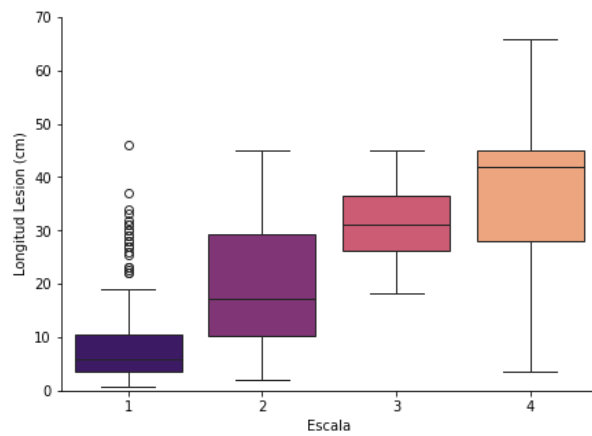


Figura 23 Relación entre la escala de severidad (Valores entre 1 y 4) y la longitud de lesiones (cm) para la finca Los Palmitos.

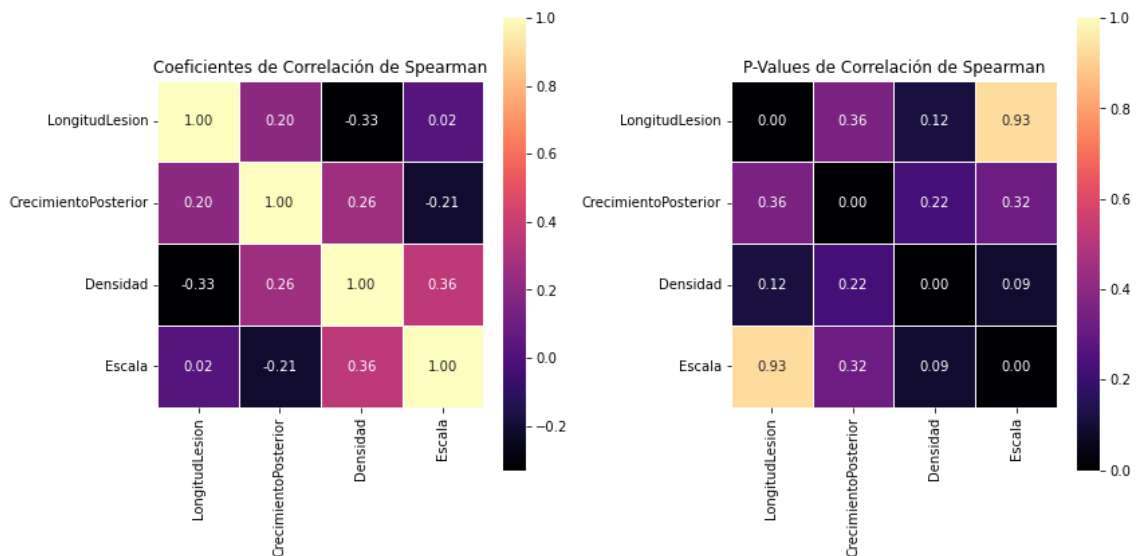


Figura 24 Matrices de correlación para el sitio No te Arrepientas. Los valores de correlación varían de -1 a +1, con 1 significando una correlación positiva perfecta, -1 una

correlación negativa perfecta, y 0 ninguna correlación. P-values obtenidos a través de prueba *t*-Student con un 95% de confianza.

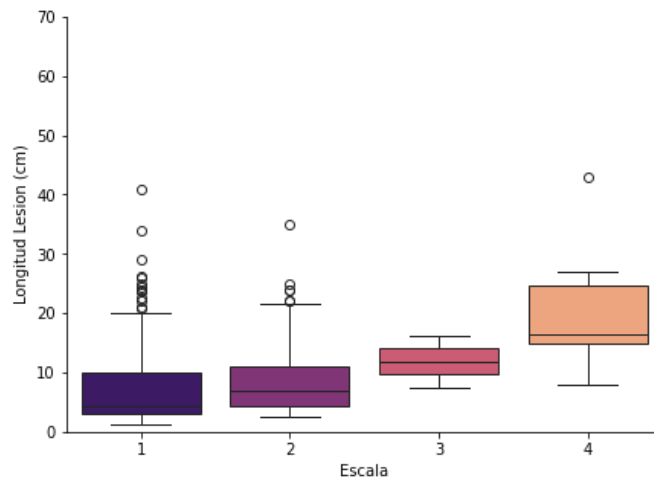


Figura 25 Relación entre escala de severidad (Valores entre 1 y 4) y longitud de lesión (cm) para el sitio No te Arrepientas.

