

Especies de *Mycosphaerella* y *Teratosphaeria* en plantaciones jóvenes de *Eucalyptus globulus*: evaluación de daño y control

Tesis para optar por el título de Magister en Ciencias Biológicas

Universidad de la República-Programa de Desarrollo en Ciencias Básicas

Autor: Lic. Silvana Soria
Director de Tesis: Dra. Sandra Lupo
Co-Director de Tesis: Dra. Lina Bettucci

Montevideo-Uruguay
16 de Diciembre de 2016



TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	1
RESUMEN.....	2
INTRODUCCIÓN.....	4
<u>Forestación en Uruguay</u>	4
<u><i>Eucalyptus</i></u>	5
<u>Enfermedades foliares en <i>Eucalyptus</i></u>	7
<u>Control de MLD</u>	10
<u>Hipótesis</u>	12
<u>Objetivos</u>	12
Objetivo general.....	12
Objetivos Específicos.....	12
MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
<u>Descripción del síntoma</u>	14
<u>Aislamiento de hongos asociados a los síntomas</u>	14
<u>Identificación morfológica y molecular</u>	15
<u>Evaluación de fertilizantes y un fungicida para el control de MLD</u>	18
<u>Análisis de datos</u>	22
RESULTADOS.....	23
<u>Síntomas presentes en las hojas de los árboles</u>	23
<u>Identificación de las especie de hongos presentes en las manchas</u>	26
<u>Efecto de los tratamientos</u>	30
Pirarajá (Lavalleja).....	30
Velázquez (Rocha).....	35

Retamosa (Lavalleja)	40
Solís de Mataojo (Lavalleja)	46
DISCUSIÓN	50
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
ANEXO	75
ANEXO 1: Secuencias registradas en Genbank.....	75
ANEXO 2: Análisis de datos	76
Índice de daño de copa (cdi)	76
<i>PIRARAJÁ (LAVALLEJA)</i>	76
<i>VELÁZQUEZ (ROCHA)</i>	77
<i>RETAMOSA (LAVALLEJA)</i>	78
<i>SOLIS DE MATAOJO (LAVALLEJA)</i>	79
Altura	80
<i>PIRARAJÁ (LAVALLEJA)</i>	80
<i>VELÁZQUEZ (ROCHA)</i>	80
<i>RETAMOSA (LAVALLEJA)</i>	81
<i>SOLIS DE MATAOJO (LAVALLEJA)</i>	81
ANEXO 3: Ficha técnica de productos utilizados	82
ANEXO 4: Publicación científica.....	83

AGRADECIMIENTOS

A la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC) y a la Sociedad de Productores Forestales (SPF) por la financiación del proyecto.

A la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) por la beca otorgada para la finalización de los estudios de Maestría.

A las distintas empresas forestales que formaron parte de este proyecto.

A las empresas que brindaron los distintos productos químicos para su aplicación a campo.

Al Laboratorio de Micología por haberme permitido desarrollar el trabajo y hacerme sentir como en mi casa.

A mis tutoras, Sandra y Lina, por toda su dedicación y paciencia en mi formación, por enseñarme todos sus conocimientos y por su apoyo constante.

A Raquel por hacerme parte de este proyecto y por toda su dedicación.

A todo el grupo que me acompañó siempre en las salidas de campo (Belén, Raquel, Sandra), por su buena onda, disposición y humor. Porque sin ellas hubiera sido imposible realizar este trabajo.

A todos mis compañeros del Laboratorio, Belén, Fernando, Anita, Agustina, Natalia, Lucía, Dinorah, Eduardo, Umberto, Susana, Carlos y Sebastián.

A mi familia y amigos por su paciencia y aliento constante, por apoyarme y confiar en mí desde el principio.

RESUMEN

La enfermedad foliar conocida como *Mycosphaerella* leaf disease (MLD) causada por distintas especies de *Teratosphaeria* y *Mycosphaerella*, en particular *T. nubilosa*, afecta desde hace años las plantaciones de *E. globulus* en Uruguay. Estos patógenos se presentan en hojas juveniles y adultas como lesiones necróticas, disminuyendo el crecimiento de los bosques afectados con influencia directa del sitio, condiciones climáticas y origen de las plantas (semillas o clones).

El objetivo del presente trabajo incluyó la identificación de las especies de hongos asociadas a las manchas foliares de *E. globulus* y *E. maidenii* en cuatro plantaciones de la región sur-este de Uruguay. Los resultados muestran que *T. nubilosa* estaba presente en todas las plantaciones evaluadas, resultando más afectadas las de *E. globulus*, hecho que sugiere posibles reducciones en el crecimiento y en la producción de madera futura. La infección en *E. maidenii* fue menos severa ya que esta especie es menos susceptible. Además de *T. nubilosa* se aislaron e identificaron otras especies como *Austroafricana parva* (= *Teratosphaeria parva*) y *M. lateralis*. También se detectó la presencia por primera vez, fuera de Australia, de *T. pseudoeucalypti*. Como alternativa para el control de la enfermedad causada por *T. nubilosa* se efectuaron tratamientos con un fungicida que tiene como compuestos activos tebuconazole y trifloxistrobin y con cuatro fertilizantes cuyos como compuestos activos son: fosfito de potasio, fosfito de potasio y materia orgánica proveniente de algas, un fertilizante a base de algas marinas (*Ascophyllum nodosum*) y otro que combina fosfito de potasio con quitosanos. De los tratamientos realizados para reducir el daño de la enfermedad, el fungicida mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) con el testigo en la reducción de

la infección. No se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en el daño entre los árboles tratados con fertilizantes y los testigos. En cuanto al crecimiento, los árboles tratados con fosfito de K así como los protegidos con fungicida de aplicación mensual fueron los de mayor altura.

Palabras clave: *Eucalyptus*, MLD, *Teratosphaeria* y *Mycosphaerella* spp., fungicida, fertilizantes.

INTRODUCCIÓN

FORESTACIÓN EN URUGUAY

El desarrollo forestal del Uruguay se basa fundamentalmente en la introducción de plantaciones forestales de especies de *Eucalyptus* y *Pinus*. La mayoría de las plantaciones se realizaron luego de la promulgación de la “Ley Forestal” (Ley N°15.939) en Diciembre de 1987.

Desde entonces el área forestada ha ido aumentando año tras año lográndose un crecimiento significativo en la superficie forestada, hecho que constituye una alternativa para el establecimiento de plantaciones de rápido crecimiento y altos rendimientos. Actualmente el área plantada con especies forestales alcanza los 1,1 millones de hectáreas, de las cuales un 30% corresponde al género *Pinus* y un 70% al género *Eucalyptus* (DGF, 2011). El desarrollo de la actividad forestal se ha realizado principalmente en suelos de bajo índice de productividad pecuaria (considerados de prioridad forestal). La disponibilidad de madera ha promovido el desarrollo industrial por lo que se han construido pequeños y grandes emprendimientos tales como aserraderos, plantas de astillado, de fabricación de tableros y de producción de celulosa. El forestal es uno de los tres sectores más importantes de las exportaciones de Uruguay siendo además el que tiene mayor valor agregado (Agenda Forestal, 2013).

El creciente interés por las especies del género *Eucalyptus* está dado por su corta rotación, la posibilidad de generar y comercializar diversos productos y satisfacer las tendencias del mercado.

Actualmente se están empleando varias especies para la forestación de acuerdo a las condiciones del sitio (suelo y clima) y al tipo de producto deseado (madera para muebles, para la construcción, pulpa para papel, leña y otros). Dentro del género *Eucalyptus*, *E. globulus*, *E. grandis* y *E. dunnii* son las principales especies plantadas. La producción de *E. globulus* se concentra en la zona este y sur del país mientras que en el resto del país predomina *E. grandis* y *E. dunnii* (Agenda Forestal, 2013). La madera de *E. globulus* presenta mayor densidad básica respecto al resto de las especies, lo que permite obtener un mayor rendimiento. Esto hace que esta especie reúna las condiciones ideales para la producción de pasta celulósica (Toval, 2010).

EUCALYPTUS

El género *Eucalyptus* ha sido y es uno de los recursos forestales más utilizado industrialmente en el mundo entero. Originarios de Australia, presentan una enorme diversidad, con más de 700 especies y variedades. Su madera resulta adecuada para muy diversos usos: consumo doméstico, leña, producción de carbón vegetal, postes, pasta de celulosa, tableros, etc. De su celulosa pueden fabricarse múltiples productos de uso cotidiano: papeles “tissue”, de impresión, escritura, pañales, embalajes y sus derivados como el celofán o la cola de empapelar. La demanda de los productos derivados de la madera de *Eucalyptus* sigue siendo, a nivel internacional, la que muestra un mayor crecimiento sostenido. La mayoría de las especies son endémicas en el continente australiano y en las islas muy cercanas. Sin embargo, varias de ellas se encuentran naturalmente en la zona de Papúa Nueva Guinea y ciertas especies se presentan en algunas de las islas de la parte oriental del archipiélago indonesio. Han sido distribuidos artificialmente por todo el mundo, especialmente a zonas de clima

mediterráneo, tropical, subtropical y templado. Se caracterizan por adaptarse a una gran variedad de sustratos y condiciones ambientales diversas. Esta plasticidad explica el éxito conseguido por los *Eucalyptus* en los cultivos cada vez más amplios emprendidos en los distintos continentes (Martinez et al. 2006).

En el caso específico de *E. globulus*, tiene su origen en una pequeña área costera de la región sur de Victoria (Australia), ocupando una superficie mayor en el sur y este de Tasmania, asociada a otras especies como *E. viminalis*, *E. regnans* y *E. amigdalina*, extendiéndose entre 37° y 43° de latitud y alturas de 400-500m sobre el nivel del mar (Mangieri y Dimitri, 1961).

En plantaciones de especies introducidas, como es el caso de *Eucalyptus* spp., existen por lo menos dos limitantes en relación con las especies en su hábitat natural que son la menor variación genética y las condiciones de sitio no ajustadas a los requerimientos de la especie. Muchas veces las plantas se han introducido en sitios que difieren en algunas características importantes, sean estas edáficas y/o climáticas, de aquellas del área de su distribución natural. Estos hechos conducen a que las plantas se encuentren sometidas a condiciones de estrés al menos durante una parte del año. Sin embargo, las plantas cultivadas fuera de su lugar de origen en ausencia de los parásitos con los que coevolucionaron, muestran a menudo ser más saludables y con crecimiento más vigoroso que bajo las condiciones de su lugar de origen. Pero cuando las plantaciones se hacen intensivas, se vuelven vulnerables a enfermedades causadas por patógenos no específicos, especialmente en zonas húmedas, o pueden estar expuestas a patógenos no presentes en su área de distribución natural (Turnbull, 2000, Alonso et al. 2010).

ENFERMEDADES FOLIARES EN *EUCALYPTUS*

Las enfermedades foliares son comunes en bosques nativos de *Eucalyptus* pero muy rara vez tienen allí un carácter destructivo. En tanto en las plantaciones en Uruguay las epidemias producidas por especies de *Teratosphaeria* y *Mycosphaerella* han mostrado tener carácter destructivo muy importante. Entre las especies que se han encontrado afectando las plantaciones en nuestro país están: *M. heimii*, *M. lateralis*, *M. marksii*, *M. scytalidii*, *M. aurantia*, *Pseudocercospora norchiensis*, *T. gauchensis*, *T. molleriana*, *T. nubilosa*, *T. ohnowa*, *T. parva*, *T. suttonii*, *T. pluritubularis* (Balmelli et al. 2004; Pérez et al. 2009; Alonso et al. 2010).

Una de las enfermedades más importante que afecta a *Eucalyptus* spp. es la mancha foliar causada por especies de *Mycosphaerella* y *Teratosphaeria* (MLD) (Carnegie, 2007; Crous et al. 2007). *T. nubilosa* es considerada un patógeno primario y una de las especies más destructivas de MLD a nivel mundial (Carnegie y Ades, 2002; Hunter et al. 2009; Park y Keane, 1982a). Afecta principalmente las hojas juveniles, causando manchas necróticas (Fig.1a) que reducen la capacidad fotosintética y el crecimiento del árbol, provocando defoliación prematura y, cuando la infección es muy severa, puede ocasionar la muerte del árbol (Carnegie, 2007; Hunter et al. 2009; Lundsquit y Purnel. 1987).



Figura 1. a) Manchas necróticas de *T. nubilosa* en hojas juveniles de *E. globulus*.

La infección se produce por ascosporas liberadas a partir de los pseudotecios formados en las manchas foliares, en condiciones de temperatura y humedad apropiadas (humedad relativa superior al 95 % y temperaturas de entre 15-20 °C). Las hojas juveniles son las más susceptibles a la enfermedad (Crous, 1998; Park, 1988a, Park y Keane, 1982b).

La expansión a nivel mundial de las plantaciones de *Eucalyptus* para suplir la demanda de celulosa ha permitido la dispersión geográfica de este patógeno. *Teratosphaeria nubilosa* fue descrita por primera vez en Australia como *Mycosphaerella nubilosa* (Cooke, 1981) y desde entonces ha sido introducida a numerosos países: Sudáfrica (Doidge, 1950; Crous, 1998; Crous et al. 2004; Crous y Wingfield. 1996; Hunter et al. 2004 a y b), Nueva Zelanda (Dick, 1982; Dick y Gadgil, 1983), Kenia, Tanzania, Zambia (Crous et al. 2004; Hunter et al. 2008), Etiopía (Gezahng et al. 2006), España (Crous

et al. 2004; Mansilla et al. 2013, Portugal (Hunter et al. 2008), Uruguay (Pérez et al. 2009a; Navarrete, 2010) y Brasil (Pérez et al. 2009b). La diseminación de este patógeno a los países vecinos con plantaciones extensivas de *E. globulus* constituye un riesgo ya que pueden ser severamente afectadas. Si bien en Brasil fue detectada la presencia de numerosas especies de *Teratosphaeria* y *Mycosphaerella*, ninguna de ellas había sido considerada un patógeno agresivo (Alfenas et al. 2004).

En Uruguay, en el año 2007, plantaciones jóvenes de *E. globulus* fueron gravemente afectadas por *T. nubilosa* (Lupo et al. 2008; Pérez et al. 2009a) lo que ocasionó pérdidas muy importantes. Posteriormente, comenzaron a observarse los primeros síntomas en Brasil, en la región de Río Grande del Sur. Estudios realizados por Pérez et al. (2009b) confirmaron que estos síntomas eran debidos a *T. nubilosa* y que en función de la cercanía con Uruguay era probable que el patógeno fuese introducido desde Uruguay a través de la dispersión de inóculo o por el movimiento de material infectado (Pérez et al. 2009b). Según Hunter et al. (2011) la presencia ubicua de este patógeno así como de otras especies de *Teratosphaeria* podría explicarse por el aumento en el transporte entre continentes de plantas de *Eucalyptus* infectadas, por la fácil dispersión que tienen las ascosporas con el viento (Hunter et al. 2009) y también porque es probable que el hongo encuentre en nuevos ambientes condiciones de humedad y temperatura que favorecen el desarrollo de su ciclo de infección. Desde entonces este patógeno constituye el principal problema sanitario de *E. globulus* en Uruguay (Ansuberro et al. 2015).

CONTROL DE MLD

Dado que los problemas fitosanitarios imponen restricciones a la comercialización de los productos forestales, es esencial el desarrollo de programas de protección forestal.

El control de MLD es muy difícil debido a la gran extensión de plantaciones que existen a nivel mundial, al transporte de material de una región a otra y a la fácil dispersión que tienen las esporas de *T. nubilosa* por el viento (Park y Keane, 1982b). Sin embargo, es posible desarrollar estrategias que combinadas se potencien y disminuyan la severidad de *T. nubilosa* (Hunter et al. 2009). Una de la más considerada es el desarrollo de material resistente. Existe evidencia de que especies menos susceptibles de *Eucalyptus* han sido seleccionadas para disminuir el grado de infección luego de la ocurrencia de epidemias severas. En 1930, en Sudáfrica las plantaciones comerciales de *E. globulus* fueron suspendidas debido a la susceptibilidad a *T. nubilosa* (Hunter et al. 2009; Lindquist y Purnell, 1987, Pérez et al. 2009a). Posteriormente esta especie fue sustituida por *E. nitens*, más resistente. Debido a la susceptibilidad de *E. globulus* y a los niveles importantes de infección que han afectado las plantaciones en Uruguay, esta especie ha sido reemplazada por otra de mejor sanidad y más resistente al frío como *E. maidenii*, y otras menos susceptibles a *T. nubilosa* como *E. dunnii* y *E. grandis* (MGAP, 2013). Los híbridos entre especies resistentes y susceptibles de *Eucalyptus* también son una alternativa para minimizar el avance e impacto de MLD. Híbridos entre *E. globulus* (susceptible) y *E. grandis* (tolerante a *T. nubilosa*) han mostrado tener mayor resistencia a MLD en Uruguay (Wingfield, citado por Hunter et al. 2009). Sin embargo los cruzamientos de este tipo no siempre resultan eficientes. Dungey et al. (1997) y Carnegie y Ades (2002) hallaron que los híbridos F1 resultado

del cruzamiento entre *E. globulus* x *E. nitens* fueron más susceptibles a MLD que sus parentales.

El uso de fertilizantes y fungicidas puede mejorar y proteger los cultivos contra patógenos y reducir la capacidad de infección a través de la inducción de resistencia en las plantas (Pinkard et al. 2006).

El desarrollo de diferentes estrategias para incrementar la tasa de crecimiento de los cultivos así como de las cosechas es muy frecuente. La importancia del manejo de nutrientes para reducir las pérdidas por enfermedades y obtener mayor producción ha sido demostrada en diversos cultivos (Graham y Webb, 1991). Los nutrientes cumplen un papel muy importante en el control de enfermedades (Agrios, 2005). Pueden tener un efecto positivo o negativo en la severidad de una enfermedad (Huber y Graham, 1999). El desbalance en el contenido de nitrógeno incrementa la susceptibilidad de las plantas a los patógenos (Huber y Watson, 1974; Lam y Lewis, 1982) mientras que un aumento de elementos traza aparentemente reduce la incidencia de las enfermedades (Yarwood, 1959; Huber, 1980). El aumento de susceptibilidad al ataque por hongos también ha sido demostrado cuando las plantas tienen deficiencia de potasio (Trolldenier, 1969; Mengel y Kirkby, 1987). Al mismo tiempo, altos niveles de potasio pueden incrementar la susceptibilidad de las plantas por distintas enfermedades (Agrios, 1988).

HIPÓTESIS

- 1 *T. nubilosa* es el organismo causal de manchas foliares observadas en *E. globulus* en Uruguay.
- 2 El uso de fertilizantes y de fungicidas reduce el daño de *T. nubilosa*.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Identificar los hongos asociados a las manchas foliares de *E. globulus* y *E. maidenii* en cuatro plantaciones de la región sur-este de Uruguay y conocer la capacidad de fertilizantes y fungicidas en la reducción de su incidencia. .

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1 Identificar las especies de hongos asociados a las manchas foliares en *E. globulus*.
- 2 Determinar el efecto de los fertilizantes y del fungicida sobre el índice de daño de la enfermedad.
- 3 Cuantificar el efecto de los fertilizantes y del fungicida sobre el crecimiento de los árboles.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en cuatro localidades de la zona sur-este de Uruguay (Tabla 1). Dos plantaciones fueron realizadas en primavera 2011 (establecimiento Santa Teresa y El Porá), otra en primavera de 2012 (Retamosa) y, por último, una en otoño de 2013 en el establecimiento Villarural, en Solís de Mataojo. Las tres primeras contaron con un total de 640 árboles de *E. globulus* de dos genetos, 320 árboles de semilla Jeeralang y 320 árboles de clon Odiel. La plantación realizada en 2013 contó con 320 árboles de *E. maidenii*. En la figura 2 se muestra la ubicación geográfica de cada plantación.

Tabla 1. Localidad y fecha de instalación de cada ensayo.

Departamento	Localidad	Especie/Geneto	Establecimiento	Empresa	Fecha de plantación
Rocha	Velázquez	<i>E. globulus</i> Jeeralang y clon Odiel	El Porá	Redalco	27/10/2011
Lavalleja	Pirarajá	<i>E. globulus</i> Jeeralang y clon Odiel	Santa Teresa	Sierras Calmas	21/10/2011
Lavalleja	Retamosa	<i>E. globulus</i> Jeeralang y clon Odiel	Retamosa	FAS	11/10/2012
Lavalleja	Solís de Mataojo	<i>E. maidenii</i>	Villarural	UPM	29/04/2013



Figura 2. Mapa satelital de Uruguay que muestra la ubicación geográfica (con rojo) de las cuatro plantaciones realizadas durante este trabajo.

DESCRIPCIÓN DEL SÍNTOMA

Se colectaron hojas juveniles y adultas que mostraban síntomas de MLD (manchas típicas y presencia de pseudotecios) así como otras manchas parecidas y hojas con manchas amarillas, para su estudio en el laboratorio. Las manchas fueron clasificadas según su tamaño y coloración y además se observaron bajo la lupa. Aquellas hojas con cuerpos fructíferos maduros fueron separadas para utilizarlas posteriormente en el aislamiento de los hongos asociados.

AISLAMIENTO DE HONGOS ASOCIADOS A LOS SÍNTOMAS

Para determinar las especies de hongos asociados a MLD se colectaron hojas jóvenes y adultas con síntoma (10 hojas por parcela). Las hojas con manchas foliares y con

pseudotecios fueron sumergidas en agua durante dos horas. Posteriormente las manchas se recortaron, se secaron en papel estéril y se adhirieron a la tapa de una placa de Petri de 9.0cm de diámetro con los pseudotecios enfrentados al medio de cultivo Agar-Agua al 2%. Las placas se incubaron durante 24-48 horas para favorecer la liberación de las esporas. Posteriormente se realizaron cultivos monospóricos bajo lupa en condiciones ascépticas. Con una aguja delgada se tomó una espora germinada y se colocó en una caja de Petri de 4.5cm de diámetro conteniendo medio Agar extracto de Malta (MEA) al 2%. Se tomaron varias esporas de cada muestra. Finalmente las placas se incubaron por 4 semanas a 25°C en la oscuridad (Crous, 1998).