Para visualizar en profundidad la correlación entre la longitud de lesión y escala de severidad se realizaron los análisis por separado para cada sitio y se pudo corroborar la variabilidad en la respuesta a la inoculación en la finca No te Arrepientas así como la poca relación entre la apariencia externa y el tamaño de lesiones internas (Figura 23 y 25).

xi. DISCUSIÓN

La salud y las enfermedades de los eucaliptos han sido objeto de intensa investigación debido a epidemias destructivas observadas en plantaciones y bosques nativos, lo que subraya la necesidad de una comprensión integral de los desafíos en su manejo y control. El cambio climático agudiza esta situación, incrementando la frecuencia e intensidad de eventos climáticos extremos como sequías y olas de calor que, a su vez, elevan la susceptibilidad de los árboles a los patógenos y facilitan la propagación y desarrollo de enfermedades. Estos eventos pueden tener efectos directos e indirectos en las plantas, lo que complica aún más la comprensión de los mecanismos de interacción entre los árboles, los patógenos, la severidad de las enfermedades producidas y el ambiente en que se desarrollan (Sturrock et al., 2011, Wingfield et al., 2013, Hennon et al., 2020).

La severidad de la enfermedad del cancro producido por *Chrysosporthe cubensis* en genotipos de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*, está influenciada por una gran variedad de factores interconectados. Además de las condiciones ambientales como temperatura y precipitaciones, que favorecen la dispersión, germinación y desarrollo de distintos microorganismos

patógeno; la agresividad del patógeno, la genética del árbol y otros factores como la calidad del suelo, la presencia de otros patógenos o plagas, así como las prácticas de manejo forestal pueden contribuir a la vulnerabilidad del árbol y a la gravedad de la enfermedad (Roux et al., 2007; Guimarães et al., 2010; Nakabonge et al., 2020; Dahali et al., 2021). Por lo tanto, un enfoque integrado que considere tanto la genética de los árboles como las condiciones ambientales es esencial para gestionar eficazmente la enfermedad del cancro en plantaciones de *Eucalyptus*.

Los resultados presentados en este estudio indican diferencias significativas en la respuesta a la enfermedad entre sitios y clones, lo cual puede ser atribuido a las variaciones en las condiciones ambientales que se presentaron entre ambos sitios, específicamente, la disponibilidad de agua. El sitio con menor precipitación anual correspondiente a Los Palmitos (1200 mm), que mostró mayores tamaños de lesión y mortalidad, resalta cómo el estrés hídrico influye en la vulnerabilidad de los clones al cancro. Estos resultados, que se alinean con la hipótesis planteada en el estudio, se refuerzan con estudios que demuestran que el déficit hídrico afecta severamente la supervivencia de plántulas de *Eucalyptus grandis* en condiciones de estrés

biótico (Cadena et al., 2020), así como individuos jóvenes de *Eucalyptus spp.* durante el establecimiento de plantaciones (Conradie et al., 1992; Popa et al., 2012; Nakabonge et al., 2020), y árboles adultos (Pinzón-Florián, 2020; Martínez-Cortés et al., 2022). En adición, en ambientes con mayor rango de precipitación, los árboles pueden tener mejores condiciones para resistir infecciones debido a una mayor disponibilidad de recursos hídricos y, por lo tanto, una menor predisposición a infecciones o ataque de insectos.

Uno de los factores más relevantes y significativos en el desarrollo de la enfermedad del cancro son las precipitaciones y más específicamente la disponibilidad hídrica influenciada por las tasas de transpiración reguladas por la humedad relativa del ambiente (Welsh et al., 2014; Chen et al., 2021). Estudios recientes han demostrado que los cambios en los patrones de lluvia pueden alterar significativamente la dinámica de infecciones, afectando directamente la severidad del cancro en *Eucalyptus*, así como otras enfermedades de interés forestal (Kuchma et al., 2020; Oliveira et al., 2022). Esto se traduce en que tanto un aumento como una disminución en los rangos de precipitaciones tiene implicancias en los mecanismos de resistencia a enfermedades en árboles, un ejemplo son los periodos de lluvia intensa luego

de sequía que se asocian con un aumento en la tasa de infección de patógenos forestales producto del estrés hídrico que predispone a los árboles (Periodo de sequía) y las condiciones propicias para el desarrollo de la enfermedad (Periodo de lluvias). Los resultados obtenidos en la investigación refuerzan esta relación, revelando una mayor severidad de las lesiones y un aumento en la mortalidad de los árboles en el sitio con menor rango de precipitaciones (1200 mm al año).

En este estudio se realizaron mediciones de las precipitaciones (mm) mensuales para ambos sitios y la temperatura fue obtenida a través de registros públicos utilizando las coordenadas de ambas localidades. A causa de su ubicación geográfica, ambos sitios presentan una variabilidad térmica mínima a lo largo del año, con una temperatura media máxima de 28°C y media mínima de 21°C. Dentro de los factores abióticos, la temperatura juega un rol importante al afectar la tasa de desarrollo de los patógenos y la respuesta inmune de las plantas. En condiciones de temperaturas más altas, que a menudo acompañan a los períodos de sequía, puede haber un aumento en la actividad de patógenos y plagas, lo que intensifica el riesgo de enfermedades como el cancro tanto en plantaciones establecidas como en

condiciones de invernadero (Van Drunen et al., 2018). Recientemente se ha reportado *C. cubensis* produciendo marchitamiento en minitocones de *Eulayptus grandis x E. urophylla* de un jardín clonal de Brasil en condiciones de temperaturas elevadas (28°C) (Martins et al., 2023).

Un factor crucial en la resistencia a enfermedades es la genética del árbol, ya que determina la capacidad inherente del árbol para resistir o tolerar la infección. En este trabajo se estudió el comportamiento de 24 genotipos frente a la inoculación con *C. cubensis* en sitios con diferente cantidad de precipitaciones, de los genotipos estudiados, 7 correspondían a clones Elite de origen brasilero o de otras zonas de Colombia y los otros 17 genotipos provenían del programa de mejoramiento de la empresa Reforestado del Sinú. En el sitio con menor nivel de precipitaciones, 10 genotipos provenientes del programa de mejoramiento y 2 genotipos Elite obtuvieron lesiones promedio menores a 10 cm, por otro lado, en el sitio con mayor nivel de precipitaciones 12 genotipos del programa de mejoramiento y 5 genotipos elite presentaron tamaños de lesión promedio menores a 8 cm. Además, en el sitio con menor disponibilidad hídrica existió mayor variabilidad en la respuesta a la inoculación en clones Elite. Estas diferencias demuestran la

importancia de utilizar genotipos de origen local, los cuales se han adaptado a las condiciones específicas de la zona.

La adaptación de los clones de *E. grandis* x *E. urophylla* a diferentes niveles de precipitación refleja un complejo equilibrio entre tolerancia a la sequía y resistencia a enfermedades. Los resultados obtenidos, que sugieren una mayor tolerancia al cancro en clones de origen local (Provenientes del programa de mejoramiento), especialmente en sitios con condiciones de déficit hídrico (Menor rango de precipitaciones), se alinean con lo descrito en literatura, que indica adaptaciones genéticas específicas de variedades locales, esperándose que los genotipos de áreas más secas enfrenten mejor los períodos de estrés por sequía que los de regiones más húmedas (Aitken & Whitlock, 2013; Anderegg, 2015). Sin embargo, la variabilidad en la respuesta a enfermedades y plagas, como se observa en *Eucalyptus* y otras especies (Ahrens et al., 2019; van Heerden & Wingfield, 2002), demuestra que la resistencia a enfermedades no depende únicamente de la tolerancia a la sequía.

La literatura científica refleja una amplia concordancia sobre la alta variabilidad genética en aislamientos de *Chrysoporthe* spp. procedentes de distintas regiones, lo que sugiere un flujo genético significativo entre subpoblaciones (Guimarães et al 2010; Li et al., 2017, Oliveira et al., 2021). Esto subraya la importancia de considerar la diversidad genética del patógeno para desarrollar estrategias de manejo efectivas. En las pruebas de patogenicidad realizadas en laboratorio se seleccionó el aislado que causó lesiones de mayor longitud en varetas. El aislado de mayor agresividad fue caracterizado e identificado morfológicamente como *Chrysoporthe cubensis* y utilizado en las pruebas de inoculación en campo.