También se recolectaron hojas con manchas amarillas. El aislamiento del hongo asociado se realizó a partir de los conidios producidos en picnidios en la cara abaxial de las hojas con síntoma. Los conidios fueron transferidos a placas de Petri de 4.5cm de diámetro con medio de cultivo MEA 2 % de forma de obtener cultivos monospóricos. Las placas se incubaron a 25°C durante 4 semanas en la oscuridad. Una vez obtenidas las colonias se realizó la caracterización microscópica de los conidios.

IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR

La caracterización de los hongos asociados a los síntomas se realizó teniendo en cuenta el patrón de germinación de las ascosporas y las características micro y macromorfológicas de las colonias. También se realizó la caracterización microscópica de picnidios y conidios de una de las especies.

La identificación de las especies se realizó mediante la extracción de ADN de cultivos puros según Lee y Taylor (1990) y secuenciación de la región espaciadora interna del genoma (ITS1 e ITS2) y del gen ribosomal 5.8S (White et al. 1990). Dichas regiones fueron amplificadas por PCR. Los cebadores utilizados fueron ITS-4 e ITS-5 (White et al. 1990). Para el caso de aislamientos que no pudieron ser amplificados con este par de cebadores, se optó por amplificar de forma completa la región ITS2 con los pares de cebadores ITS-3 e ITS-4 (Gardes y Bruns, 1992) (Tabla 2).

Cuando la región ITS no fue suficiente para discriminar la identidad de la especie se realizó la amplificación parcial de la región beta tubulina (β -tub) y factor de elongación 1-alfa (EF1- α). Los pares de cebadores utilizados fueron T1 y Bt2b (Glass y Donaldson 1995) y EF1-728 con EF1-968 F (Carbone y Kohn 1999) respectivamente (Tabla 2).

Tabla 2. Cebadores utilizados para la amplificación de las distintas regiones génicas.

Región	Cebador	Secuencia (5' - 3')	Amplicón (pb)	Referencia
ITS-1-ITS2/gen ribosomal 5,8S	ITS-4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	400	White et al, 1990
	ITS-5	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG		
β -tub	T1	GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC	680	Glass y Donaldson, 1995
	Bt2b	ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC		
EF-1 α	EF1-728F	CATCGAGAAGTTCGAGAAGG	350	Carbone y Kohn, 1999
	EF1-986R	TACTTGAAGGAACCCTTACC		
ITS2	ITS-3	GTATCGATGAAGAACGCAGC	300	Gardes y Bruns, 1993
	ITS-4	TCCTCCGCTTATTGATATGC		

Los parámetros de ciclado fueron los siguientes: un ciclo de desnaturalización inicial a 94°C durante 3 minutos; 35 ciclos de desnaturalización (1:10 minutos a 94°C), hibridación (45 segundos a 50°C) y extensión (1 minuto a 72°C); seguidos de un ciclo de extensión final de 5 minutos a 72°C y 5 minutos a 4°C. En todos los casos la mezcla de la reacción contenía: 2,5 μ L de Buffer 10X, 2,5 μ L de dNTPs (2,5mM), 1,5 μ L de MgCl₂ (25mM), 0,5 μ L de cebador 1 (10 μ M), 0,5 μ L de cebador 2 (10 μ M), 0,25 μ L de Taq polimerasa Fermentas, 15,25 μ L de agua MQ libre de RNAsa y 2 μ L de la muestra de ADN (50 μ L de volumen final). El control negativo se realizó utilizando la misma mezcla pero sin agregado de ADN y el control positivo se realizó utilizando una muestra que dio positiva en una reacción de PCR previa. Finalmente el producto de PCR obtenido fue separado por electroforesis en gel de agarosa al 2%, teñido con Gel Red y visualizado con luz UV. Los productos de PCR fueron purificados y secuenciados por MacroGen Korea (Seul, Korea). Las secuencias obtenidas fueron corregidas manualmente utilizando el programa MEGA 5.1 (Tamura et al. 2013), comparadas con las de la base de datos mediante la herramienta BLASTn y alineadas con secuencias

de referencia del GenBank utilizando la herramienta Clustal W (Thompson et al. 1994). El análisis filogenético de los aislamientos se realizó por el método de Máxima Parsimonia en el programa (MEGA) y en PAUP 4.0 (Swofford, 2003). Como grupo externo de análisis se utilizó *Lasidiopodia theobromae* y *Dotistroma septosporum*. Los gaps fueron tratados como datos ausentes. Para determinar la consistencia de los diferentes clados internos se realizó el análisis de bootstrap. El mismo fue calculado a partir de una búsqueda heurística de 1000 réplicas. También se obtuvieron el índice de consistencia (CI), el índice de retención (RI) y el índice de homoplasia (HI).

Para las especies que no fue posible discriminar con el análisis de un sólo gen, se estudió la congruencia ($P > 0,01$) de las otras tres regiones génicas mediante el test de homogeneidad de partición. A partir de esto se realizó un análisis filogenético multigénico, esto es, se combinaron las secuencias de los tres genes para la construcción de la filogenia (TreeBase16019). Para estos análisis se utilizó el programa Paup 4.0 (Swofford, 2003). Algunas de las secuencias derivadas de este estudio fueron depositadas en el banco de datos de GenBank y el número de acceso de cada una de ellas se muestra en el anexo 1.

EVALUACIÓN DE FERTILIZANTES Y UN FUNGICIDA PARA EL CONTROL DE MLD

El diseño experimental para evaluar la efectividad de distintos tratamientos para controlar el desarrollo de MLD consistió en bloques completos al azar con cuatro repeticiones, cada uno con dieciséis parcelas aleatorias. Cada parcela contó con diez árboles dispuestos en dos filas de cinco árboles (Fig. 3a). Para evitar interferencia entre parcelas se dejó una fila de árboles *E. maidenii* de separación sin tratamiento y, dos árboles entre los bloques. La plantación realizada en otoño contó con un diseño de

cuatro bloques con ocho parcelas aleatorias, también con diez árboles cada una dispuestos en dos filas de cinco árboles. La separación entre las parcelas se realizó con árboles de *E. dunnii* sin tratamiento (Fig.3b).

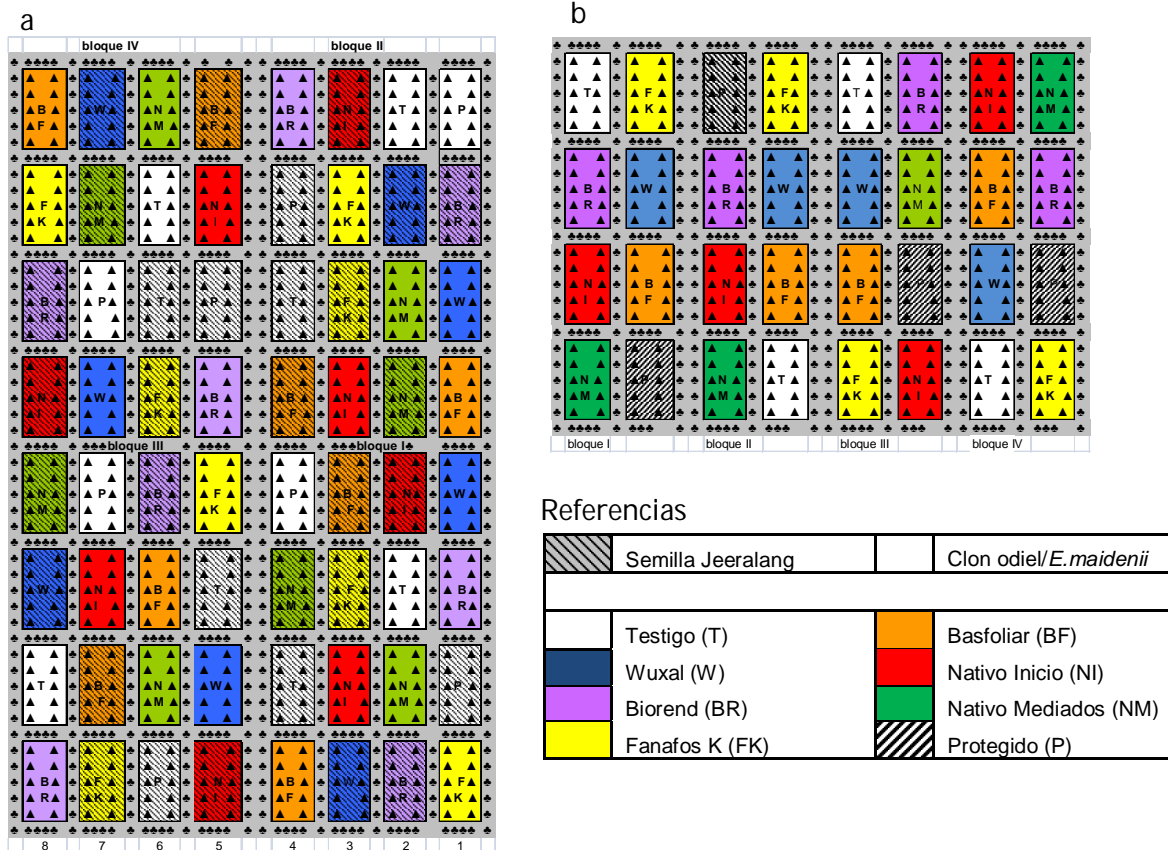


Figura 3. Diseño experimental de las plantaciones realizadas en a) primavera, b) otoño.

Los tratamientos consistieron en la aplicación foliar de cinco productos: fanafos K, wuxal (suspensión a base de extracto de algas *Ascophyllum nodosum*), biorend (fosfito de potasio y quitosano), basfoliar (fosfito de potasio y extracto de algas), y nativo (tebuconazole con trifloxistrobin). Con el fungicida (nativo) se hicieron tres tratamientos: una aplicación mensual (protegido) y dos aplicaciones estratégicas (a inicios y mediados de primavera y otoño) totalizando así los siete tratamientos. También se

evaluó un testigo al que no se le realizó ningún tratamiento (Tabla 3). Todas las aplicaciones se realizaron por aspersión en las hojas hasta punto de rocío con mochila.

Tabla 3. Características y dosis de los productos evaluados sobre MLD en *E. globulus* y *E. maidenii*.

Producto	Principio Activo	Dosis (cc/100L)	21 días	14 días	7 días	Despacho	3 meses	6 meses	12 meses
Wuxal Ascofol+Wuxal doble	Alga marina (<i>Ascophylum nodosum</i>)	1000 +1000	X			X	X	X	X
Biorend/ Fosfirend	Quitosan/Quitosan +fosfito de potasio	variable	1000 Fosfirend	1000 Fosfirend	1000 Fosfirend	1500 Biorend+150 Biorend Cu	2000 Fosfirend	150 Biorend Cu	2000 Fosfirend
Basfoliar Aktiv	Fosfito de potasio, micronutrientes	500	X	-	-	X	X	X	X
Fanafos K	Fosfito de potasio	400	X	-	-	X	X	X	X
Nativo+Optimizer (inicio de estación)	Tebuconazole y trifloxistrobil	1000 + 1000	X	-	-	X	-	X	X
Nativo+Optimizer (mediados de estación)	Tebuconazole y trifloxistrobil	1000 + 1000	X	-	-	X	-	X	X
Nativo+Optimizer	Tebuconazole y trifloxistrobil	1000 + 1000	X	-	-	X	mensual		

Para el caso del fungicida, se observó que la dosis inicial recomendada de 1000cc/100L (=10cc/L) producía un retraso en el crecimiento de los árboles a los que se le aplicaba mensualmente. Debido a ello a partir de la plantación de octubre 2012 la dosis fue disminuida a 300cc/100L (=3cc/L).

El tratamiento y seguimiento de los árboles de cada plantación se realizó desde la etapa de vivero. Allí se realizaron tres aplicaciones cada 7 días a cada bandeja de plantines identificadas con sus respectivos tratamientos. La primera aplicación, tres semanas antes del despacho, consistió en la aspersión de los cinco productos (wuxal, biorend, basfoliar, fanafos K y nativo) y a los 14 y 7 días antes del despacho se aplicó sólo Fosfirend. Al momento del despacho se realizó la aplicación de todos los productos nuevamente. De esta forma se esperaba que los plantines llegaran al campo con la menor cantidad de inóculo posible y tuvieran un buen crecimiento inicial. Una vez plantados los árboles se hicieron aplicaciones durante el primer año, a los 3, 6 y 12 meses con cada uno de los productos establecidos. Para realizar las aplicaciones se

tuvieron en cuenta las condiciones climáticas de forma de evitar las precipitaciones durante y después de realizados los tratamientos y así garantizar el efecto de cada uno de ellos.

Para determinar el efecto de cada tratamiento se evaluó visualmente la incidencia (porcentaje de hojas afectadas en una rama representativa del daño (ni la más ni la menos dañada) y severidad (porcentaje de área foliar manchada) de la infección siguiendo la escala propuesta por Stone y Carnegie, 2003 (Fig. 4), la defoliación de la copa de los árboles plantados (porcentaje de hojas caídas en el total de la copa de cada árbol) y, se midió la altura a los 3, 6, 12, 18 y 24 meses. Para tomar las medidas de altura se utilizó una vara rígida graduada. También se calculó el índice de daño de copa (CDI) según la ecuación adaptada de Stone y Carnegie (2003):

$$\text{CDI} = \text{defoliación} + ((1 - \text{defoliación}/100)) * (\text{incidencia} * \text{severidad}) / 100$$

Esta variable se calculó con los datos de los registros desde los 3 hasta los 18 meses de edad.

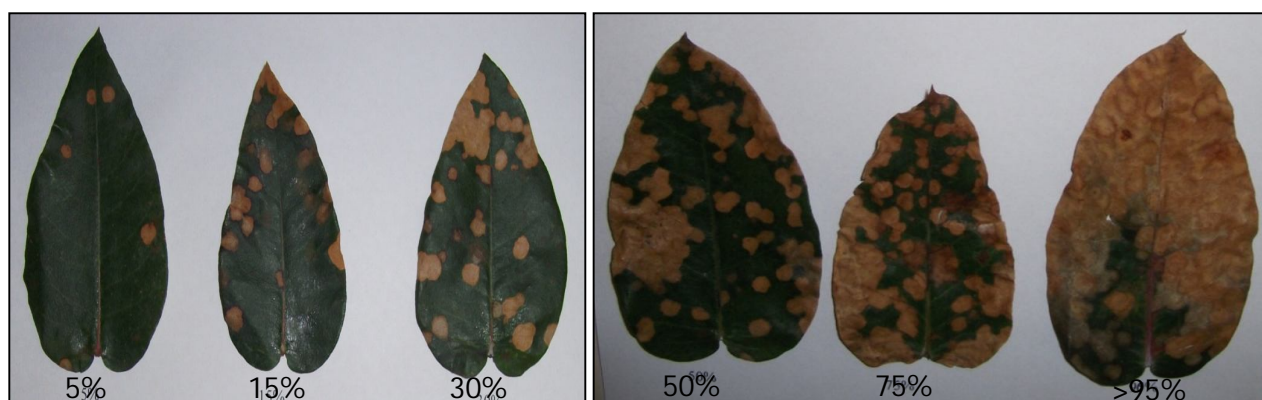


Figura 4. Escala de severidad del área foliar afectada, modificada de Stone et al. 2003.

ANÁLISIS DE DATOS

De los parámetros de crecimiento se utilizó la altura y, para comparar el daño, se utilizó el CDI ya que incorpora las tres variables (incidencia, severidad y defoliación).

Para el caso de la altura se estudió normalidad y homogeneidad de varianza y a partir de ello se determinó el uso de test no paramétrico. Dado que la variable CDI es adimensional, también se analizó mediante un test no paramétrico.

Para evaluar la existencia de diferencias tanto en el tiempo, entre los genets y entre los tratamientos se realizó el test no paramétrico de Kruskal-Wallis para cada variable (altura, y CDI) con un $\alpha=0,05$. Para determinar entre qué muestras existían diferencias significativas se utilizó el estadístico de Mann-Whitney. Todos los análisis estadísticos se realizaron en el programa PAST 2.16 (Hammer et al. 2001).

Para la variable altura se calculó la diferencia respecto al testigo como:

(Altura del árbol tratado – altura del árbol testigo) y el incremento en altura expresado en porcentaje como: $(\text{Altura del árbol tratado} - \text{altura del árbol testigo}) / (\text{altura del árbol testigo}) * 100$.

Para la variable índice de daño de copa (CDI) también se calculó la diferencia respecto al testigo como: (índice de daño del árbol testigo – índice de daño del árbol tratado) y la disminución de daño (en %) respecto al testigo como:

$(\text{Índice de daño del árbol testigo} - \text{índice de daño del árbol tratado}) / (\text{índice de daño del árbol testigo}) * 100$.

RESULTADOS

SÍNTOMAS PRESENTES EN LAS HOJAS DE LOS ÁRBOLES

En todas las plantaciones se observaron síntomas de la enfermedad tanto en hojas juveniles como en hojas adultas (Fig. 5a y 5b). Las manchas que se observaron fueron de color castaño claro, puntuales inicialmente, circulares y luego coalescentes ocupando gran parte de la superficie foliar. Las más viejas presentaban coloración castaño oscuro y margen rojizo con pseudotecios en la cara abaxial de la hoja (Fig. 5c). Esto pone en evidencia la ocurrencia de infección.

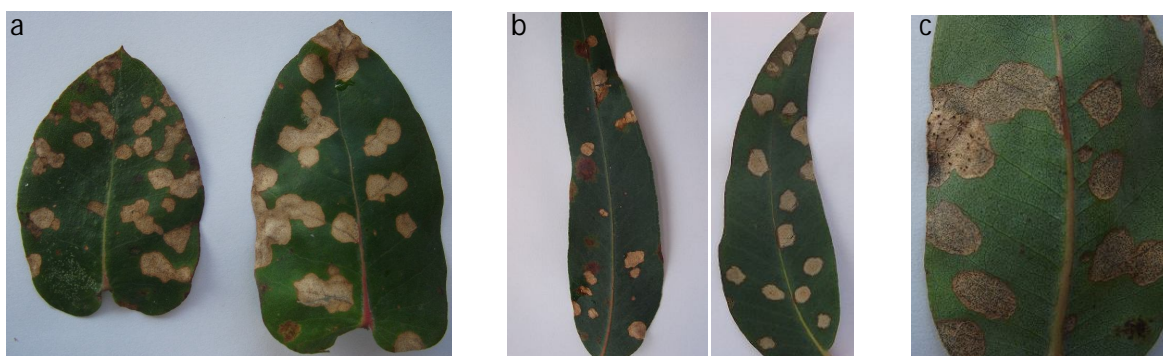


Figura 5. Manchas necróticas causadas por *Mycosphaerella* spp. o *Teratosphaeria* spp. a) hojas juveniles b) hojas adultas y c) cara abaxial de hoja juvenil con pseudotecios en las manchas.

A partir de las hojas de *E. globulus* con síntoma de MLD se obtuvieron colonias con tres morfologías diferentes (Fig. 6a, 6b y 6c) pertenecientes a *Teratosphaeria* spp. y *Mycosphaerella* spp. Algunas colonias presentaron micelio aéreo de color verde oliva en el centro y borde oscuro y sumergido, con crecimiento lento, alcanzando un tamaño de 10mm de diámetro luego de 30 días a 25°C en la oscuridad (Fig. 6a). En estas colonias no se observaron conidios. Otras colonias presentaron micelio verde muy oscuro con hifas aéreas oscuras y crecimiento lento (Fig.6b). Finalmente algunas

colonias fueron de color gris oliva, micelio sumergido y con borde uniforme (Fig.6c) y micelio aéreo profuso con crecimiento más rápido que alcanzaron 15 o 20 mm luego de 30 días. Estos cultivos presentaban conidios hialinos.

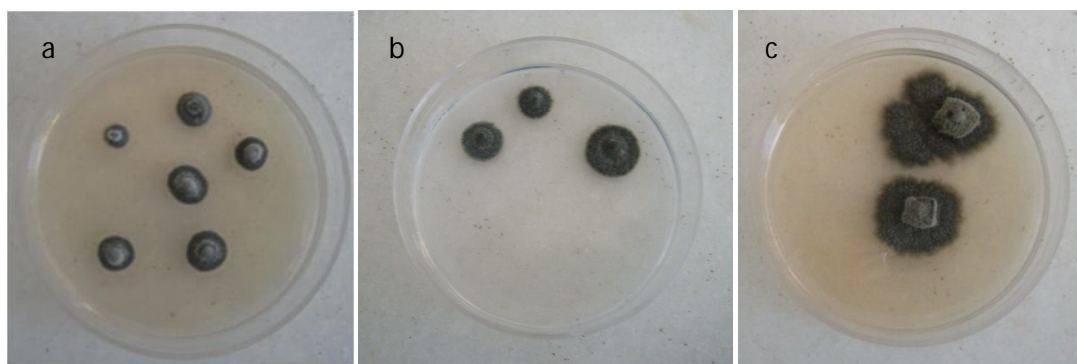


Figura 6. Colonias de *Teratosphaeria* spp. y *Mycosphaerella* sp. en agar malta.

También se observaron en *E. globulus* (Fig. 7) y en *E. maidenii*, en las plantaciones de la localidad de Velázquez (Rocha) y Retamosa (Lavalleja), otras manchas de color amarillo, cuyas características no eran las mismas que las típicas de MLD, con presencia de picnidios en la cara abaxial.



Figura 7. Manchas amarillas en hojas jóvenes de *E. globulus*.

La observación microscópica de las manchas amarillas presentes en las hojas de *E. globulus* y *E. maidenii* permitió determinar, que a diferencia de las manchas típicas de MLD, éstas presentaban picnidios con cirros. Estos picnidios tenían conidios hialinos, curvos, con 1-2septos, de (26.0) 28.0 (32.5) μm x (2.0)-2.6-(2.8) μm (Fig. 8).

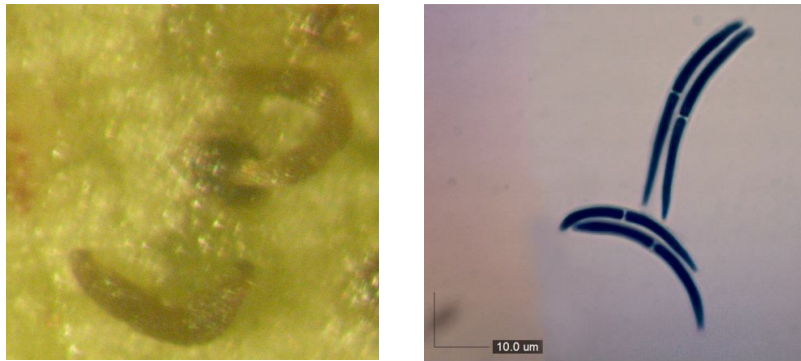


Figura 8. Picnidios con cirros (lupa 100X) (izquierda) y morfología de conidios teñidos con cotton blue, barra 10 μm (derecha).

Las colonias obtenidas a partir de aislamientos monospóricos alcanzaban un diámetro de 10-20 mm luego de 4 semanas (Fig 9). Las características culturales y micromorfológicas fueron similares a las que presenta *T. eucalypti* a excepción de los conidios hialinos.

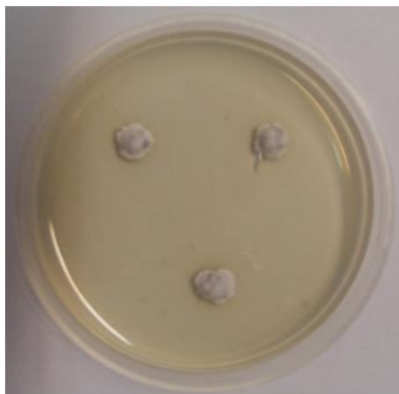


Figura 9. Morfología de colonia obtenida a partir de un conidio aislado de los picnidios de manchas amarillas de *E. globulus*.

IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIE DE HONGOS PRESENTES EN LAS MANCHAS

Para la identificación de las especies de hongos asociados a las manchas de MLD se realizó un análisis filogenético de Máxima Parsimonia con las secuencias de la región ITS. En el análisis se incluyeron 20 secuencias, 10 obtenidas del GenBank y 10 provenientes de aislamientos que representaban los tres grupos morfológicos frecuentemente encontrados asociados a las manchas. El alineamiento final alcanzó 417 sitios. La longitud del árbol generado por Máxima parsimonia fue de 303 con índice de consistencia (CI) 0,754941 y de retención (RI) 0,910015 (Fig.10).

En el árbol filogenético consenso de la Fig. 10 se puede observar que los aislamientos obtenidos en este estudio se encontraron en tres clados. Un clado agrupó 6 aislamientos (cepas M, N, J, F, A y 7) con secuencias del GenBank que corresponden a *Mycosphaerella lateralis* (*Disocconium dekkeri*) (bootstrap 100%). Otro clado agrupó 2 aislamientos (cepas O y P) con secuencias de *T. nubilosa* (bootstrap 100%). Por último, un tercer clado agrupó otros dos aislamientos (cepas 3 y 4) con secuencias de *A. parva* (= *Teratosphaeria parva*) (bootstrap, 100%).

Si bien a partir de las características morfológicas de los cultivos se identificaron tres morfotipos, el análisis molecular mostró un cuarto grupo entre los aislamientos obtenidos.

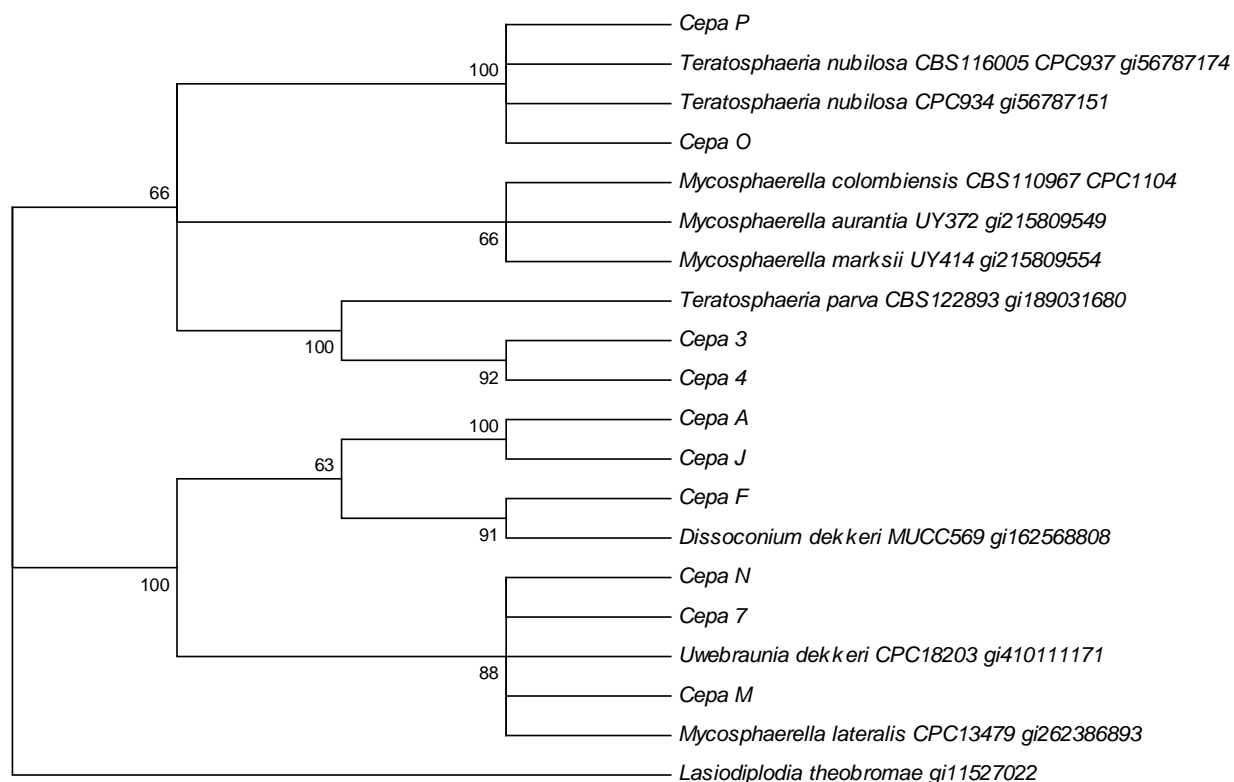


Figura 10. Árbol filogenético consenso generado por Máxima Parsimonia a partir de secuencias de ITS de ADNr propias y del GenBank. Se muestran los valores de Bootstrap > 50%. Como grupo externo se utilizó *Lasiodiplodia theobromae*.

La identificación de la especie de *Teratosphaeria* asociada a la mancha amarilla se realizó mediante el análisis de tres regiones del genoma combinadas β T, ITS-2 y EF-1 α .

El test de partición homogénea indicó que no existían diferencias significativas ($P > 0,01$; 0,39) entre los datos provenientes de las distintas regiones por lo que éstos pudieron combinarse para su estudio.

El análisis de Máxima Parsimonia de las secuencias combinadas de los genes β T, ITS-2 y EF-1 α incluyó 916 caracteres de los cuales 84 fueron parsimoniosamente informativos y utilizados en este análisis. En el árbol consenso (Fig.11) se observan

dos clados bien definidos. El primer clado, con un fuerte soporte de bootstrap (98%), muestra que seis cepas obtenidas en este trabajo (FI 2292, 2293, 2294, 2295, 2296 y 2298) resultaron agrupadas con diferentes haplotipos de *T. pseudoeucaalypti*, provenientes de Australia. Por otro lado también se puede ver un segundo clado donde se agrupan sólo las especies de *T. eucalypti*. De esta forma podemos confirmar que la especie causante de las manchas amarillas en *E. globulus* y *E. maidenii* en Uruguay es *T. pseudoeucaalypti*.

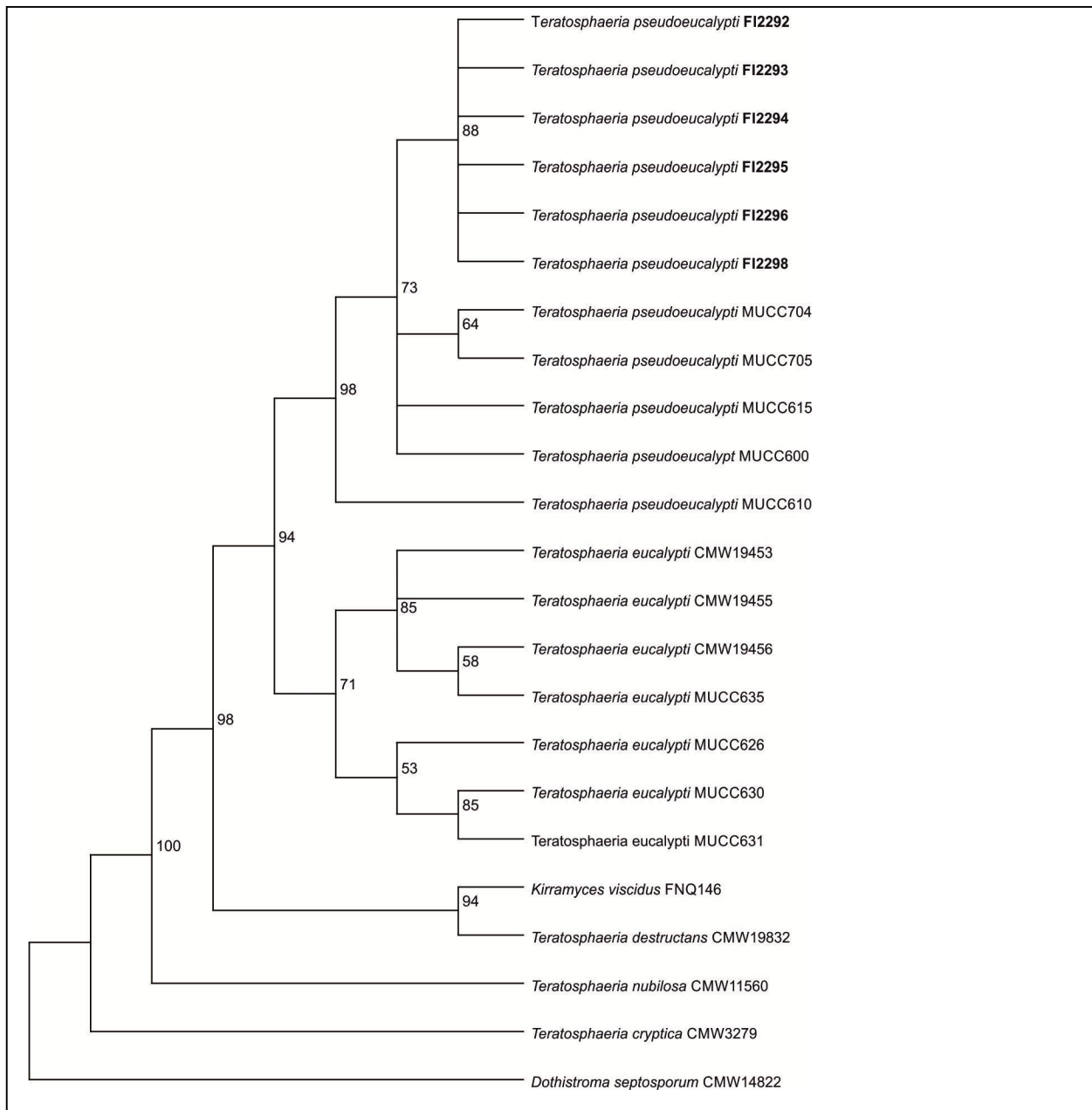


Figura 11. Árbol consenso generado por búsqueda heurística de la combinación de genes β -tubulina, EF 1- α e ITS-2 (TL: 508; CI: 0.9508; RI: 0.8649; RC: 0.8223). En los nodos se muestran los valores de bootstrap mayores a 60%. Como grupo externo se utilizó *Dothistroma septosporum*. Las cepas aisladas a partir de este trabajo se muestran escritas en negrita.

EFFECTO DE LOS TRATAMIENTOS

Con el objetivo de determinar el efecto de los distintos tratamientos sobre la enfermedad se analizó el índice de daño de copa (CDI) mientras que para determinar el efecto sobre el crecimiento se analizó la altura de los árboles.

PIRARAJÁ (LAVALLEJA)

En Pirarajá la infección por *T. nubilosa* se observó a los seis meses (abril 2012) de plantados los árboles cuando se registró defoliación, obteniéndose altos valores de índice de daño de copa (CDI) (75-82 en clones y 64-73 en semilla) (Figs.12 y 13).

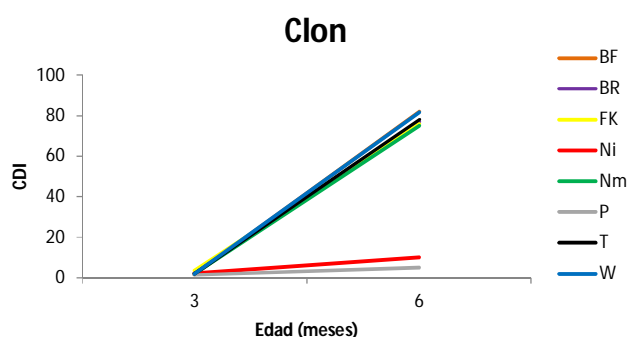


Figura 12. Valores de índice de daño de copa (CDI) para los árboles de clon Odiel plantados en Pirarajá. Tratamientos: Basfoliar (BF), Biorend, (BR), Fanafos K (FK), Nativo aplicado a inicio de estación de otoño y de primavera (NI), Nativo aplicado a mediados de estación de otoño y de primavera (NM), Nativo de aplicación mensual (P), Testigo (T) y Wuxal (W).

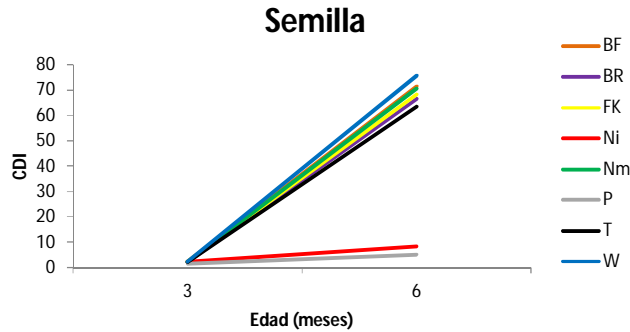


Figura 13. Valores de índice de daño de copa (CDI) para los árboles de semilla Jeeralang plantados en Pirarajá. Tratamientos: Basfoliar (BF), Biorend, (BR), Fanafos K (FK), Nativo aplicado a inicio de estación de otoño y de primavera (NI), nativo aplicado a mediados de estación de otoño y de primavera (NM), nativo de aplicación mensual (P), testigo (T) y Wuxal (W).

En el mismo período, en particular los meses de febrero y marzo se registraron varios días de precipitaciones, lo que favoreció las condiciones para el desarrollo del patógeno e infección de los árboles (Fig. 14).

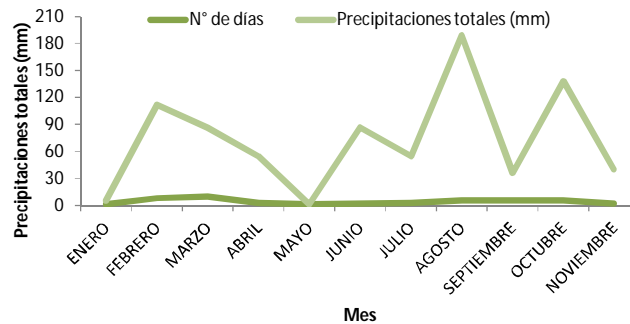


Figura 14. Precipitaciones registradas en el año 2012 en la zona de Pirarajá.

El análisis de índice de daño de copa (CDI) de los datos tomados en conjunto, muestra que existieron diferencias significativas en el daño producido por *T. nubilosa* entre

plantas clon y plantas de semilla (p valor =4,00E-149, $p < 0,05$), a los tres (enero 2012) y seis meses (abril 2012) de instaladas las plantaciones (Tabla 4).

Tabla 4. Valores promedio de índice de daño de copa (CDI) de todos los datos de clon y de semilla, a los 3 y a los 6 meses en Pirarajá.

Genética	Tiempo (meses)	
	3	6
Clon	1,99 A	62,18 A
Semilla	2,13 B	53,72 B

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Por otra parte el análisis de índice de daño de copa (CDI) asociado a tratamiento y geneto mostró diferencias significativas entre al menos dos tratamientos (Anexo 2). Los árboles tratados con fungicida de aplicación mensual (P) y aplicación a inicio de otoño (NI) fueron los menos afectados en comparación con el testigo y con los demás tratamientos, presentando valores de índice de daño de copa (CDI) entre 5-10. Estas parcelas fueron las que mostraron una disminución de daño respecto a los árboles testigo (Tabla 5).

Tabla 5. Promedio de resultados por tratamiento del índice de daño de copa (CDI), diferencia y disminución de daño respecto al testigo a los 6 meses en árboles de clon y de semilla de *E. globulus* en Pirarajá.

Tratamiento	CDI	Diferencia respecto al testigo	Disminución de daño respecto al testigo (%)	CDI	Diferencia respecto al testigo	Disminución de daño respecto al testigo (%)
CLON				SEMILLA		
T	77,87 A			63,52 A		
BF	81,91 A	-4,04	-5,19	71,57 A	-8,05	-12,67
BR	76,97 A	0,90	1,16	66,72 A	-3,20	-5,04
FK	75,90 A	1,97	2,53	68,34 A	-4,82	-7,59
NI	10,08 B	67,79	87,06	8,27 B	55,25	86,98
NM	75,06 A	2,81	3,61	70,67 A	-7,15	-11,26
P	5,13 B	72,74	93,41	5,10 B	58,42	91,97
W	81,77 A	-3,90	-5,01	75,80 A	-12,28	-19,33

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos.

Valores negativos indican que se produjo un aumento en el daño respecto al testigo.

Tratamientos: Basfoliar (BF), Biorend, (BR), Fanafos K (FK), Nativo aplicado a inicio de estación de otoño y primavera (NI), nativo aplicado a mediados de estación de otoño y de primavera (NM), nativo de aplicación mensual (P), testigo (T) y Wuxal (W).

Tabla 6. Valores promedio de crecimiento en altura, diferencia respecto al testigo e incremento en altura correspondiente a los 6 meses en árboles de clon y semilla de *E. globulus* en Pirarajá.

Tratamiento	Altura (cm)	Diferencia respecto al testigo	Incremento en altura respecto al testigo (%)	Altura (cm)	Diferencia respecto al testigo	Incremento en altura respecto al testigo (%)
CLON				SEMILLA		
T	274 A			235 C		
BF	266 A	-8	-2,92	260 B	25	10,64
BR	261 A	-13	-4,74	277 A	42	17,87
FK	285 A	11	4,01	282 A	47	20,00
NI	262 A	-12	-4,38	231 C	-4	-1,70
NM	281 A	7	2,55	224 C	-11	-4,68
P	209 B	-65	-23,72	230 C	-5	-2,13
W	269 A	-5	-1,82	249 C	14	5,96

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos.

Valores negativos indican que se produjo una disminución en la altura respecto al testigo.

Tratamientos: Basfoliar (BF), Biorend, (BR), Fanafos K (FK), Nativo aplicado a inicio de estación de otoño y de primavera (NI), nativo aplicado a mediados de estación de otoño y de primavera (NM), nativo de aplicación mensual (P), testigo (T) y Wuxal (W).

En clones no se observaron diferencias significativas entre los árboles testigo y los árboles tratados con fertilizantes. Los testigos sólo se diferenciaron de los árboles tratados con fungicida mensual (P) que crecieron menos. En semilla, se observaron

diferencias significativas entre los árboles tratados con fungicida (P, NI y NM) y los tratados con fertilizantes a excepción de wuxal (W). Los testigos y los tratados con fungicida fueron los árboles que alcanzaron menor altura. No se observaron diferencias significativas entre ellos. Los árboles con aplicación de fanafos K (FK) fueron los de mayor incremento (20%) mientras que los de menor fueron los tratados con fungicida a mediados de estación (NM) (Tabla 6).

En cuanto a la supervivencia de los árboles, esta plantación en particular fue severamente afectada por heladas en junio de 2012 que causó la pérdida de casi toda la plantación (Fig.15a). Sólo los árboles protegidos (con aplicación mensual de fungicida) fueron los que sobrevivieron a la epidemia y helada (Fig.15b).