En este ensayo, se constató una cierta cantidad de valores anómalos significativa (mayor severidad) en el primer bloque del sitio No te Arrepientas y el segundo bloque del sitio Los Palmitos, siendo asociado a la presencia de ataque de termitas causando infecciones múltiples en el fuste de árboles inoculados o blancos por *Chrysoporthe* y eventualmente por otros patógenos secundarios. La presencia de otros insectos o patógenos en el entorno puede complicar la resistencia de los árboles al cancro. Estos agentes

bióticos pueden causar daños adicionales o estrés a los árboles, reduciendo su capacidad para resistir o recuperarse de infecciones (Dahali et al., 2021).

Diversos autores enfatizan en la importancia de la comprensión de los mecanismos de defensa de los árboles frente a patógenos como herramienta fundamental para el manejo forestal (Smith, 2020). Esto se alinea con la teoría de la compartimentación de las lesiones en árboles, como se describe en el trabajo de Shigo (2003), que detalla cómo los árboles forman barreras para limitar la propagación de daños y enfermedades. Estos conceptos son esenciales para entender la interacción entre los clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* y el cancro del eucalipto causado por *Chrysosporthe*, especialmente bajo variadas condiciones de precipitaciones. Ya se ha profundizado en la relación entre la infección por *C. deuterocubensis* y la composición química y durabilidad de la madera de *Eucalyptus urograndis*. La madera infectada por *Chrysosporthe* presenta cambios significativos en sus propiedades químicas, con una disminución en los contenidos de celulosa y hemicelulosa y un aumento en lignina y extractivos. Estos cambios sugieren una adaptación de la madera a la infección, posiblemente como una respuesta defensiva, lo que podría explicar la presencia de valores anómalos en los

árboles evaluados en el presente estudio. La investigación también reveló que la madera infectada presentó una mayor durabilidad contra hongos y termitas, lo que indica una posible ventaja en términos de resistencia biológica. En el presente estudio, la presencia de termitas se asoció a una mayor severidad de lesiones y mayor presencia de infecciones múltiples, especialmente en el sitio con menor rango de precipitaciones. Además, clones como el LE07 presentaron abundante gomosis en la zona de inoculación o zonas de infección secundarias. Estos hallazgos sugieren que las infecciones y los ataques de termitas podrían inducir cambios bioquímicos en *E. urograndis* que afectan su susceptibilidad al cancro (Dahali et al., 2021). Los estudios sobre la plasticidad de los metabolitos secundarios en *Eucalyptus* (Eyles et al., 2010; Hayes et al., 2014) proporcionan un contexto adicional, destacando cómo las diferencias en la composición química pueden influir en la susceptibilidad a enfermedades. Estos hallazgos se asocian con la abundancia de gomosis en respuesta a la inoculación en algunos de los genotipos probados en este estudio.

La correlación positiva y significativa entre la severidad externa de los canchros y las longitudes de lesiones internas formadas encontrada en el sitio

Los Palmitos podría permitir usar la severidad del cancro como indicador de la magnitud del daño interno, destacando la posibilidad de desarrollar métodos de diagnóstico no invasivos, para *C. cubensis* al menos en evaluaciones preliminares de campo. Sin embargo, la baja correlación entre estas variables en el sitio No te Arrepietas sugiere influencia ambiental en la respuesta de los clones a la enfermedad, ya que se encontró una mayor variabilidad en el aspecto externo de los clones (Escala de severidad) pese a que en general el sitio obtuvo una menor severidad interna (Longitud de lesiones), la mayor disponibilidad hídrica del sitio No te Arrepietas podría permitir a los árboles plantados en este sitio tener una mejor tolerancia a la inoculación y por lo tanto, una respuesta más variable.

En el sitio No te Arrepietas, no se encontraron valores de correlación significativos entre las variables de estudio. El coeficiente más pronunciado se encontró entre la densidad y la escala de severidad con un valor de $r=0.36$ ($p=0,09$); y entre la densidad y la longitud de lesión con un coeficiente de $r=-0.33$ ($p=0,12$) que podría implicar una relación entre estas tres variables y se podría resumir en que árboles con mayor densidad de madera obtuvieron longitudes de lesión menor, pero fueron categorizados con valores más altos

de severidad externa de los canchales producidos por la inoculación con *C. cubensis*. Aunque los valores de correlación entre estas variables no fueron significativos, el papel de la densidad de la madera en la resistencia a las enfermedades se ha examinado previamente. Algunos autores sugieren que una mayor densidad de la madera podría mejorar la capacidad de resistir ciertas enfermedades o plagas (Mafia, 2023). La madera más densa a menudo presenta mayores barreras estructurales a la infestación y puede ser indicativo de la salud y la resistencia general de un árbol. La literatura específica sobre las propiedades de la madera, incluidos estudios en álamo, cerezo silvestre y ciprés, muestra que la densidad y otras características de la madera tienden a ser bastante consistentes en diferentes ambientes, sugiriendo una menor plasticidad fenotípica en estos rasgos en comparación con otros rasgos como las tasas de crecimiento (Nocetti et al., 2017).