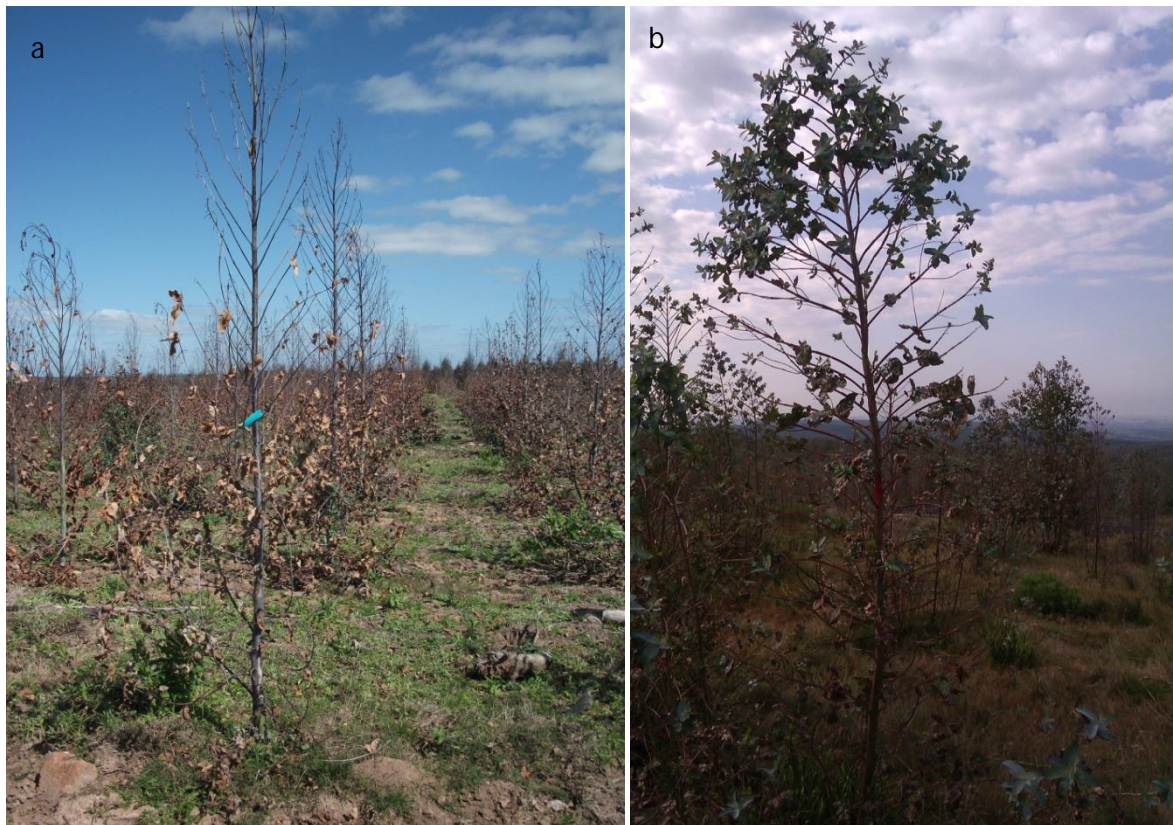


Figura 15. Efecto de las heladas sobre a) Parcela con árboles con aplicación de biorend. b) Parcela con aplicación de fungicida mensual.

VELÁZQUEZ (ROCHA)

En Rocha, si bien durante los primeros seis meses (octubre 2011 a abril 2012) los árboles de todos los tratamientos presentaban síntomas (manchas en las hojas), la incidencia (10-40%) fue mayor que la severidad (5%), esto es, había muchas hojas manchadas pero el porcentaje foliar afectado era bajo resultando con índices de daño de copa (CDI) bajos (0,4-24 en clones y 3-41 en semilla) (Fig. 16 y 17). En primavera de 2012 (al año de plantados los árboles) se observó el primer evento de defoliación. La incidencia y la severidad presentaron valores altos (50-80% y 30-60% respectivamente) tanto en clon como en semilla lo que se vio reflejado en mayores valores de índice de daño de copa (CDI) (25-82) (Fig. 16 y 17). Los árboles tratados con fungicida de aplicación mensual (P) fueron los únicos que no defoliaron y además fueron los que mostraron menor incidencia y severidad mientras que los tratados con fungicida a mediados de estación (NM) presentaron poca defoliación (10-20%). En otoño de 2013 (a los 18 meses) también se observó defoliación (5-50%) siendo menor que la observada a los 12 meses (octubre 2012) (20-80%). Los árboles principalmente afectados (mayor CDI) fueron los testigos tanto de clon como de semilla (Fig. 16 y 17). Los árboles de semilla tratados con fungicida a inicio (NI) y mediados de estación (NM) prácticamente no defoliaron. Los árboles de los demás tratamientos presentaron defoliación sólo en uno de los bloques, con valores entre 5-20%. Las figuras 16 y 17 muestran una disminución en el daño luego de los 12 meses, siendo más acentuada en clon que en semilla.

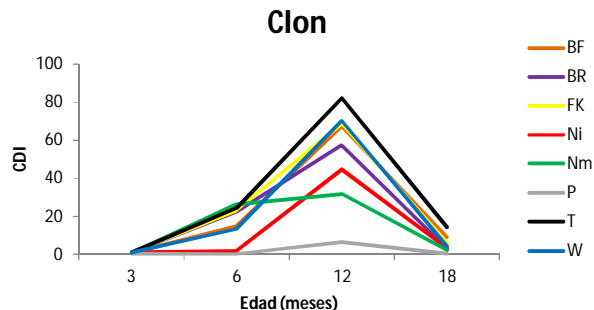


Figura 16. Valores de índice de daño de copa (CDI) para los árboles de clon Odiel plantados en Velázquez. Tratamientos: Basfoliar (BF), Biorend, (BR), Fanafos K (FK), Nativo aplicado a inicio de estación de otoño y de primavera (NI), nativo aplicado a mediados de estación de otoño y de primavera (NM), nativo de aplicación mensual (P), testigo (T) y Wuxal (W).

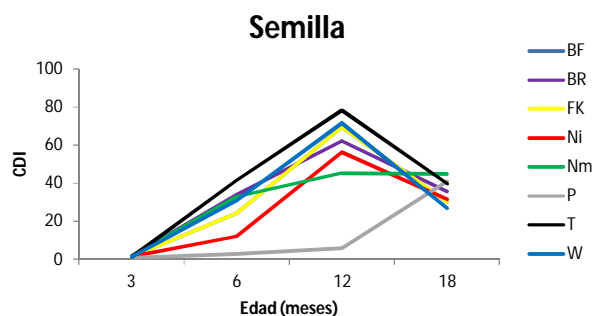


Figura 17. Valores de índice de daño de copa (CDI) para los árboles de semilla Jeeralang plantados en Velázquez. Tratamientos: Basfoliar (BF), Biorend, (BR), Fanafos K (FK), Nativo aplicado a inicio de estación de otoño y de primavera (NI), nativo aplicado a mediados de estación de otoño y de primavera (NM), nativo de aplicación mensual (P), testigo (T) y Wuxal (W).

Los resultados muestran que se produjeron dos períodos de infección, uno entre los meses de abril y octubre de 2012 que explicaría el daño generado a los 12 meses y, otro a los 18 meses (en otoño) con índice de daño menor. Las precipitaciones registradas en la zona del establecimiento fueron mayores en estos períodos con varios

días de precipitaciones acumuladas (Fig. 18) lo que habría favorecido la colonización y desarrollo del patógeno.

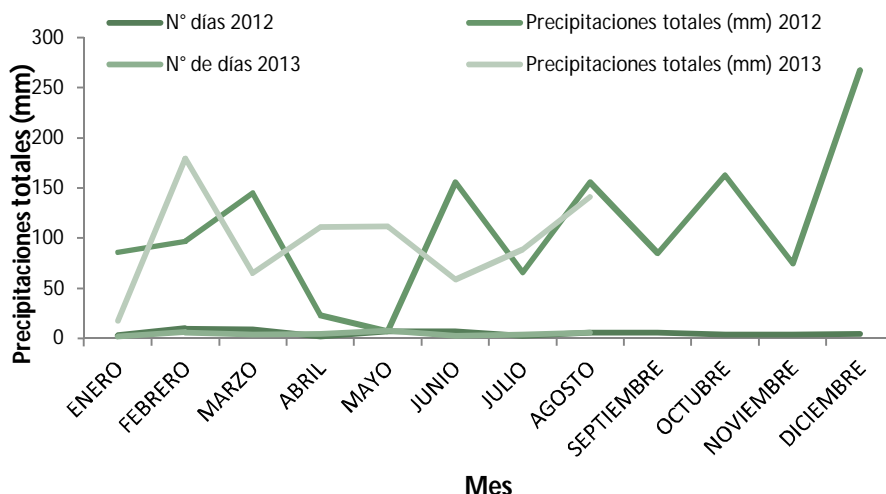


Figura 18. Precipitaciones registradas en el año 2012 y 2013 en la zona de Velázquez.

En cuanto al efecto de daño entre los distintos genets de los árboles a lo largo del tiempo, los análisis estadísticos indicaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre clon y semilla en todas las edades excepto a los 12 meses (Tabla 7).

Tabla 7. Valores promedio de índice de daño de copa (CDI) de todos los datos de clon y semilla a los 3, 6, 12 y 18 meses.

Genética	Tiempo (meses)			
	3	6	12	18
Clon	0,89 A	16,24 A	54,62 A	5,33 A
Semilla	1,32 B	26,13 B	57,56 A	36,15 B

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

El análisis de daño asociado a geneto y tratamiento también mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) entre al menos dos tratamientos (Anexo 2). En clones, los menos afectados (0,55) fueron los árboles tratados con fungicida de aplicación mensual (P)

mientras que los más dañados (14,28) fueron los testigos (T) y los tratados con basfoliar (BF) (9,15). Por otro lado, no se observaron diferencias significativas en el efecto debido a la aplicación de fungicida a inicio de estación (NI), a mediados de estación (NM), wuxal (W), fanafos K (FK) y biorend (BR) (Tabla 8).

En árboles de semilla la respuesta frente al daño fue distinta a la observada en clones. Los de menor daño (CDI= 27) fueron los tratados con wuxal (W) mientras que los de mayor daño (CDI = 44,69) fueron los testigos (T) y los tratados con fungicida a inicio (NI) y mediados de estación (NM). No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos con los fertilizantes fanafos K (FK), biorend (BR) y basfoliar (BF) (Tabla 8).

En clones, todos los tratamientos efectuados mostraron una reducción en el daño respecto a los testigos. En árboles de semilla se observó un efecto variado, todos los árboles con aplicación de fertilizante tuvieron una disminución en el daño frente al testigo mientras que los tratados con fungicida mensual (P) y a mediados de estación (NM) mostraron un incremento (Tabla 8).

Tabla 8. Promedio de resultados por tratamiento del índice de daño de copa (CDI), diferencia respecto al testigo y disminución de daño (%), a los 18 meses, en árboles de clon y semilla de *E. globulus* en Velázquez.

Tratamiento	CDI	Diferencia respecto al testigo	Disminución respecto al testigo (%)	CDI	Diferencia respecto al testigo	Disminución respecto al testigo (%)
	CLON			SEMILLA		
T	14,28 A			39,80 A		
BF	9,15 A	5,13	35,94	37,84 B	1,96	4,91
BR	3,32 B	10,97	76,79	35,56 B	4,24	10,65
FK	5,78 B	8,50	59,51	30,12 B	9,68	24,31
NI	3,38 B	10,90	76,34	31,61 B	8,19	20,57
NM	2,26 B	12,02	84,16	44,68 A	-4,88	-12,27
P	0,55 C	13,74	96,18	40,97 A	-1,17	-2,94
W	4,19 B	10,09	70,66	26,79 C	13,01	32,69

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos.

Valores negativos indican un aumento en el índice de daño de copa (CDI) respecto al testigo.

Tratamientos: Testigo (T), Basfoliar (BF), Biorend (BR), Fanafos K (FK), Nativo aplicado a inicio de otoño y de primavera (NI), nativo aplicado a mediados de otoño y de primavera (NM), nativo aplicado mensualmente (P) y Wuxal (W).

El crecimiento en altura en clones y semilla para un mismo tratamiento fue muy similar, a los 18 meses. Se observó una misma tendencia en los dos genetos. Los árboles que alcanzaron mayor altura a los 18 meses fueron los tratados con fungicida en sus tres estrategias y los de menor crecimiento fueron los tratados con wuxal (W), basfoliar (BF) y los testigos (T). No se observaron diferencias significativas entre los tres tratamientos con menor crecimiento (Tabla 9).

De los cinco tratamientos, el fungicida aplicado a inicio de estación (NI) fue el que mostró mayor incremento (14,41%) en altura respecto al testigo (T) de clones mientras que en árboles de semilla fue el fungicida de aplicación mensual (NM) (17,23%). Por otro lado, tanto en clon como en semilla, los árboles de las parcelas tratadas con fertilizante wuxal (W) y basfoliar (BF) fueron los de menor incremento. La diferencia radica en que en semilla el incremento fue apenas mayor (Tabla 9).

Tabla 9. Valores promedio de crecimiento en altura, diferencia respecto al testigo e incremento en altura correspondiente a los 18 meses, en árboles de clon y semilla de *E. globulus* en Velázquez.

Tratamiento	Altura (cm)	Diferencia respecto al testigo	Incremento respecto al testigo (%)	Altura (cm)	Diferencia respecto al testigo	Incremento respecto al testigo (%)
	CLON			SEMILLA		
T	451 B			441 B		
BF	414 B	-37	-8,20	424 B	-17	-3,85
BR	482 A	31	6,87	470 B	29	6,58
FK	472 A	21	4,66	460 B	19	4,31
NI	516 A	65	14,41	489 A	48	10,88
NM	503 A	52	11,53	492 A	51	11,56
P	486 A	35	7,76	517 A	76	17,23
W	420 B	-31	-6,87	435 B	-6	-1,36

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos.

Valores negativos indica una disminución en la altura respecto al testigo.

Tratamientos: Testigo (T), Basfoliar (BF), Biorend (BR), Fanafos K (FK), Nativo aplicado a inicio de otoño y de primavera (NI), nativo aplicado a mediados de otoño y de primavera (NM), nativo aplicado mensualmente (P) y Wuxal (W).

RETAMOSA (LAVALLEJA)

En esta plantación hubo predominancia de mancha amarilla más que de mancha típica de *T. nubilosa*. A los 3 y 6 meses el daño generado en clones y semilla fue similar (Fig. 19 y 20) y sin defoliación. Se observó un aumento en la incidencia y severidad (mayor CDI) respecto a los 3 meses con la excepción de los árboles protegidos (P) donde los valores se mantuvieron en 5%. Tanto en clon como en semilla se observó que los árboles con aplicación de fungicida mensual (P) fueron los que resultaron con menor daño los primeros 12 meses (Figs.19 y 20). En clones esta tendencia se mantuvo hasta los 18 meses. Sin embargo, los árboles de semilla protegidos (P) se comportaron igual que el testigo (T) y el resto de los tratamientos, aumentando notoriamente el daño en ellos a los 18 meses (Fig.20).

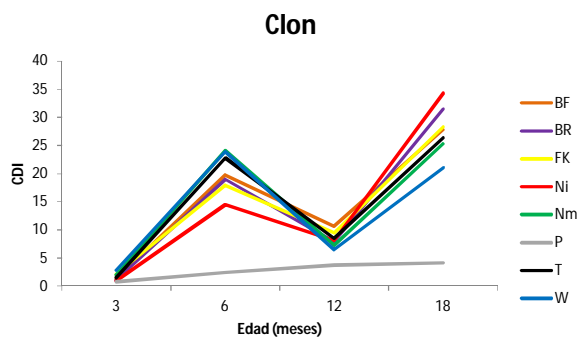


Figura 19. Valores de índice de daño de copa (CDI) para los clones Odiel plantados en Retamosa. Tratamientos: Basfoliar (BF), Biorend, (BR), Fanafos K (FK), Nativo aplicado a inicio de estación de otoño y de primavera (NI), Nativo aplicado a mediados de estación de otoño y de primavera (NM), Nativo de aplicación mensual (P), Testigo (T) y Wuxal (W).

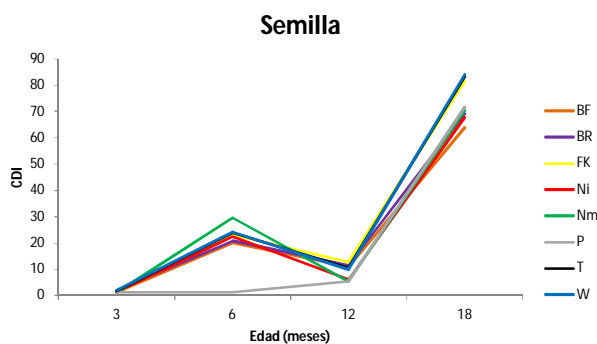


Figura 20. Valores de índice de daño de copa (CDI) para los árboles de semilla Jeeralang plantados en Retamosa. Tratamientos: Basfoliar (BF), Biorend, (BR), Fanafos K (FK), Nativo aplicado a inicio de estación de otoño y de primavera (NI), Nativo aplicado a mediados de estación de otoño y de primavera (NM), Nativo de aplicación mensual (P), Testigo (T) y Wuxal (W).

De acuerdo a los resultados, se podría decir que se produjeron dos eventos de infección, uno antes del año de plantados los árboles que condujo a la defoliación observada a los 12 meses (primavera 2013) y, otro entre los 15 y 16 meses que generó

la defoliación a los 18 meses (otoño 2014). Si bien se produjo defoliación a los 12 meses, el índice de daño (CDI) se mantuvo en valores bajos debido a que la incidencia y severidad de la infección también fue baja. Las figuras muestran que los árboles protegidos (P) se mantuvieron con valores muy bajos de índice de daño (CDI) (3,74 en clones y 5,38 en semilla).

De acuerdo al registro de precipitaciones de la zona (Fig. 21), se observó que en febrero, mayo y septiembre de 2013 las lluvias fueron más intensas. Esto explicaría la aparición de manchas pero sin defoliación a los 6 meses (máximo de CDI aunque son valores bajos) y la defoliación a los 12 y 18 meses.

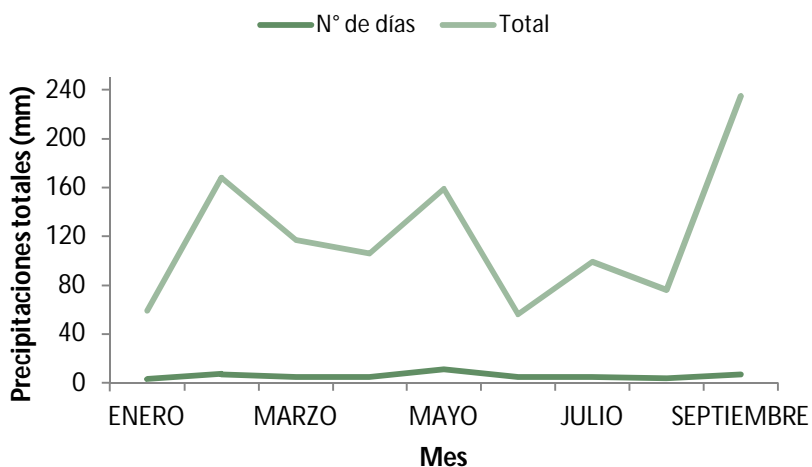


Figura 21. Precipitaciones registradas en el año 2013 en la zona de Retamosa.

Por otro lado, el análisis de daño de copa (CDI) de clon y semilla en todos los datos considerados en conjunto a lo largo del tiempo, mostró diferencias significativas ($p < 0,05$), a los 6, 12 y 18 meses (Tabla 10). Esas diferencias se vieron más acentuadas a los 18 meses cuando los árboles de semilla mostraron mayor daño que los clones (Figs. 19 y 20).

Tabla 10. Valores promedio de índice de daño de copa (CDI) de todos los datos de clon y semilla a los 3, 6, 12 y 18 meses en Retamosa.

Tiempo (meses)				
Genética	3	6	12	18
Clon	1,53 A	17,73 A	7,66 A	24,48 A
Semilla	1,51 A	21,15 B	9,06 B	73,84 B

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

En cuanto al análisis de daño asociado a geneto y tratamiento también se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre al menos dos tratamientos. A los 18 meses, el daño generado se incrementó tanto en clones como en semilla. Se produjo un aumento de la incidencia, severidad y defoliación en casi todas las parcelas que condujo a altos valores de índice de daño de copa (CDI =34) en comparación al daño generado en los meses anteriores. En clones, los árboles con fungicida de aplicación mensual (P) fueron los menos afectados (CDI= 4) mientras que los más dañados (CDI= 34,33) fueron los tratados con fungicida a inicio de estación (NI). No se observaron diferencias significativas entre los árboles testigo (T), los tratados con fungicida de aplicación estratégica (a inicio (NI) y mediado de estación (NM)), fanafos K (FK) y basfoliar (BF). Las diferencias observadas entre los protegidos (P) y los demás tratamientos fueron significativas ($p < 0,05$). La disminución de daño fue mayor para los árboles protegidos (P) con un 84,38% respecto al testigo (T) sin embargo, los árboles con aplicación de fungicida a inicio de estación (NI) tuvieron un incremento en el daño de 30,14% respecto a los árboles control (T) (Tabla 11).

En árboles de semilla, el índice da daño (CDI) alcanzó valores entre 64-84. Los menos afectados (CDI=63,89) fueron los árboles tratados con basfoliar (BF) mientras que los más dañados (CDI= 84,12) fueron los tratados con wuxal (W). Los testigos (T) así como

los tratados con fanafos K (FK) también estuvieron dentro de los tratamientos más afectados. Por otro lado, no se observaron diferencias significativas en el daño generado en los demás tratamientos. Los árboles tratados con fungicida en sus tres formas (P, NI y NM) así como los tratados con basfoliar (BF) y biorend (BR) resultaron igual de afectados. La disminución de daño fue mucho menor respecto a los clones. De los cinco productos evaluados, sólo las parcelas tratadas con wuxal (W) tuvieron incremento de daño respecto a los testigos (T) (Tabla 11).

Tabla 11. Promedio de resultados por tratamiento del índice de daño de copa (CDI), diferencia respecto al testigo y disminución de daño, a los 18 meses, en árboles de clon y semilla de *E. globulus* en Retamosa.

Tratamiento	CDI	Diferencia respecto al testigo	Disminución de daño respecto al testigo (%)	CDI	Diferencia respecto al testigo	Disminución de daño respecto al testigo (%)
	CLON			SEMILLA		
T	26,38 A			83,19 A		
BF	27,82 A	-1,44	-5,46	63,89 B	19,3	23,20
BR	31,45 A	-5,07	-19,22	69,14 B	14,05	16,89
FK	28,37 A	-1,99	-7,54	81,62 A	1,57	1,89
NI	34,33 A	-7,95	-30,14	67,73 B	15,46	18,58
NM	25,28 A	1,10	4,17	70,4 B	12,79	3,04
P	4,12 B	22,26	84,38	71,73 B	11,46	13,78
W	21,06 C	5,32	20,17	84,12 A	-0,93	-1,12

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos.

Valores negativos indican un aumento en el índice de daño (CDI) respecto al testigo.

Tratamientos: Testigo (T), Basfoliar (BF), Biorend (BR), Fanafos K (FK), Nativo aplicado a inicio de otoño y de primavera (NI), nativo aplicado a mediados de otoño y de primavera (NM), nativo aplicado mensualmente (P) y Wuxal (W).

Se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en altura en un mismo tratamiento (fungicida de aplicación mensual y wuxal) en árboles de clon y semilla a los 18 meses.

En el resto de los tratamientos no se observaron diferencias significativas en el crecimiento de los árboles, tanto clones como semilla alcanzaron una media en altura similar (Tabla 12).

En clones, los árboles que alcanzaron menor altura fueron los tratados con fosfito de potasio (408cm) mientras que los de mayor crecimiento (532 y 535 cm) fueron los tratados con fungicida mensual y a mediados de estación. Se obtuvieron diferencias significativas entre los testigos y dos tratamientos con fungicida (mensual y a mediados de estación). Por otro lado, los árboles tratados con fertilizantes, con fungicida a inicio de estación y los testigos no mostraron diferencias significativas en el crecimiento (Tabla 12).

En árboles de semilla, los que tuvieron menor crecimiento (372cm) fueron los tratados con wuxal (W). Estos se diferenciaron (p valor $<0,05$) del resto de los tratamientos. Los árboles que alcanzaron mayor altura (607cm) fueron los tratados con fungicida a inicio de estación (NI). Los árboles testigo (T) sólo se diferenciaron de los tratados con fungicida a mediados de estación (NM) (Tabla 12).

El incremento en altura respecto a los testigos de clones y árboles de semilla fue mayor para los que se trataron con fungicida. En cuanto al efecto de los fertilizantes, los árboles clones tratados con fanafos K (FK) y los de semillas tratados con wuxal (W) fueron los que tuvieron menor incremento (Tabla 12).

Tabla 12. Valores promedio de crecimiento en altura, diferencia respecto al testigo e incremento en altura correspondiente a los 18 meses en árboles de clon y semilla de *E. globulus* en Retamosa.

Tratamiento	Altura (cm)	Diferencia respecto al testigo	Incremento en altura respecto al testigo (%)	Altura (cm)	Diferencia respecto al testigo	Incremento en altura respecto al testigo (%)
CLON				SEMILLA		
T	446 B			421 C		
BF	462 B	16	3,59	446 C	25	5,94
BR	446 B	0	0,00	428 C	7	1,66
FK	408 B	-38	-8,52	442 C	21	4,99
NI	464 B	18	4,04	607 A	186	44,18
NM	535 A	89	19,96	517 B	96	22,80
P	532 A	86	19,28	440 C	19	4,51
W	442 B	-4	-0,90	372 D	-49	-11,64

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos.

Valores negativos indican una disminución en la altura respecto al testigo.

Tratamientos: Testigo (T), Basfoliar (BF), Biorend (BR), Fanafos K (FK), Nativo aplicado a inicio de otoño y de primavera (NI), nativo aplicado a mediados de otoño y de primavera (NM), nativo aplicado mensualmente (P) y Wuxal (W).

SOLÍS DE MATAOJO (LAVALLEJA)

En la plantación de otoño 2013 con plantines de *E. maidenii* el comportamiento de los árboles frente a la infección por el hongo fue distinta a la observada en *E. globulus*. Durante las dos primeras evaluaciones realizadas, no se observó ningún tipo de síntoma en los árboles, las hojas no presentaban manchas ni se produjo defoliación (Fig. 22). No se registró daño en los árboles (CDI = 0). A los 12 meses (abril 2014) se observaron las primeras manchas cuya incidencia y severidad fue baja (5-30%) y no hubo defoliación. A los 18 meses la incidencia y severidad aumentaron levemente respecto a los 12 meses pero tampoco se observó defoliación en los árboles.

El daño observado alcanzó valores máximos de CDI de 25,56 (a los 18 meses) solamente debido a la presencia de manchas. Estos valores son semejantes a aquellos

observados en los clones de las plantaciones de primavera, lo que indicaría un comportamiento similar en cuanto a la respuesta debido al ataque por el hongo.

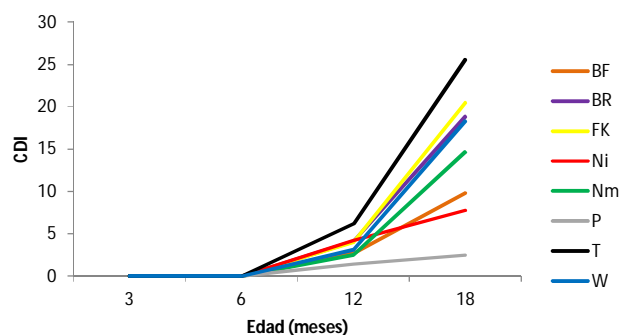


Figura 22. Valores de índice de daño de copa (CDI) para *E. maidenii* plantados en Solís de Mataojo. Tratamientos: Testigo (T), Basfoliar (BF), Biorend (BR), Fanafos K (FK), Nativo aplicado a inicio de otoño y de primavera (NI), nativo aplicado a mediados de otoño y de primavera (NM), nativo aplicado mensualmente (P) y Wuxal (W).

En cuanto a los tratamientos efectuados, se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el daño producido en los árboles no tratados (testigos) y aquellos tratados con basfoliar (BF) y las tres estrategias de aplicación de fungicida (P, NI y NM) (Tabla 13). El daño fue mucho menor (CDI = 2,48) en los árboles con aplicación de fungicida mensual (P) mientras que los testigos (T) fueron los más afectados (CDI = 25,56). No se observaron diferencias significativas en el efecto de los tratamientos con biorend (BR) fanafos K (FK) y wuxal (W). La misma tendencia se observó en la disminución de daño respecto al testigo, los protegidos (P) lo disminuyeron en un 90%. Si bien los árboles tratados con fosito de potasio (FK) también mostraron una reducción en el daño, la misma fue mucho menor (19,84%) (Tabla 13).

Tabla 13. Promedio de resultados por tratamiento del índice de daño de copa (CDI), diferencia respecto al testigo y disminución de daño, a los 18 meses, en árboles de *E. maidenii* en Solís de Mataojo.

Tratamiento	CDI	Diferencia respecto al testigo	Disminución de daño respecto al testigo (%)
T	25,56 A		
BF	9,78 C	15,78	61,74
BR	18,84 A	6,72	26,29
FK	20,49 A	5,07	19,84
NI	7,74 C	17,82	69,72
NM	14,63 B	10,93	42,76
P	2,48 D	23,08	90,30
W	18,31 A	7,25	28,36

Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos. Valores negativos indican un aumento en el índice de daño de copa (CDI) respecto testigo. Tratamientos: Testigo (T), Basfoliar (BF), Biorend (BR), Fanafos K (FK), Nativo aplicado a inicio de otoño y de primavera (NI), nativo aplicado a mediados de otoño y de primavera (NM), nativo aplicado mensualmente (P) y Wuxal (W).

Los árboles de *E. maidenii* tuvieron un crecimiento en altura menor que los árboles de *E. globulus*.

Todas las aplicaciones realizadas mostraron una disminución en el crecimiento respecto al testigo (T) siendo más notoria esa disminución en las parcelas de árboles protegidos (fungicida mensual) con una disminución de 22,03%.

Los que alcanzaron mayor altura (345 y 311cm) fueron los testigos (T) y los tratados con fanafos K (FK). No se observaron diferencias significativas entre ellos. El crecimiento de estos árboles fue significativo respecto a los demás tratamientos. Los de menor altura fueron los tratados con fungicida de aplicación mensual (P) con 269cm. Este tratamiento sólo se diferenció de los árboles tratados con fanafos K (FK) y con fungicida a mediados de estación (NM) (Tabla 14).

Tabla 14. Valores promedio de crecimiento en altura, diferencia respecto al testigo incremento correspondiente a los 18 meses, en *E. maidenii* en Solís de Matajojo..

Tratamiento	Altura (cm)	Diferencia respecto al testigo	Incremento respecto al testigo (%)
T A	345		
BF B	291	-54	-15,65
BR B	298	-47	-13,62
FK A	311	-34	-9,86
NI B	296	-49	-14,20
NM B	304	-41	-11,88
P B	269	-76	-22,03
W B	285	-60	-17,39

Letras distintas indican diferencias significativas $p < 0,05$ entre tratamientos. Valores negativos indican una disminución en la altura respecto al testigo. Tratamientos: Testigo (T), Basfoliar (BF), Biorend (BR), Fanafos K (FK), Nativo aplicado a inicio de otoño y de primavera (NI), nativo aplicado a mediados de otoño y de primavera (NM), nativo aplicado mensualmente (P) y Wuxal (W).

DISCUSIÓN

Los resultados de este trabajo mostraron la ocurrencia de síntomas típicos de MLD y de infección debido a la presencia de *T. nubilosa* en las cuatro plantaciones estudiadas. La naturaleza de la infección así como los síntomas observados a campo son consistentes con aquéllos descritos para *T. nubilosa* por distintos autores afectando plantaciones de *Eucalyptus* spp. en diversas partes del mundo (Crous, 1998; Hunter et al. 2009) tal como se ha planteado en la hipótesis.

También se encontraron otras especies, *Austroafricana parva* (= *T. parva*) y *M. lateralis*, asociadas a las manchas de *T. nubilosa* en *E. globulus* y *E. maidenii*. Si bien muchas especies de *Teratosphaeria* y *Mycosphaerella* son capaces de infectar *Eucalyptus* spp., las especies más importantes causantes de MLD son *T. nubilosa* y *T. cryptica* (Carnegie y Ades, 2002; Carnegie, 2007). Estas dos especies son consideradas patógenos primarios que afectan el tejido de hojas jóvenes y adultas (Park y Keane, 1982a; Hunter et al. 2008; Maxwell et al. 2001). La ocurrencia de otras especies asociadas a las manchas típicas de MLD podría deberse a que algunas, como *A. parva* actuaran como colonizadores secundarios de manchas preexistentes de *Mycosphaerella* y *Teratosphaeria* spp. (Carnegie et al. 2011). El papel de *M. lateralis* en el desarrollo de la enfermedad no está bien definido aún. Primero se planteó que *M. lateralis* podría ser hiperparásito de *T. nubilosa* y de *T. cryptica* pero posteriormente, que podría ser sólo un saprófito y no un colonizador primario dado que no se encontró evidencia de que desarrollara estructuras de penetración o produjera lesiones en las hojas (Jackson et al. 2004).

En las cuatro plantaciones se observó la presencia de manchas típicas de MLD debidas a *T. nubilosa*. Esto estaría asociado a la cantidad de inóculo preexistente en cada zona como así también a las condiciones climáticas y a la alta susceptibilidad de *E. globulus* y *E.maidenii*. La principal fuente de ascosporas son hojas infectadas de los árboles así como de la hojarasca de estaciones anteriores (Park y Keane, 1987). Los ascocarpos de las especies *Teratosphaeria* y *Mycosphaerella* son capaces de permanecer viables por varios meses dentro del tejido foliar de forma de proporcionar suficientes ascosporas para futuras infecciones (Park, 1988b; Park y Keane, 1982b, 1987). Las esporas pueden ser liberadas a una distancia de 12-15 mm del asco y así ser dispersadas por el viento a distancias considerables (Park and Keane, 1982b).

Las condiciones ambientales en cada una de las zonas donde se instalaron las plantaciones favorecieron que el patógeno pudiera infectar las hojas y desarrollarse. En las cuatro plantaciones, en los meses previos a cada evento de defoliación observado, se produjeron varios días de precipitaciones. El agua acumulada y la temperatura promedio del ambiente (18°C) favorecieron las condiciones para la liberación y germinación de las ascosporas del ascocarpo preexistente ya sea en la hojarasca o en las plantaciones vecinas. Los niveles de humedad ambiental constituyen un factor importante para que *T. nubilosa* sea capaz de infectar las hojas (Hunter et al. 2009). Estudios realizados por Park (1988b) indican que la defoliación prematura así como lesiones más grandes ocurre cuando las plantas son expuestas a períodos de humedad de entre 5-7 días. Incluso la severidad de la infección es mayor cuanto mayor es el período de humedad al que se encuentran expuestos los árboles (Park, 1988b). Si bien se produjo infección en todos los ensayos, el momento y el grado de la misma en

cada sitio fue distinto. Estas diferencias podrían atribuirse a que las condiciones ambientales en cada sitio fueron diferentes. En los tres ensayos de primavera, la defoliación se produjo cuando ocurrieron precipitaciones durante varios días consecutivos. A su vez, en todas las zonas se observó la presencia de inóculo preexistente en campos vecinos lo que habría contribuido la dispersión de las esporas hacia las nuevas plantaciones en estudio.

La proporción de hojas juveniles y adultas en los árboles también es un factor importante ya que puede afectar el índice de daño de copa (CDI). Cheah y Hartill (1987) y Ganapathi (1979) sostienen que la infección de las hojas de *Eucalyptus* por *T. nubilosa* ocurre mayormente en hojas juveniles en los meses de verano y otoño en Australia. Según Park (1988a), las hojas juveniles son mucho más susceptibles a *T. nubilosa* y a medida que las hojas de los árboles envejecen se tornan más resistente al ataque por el hongo debido a la deposición de compuestos recalcitrantes. Esto podría explicar las diferencias observadas en cuanto al momento y grado de infección entre las plantaciones. En algunas a los 6 meses ya mostraban cambio de hoja juvenil a adulta mientras que en otras recién a los 12 meses comenzaban a aparecer las primeras hojas adultas.

Las características morfológicas y el análisis filogenético basado en secuencias de ITS confirmaron que los síntomas en las hojas en todas las plantaciones evaluadas eran causados principalmente por *T. nubilosa*. La identificación de *Teratosphaeria* y *Mycosphaerella* spp. mediante técnicas moleculares es un método rápido, sensible y confiable en comparación con la identificación en base a características morfológicas. Estas especies han sido reportadas previamente en Uruguay (Navarrete, 2010; Pérez

et al. 2009 a y b) así como en diversos países con plantaciones de *Eucalyptus* spp. (Crous et al. 2004; Crous et al. 2009, 2012; Carnegie et al. 2011; Hunter et al. 2011).

El análisis filogenético basado en múltiples genes (ITS, β T y EF-1 α) confirmó la existencia de otro patógeno foliar (*T. pseudoeucalypti*), no registrado previamente en Uruguay, que afecta a *E. globulus* y *E. maidenii*. La identificación, sólo en base a características morfológicas, de especies del género *Teratosphaeria* es inconclusa ya que muchas de ellas son crípticas y resulta difícil discriminarlas. Es el caso de *T. pseudoeucalypti* y *T. eucalypti*, la diferenciación entre estas dos especies ha sido posible gracias a la comparación de secuencias de ADN de distintas regiones (Andjic et al. 2010). La ocurrencia de este patógeno fue detectada por primera vez en Australia afectando de forma importante plantaciones de *Eucalyptus* sp. y de *E. grandis* x *E. camaldulensis* (Andjic et al. 2010). También ha sido identificada en *E. globulus*, *E. urophylla* x *E. globulus* y *E. nitens* x *E. globulus* en Brasil (Tonimara de Souza, et al. 2014). Recientemente *T. pseudoeucalypti* fue encontrada en *E. grandis* x *E. camaldulensis* en Argentina (Ramos y Pérez, 2015).

En este estudio se observaron diferencias en la susceptibilidad a MLD entre los genets de *E. globulus* evaluadas. Diversos autores sostienen que existen diferencias reales en cuanto al grado de susceptibilidad que pueden presentar las distintas especies de *Eucalyptus*, ya sea según su origen, familia especie y/o subespecie (Carnegie y Ades, 2005; Carnegie et al. 1994, 1998, 2004; Dungey et al. 1997; Hood et al. 2002; Milgate et al. 2005; Purnell y Lundquist, 1986; Wilcox, 1982). Carnegie et al. (1998) estudiaron el impacto de MLD en 14 especies diferentes de *Eucalyptus* concluyendo que *E. globulus*, *E. nitens* y *E. cypellocarpa* fueron los más afectados por

la enfermedad. También observaron la existencia de diferencias en la respuesta a MLD en una misma especie con orígenes distintos.

Los clones *E. globulus* evaluados en este estudio, mostraron menor susceptibilidad a la infección. El daño observado a los 18 meses, luego de la última aplicación de fertilizantes y fungicida, fue mucho menor frente al daño de los árboles de semilla. También se observó esta diferencia entre clones de *E. globulus* y *E. maidenii*, siendo *E. maidenii* menos susceptible a MLD. Estos datos son consistentes con un estudio de Carnegie et al. (1994) donde se determina que *E. maidenii* junto con *E. pseudoglobulus* procedentes de Victoria y Nuevo Gales del Sur respectivamente son menos susceptibles a *T. nubilosa* en comparación con *E. globulus* y *E. biscotata* provenientes de Victoria. Si bien la plantación de otoño con *E. maidenii* presentó síntomas de infección, la presencia del patógeno no se consideró agresiva ya que los árboles mostraron ser más resistentes al patógeno. Estas diferencias, en cuanto al comportamiento o respuesta frente al daño causado, podrían atribuirse a la composición genética de los árboles. La variabilidad intrínseca existente en ellos sería un factor importante en la forma de respuesta. Distintos factores abióticos (pH del suelo, nutrientes, temperatura, humedad, disponibilidad de agua) podrían afectar el nivel y forma de respuesta frente a la infección.

Las heladas constituyen la principal limitación para el cultivo de *E. globulus* en nuestra región. Es por ello que generalmente las plantaciones se realizan en primavera. Las plantas jóvenes pueden dañarse gravemente. Si las heladas son bruscas o repetitivas, *E. globulus* resulta mucho más sensible, soportando difícilmente más de 10 días de helada al año. Esto explica lo ocurrido con la plantación en Pirarajá, que fue

gravemente afectada por las heladas. Al mismo tiempo los árboles estaban afectados por la presencia de *T. nubilosa* lo que ocasionó mayor debilitamiento. La sinergia entre las heladas y la infección provocó la muerte de la mayor parte de la plantación.

En este estudio, la aplicación de fungicida sistémico durante el crecimiento vegetativo de los árboles tuvo un efecto satisfactorio, siendo éstos los árboles que mostraron menor daño por *T. nubilosa*. Esto es congruente con un estudio realizado por Carnegie y Ades (2003) en el que la aplicación de fungicida protector y sistémico en hojas juveniles y adultas de *E. globulus* reduce el desarrollo de MLD. Por otro lado, Park (1988b) plantea como estrategia para el control de *T. nubilosa* la aplicación de fungicidas en plantines en vivero. Si bien esto resulta plausible debido al tamaño de los plantines y a las condiciones ambientales a las que están expuestos (son más fáciles de controlar), en todas las plantaciones vimos que a los 3 meses el índice de daño (CDI) fue prácticamente cero en todas las parcelas tratadas así como en los árboles control (sin tratamiento) debido a que la infección es mayormente a campo. Por lo tanto, la aplicación en vivero, en este caso, no es una buena estrategia para el control de MLD. La actividad mesosistémica y sistémica conferida por cada uno de los dos compuestos del fungicida hacen que éste sea muy activo durante el comienzo del desarrollo de enfermedades aportando un prolongado efecto residual y permitiendo su distribución, a través del floema, en toda la planta (Ficha Técnica Nativo).

En todas las plantaciones, se observó mayor efectividad cuando las aplicaciones de fungicida se realizaron mensualmente (árboles protegidos) y al comienzo de cada estación. En árboles de semilla no se vio un efecto marcado en cuanto a un tratamiento en particular. Es indispensable conocer el ciclo epidemiológico de la enfermedad para

establecer cuáles son los meses y con qué frecuencia se deben hacer aplicaciones de fungicida. El buen uso de las predicciones meteorológicas para el momento de aplicación de cualquier tipo de fungicida es una buena práctica para garantizar su efecto (Jacome et al. 1991). En este caso, se realizó el seguimiento de las condiciones climáticas, previas al momento de cada aplicación como las predicciones para las siguientes horas de forma de garantizar el efecto deseado.

La fertilización directamente sobre las hojas es una práctica frecuente que se utiliza para corregir rápido y a corto plazo deficiencia de nutrientes (Trinidad y Aguilar, 1999). La fertilización produce cambios en el hospedero que pueden hacerlo más resistente o susceptible a los diferentes patógenos. Paralelamente, la nutrición puede determinar cambios en el ambiente, dados por mayor o menor crecimiento de los cultivos (Marveggio, 2012). Existen diversos estudios del efecto de fertilizantes en cultivos (de cereales, hortalizas, frutales (Pincioli et al. 2015) pero poco se conoce sobre su efecto en especies forestales. De todos los fertilizantes, sólo el fosfito de potasio mostró un efecto considerable en el estímulo del crecimiento de los árboles ya que las parcelas con este tratamiento fueron de las que tuvieron mayor crecimiento en altura. Por otro lado, la molécula de fosfito puede actuar directamente sobre ciertos hongos inhibiendo el desarrollo micelial o la esporulación o, indirectamente, estimulando en la planta la producción de fitoalexinas para el mecanismo de defensa (Marveggio, 2012). La producción de estos compuestos puede ocurrir sin la presencia del patógeno y así la planta cuenta con cierto nivel de defensa al momento del ataque por un patógeno, disminuyendo la enfermedad (Marveggio, 2012). Esto podría explicar por qué el daño observado en las parcelas con fosfito no fue tan agresivo como en los testigos. Otros

autores (Birk y Turner, 1992; Judd et al. 1996; Bennett et al. (1997) plantean que el agregado de fósforo incrementa el crecimiento de muchas especies de *Eucalyptus* lo que se evidencia en un aumento de la tasa fotosintética debido al incremento en el número de hojas. De acuerdo a esto podríamos suponer que los árboles tratados con fosfito tendrían la capacidad para reemplazar las hojas afectadas o perdidas de forma más rápida en comparación con tratamientos sin fosfito. Esto explicaría el mayor crecimiento en ellos.