El cambio climático puede incrementar la vulnerabilidad a ciertas enfermedades, producto de sus conocidas implicancias: Incremento en la temperatura media global y una mayor incidencia de fenómenos climáticos extremos tales como sequías e inundaciones. Se considera que el estrés abiótico inducido por cambios climáticos puede incrementar la

vulnerabilidad de los árboles frente a patógenos. Asimismo, se postula que variaciones en la temperatura y humedad ambiental podrían modificar significativamente la dinámica de esporulación y dispersión de patógenos. Además, la migración de patógenos, potenciada por el cambio climático, podría ampliar la incidencia y distribución geográfica del cancro en Colombia, América latina y el mundo. La posibilidad de emergencia de nuevas amenazas fitosanitarias, derivadas de alteraciones en la composición de especies arbóreas o de la introducción de especies invasoras, constituye otro aspecto crítico a considerar.

Colombia, con una extensa cobertura forestal que representa una parte significativa de la biodiversidad mundial, es un actor clave en el sector forestal de América Latina y el Caribe. La investigación sobre enfermedades en eucaliptos es crucial para el país, dada la extensión de sus plantaciones comerciales, que incluyen un área considerable dedicada a especies de *Eucalyptus*. Este enfoque no solo es vital para mantener la salud de los bosques naturales y plantaciones, sino también para sostener la producción de madera y otros productos forestales. Al mejorar la salud de los eucaliptos, se fortalece la industria maderera del país, se protegen los bosques nativos y

se apoya la biodiversidad. Además, al abordar eficazmente las enfermedades forestales, se asegura la continuidad de los servicios ecosistémicos proporcionados por los bosques, esenciales para la conservación del medio ambiente y la mitigación del cambio climático.

Finalmente, el contexto de este trabajo subraya la necesidad de adoptar estrategias integradas y específicas para la gestión y mejora de la productividad de las plantaciones forestales en Chile (Infor, 2015). Esto es particularmente crítico para abordar amenazas potenciales como el cancro en eucalipto. Aunque actualmente este patógeno no se encuentra presente en el país, los escenarios de cambio climático podrían alterar este panorama. Los cambios en los patrones climáticos pueden favorecer el desplazamiento de patógenos hacia nuevas áreas (Van der Merwe et al., 2013), poniendo en riesgo las plantaciones forestales no solo en Chile, sino en toda América Latina y otras regiones del mundo. Por lo tanto, es fundamental asegurar la sostenibilidad y el éxito de estas plantaciones para enfrentar dichos desafíos en diversas condiciones climáticas. .

XII. CONCLUSIÓN

Este estudio abordó la pregunta de investigación sobre el efecto del nivel de precipitaciones en la susceptibilidad al cancro del eucalipto en clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. Se logró determinar la susceptibilidad de los clones inoculados a la enfermedad en diferentes condiciones de precipitación y los resultados revelaron una posible relación entre el nivel de precipitaciones y la severidad del cancro. Los clones en el sitio Los Palmitos, con menores precipitaciones anuales (1200 mm), mostraron una mayor susceptibilidad manifestada por lesiones de mayor longitud, cancos más severos y mayor mortalidad, confirmando la hipótesis planteada en este estudio. Por otro lado, en el sitio No te Arrepientas (2300 mm anuales), se observaron lesiones menos severas y menor mortalidad, aunque con variabilidad en la apariencia de las lesiones y un ataque más severo por termitas. Este hallazgo resalta la influencia de la disponibilidad hídrica en la predisposición de los clones a su tolerancia o susceptibilidad a enfermedades.

En el sitio de Los Palmitos, con baja disponibilidad hídrica, se encontró una correlación significativa entre la severidad visible de los cancos y la extensión interna de las lesiones, sugiriendo que la apariencia externa puede

ser un indicador confiable de la severidad interna, lo cual es valioso para la detección y mejora de clones susceptibles. Sin embargo, en el sitio No te Arrepietas, con mayor disponibilidad hídrica, esta correlación no se observó y hubo mayor variabilidad en las respuestas de los clones, indicando distintos mecanismos de defensa y la necesidad de estrategias diferenciadas de manejo fitosanitario según las condiciones del sitio.

Por último, se intentó correlacionar las características físicas de los clones con su susceptibilidad al cancro, sin embargo, no se encontraron asociaciones estadísticamente significativas. Esto sugiere que otros factores genéticos o ambientales podrían estar influyendo y merecen una investigación más detallada.

XIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bruner, S. C. 1917. Una enfermedad gangrenosa de los eucaliptos. Estación Experimental Agronómica: Santiago de Las Vegas, Cuba. Boletine 37: 1-38.

Chen, Q.-L., Hu, H.-W., Yan, Z.-Z., Li, C.-Y., Nguyen, B.-A.T., Zhu, Y.-G. et al., 2021. Precipitation increases the abundance of fungal plant pathogens in *Eucalyptus* phyllosphere. *Environmental Microbiology*, 23 12, 7688-7700.

Chungu, D., et al., 2010. "Taxonomy and pathogenicity of two novel *Chrysosporthe* species from *Eucalyptus grandis* and *Syzygium guineense* in Zambia." *Mycological Progress* 9: 379-393.

Chungu, D., Siyingwa, J., Ng'andwe, P. and Chitala Chungu, B. 2019. Lesion size induced by *Chrysosporthe* fungal pathogens varies between *Eucalyptus* species and geographic locations in Zambia. *Southern Forests: Journal of Forest Science*, 81 1, 39-44.

Conradie, E., et al., 1990. "*Cryphonectria* Canker of *Eucalyptus*, an Important Disease in Plantation Forestry in South Africa." *South African Forestry Journal* 1521: 43-49.

Conradie, E., Swart, W.J. and Wingfield, M.J. 1992. Susceptibility of *Eucalyptus grandis* to *Cryphonectria cubensis*. *European Journal of Forest Pathology*, 22 5, 312-315.

Dahali R., P. Md. Tahir, A.S.M. Roseley, L.S. Hua, E.S. Bakar, Z. Ashaari, M.R. Abdul Rauf, N.A. Zainuddin, N.S. Mansoor. 2021. Influence of *Chrysoporthe deuteroncubensis* Canker Disease on the Physical and Mechanical Properties of *Eucalyptus urograndis*. *Forests* 12(5): 639.

Gonçalves, J. L. d. M., et al., 2013. "Integrating genetic and silvicultural strategies to minimize abiotic and biotic constraints in Brazilian eucalypt plantations." *Forest Ecology and Management* 301: 6-27.

Gryzenhout, M., et al., 2004. "*Chrysoporthe*, a new genus to accommodate *Cryphonectria cubensis*". *Studies in Mycology* 50: 119-141.

Gryzenhout, M., et al., 2005. "*Chrysoporthe doradensis* sp. nov. pathogenic to *Eucalyptus* in Ecuador." *Fungal Diversity* 20.

Gryzenhout, M., et al., 2006. "Novel hosts of the *Eucalyptus* canker pathogen *Chrysoporthe cubensis* and a new *Chrysoporthe* species from Colombia." *Mycological Research* 1107: 833-845

Gryzenhout, M., et al., 2006. "New taxonomic concepts for the important forest pathogen *Cryphonectria parasitica* and related fungi." *FEMS Microbiology Letters* 2582: 161-172.

Guimarães, L. M. d. S., et al., 2010. "Genetic control of *Eucalyptus urophylla* and *E. grandis* resistance to canker caused by *Chrysoporthe cubensis*." *Genetics and Molecular Biology* 333: 525-531.

Heath, R.N., Gryzenhout, M., Roux, J. and Wingfield, M.J. 2006. Discovery of the Canker Pathogen *Chrysosporthe austroafricana* on Native *Syzygium* spp. in South Africa. *Plant Disease*, 90 4, 433-438.

Hennon, P.E., Frankel, S.J., Woods, A.J., Worrall, J.J., Norlander, D., Zambino, P.J. et al., 2020. A framework to evaluate climate effects on forest tree diseases. *Forest Pathology*, 50 6, e12649.

Hodges, C. S. 1980. "The Taxonomy of *Diaporthe cubensis*." *Mycologia* 723: 542-548

Hossain, M., Veneklaas, E.J., Hardy, G.E.S.J. and Poot, P. 2019. Tree host–pathogen interactions as influenced by drought timing: linking physiological performance, biochemical defence and disease severity. *Tree Physiology*, 39 1, 6-18.