Con respecto a los demás fertilizantes, si bien las diferencias no son significativas estadísticamente frente a los árboles testigo, se observaron diferencias entre los genotipos en respuesta a la aplicación foliar de un mismo fertilizante siendo más variable en los árboles de semilla. El desarrollo y la prosperidad de enfermedades depende de la interacción entre tres factores: hospedero (árbol), patógeno y ambiente. La fertilización foliar también se ve condicionada por tres factores: los relacionados con la planta (cutícula, estomas, absorción foliar), con el ambiente (temperatura, luz, humedad, hora de aplicación) y los relacionados con la formulación foliar (pH, surfactantes, sustancias activadoras, nutrimentos) (Trinidad y Aguilar, 1999).

Los árboles a los que se le aplicó wuxal resultaron ser igualmente afectados que los testigos por el ataque de *T. nubilosa* y en el crecimiento (menor altura). Por su alto contenido en macroelementos, principalmente nitrógeno, los árboles tratados con wuxal mostraron tejidos más suculentos respecto a los demás tratamientos. La mayor superficie expuesta de estos árboles así como ambientes menos aireados por el excesivo crecimiento podría favorecer un aumento en la infección. Según Carnegie y Ades (2001), las condiciones de microclima creadas por efecto de la canopia entre

árboles más bajos y más altos podría afectar la severidad entre ellos. En cuanto al crecimiento, distintos autores sostienen que los *Eucalyptus* pueden tolerar eventos aislados de defoliación sin que se vea afectado su desarrollo. Según Lundquist y Purnell (1987) defoliaciones de 25% en *E. nitens* de tres años, 40% de defoliación en *E. globulus* de un año (Eyles et al. 2009) y 50% en *E. nitens* de dos años (Rapley et al. 2009) no redujeron significativamente el crecimiento. En este estudio los eventos de defoliación no superaron el 80% ni en el testigo ni en ninguno de los tratamientos evaluados. A los 18 meses la mayoría de los tratamientos mostraban un crecimiento similar, recuperándose del daño que los había afectado. Estos resultados muestran una similitud con aquellos de Smith (2006) quien sostiene que los daños foliares menores al 80% provocan una pérdida inicial en el crecimiento retomándose luego el crecimiento normal, mientras que daños mayores al 80% provocan una reducción permanente en el crecimiento. Esto difiere de los resultados obtenidos por Balmelli (2014) quien determina que *E. globulus* puede tolerar defoliaciones de hasta un 40% sin afectación del crecimiento. Los resultados de este estudio también muestran que los árboles tratados con fungicida fueron los que prácticamente no defoliaron y que la defoliación observada en los demás tratamientos así como en el testigo no afectó su posterior desarrollo. El efecto del daño sobre el crecimiento, según Pinkard y Beadle, 1988; Carnegie y Ades, 2001; Smith, 2006, depende de la capacidad de recuperación del árbol, de la edad, del estado nutricional, del sitio y de la ocurrencia de condiciones de estrés como temperaturas extremas.

Debido al avance que ha tenido *T. nubilosa* es importante contar con programas que mejoren la sanidad de los árboles y que reduzcan los niveles de inóculo, ya sea

implementando medidas estrictas de control, creando programas para la investigación y desarrollo de material resistente de acuerdo a las condiciones y especies de cada sitio e incorporar medidas preventivas y curativas como la utilización de fungicidas para frenar la tasa de multiplicación de un patógeno que se registra en los comienzos de una epidemia.

CONCLUSIONES

T. nubilosa, uno de los patógenos más importantes por el daño que genera en distintos *Eucalyptus* spp., fue aislado de hojas juveniles y adultas de plantaciones jóvenes de *E. globulus* y *E. maidenii*, en la región sur-este de Uruguay. Esto pone en evidencia la persistencia de inóculo en la región.

Por primera vez, se detecta la presencia de un nuevo patógeno foliar, *T. pseudoeucalypti*, fuera de Australia. La susceptibilidad de diferentes especies de *Eucalyptus* a este patógeno no ha sido evaluada en Uruguay.

También se encontraron otras especies de *Mycosphaerella* y *Teratosphaeria* asociadas a las manchas típicas de MLD, ya reportadas previamente, que indica la coexistencia, con roles distintos, de especies emparentadas.

De los genets evaluados, los clones de *E. globulus* fueron menos afectados que los árboles de semilla, independientemente del tratamiento foliar efectuado. La selección de material con características deseadas para obtener un producto de mejor calidad resulta eficiente para hacer frente a este problema fitosanitario.

La presencia de follaje adulto más temprano en clones de *E. globulus* disminuye la susceptibilidad a MLD.

E. maidenii fue más resistente que *E. globulus* a la infección. La diferencia en el grado de susceptibilidad a *T. nubilosa* ha permitido sustituir *E. globulus* (una de las especies más susceptibles) por otras que resultan menos dañadas en Uruguay.

La aplicación foliar en vivero de los distintos productos no reduce la infección de MLD a campo.

La aplicación foliar mensual de fungicida controla mejor que el resto de los tratamientos el desarrollo de *T. nubilosa*

La aplicación foliar al inicio de la estación de otoño y primavera ofrece una segunda alternativa de control de la enfermedad ya que en la mayoría de las plantaciones el efecto fue superior al resto de los tratamientos.

La aplicación del fertilizante fosfito de potasio mejora la velocidad de crecimiento de los árboles.

La aplicación de wuxal produce aumento en el número y tamaño de hojas, incrementando así la superficie foliar expuesta al inóculo.

Este es el primer estudio en el que se evalúa el efecto de fertilizantes foliares, desde el vivero hasta la plantación, sobre la incidencia de MLD en *E. globulus* y *E. maidenii*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agenda Forestal. 2013. Rosario Pou. Editorial Siglo Comunicación, Montevideo, Uruguay, 148pp.

Agrios, G. 1988. *Plant Pathology*. Fifth edition. Academic Press Inc. Sydney. 921 pp.

Agrios, G. 2005. *Plant Pathology*. Third edition. Academic Press Inc. Sydney 803 pp.

Alfenas, A.C., Zauza, E.A.V., Mafia, R.G., Assis, T.F. 2004. Clonagem e doenças do eucalipto. Viçosa, MG, Brasil: Editora UFV.

Alonso, R., Lupo, S., Martínez, S., Pérez, C., Tiscornia, S., Bettucci, L. 2010. Problemas fitosanitarios en *Eucalyptus globulus* y *E. dunnii* en Uruguay. *Tropical Plant Pathology*, 35:91. XLIII Congreso Brasileiro de Fitopatología, Cuiabá, Brasil.

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

Ansuberro, J., Morales, V., Pintos, M., Pérez, G. (2015). Si. La producción de *Eucalyptus globulus* tuvo un antes y un después de la introducción del patógeno foliar *Teratosphaeria nubilosa* en Uruguay. Trabajo presentado en la III Jornada Nacional de Fitopatología y I Jornada Nacional de Protección Vegetal, Montevideo, Uruguay.

Balmelli, G., Marroni, V., Altier, N., García, R. 2004. Potencial del mejoramiento genético para el manejo de enfermedades en *Eucalyptus globulus*. In: Serie Técnica 143. INIA, Montevideo, Uruguay.

Balmelli, G. 2014. Impacto de *Mycosphaerella* en Uruguay y variabilidad genética para resistencia a la enfermedad en *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus maidenii*. Tesis Doctoral. Universidad de Valladolid.

Bennett, L., Weston, C., and Attiwill, P. 1997. Biomass nutrient content and response to fertilisers of six-year-old *Eucalyptus globulus* plantations at three contrasting sites in Gippsland, Victoria. *Australian Journal of Botany* 45:103-121.

Birk, E., Turner, J. 1992. Response of flooded gum (*E. grandis*) to intensive cultural treatments: biomass and nutrient content of *eucalypt* plantations and native forests. *Forest Ecology and Management* 47:1-28.

Carbone, I., Kohn, L.M. 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia* 91:553-556.

Carnegie, A.J. 2007. Forest health condition in New South Wales, Australia, 1996-2005. II. Fungal damage recorded in eucalypt plantations during forest health surveys and their management. *Australasian Plant Pathology* 36:225-239.

Carnegie, A.J., Ades, P.K. 2001. Added phosphorus is associated with reduced severity of *Mycosphaerella* cryptic in *Eucalyptus globulus*. *Australian Forestry* 64 (4) 203-208.

Carnegie, A.J., Ades, P.K. 2002. The proportion of leaf spots caused by *Mycosphaerella cryptica* and *M. nubilosa* on *Eucalyptus globulus*, *E. nitens* and their F1 hybrids in a family trial in Tasmania, Australia. *Australasian Mycologist* 21:53-63.

Carnegie, A.J., Ades, P.K. 2003. *Mycosphaerella* leaf disease reduces growth of plantation-grown *Eucalyptus globulus*. *Australian Forestry* 66:113-119.

Carnegie, A.J., Ades, P.K. 2005. Variation in *Eucalyptus globulus* Labill. and *E. nitens* Dean and Maiden in susceptibility of adult foliage to disease cause by *Mycosphaerella cryptica* (Cooke) Hansf. *Silvae Genetica* 54:174-184.

Carnegie, A.J., Ades, P.K., Keane, P.J., Smith, I.W. 1998. *Mycosphaerella* diseases of juvenile foliage in a *eucalypt* species and provenience trial in Victoria, Australia. *Australian Forestry* 61:190-194.

Carnegie, A.J., Johnson, I.G., Henson, M. 2004. Variation among provenances and families of blackbutt (*Eucalyptus pilularis*) in early growth and susceptibility to damage from leaf spot fungi. *Canadian Journal of Forest Research* 34:2314-2326.

Carnegie, A.J., Keane, P.J., Ades, P.K and Smith, I.W. 1994. Provenience variation in *Eucalyptus globulus* in seceptibility to *Mycosphaerella* leaf desease. *Canadian Journal of Forest Research* 24:1751-1757.

Carnegie, A., Pegg, G., White, D., Burgess, T. 2011 Species within Mycosphaerellaceae and terastophaeriaceae from *eucalypt* in Eastern Australia. *Australasian Plant Pathology* 40: 366-384.

Cheah, L.H., Hartill, W.F.T.1987. Ascospore release in *Mycosphaerella cryptica* (Cke) Hansf. *European Journal of Forest Pathology* 17:129-141.

Crous, P.W. 1998. *Mycosphaerella* spp. and their anamoprhs associated with leaf spot diseases of *Eucalyptus*. *Mycologia Memoir* 21:1-70.

Crous, P., Wingfield, M. 1996. Species of *Mycosphaerella* and their anamorphs associated with leaf blotch disease of *Eucalyptus* in South Africa. *Mycologia* 88:441-458.

Crous, P., Braun, U., Groenewald, J. 2007. *Mycosphaerella* is polyphyletic. *Studies in Mycology* 58:1-32.

Crous, P.W., Braun, U., Hunter, G.C., Wingfield, M.J., Verkley, G.J.M., Shin, H.D., Nakashima, C., Groenewald, J.Z. 2012. Phylogenetic lineages in *Pseuocercospora*. *Studies in Mycology* 75:37-114.

Crous, P., Groenewald, J., Mansilla, J., Hunter, G., Wingfield, M. 2004. Phylogenetic reassessment of *Mycosphaerella* spp. and their anamorphs occurring on *Eucalyptus*. *Studies in Mycology* 50:195-214.

Crous, P., Summerell, A., Carnegie, A., Wingfield, M., Groene, J. 2009. Novel species of *Mycosphaerellaceae* and *Teratosphaeriaceae*. *Persoonia* 23:119-146.

Cooke, M.C. 1981. Australian fungi. *Grevillea* 19:60-62.

Dick, M. 1982. Leaf inhabiting fungi of eucalypts in New Zealand. *New Zealand Journal of Forestry Science* 12:525-537.

Dick, M., Gadgil, P.D. 1983. *Eucalyptus* leaf spots. *Pathology un New Zealand*. N°1 Rotorua : New Zealand Forest Service, Forest Research Institute.

Dirección General Forestal (MGAP) 2011. Área efectiva de bosques. Proyecto PNUD URU/10/G3- 486.

Doidge, M.E. 1950. The South African fungi and lichens to the end of 1945. *Bothalia* 5:1-1094.

Dungey, H.S., Potts, B.M., Carnegie, A.J., Ades, P.K. 1997. *Mycosphaerella* leaf disease: genetic variation in damage to *Eucalyptus nitens*, *Eucalyptus globulus*, and their F1 hybrid. *Canadian Journal of Forestry Research* 27:750-759.

Eyles, A., Barry, K., Quentin, A., Pinkard, E. 2013. Impact of defoliation in temperate Eucalypt plantations: Physiological perspectives and management. *Forest Ecology Management* 304:49-64.

Ganapathi, A. 1979. Studies in the etiology of the leaf blotch disease of *Eucalyptus* spp. caused by *Mycosphaerella nubilosa* (Cke) Hansf. PhD Dissertation. Auckland: Department of Botany, University of Auckland.

Gardes, M., Bruns, T. 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* 2:113-118.

Gezahnge, A., Roux, J., Hunter, G.C., Wingfield, M.J. 2006. *Mycosphaerella* species associated with leaf disease of *Eucalyptus globulus* in Ethiopia. *Forest Pathology* 36:253-263.

Glass, N.L., Donaldson, G.C. 1995. Development of primers sets designated for use with the PCR to amplify conserved regions from filamentous Ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology* 61:1323-1330.

Graham, R.D., Webb, M.J. 1991. Micronutrients and disease resistance and tolerance in plants. Mortvedt, J.J., Cox, F.R., Shuman, L.M., Welch, R.M. (Eds.) *Micronutrientes in Agriculture* (2nd edition). Soil Science Society of America, Madison. WI. Pp.329-370.

Hammer, Ø., Harper, D.A.T., Ryan, P.D. 2001. Paleontological Statistics Software package for education and data analysis. *Palaeontología Electrónica* 4 (1) 9pp.

Hood, I., Gardner, J., Kimberly, M. 2002. Variation among *Eucalypt* species in early susceptibility to the leaf spot fungi *Phaeophleospora eucalypti* and *Mycosphaerella* spp. *New zeland Journal Forestry Science* 32 (2):235-255.

Huber, D.M. 1980. The role of mineral nutrition on defence. In: Horsfall. J.G., Cowling, E.B (eds.). *Plant Disease: An advanced treatise. Volume V.* Academic Press, New York. Pp 381-406.

Huber, D.M., Graham, R.D. 1999. The role of nutrition in crop resistance and tolerance to diseases. In: Rengel Z (ed) *Mineral nutrition of crop: fundamental mechanisms and implications.* New York: *Food Products Press*, pp 169-206.

Huber, D.M., Watson, R.D. 1974. Nitrogen form and plant disease. *Annual Review of Phytopathology* 12:139-165.

Hunter, G., Crous, P., Carnegie, A., Burgess, T., Wingfield, J. 2011. *Mycosphaerella* and *Teratosphaeria* diseases of *Eucalyptus*; easily confused with serious consequences. *Fungal Diversity* 50 (1):145-166.

Hunter, G., Crous, P., Carnegie, A., Wingfield, M. 2009. *Teratosphaeria nubilosa*, a serious leaf disease pathogen of *Eucalyptus* spp. in native and introduced areas. *Molecular Plant Pathology* 40:1-14.

Hunter, G.C., Crous, P.W., Roux, J., Wingfield, B.D., Wingfield, M.J. 2004a. Identification of *Mycosphaerella* species associated with *Eucalyptus nitens* leaf defoliation in South Africa. *Australasian Plant Pathology* 32:349-355.

Hunter, G.C., Roux, J., Wingfield, B.D., Crous, P.W., Wingfield, M.J. 2004b. *Mycosphaerella* species causing leaf disease in South African *Eucalyptus* plantations. *Mycological Research* 108:672-681.

Hunter, G.C., van der Merwe, N.A., Burgess, T.I., Carnegie, A.J., Wingfield, B.D., Crous, P.W., Wingfield, M.J. 2008. Global movement and population biology of *Mycosphaerella nubilosa* infecting leaves of old-colerant *Eucalyptus globulus* and *E. nitens*. *Plant Pathology* 57:235-242.

Jackson, S.L., Maxwell, A., Neumeister-Kemp, H.G., Dell, B., Hardy, G.E.St.J. 2004. Infection, hyperparasitism and conidiogenesis of *Mycosphaerella lateralis* on *Eucalyptus globulus* in Western Australia. *Australasian Plant Pathology* 33:49-53.

Jacome, L.H., Schuh, W., Stevenson, R.E. 1991. Effect of temperature and relative humidity on germination and germ development of *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*. *Phytopathology* 81:1480-1485.

Judd, T.S., Bennet, L.T., Weston, C.W., Attiwill, P.M., Whiteman, P.H. 1996. The response of growth and foliar nutrients in young *Eucalyptus globulus* (Labill.) plantations in Gippsland, southeastern Australia. *Forest Ecology and Management* 82:87-101.

Lee, S.B., Taylor, J.W. 1990. Isolation of DNA from fungal mycelia and single spores. Chapter 34. In: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications (M. Innis, D. Gelfand, J. Sninsky and T. White , eds.). Academic Press, Orlando, Florida.

Lam, A., Lewis, G.C. 1982. Effects of nitrogen and potassium fertilizer application on *Dreschlera* spp. and *Piccinia coronate* on perennial ryegrass (*Lolium perenne*) foliage. *Plant Pathology* 31:123.131.

Lundquist, J. E., Purnell, R.C. 1987. Effects of *Mycosphaerella* leaf spot on growth of *Eucalyptus nitens*. *Plant Disease* 71:1025-1029.

Lupo, S., Navarrete, F., Alonso, R., Carrau, D., Bettucci, L. 2008. Especies de *Mycosphaerella* presentes en plantaciones de *Eucalyptus* en Uruguay. VI Congreso Latinoamericano de Micología, Mar del Plata, Argentina.

MGAP, 2013: Estadística y Mercado. Dirección General Forestal. Montevideo, Uruguay: Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca.

Mangieri, H., Dimitri, M. 1961. Los Eucaliptos en la Silvicultura. *Editorial ACME*. Buenos Aires, Argentina. 226pp.

Mansilla, J., Aguín, O., Otero, L., Sainz, M. 2013. Diversidad de especies de los géneros *Mycosphaerella* y *Teratosphaeria* en hojas juveniles y adultas de *Eucalyptus globulus* en Galicia. 6º Congreso Forestal Español. 8pp.

- Martinez, R., Azpiroz, H., Rodriguez, J., Cetina, V., Gutierrez, M. 2006. Importancia de las plantaciones forestales de *Eucalyptus*. *Ra Ximai*. 2 (3) 815-846.
- Marveggio, A. 2012. Fosfito de potasio, un nuevo concepto en sanidad y fertilización. Agrotuario. 3pp.
- Maxwell, A., Hard, G.E.St.J., Dell, B. 2001. First record of *Mycosphaerella nubilosa* in Western Australia. *Australasian Plant Pathology* 30:65.
- Mengel, K., Kirkby, E.A. 1987. Principles of Plant Nutrition. International Potash Institute, Bern. Pp 443-446.
- Milgate, A., Potts, B., Joyce, K., Mohammed, C., Vaillantcourt, R. 2005. Genetic variation in *Eucalyptus globulus* for susceptibility to *Mycosphaerella nubilosa* and its
- Navarrete, F. 2010. Aislamiento e identificación de especies de *Mycosphaerella* y *Teratosphaeria* asociadas a la enfermedad de la mancha de la hoja en *Eucalyptus* spp. Tesis de Grado. Facultad de Ciencias. Uruguay.
- Park, R., Keane, P. 1982a Three *Mycosphaerella* species from leaf diseases of *Eucalyptus*. *Transactions of the British Mycological Society* 79:95-100.
- Park, R., Keane, P. 1982b. Leaf diseases of *Eucalyptus* associated with *Mycosphaerella* species. *Transactions of the British Mycological Society* 79:101-115.
- Park, R., Keane, P. 1987. Spore production by *Mycosphaerella* species causing leaf diseases of *Eucalyptus*. *The British Mycological Society* 89:461-470.

Park, R.F. 1988a. Effect of certain host, inoculum, and environmental factors on infection of *Eucalyptus* species by two *Mycosphaerella* species. *Transactions of the British Mycological Society* 90:221-228.

Park, R.F. 1988b. Epidemiology of *Mycosphaerella nubilosa* and *M. cryptica* on *Eucalyptus* spp. in south-western Australia. *The British Mycological Society* 91:261-266.

Pérez, G., Hunter, G.C., Slippers, B., Pérez, C., Wingfield, B., Wingfield, M.J. 2009a. *Teratosphaeria* (*Mycosphaerella*) *nubilosa*, the causal agent of *Mycosphaerella* leaf disease (MLD), recently introduced into Uruguay. *European Journal of Plant Pathology* 125:109-118.

Pérez, G., Slippers, B., Wingfield, B.D., Finkenauer, E., Wingfield, M.J. 2009b. *Mycosphaerella* leaf disease (MLD) outbreak on *Eucalyptus globulus* in Brazil caused by *Teratosphaeria* (*Mycosphaerella*) *nubilosa*. *Phytopathologia Mediterranea* 48:302-306.

Pérez, C., Wingfield, M.J., Altier, N., Blanchette, R.A. 2009. *Mycosphaerellaceae* and *Teratosphaeriaceae* associated with *Eucalyptus* leaf disease and stem cankers in Uruguay. *Forest Pathology* 39:349-360.