Kuchma O., D. Janz, L. Leinemann, A. Polle, K. Krutovsky, O. Gailing. 2020. Hybrid and Environmental Effects on Gene Expression in Poplar Clones in Pure and Mixed with Black Locust Stands. *Forests* 11(10): 1075.

Li, Y., et al., 2017. "Genotype by environment interactions in forest tree breeding: review of methodology and perspectives on research and application." *Tree Genetics & Genomes* 133

Martínez-Cortés, Ó. G., et al., 2022. "An analysis of wood availability under six policy scenarios of commercial forest plantations in Colombia." *Forest Policy and Economics* 138: 102722.

Martins M.D., D.C. Guterres, P.R.A. Andrade, F.J. Machado, G.Q. Furtado. 2023. *Chrysoporthe cubensis* emerges causing wilt on *Eucalyptus* mini-stumps in Brazil. *Australasian Plant Pathology* 52(5): 517-527.

Mphahlele, M.M., Isik, F., Hodge, G.R. and Myburg, A.A. 2021. Genomic Breeding for Diameter Growth and Tolerance to *Leptocybe* Gall Wasp and *Botryosphaeria/Teratosphaeria* Fungal Disease Complex in *Eucalyptus grandis*. *Frontiers in Plant Science*, 12.

Myburg, H., et al., 2004. "DNA sequence data and morphology define *Cryphonectria* species in Europe, China, and Japan." *Canadian Journal of Botany* 82(12): 1730-1743.

Myburg, H., et al., 2003. "Conspecificity of *Endothia eugeniae* and *Cryphonectria cubensis*: a re-evaluation based on morphology and DNA sequence data." *Mycoscience* 44(3): 187-196.

Nakabonge, G., Roux, J., Gryzenhout, M. and Wingfield, M.J. 2006 Distribution of *Chrysoporthe* Canker Pathogens on *Eucalyptus* and *Syzygium* spp. in Eastern and Southern Africa. *Plant Disease*, 90 (6), 734-740.

Nakabonge, G., Namukasa, E. and Tumwebaze, S.B. 2020 Susceptibility of *Eucalyptus* hybrid clones to *Botryosphaeria* canker in Uganda. *Journal of Sustainable Forestry*, 39 (4), 407-416.

Nocetti, M., Della Rocca, G., Berti, S., Brunetti, M., Di Lonardo, V., Pizzo, B., & Danti, R. 2017. Clonal consistency of wood technological properties in canker-resistant *Cupressus sempervirens* clones at two contrasting sites. *Tree genetics & genomes*, 13, 1-12.

Old, K.M., Gibbs, R., Craig, I., Myers, B.J. and Yuan, Z.Q. 1990. Effect of Drought and Defoliation on the Susceptibility of Eucalypts to Cankers Caused by *Endothia gyrosa* and *Botryosphaeria ribis*. *Australian Journal of Botany*, 38 6, 571-581.

Oliveira M., N. van der Merwe, M. Wingfield, B. Wingfield, T. Soares, A. Kanzi, M. Ferreira. 2021. *Chrysoporthe puriensis* sp. nov. from Tibouchina spp. in Brazil: an emerging threat to *Eucalyptus*. *Australasian Plant Pathology* 50(1): 29-40.

Oliveira M.E.S., A.M. Kanzi, N.A. Van Der Merwe, M.J. Wingfield, B.D. Wingfield, G.A. Silva, M.A. Ferreira. 2022. Genetic variability in populations of *Chrysoporthe cubensis* and *Chr. puriensis* in Brazil. *Australasian Plant Pathology*.

Pegg, G. S., et al., 2010. "The *Eucalyptus* canker pathogen *Chrysoporthe cubensis* discovered in eastern Australia." *Australasian Plant Pathology* 394: 343.

Péros, J. and Berger, G. 1994. A rapid method to assess the aggressiveness of *Eutypa lata* isolates and the susceptibility of grapevine cultivars to *Eutypa* dieback. *Agronomie*, 14 8, 515-523.

Pinzón-Florián, O. P. 2020. Pests Management in Colombian Forest Plantations, Springer International Publishing: 145-169.

Popa V., E. Déziel, R. Lavallée, E. Bauce, C. Guertin. 2012. The complex symbiotic relationships of bark beetles with microorganisms: a potential practical approach for biological control in forestry. *Pest Management Science* 68(7): 963-975

Rezende, E. H., et al., 2021. "Potencial de seleção em uma população de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden, para resistência à mancha foliar e ao cancro." *Ciência Florestal* 314: 1930-1948.

Rodas, C. A., et al., 2005. "Discovery of the *Eucalyptus* canker pathogen *Chrysosporthe cubensis* on native *Miconia* Melastomataceae in Colombia." *Plant Pathology* 544: 460-470.

Roux J., B. Eisenberg, A. Kanzler, A. Nel, V. Coetzee, E. Kietzka, M.J. Wingfield. 2007. Testing of selected South African Pinus hybrids and families for tolerance to the pitch canker pathogen, *Fusarium circinatum*. *New Forests* 33(2): 109-123

Rubilar, R., et al., 2020. "Climate and water availability impacts on early growth and growth efficiency of *Eucalyptus* genotypes: The importance of GxE interactions." *Forest Ecology and Management* 458: 117763.

Sharma, J.K., Mohanan, C. and Florence, E.J.M. 1985. Occurrence of *Cryphonectria* canker disease of *Eucalyptus* in Kerala, India*. *Annals of Applied Biology*, 106 2, 265-276.

Seixas, C. D. S., et al., 2004. "*Cryphonectria cubensis* on an indigenous host in Brazil: a possible origin for eucalyptus canker disease?" *Mycologist* 181: 39-45.

Senanayake, I. C., et al., 2018. "Taxonomic circumscription of Diaporthales based on multigene phylogeny and morphology." *Fungal Diversity* 931: 241-443.

Silva, P. H. M. d., et al., 2019. "Selecting for stable and productive families of *Eucalyptus urophylla* across a country-wide range of climates in Brazil." *Canadian Journal of Forest Research* 491: 87-95.

Silva, P.H.M.D., Marco, M., Alvares, C.A., Lee, D., Moraes, M.L.T.D. and Paula, R.C.D. 2019. Selection of *Eucalyptus grandis* families across contrasting environmental conditions. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 19 1, 47-54.

Soares, T. P. F., et al., 2018. "Canker disease caused by *Chrysoporthe doradensis* and *C. cubensis* on *Eucalyptus* sp. and *Tibouchina* spp. in Brazil." *Tropical Plant Pathology* 434: 314-322.

Sturrock, R.N., Frankel, S.J., Brown, A.V., Hennon, P.E., Kliejunas, J.T., Lewis, K.J. et al., 2011. Climate change and forest diseases. *Plant Pathology*, 60 1, 133-149.

Van Drunen, S. G., et al., 2018. "Distribution and environmental correlates of fungal infection and host tree health in the endangered American chestnut in Canada." *Forest Ecology and Management* 427: 60-69.

Van Heerden, S. and M. Wingfield 2002. "Effect of environment on the response of *Eucalyptus* clones to inoculation with *Cryphonectria cubensis*." *Forest Pathology* 326: 395-402.

Van Heerden, S. W., et al., 2005. "Relative Pathogenicity of *Cryphonectria cubensis* on *Eucalyptus* Clones Differing in Their Resistance to *C. cubensis*." *plant disease* 896: 659-662.

Van der Merwe N., E.T. Steenkamp, C. Rodas, B.D. Wingfield, M.J. Wingfield. 2013. Host switching between native and non-native trees in a population of the canker pathogen *Chrysosporthe cubensis* from Colombia. *Plant Pathology* 62(3): 642-648.

Van Zyl, L. M. and M. J. Wingfield 1999. "Wound response of *Eucalyptus* clones after inoculation with *Cryphonectria cubensis*." *European Journal of Forest Pathology* 292: 161-167.

Wang, T., Hamann, A., Yanchuk, A., O'Neill, G.A. and Aitken, S.N. 2006. Use of response functions in selecting lodgepole pine populations for future climates. *Global Change Biology*, 12 12, 2404-2416.

Welsh, C., Lewis, K.J. and Woods, A.J. 2014. Regional outbreak dynamics of *Dothistroma* needle blight linked to weather patterns in British Columbia, Canada. *Canadian Journal of Forest Research*, 44 3, 212-219.

Woods, A., Coates, K.D. and Hamann, A. 2005. Is an Unprecedented *Dothistroma* Needle Blight Epidemic Related to Climate Change? *BioScience*, 55 9, 761-769.