Pincirolì, M., Lima, P.J., Bezus, R., Scelzo, R.J., Vidal, A.A. 2015. Respuesta de diferentes genotipos de arroz (*Oryza sativa*) de tipo largo fino a la fertilización foliar medida sobre los componentes de rendimiento y proteína en grano. Programa de Arroz, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad de la Plata, Argentina.

Pinkard, L., Mohammed, C., Battaglia, M., Wardlaw, T., Stone, C., Smethurst, P., Baillie, C., Patel, V. 2006. Fertilization and Forest Health: Preventing or offsetting biotic leaf loss in eucalypt plantations. CRC for Sustainable Production Forestry. University of Tasmania. Final Report Project N° PN04.4003.

Purnell, R.C., Lundquist, J.E. 1986. Provenance variation of *Eucalyptus nitens* on the Eastern Transvaal Highveld in South Africa. *South Africa Forestry Journal* 138:23-31.

Ramos, S.O., Pérez, C. 2015. First report of *Teratosphaeria pseudoeucalypti* on *Eucalyptus* Hybrids in Argentina. *Plant Disease* 99 (4) 554.

Rapley, L.P., Potts, B.M., Battaglia, M., Patel, V.S., Allen, G.R. 2009. Long-term realised and projected growth impacts caused by autumn gum moth defoliation of 2-42 year-old *Eucalyptus nitens* plantation trees in Tasmania, Australia. *Forest Ecology and Management* 258:1896-1903.

Smith, A. 2006. The Development of strategies for the management and research of foliar pathogens on Eucalyptus plantations: using *Mycosphaerella* as a case study. School of Agricultural Science. University of Tasmania. 215 pp.

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

Stone, C. and Carnegie, A. 2003. Pest disease assessment in young eucalypt plantations: Field Manual for Using the Crown Damage Index. Ed Parsons, M. National Forest Inventory, Bureau of Rural Sciences, Canberra. 38pp

Swofford, D.L. 200. PAUP*; Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4.0b10. Sunderland, MA, USA: Sinauer Associates.

Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipiński, A., Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30:2725-2729.

Thompson, J.D., Higgins, D.G., Gibson, T.J. 1994. CLUSTALW: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22:4673–4680.

Tonimara de Souza, C., Costa da Silva, A., da Silva Guimaraes, L.M., Maciel, H.G., Borge, N., Couto, A. 2014. *Teratosphaeria pseudoecalypti* on eucalyptus in Brazil. *Tropical Plant Pathology* 39(5):407-412.

Toval, G. 2010. Calidad de la Madera en *Eucalyptus globulus* como materia prima para la industria pastero-papelera. *Boletín de CIDEU* 8-9:5-14.

Trinidad, A., Aguilar, D. 1999. Fertilización foliar, un respaldo importante en el rendimiento de los cultivos. *Terra* 17:247-255.

Trolldenier, G. 1969. Cereal diseases and plant nutrition. *Potash Review* 23/24, 1-16.

Turnbull, J.W. 2000. Economic and social importance of *Eucalyptus*. In: P.J. Keane, G.A. Kile, F.D. Podget, B.N. Brown (Eds), *Diseases and Pathogens of Eucalyptus*. CSIRO publishing, Australia. Pp1-9.

White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky and T. J. White (Eds.), PCR protocols: a guide to methods and applications. San Diego: Academic Press. Pp. 315-322.

Wilcox, M.D. 1982. Preliminary selection of suitable provenances of *Eucalyptus regnans* for New Zealand. *New Zealand Journal Forestry Science* 12:468-479.

Yarwood, C. 1959. Predisposition. In: Horsfall, J.G. and Dimond A. E. (eds). *Plant Pathology: An advanced treatise*. Academic Press, New York. Pp. 521-52.

ANEXO

ANEXO 1: SECUENCIAS REGISTRADAS EN GENBANK


Hongo	Cultivo no. ^a	Hospedero	Ubicación	No. Acceso GenBank		
				EF-1	β -tubulin	ITS-2
<i>Teratosphaeria pseudoecalypti</i>	FI2292	<i>E. maidenii</i>	Retamosa, Uruguay	KJ466066	KJ425483	KJ361457
<i>T. pseudoecalypti</i>	FI2293	<i>E. maidenii</i>	Retamosa, Uruguay	KJ466065	KJ466060	KJ361458
<i>T. pseudoecalypti</i>	FI2294	<i>E. maidenii</i>	Retamosa, Uruguay	KJ466067	KJ466061	KJ361459
<i>T. pseudoecalypti</i>	FI2295	<i>E. globulus</i>	Retamosa, Uruguay	KJ466068	KJ466062	KJ361460
<i>T. pseudoecalypti</i>	FI2296	<i>E. globulus</i>	Retamosa, Uruguay	KJ466069	KJ466063	KJ361461
<i>T. pseudoecalypti</i>	FI2298	<i>E. globulus</i>	Retamosa, Uruguay	KJ466070	KJ466064	KJ361463

ANEXO 2: ANÁLISIS DE DATOS

ÍNDICE DE DAÑO DE COPA (CDI)

PIRARAJÁ (LAVALLEJA)

CDI de todos los datos de clon y semilla en el tiempo


 Kruskal-Wallis test

H (chi^2): 689,2
 Hc (tie corrected): 689,5
 p(same): 4,001E-149

Mann-Whitney pairwise comparisons,
 Bonferroni corrected \ uncorrected:

	CDI_clon_t1	CDI_sem_t1	CDI_clon_t2	CDI_sem_t2
CDI_clon_t1		1,395E-05	1,911E-87	2,084E-71
CDI_sem_t1	8,37E-05		1,106E-77	6,038E-63
CDI_clon_t2	1,147E-86	6,638E-77		5,809E-07
CDI_sem_t2	1,25E-70	3,623E-62	3,485E-06	

CDI de cada tratamiento asociado a clon y semilla a los 6 meses

 Kruskal-Wallis test


H (chi^2): 324,3
 Hc (tie corrected): 325,2
 p(same): 3,249E-60

Mann-Whitney pairwise comparisons,
 Bonferroni corrected \ uncorrected:

	CDI2BFC	CDI2BFS	CDI2BRC	CDI2BRS	CDI2FKC	CDI2FKS	CDI2NIC	CDI2NIS	CDI2NMC	CDI2NMS	CDI2PC	CDI2PS	CDI2TC	CDI2TS	CDI2WC	CDI2WS
CDI2BFC		0,000615	0,1192	1,585E-10	0,02426	5,118E-07	2,994E-13	3,027E-13	0,006393	0,08603	2,995E-13	7,335E-12	0,7047	1,657E-09	0,5261	0,153
CDI2BFS	0,0738		0,07108	0,336	0,01699	0,8016	4,002E-12	4,054E-12	0,2829	0,7115	3,518E-12	6,455E-11	0,05681	0,04241	0,0006355	0,1663
CDI2BRC	1	1		0,0002193	0,4422	0,006418	3,086E-13	3,119E-13	0,2649	0,1521	3,229E-13	8,841E-12	0,3035	0,0001424	0,3452	0,9883
CDI2BRS	1,903E-08	1	0,02632		0,001398	0,1744	5,922E-12	6,002E-12	0,004253	0,1815	5,057E-12	8,706E-11	0,00141	0,275	2,853E-10	0,1041
CDI2FKC	1	1	1	0,1678		0,1067	4,897E-11	4,974E-11	0,585	0,9121	3,555E-11	4,32E-10	0,7158	0,0001087	0,03898	0,3261
CDI2FKS	6,141E-05	1	0,7702	1	1		2,789E-12	2,594E-12	0,1874	0,2737	1,655E-12	3,769E-11	0,02318	0,1137	1,045E-06	0,3623
CDI2NIC	3,592E-11	4,802E-10	3,703E-11	7,107E-10	5,876E-09	3,347E-10		0,2789	2,768E-13	1,341E-11	0,003555	0,000399	2,251E-13	8,908E-12	3,425E-13	2,356E-10
CDI2NIS	3,633E-11	4,884E-10	3,742E-11	7,202E-10	5,968E-09	3,113E-10	1		2,799E-13	1,36E-11	0,1187	0,05551	2,274E-13	9,031E-12	3,463E-13	2,396E-10
CDI2NMC	0,7671	1	1	0,5104	1	1	3,321E-11	3,358E-11		0,6304	2,755E-13	6,864E-12	0,06753	0,0003703	0,1238	0,8023
CDI2NMS	1	1	1	1	1	1	1,609E-09	1,632E-09	1		1,077E-11	1,625E-10	0,08075	0,1315	0,06968	0,2663
CDI2PC	3,593E-11	4,221E-10	3,875E-11	6,069E-10	4,266E-09	1,985E-10	0,4266	1	3,306E-11	1,293E-09		0,6954	2,41E-13	7,385E-12	3,454E-13	1,555E-10
CDI2PS	8,802E-10	7,747E-09	1,061E-09	1,045E-08	5,184E-08	4,523E-09	0,04788	1	7,997E-10	1,95E-08	1		6,975E-12	1,192E-10	8,642E-12	1,554E-09
CDI2TC	1	1	1	0,1693	1	1	2,701E-11	2,729E-11	1	1		2,892E-11	8,37E-10		0,0002066	0,9157
CDI2TS	1,988E-07	1	0,01709	1	0,01305	1	1,069E-09	1,084E-09	0,04444	1		8,862E-10	1,431E-08	0,02479	5,281E-10	0,007019
CDI2WC	1	0,07626	1	3,423E-08	1	0,0001253	4,11E-11	4,156E-11	1	1		4,145E-11	1,037E-09	1	6,337E-08	0,1978
CDI2WS	1	1	1	1	1	1	2,827E-08	2,875E-08	1	1		1,866E-08	1,865E-07	1	0,8422	1

VELÁZQUEZ (ROCHA)

CDI de todos los datos de clon y semilla en el tiempo


 Kruskal-Wallis test

H (chi^2): 1226
 Hc (tie corrected): 1228
 p(same): 4,956E-261

Mann-Whitney pairwise comparisons,
 Bonferroni corrected \ uncorrected:

	CT1	ST1	CT2	ST2	CT3	ST3	CT4	ST4
CT1		5,208E-13	3,24E-49	9,229E-69	1,059E-62	1,686E-63	0,6543	2,535E-87
ST1	1,458E-11		6,675E-41	1,473E-60	5,922E-58	8,202E-58	0,1035	3,068E-82
CT2	9,072E-48	1,869E-39		1,923E-12	2,848E-50	7,649E-52	3,178E-36	1,546E-38
ST2	2,584E-67	4,125E-59	5,383E-11		1,055E-32	1,035E-35	5,173E-52	1,262E-10
CT3	2,964E-61	1,658E-56	7,973E-49	2,954E-31		0,1119	1,541E-64	3,554E-20
ST3	4,722E-62	2,297E-56	2,142E-50	2,897E-34	1		6,264E-66	7,601E-23
CT4	1	1	8,897E-35	1,448E-50	4,316E-63	1,754E-64		7,931E-74
ST4	7,099E-86	8,591E-81	4,328E-37	3,533E-09	9,951E-19	2,128E-21	2,221E-72	

CDI de cada tratamiento asociado a clon y semilla a los 18 meses

 Kruskal-Wallis test


H (chi^2): 355,7
 Hc (tie corrected): 361,7
 p(same): 7,43E-68

Mann-Whitney pairwise comparisons,
 Bonferroni corrected \ uncorrected:

	CD4BFC	CD4BFS	CD4BRC	CD4BRS	CD4FKC	CD4FKS	CD4NIC	CD4NIS	CD4NMC	CD4NMS	CD4PC	CD4PS	CD4TC	CD4TS	CD3WC	CD3WS
CD4BFC		2,019E-10	0,01593	1,433E-08	0,146	7,986E-07	0,05501	1,012E-08	0,006658	4,418E-11	0,0002012	1,879E-11	0,1276	4,348E-11	0,4296	2,182E-05
CD4BFS	2,423E-08		1,335E-11	0,5223	1,123E-10	0,5521	9,499E-11	0,1058	1,557E-11	0,2734	2,882E-12	0,2181	3,24E-08	0,8325	1,159E-11	0,001267
CD4BRC	1	1,602E-09		3,529E-11	0,1866	1,379E-10	0,3622	2,034E-11	0,9282	1,289E-12	0,1507	2,918E-12	3,84E-06	8,12E-12	0,005025	1,055E-09
CD4BRS	1,719E-06	1	4,235E-09		4,117E-10	0,2659	9,019E-11	0,3907	2,096E-11	0,04197	1,923E-12	0,209	2,625E-07	0,3563	1,273E-11	0,09482
CD4FKC	1	1,347E-08	1	4,941E-08		1,934E-09	0,2021	9,763E-10	0,2751	3,843E-12	0,00247	2,326E-11	8,855E-05	5,097E-11	0,3997	1,444E-08
CD4FKS	9,583E-05	1	1,655E-08	1	2,32E-07		1,698E-10	0,3941	2,02E-11	0,01215	1,271E-12	0,01299	1,742E-05	0,3041	5,624E-11	0,4933
CD4NIC	1	1,14E-08	1	1,082E-08	1	2,038E-08		5,766E-11	0,966	2,291E-12	0,02679	1,075E-11	6,429E-07	5,237E-11	0,001401	1,056E-09
CD4NIS	1,214E-06	1	2,441E-09	1	1,172E-07	1	6,919E-09		1,862E-11	0,002345	7,627E-13	0,006514	1,306E-06	0,03439	9,945E-11	0,01943
CD4NMC	0,799	1,869E-09	1	2,515E-09	1	2,424E-09	1	2,234E-09		1,084E-12	0,05562	4,722E-12	7,239E-06	1,331E-11	0,03208	4,066E-11
CD4NMS	5,302E-09	1	1,546E-10	1	4,612E-10	1	2,75E-10	0,2814	1,301E-10		1,894E-13	0,4225	1,465E-08	0,3807	1,448E-12	0,0001879
CD4PC	0,02414	3,458E-10	1	2,307E-10	0,2964	1,525E-10	1	9,152E-11	1	2,273E-11		9,812E-13	3,463E-10	2,733E-12	2,529E-06	2,718E-12
CD4PS	2,255E-09	1	3,501E-10	1	2,792E-09	1	1,29E-09	0,7817	5,667E-10	1	1,177E-10		1,022E-08	0,2612	1,918E-12	0,0001238
CD4TC	1	3,889E-06	0,0004608	3,15E-05	0,01063	0,002091	7,715E-05	0,0001567	0,0008687	1,757E-06	4,155E-08	1,227E-06		1,974E-08	6,582E-05	2,071E-05
CD4TS	5,216E-09	1	9,744E-10	1	6,116E-09	1	6,284E-09	1	1,597E-09	1	3,279E-10	1	2,369E-06		1,276E-11	0,0006152
CD3WC	1	1,391E-09	0,603	1,527E-09	1	6,749E-09	0,1681	1,193E-08	1	1,738E-10	0,0003035	2,302E-10	0,007898	1,532E-09		1,655E-10
CD3WS	0,002618	0,152	1,266E-07	1	1,733E-06	1	1,267E-07	1	4,879E-09	0,02255	3,262E-10	0,01486	0,002485	0,07382	1,986E-08	

RETAMOSA (LAVALLEJA)

CDI de todos los datos de clon y semilla en el tiempo


 Kruskal-Wallis test

H (chi²): 1382
 Hc (tie corrected): 1385
 p(same): 7,59E-295

Mann-Whitney pairwise comparisons,
 Bonferroni corrected \ uncorrected:

	CT1	ST1	CT2	ST2	CT3	ST3	CT4	ST4
CT1		0,05024	3,299E-65	5,859E-71	4,261E-24	1,466E-47	3,821E-83	2,972E-93
ST1	1		7,873E-60	6,517E-66	2,277E-20	1,95E-44	1,128E-78	3,275E-88
CT2	9,237E-64	2,205E-58		0,001039	3,58E-28	5E-21	1,403E-06	3,944E-84
ST2	1,641E-69	1,825E-64	0,02909		6,524E-44	1,13E-36	0,08325	2,312E-77
CT3	1,193E-22	6,376E-19	1,002E-26	1,827E-42		0,002332	1,413E-34	1,355E-89
ST3	4,104E-46	5,459E-43	1,4E-19	3,163E-35	0,0653		1,785E-25	6,43E-85
CT4	1,07E-81	3,159E-77	3,928E-05	1	3,957E-33	4,998E-24		2,442E-73
ST4	8,321E-92	9,17E-87	1,104E-82	6,472E-76	3,793E-88	1,8E-83	6,836E-72	

CDI de cada tratamiento asociado a clon y semilla a los 18 meses.

 Kruskal-Wallis test


H (chi²): 385,9
 Hc (tie corrected): 387
 p(same): 3,72E-73

Mann-Whitney pairwise comparisons,
 Bonferroni corrected \ uncorrected:

	CDI4BFC	CDI4BFS	CDI4BRC	CDI4BRS	CDI4FKC	CDI4FKS	CDI4NIC	CDI4NIS	CDI4NMC	CDI4NMS	CDI4PC	CDI4PS	CDI4TC	CDI4TS	CDI4WC	CDI4WS
CDI4BFC		3,979E-06	0,08955	1,204E-10	0,731	1,086E-13	0,4219	1,611E-10	0,987	9,913E-11	7,987E-14	1,332E-11	0,1047	5,074E-12	0,03655	5,186E-13
CDI4BFS	0,0004775		6,705E-05	0,8359	4,451E-06	0,0239	7,112E-05	0,7586	2,39E-06	0,786	1,082E-13	0,4952	3,452E-07	0,00965	2,22E-07	0,0009923
CDI4BRC	1	0,008046		8,732E-10	0,5322	2,796E-12	0,7531	1,101E-09	0,05188	3,52E-09	1,161E-12	2,006E-10	0,0006267	6,06E-11	0,0005927	7,248E-12
CDI4BRS	1,445E-08	1	1,048E-07		1,178E-09	0,007366	2,932E-07	0,6425	1,083E-11	0,7716	6,62E-14	0,691	3,54E-11	0,004137	1,06E-11	0,0005399
CDI4FKC	1	0,0005341	1	1,413E-07		9,359E-13	0,5057	2,613E-09	0,4415	2,431E-09	3,512E-06	6,753E-10	0,1733	2,34E-11	0,2593	1,621E-12
CDI4FKS	1,303E-11	1	3,355E-10	0,8839	1,123E-10		2,024E-11	0,0005345	6,719E-14	0,009419	2,209E-14	0,04473	2,089E-13	0,3947	7,805E-14	0,06759
CDI4NIC	1	0,008534	1	3,518E-05	1	2,429E-09		7,784E-07	0,2855	1,336E-07	7,59E-10	5,224E-08	0,1523	1,944E-10	0,03646	2,189E-11
CDI4NIS	1,934E-08	1	1,321E-07	1	3,136E-07	0,06414	9,317E-05		1,388E-11	0,4243	8,922E-14	0,3658	8,921E-12	0,000365	4,986E-12	7,679E-05
CDI4NMC	1	0,0002868	1	1,3E-09	1	8,063E-12	1	1,665E-09		1,779E-11	2,929E-10	1,536E-12	0,2066	3,722E-12	0,09456	2,334E-13
CDI4NMS	1,19E-08	1	4,224E-07	1	2,917E-07	1	1,604E-05	1	2,135E-09		1,359E-13	0,8031	6,02E-11	0,002472	6,428E-12	0,000226
CDI4PC	9,584E-12	1,298E-11	1,393E-10	7,943E-12	0,0004214	2,65E-12	9,109E-08	1,071E-11	3,515E-08	1,63E-11		5,384E-13	4,886E-14	1,333E-12	4,422E-12	7,892E-14
CDI4PS	1,598E-09	1	2,408E-08	1	8,103E-08	1	6,268E-06	1	1,844E-10	1	6,46E-11		4,218E-12	0,01764	1,054E-11	0,002553
CDI4TC	1	4,143E-05	0,0752	4,248E-09	1	2,507E-11	1	1,071E-09	1	7,224E-09	5,863E-12	5,061E-10		8,591E-12	0,00232	6,609E-13
CDI4TS	6,089E-10	1	7,272E-09	0,4964	2,808E-09	1	2,332E-08	0,0438	4,467E-10	0,2966	1,6E-10	1	1,031E-09		4,498E-12	0,3853
CDI4WC	1	2,664E-05	0,07113	1,272E-09	1	9,367E-12	1	5,983E-10	1	7,714E-10	5,307E-10	1,265E-09	0,2784	5,398E-10		2,745E-13
CDI4WS	6,223E-11	0,1191	8,698E-10	0,06479	1,945E-10	1	2,627E-09	0,009215	2,801E-11	0,02712	9,471E-12	0,3063	7,931E-11	1	3,294E-11	

CDI de cada tratamiento en *E. maidenii* a los 18 meses

SOLIS DE MATAOJO (LAVALLEJA)

 Kruskal-Wallis test

H (chi^2): 43,73
 Hc (tie corrected): 43,97
 p(same): 2,169E-07

**Mann-Whitney pairwise comparisons,
 Bonferroni corrected \ uncorrected:**

	CDI4BF	CDI4BR	CDI4FK	CDI4NI	CDI4NM	CDI4P	CDI4T	CDI4W
CDI4BF		0,2042	0,06329	0,662	0,2011	0,0001345	0,0001083	0,08644
CDI4BR	1		0,5754	0,07047	0,7329	0,001099	0,1204	0,8309
CDI4FK	1	1		0,007967	0,2659	9,502E-05	0,3618	0,7616
CDI4NI	1	1	0,2231		0,04446	0,009652	1,76E-05	0,0168
CDI4NM	1	1	1	1		0,0005087	0,007576	0,5176
CDI4P	0,003766	0,03077	0,002661	0,2703	0,01424		2,767E-07	4,427E-05
CDI4T	0,003033	1	1	0,0004928	0,2121	7,749E-06		0,1296
CDI4W	1	1	1	0,4703	1	0,001239	1	

ALTURA

PIRARAJÁ (LAVALLEJA)

Altura de cada tratamiento asociado a clon y semilla a los 6 meses

Kruskal-Wallis test

H (chi*2): 141,9
 Hc (tie corrected): 142,3
 p(same): 7,914E-23

Mann-Whitney pairwise comparisons,
 Bonferroni corrected \ uncorrected:

	AT2_Bf_C	AT2_Bf_S	AT2_Br_C	AT2_Br_S	AT2_Fk_C	AT2_Fk_S	AT2_Ni_C	AT2_Ni_S	AT2_Nm_C	AT2_Nm_S	AT2_P_C	AT2_P_S	AT2_T_C	AT2_T_S	AT2_W_C	AT2_W_S
AT2_Bf_C		0,6788	0,5091	0,1215	0,02891	0,01547	0,3636	0,0006259	0,0319	0,0001165	6,18E-09	0,0007511	0,3583	0,001124	0,5982	0,2155
AT2_Bf_S	1		0,8893	0,1036	0,02387	0,01553	0,6164	0,009375	0,04218	0,003071	9,325E-06	0,005143	0,2694	0,01818	0,3839	0,4359
AT2_Br_C	1	1		0,03906	0,008174	0,003473	0,8603	0,003045	0,003628	0,0003883	4,698E-08	0,002355	0,08655	0,004397	0,1956	0,506
AT2_Br_S	1	1	1		0,6124	0,5184	0,03476	6,368E-05	0,9613	6,504E-05	1,768E-08	8,696E-05	0,3522	0,0001515	0,2783	0,03384
AT2_Fk_C	1	1	0,9808	1		0,828	0,003678	1,197E-05	0,6547	2,708E-05	1,563E-08	4,092E-05	0,07202	4,251E-05	0,06274	0,006478
AT2_Fk_S	1	1	0,4167	1	1		0,00167	1,385E-05	0,4609	3,126E-05	5,096E-08	1,989E-05	0,04475	3,013E-05	0,04211	0,005451
AT2_Ni_C	1	1	1	1	0,4414	0,2004		0,001184	0,001704	0,0002366	1,278E-09	0,0004259	0,0325	0,002485	0,05724	0,7443
AT2_Ni_S	0,0751	1	0,3854	0,007641	0,001436	0,001662	0,142		3,074E-06	0,322	0,009305	0,9329	1,238E-05	0,9067	0,0001716	0,0855
AT2_Nm_C	1	1	0,4353	1	1	1	0,2044	0,0003688		4,727E-06	8,331E-11	1,373E-06	0,2091	3,646E-06	0,1527	0,009762
AT2_Nm_S	0,01398	0,3685	0,0466	0,007805	0,003249	0,003751	0,02639	1	0,0005673		0,3463	0,403	5,451E-06	0,2296	9,338E-05	0,02865
AT2_P_C	7,415E-07	0,001119	5,637E-06	2,122E-06	1,878E-06	6,115E-06	1,531E-07	1	9,997E-09	1		0,01797	6,927E-12	0,009931	6,255E-09	0,000244
AT2_P_S	0,09013	0,6171	0,2827	0,01043	0,00491	0,002386	0,05111	1	0,0001648	1	1		9,765E-06	0,7986	8,172E-05	0,05156
AT2_T_C	1	1	1	1	1	1	1	0,001485	1	0,0006541	8,312E-10	0,001172		2,445E-05	0,8134	0,04783
AT2_T_S	0,1349	1	0,5276	0,01818	0,005101	0,003616	0,2982	1	0,0004376	1	1	1	0,002933		0,0003409	0,1134
AT2_W_C	1	1	1	1	1	1	1	0,02059	1	0,01121	7,506E-07	0,009806	1	0,04091		0,1063
AT2_W_S	1	1	1	1	0,7774	0,6541	1	1	1	1	0,02928	1	1	1	1	

VELÁZQUEZ (ROCHA)

Altura de cada tratamiento asociado a clon y semilla a los 18 meses

Kruskal-Wallis test


H (chi*2): 56,48
 Hc (tie corrected): 56,89
 p(same): 8,551E-07

Mann-Whitney pairwise comparisons,
 Bonferroni corrected \ uncorrected:

	AT4_Bf_C	AT4_Bf_S	AT4_Br_C	AT4_Br_S	AT4_Fk_C	AT4_Fk_S	AT4_Ni_C	AT4_Ni_S	AT4_Nm_C	AT4_Nm_S	AT4_P_C	AT4_P_S	AT4_T_C	AT4_T_S	AT4_W_C	AT4_W_S
AT4_Bf_C		0,5924	0,004319	0,02896	0,01153	0,06161	6,223E-05	0,004864	0,0004334	0,0004577	0,004561	0,001366	0,0764	0,2697	0,6755	0,2846
AT4_Bf_S	1		0,01214	0,05895	0,03216	0,1534	0,0002143	0,02233	0,001235	0,001166	0,01633	0,005781	0,1348	0,65	0,9224	0,4619
AT4_Br_C	0,5182	1		0,5074	0,5317	0,2562	0,2932	0,9799	0,4128	0,8163	0,7477	0,1765	0,138	0,03049	0,003675	0,02547
AT4_Br_S	1	1	1		0,8791	0,5866	0,05196	0,5946	0,1821	0,3369	0,4851	0,1186	0,6437	0,1251	0,0319	0,1604
AT4_Fk_C	1	1	1	1		0,4921	0,06386	0,6071	0,1638	0,5131	0,3978	0,08758	0,4054	0,07411	0,01239	0,08158
AT4_Fk_S	1	1	1	1	1		0,01879	0,3382	0,06192	0,1121	0,2629	0,06676	0,9852	0,3115	0,1027	0,4214
AT4_Ni_C	0,007468	0,02572	1	1	1	1	1	0,2361	0,8869	0,1139	0,5092	0,6274	0,008262	0,0006107	3,385E-05	0,0005825
AT4_Ni_S	0,5837	1	1	1	1	1	1	0,3658	0,873	0,8166	0,2804	0,2508	0,05477	0,009788	0,07063	
AT4_Nm_C	0,05201	0,1482	1	1	1	1	1	1	0,2829	0,656	0,553	0,0205	0,003823	0,0003849	0,004096	
AT4_Nm_S	0,05492	0,1399	1	1	1	1	1	1	1	0,6654	0,1701	0,1438	0,002731	0,0002243	0,005236	
AT4_P_C	0,5473	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,2746	0,08417	0,06549	0,006181	0,03287	
AT4_P_S	0,1639	0,6938	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,0194	0,01619	0,002187	0,01126
AT4_T_C	1	1	1	1	1	1	0,9914	1	1	1	1	1	1	0,2323	0,07295	0,3356
AT4_T_S	1	1	1	1	1	1	0,07329	1	0,4587	0,3277	1	1	1	1	0,5162	0,7781
AT4_W_C	1	1	0,4411	1	1	1	0,004061	1	0,04619	0,02692	0,7417	0,2624	1	1		0,3702
AT4_W_S	1	1	1	1	1	1	0,0699	1	0,4915	0,6284	1	1	1	1	1	

RETAMOSA (LAVALLEJA)


Altura de cada tratamiento asociado a clon y semilla a los 18 meses

 Kruskal-Wallis test

H (chi ²):		95,59														
Hc (tie corrected):		95,84														
p(same):		7,969E-14														
Mann-Whitney pairwise comparisons, Bonferroni corrected \ uncorrected:																
	AT4_Bf_C	AT4_Bf_S	AT4_Br_C	AT4_Br_S	AT4_Fk_C	AT4_Fk_S	AT4_Ni_C	AT4_Ni_S	AT4_Nm_C	AT4_Nm_S	AT4_P_C	AT4_P_S	AT4_T_C	AT4_T_S	AT4_W_C	AT4_W_S
AT4_Bf_C		0,2349	0,3807	0,07787	0,06535	0,1037	0,6103	0,3603	0,004734	0,005488	0,0001132	0,5512	0,1639	0,01025	0,363	0,0001408
AT4_Bf_S	1		0,948	0,3092	0,207	0,6261	0,7161	0,95	0,0001432	0,001264	0,0001023	0,882	0,8211	0,1045	0,8505	0,002126
AT4_Br_C	1	1		0,419	0,2364	0,689	0,5366	0,7821	0,0002114	0,001793	0,0002174	0,9235	0,782	0,1931	0,8891	0,002624
AT4_Br_S	1	1	1		0,4878	0,5965	0,1259	0,2193	3,516E-06	0,0002681	7,227E-05	0,6635	0,4684	0,7488	0,6365	0,0162
AT4_Fk_C	1	1	1	1		0,3032	0,05343	0,09481	1,296E-05	0,0001149	1,879E-05	0,2782	0,2583	0,7878	0,2284	0,244
AT4_Fk_S	1	1	1	1	1		0,3774	0,6006	8,099E-06	0,0003378	0,0001758	0,9947	0,7728	0,3469	0,9912	0,001417
AT4_Ni_C	1	1	1	1	1	1		0,7346	0,0003633	0,005857	0,0004684	0,417	0,512	0,06942	0,3812	4,463E-05
AT4_Ni_S	1	1	1	1	1	1	1		9,849E-05	0,003456	0,0009356	0,5434	0,7822	0,1476	0,5224	0,0001285
AT4_Nm_C	0,5681	0,01718	0,02537	0,000422	0,001555	0,0009719	0,0436	0,01182		0,9229	0,03419	0,001711	1,694E-05	1,335E-07	0,0002892	1,581E-10
AT4_Nm_S	0,6586	0,1517	0,2152	0,03217	0,01379	0,04053	0,7029	0,4147	1		0,01577	0,01109	0,0003052	2,848E-05	0,003978	8,464E-08
AT4_P_C	0,01359	0,01228	0,02609	0,008672	0,002255	0,0211	0,05621	0,1123	1	1		0,0007968	5,892E-05	5,484E-05	0,0003347	4,282E-06
AT4_P_S	1	1	1	1	1	1	1	1	0,2053	1	0,09562		0,9504	0,4013	0,9536	0,02562
AT4_T_C	1	1	1	1	1	1	1	1	0,002032	0,03662	0,007071	1		0,1962	0,89	0,0007688
AT4_T_S	1	1	1	1	1	1	1	1	1,602E-05	0,003418	0,00658	1	1		0,5088	0,01854
AT4_W_C	1	1	1	1	1	1	1	1	0,0347	0,4773	0,04017	1	1	1		0,006908
AT4_W_S	0,0169	0,2551	0,3148	1	1	0,1701	0,005356	0,01542	1,897E-08	0,016E-05	0,0005138	1	0,09225	1	0,8289	

SOLIS DE MATAOJO (LAVALLEJA)

Altura asociada a cada tratamiento en *E. maidenii* a los 18 meses

 Kruskal-Wallis test

H (chi ²):		15,97						
Hc (tie corrected):		16,01						
p(same):		0,02504						
Mann-Whitney pairwise comparisons, Bonferroni corrected \ uncorrected:								
	AT4_Bf	AT4_Br	AT4_Fk	AT4_Ni	AT4_Nm	AT4_P	AT4_T	AT4_W
AT4_Bf		0,8899	0,3751	0,7611	0,4205	0,2615	0,011	0,6645
AT4_Br	1		0,5718	0,9818	0,4238	0,1612	0,01781	0,4882
AT4_Fk	1	1		0,7133	0,8082	0,04908	0,09642	0,246
AT4_Ni	1	1	1		0,6931	0,1978	0,03166	0,5577
AT4_Nm	1	1	1	1		0,03528	0,04939	0,1601
AT4_P	1	1	1	1	0,9879		0,0003556	0,5325
AT4_T	0,308	0,4986	1	0,8865	1	0,009956		0,004469
AT4_W	1	1	1	1	1	1	0,1251	

ANEXO 3: FICHA TÉCNICA DE PRODUCTOS UTILIZADOS

ANEXO 4: PUBLICACIÓN CIENTÍFICA



Basfoliar® Aktiv

Nombre Comercial	Basfoliar® Aktiv
Nombre Químico	Fertilizante líquido orgánico mineral con Fosfito de Potasio, Algas y Micronutrientes.
Nombre común	Basfoliar Aktiv
Grado	AGRÍCOLA
Comercializado por	COMPO AGRO Chile Ltda.

ANÁLISIS QUÍMICO

Nitrógeno total	4 %	(N)	p/v
Fosfato	37 %	(P ₂ O ₅)	p/v
Potasio	24 %	(K ₂ O)	p/v
Boro	0,01 %	(B)	p/v
Cobre *	0,02 %	(Cu)	p/v
Hierro *	0,02 %	(Fe)	p/v
Manganeso *	0,01 %	(Mn)	p/v
Molibdeno	0,001 %	(Mo)	p/v
Zinc	0,01 %	(Zn)	p/v
Materia orgánica	3%	Proveniente de algas	

* Metales quelatizados con EDTA

ANÁLISIS FÍSICO

APARIENCIA	Líquido
DENSIDAD a 20°C	1,37 g/cc
PH	4,2
TOXICIDAD	NO TOXICO, NO INFLAMABLE, NO CORROSIVO Y NO PELIGROSO
ENVASES	BIDONES PLASTICOS DE : 5L y 20L



Basfoliar® Aktiv

DESCRIPCIÓN

Basfoliar® Aktiv es un fertilizante orgánico mineral que contiene fosfito de potasio, extracto de algas marinas, fitohormonas, aminoácidos, vitaminas y microelementos.

El fosfito de **Basfoliar® Aktiv**, es líquido y tiene tres átomos de oxígeno que le otorgan a esta formulación alta movilidad en el tejido vegetal y en el suelo.

PROPIEDADES Y VENTAJAS

Basfoliar® Aktiv es sistémico y es fácilmente absorbido y traslocado a través del xilema y floema a todas las áreas de la planta.

Los elementos constituyentes de **Basfoliar® Aktiv** están disponibles en formas de fácil asimilación, logrando un efecto rápido y eficiente sobre la planta.

Basfoliar® Aktiv actúa como activador de defensas, pues los fosfitos son altamente eficientes en aumentar la resistencia a diversas enfermedades, particularmente a aquellas que pertenecen al grupo Oomycetes

Basfoliar® Aktiv mejora la actividad del sistema de defensa dinámico de las plantas, lo que incluye formación de "Zonas de bloqueo necrótico" (como células muertas que limitan el acceso de la enfermedad y la diseminación al resto de las células), producción de etileno, producción de enzimas líticas, engrosamiento de las paredes celulares y acumulación de Fitoalexinas (anticuerpos).

El fosfito de **Basfoliar® Aktiv** le confiere inmunización a la planta, aún cuando las concentraciones de residuos ya no son detectadas.



Basfoliar® Aktiv

RECOMENDACIONES DE USO

Cultivo	Dosis L/ha	Época de aplicación
Uva de Mesa y Vid Vinífera	2 a 3 L/ha	Desde brotación a cierre de racimos (cada 15 días)
Frutillas, frambuesas, arándanos	2 a 3 L/ha	Desde inicio de la brotación, 4 a 6 aplicaciones cada 10 a 15 días. Post cosecha (años muy lluviosos)
Frutales de hoja Caduca (Nogales, carozos, pomáceas y kiwis)	2 a 3 L/ha	En pre floración y/o post cosecha. Puede aplicarse toda la temporada en frutales sin riesgo de russet (5 a 6 aplicaciones cada 30 días)
Frutales de hoja persistente (cítricos)	6 L/ha	Durante ambos flash de crecimiento vegetativo (Primavera y Otoño), cada 30 días.
Papas	3 a 5 L/ha	Desde plantas de 25 cm. cada 10 días, junto a un fungida de contacto, 4 a 6 aplicaciones totales.
Hortalizas (cebolla, ajo, tomate, pimentón, cucurbitáceas, lechugas, brásicas)	1 a 2 L/ha	Aplicar cada 7 días (2 aplicaciones)
Plantines, Plantas adultas	3 a 5 L/ha	Aplicar durante el cultivo, cada 10 a 14 días
Viveros frutales, forestales y ornamentales	250 a 500 cc/100L	Aplicar vía foliar mojando bien todo el follaje, cada 14 a 21 días.
Plantas ornamentales, durante el estado vegetativo	200 a 300 cc/100L	Durante el crecimiento vegetativo cada 10 a 14 días (4 a 8 aplicaciones)

Recomendaciones de uso vía Fertirriego:

Dosis: 8 a 10 L/ha, preferentemente en épocas de fuerte crecimiento radical:

Cultivos y Hortalizas: a primer tercio del ciclo del cultivo.

Frutales: Primavera y Otoño (período de crecimiento radical)

No se recomienda aplicar más de una vez por temporada

Conductividad eléctrica: 0,1% = 0,44 mS/cm; 0,5% = 2,1 mS/cm.



Precisión Alemana
en Nutrición Vegetal

Basfoliar® Aktiv

COMPATIBILIDAD

Basfoliar® Aktiv es compatible con la mayoría de los fitosanitarios de uso común. Sin embargo, como no se pueden predecir todas las mezclas que se pueden realizar en la práctica, recomendamos pruebas de compatibilidad y tolerancia,

Basfoliar® Aktiv no es compatible con productos en base a: Calcio, Caldo Bordolés, Aceite, Dicofol y Dimetoato.

PRECAUCIONES

Basfoliar® Aktiv es considerado no tóxico para las plantas ni animales. Por lo tanto para el manejo del producto es necesario atenerse a las precauciones de uso de los productos fitosanitarios con los cuales ha sido mezclado **Basfoliar® Aktiv**.

Basfoliar® es marca registrada de COMPO Alemania.

FICHA TÉCNICA

NOMBRE PRODUCTO FOSFIREND

FABRICANTE BIOTEX DOS S.A.

DISTRIBUIDOR EXCLUSIVO BIOAGRO S.A.

INGREDIENTE ACTIVO QUITOSANO (Derivado de Quitina)
FOSFITO DE POTASIO

GRUPO Fertilizante Foliar

GRADO Agrícola

PROCEDENCIA La Quitina se obtiene de caparazones de Centollas y Centollones en la XII Región de Chile, y el Fosfito de Potasio se obtiene a partir de fosfato de origen mineral.

NOMBRES QUÍMICOS 1.- Poli-D-Glucosamina, Quitosano.
2.- Fosfito de Potasio.

ESTADO FÍSICO Suspensión soluble (líquido).

COMPOSICIÓN

Ingrediente	% p/p	% p/v
Poli-D-glucosamina	1,5	1,7
Fósforo* (P ₂ O ₅) soluble en agua	8,6	9,6
Potasio (K ₂ O) soluble en agua	7,9	8,9

* Fósforo equivalente a 171 g de fosfito por litro.

ASPECTO Blanco opaco, no transparente.

DENSIDAD 1,12 g·mL⁻¹

pH 5 - 6

PRINCIPALES EFECTOS El Quitosano en conjunto con Fosfitos de Potasio, asoma como una de las herramientas más interesantes desde el punto de vista de la elicitación de la SAR (Systemic Acquired Resistance), por una parte el Quitosano (poli-D-glucosamina) produce un efecto bioestimulante que induce la activación de mecanismos de defensa de los tejidos vegetales contra distinto tipo de enfermedades, en lo que se conoce como elicitación del sistema inmunológico de la planta. Esto significa, producción de sustancias de defensa y de proteínas antiestrés. Ahora, la particularidad del Quitosano es que éste no tiene un gran efecto sistémico en la planta pero si una gran residualidad. Entonces la elicitación de la SAR se produce más bien desde el exterior hacia el interior de la planta y con un efecto muy duradero. En cambio, el Fosfito de Potasio, tienen una gran efecto sistémico en la planta, corriendo por el torrente floemático casi en forma inmediata, pero con una menor residualidad. En suma, la acción del Fosfito de Potasio y el Quitosano potencian la activación del sistema inmunológico de la planta y bioestimulan el crecimiento de ésta.

COMO ACTÚA La acción del Fosfito de Potasio más el estímulo producido por el Quitosano elicitan vías alternativas y complementarias, en lo que compete a la “Resistencia Sistémica Adquirida” o SAR junto con el fortalecimiento de las células vegetales y por lo tanto de las plantas. La acción elicitora del quitosano tiene que ver con una cascada de señales que comienza en receptores específicos de las paredes celulares de los tejidos vegetales, luego atraviesan el citoplasma, traspasan la membrana nuclear y finalmente actúan a nivel de ADN, desactivando inhibidores de ciertos sectores con “genes inhibidos”, y así permitiendo la transcripción de proteínas antiestrés, proteínas de defensa (fitoalexinas, quitinasas, etc.) y sustancias que promueven el fortalecimiento de las plantas. La acción del Fósforo, que es el segundo elemento en orden de importancia en el crecimiento de las plantas, es de tremenda importancia ya que tiene presencia protagónica en las moléculas de ATP, que son la moneda de cambio energética de la planta. El Potasio también es de gran importancia, ya que participa en la neutralización de radicales ácidos que se forman dentro de la planta. Desempeña también un rol esencial en la regulación de los potenciales de soluto de las células, del cierre y apertura estomática, y del direccionamiento de los azúcares. Por lo tanto tiene un papel esencial en eventos de estrés hídrico.

CULTIVO Uva de mesa, vides viníferas, cítricos, carozos, frutales de nuez, paltos, olivos, berries, hortalizas, frutales en general, entre otros.

FORMA DE APLICACIÓN Aplicaciones Foliares: Aplicar 16 a 24 litros por hectárea, distribuidos en 4 a 6 aplicaciones de 4 a 5 litros/hectárea/aplicación. Diluir entre 0,5% al 0,8%, dependiendo del mojamiento que se utilice.

Cultivo	Dosis cc / 100 L	Número de Aplicaciones	Momentos de aplicación	Forma de aplicación
Vid Vinífera y Vid de mesa	500 a 800	3 a 6	A partir de brotes de 20 cm, cada 15 días.	Asperjado foliarmente
Limonero, Naranja, Clementinas	500 a 800	3 a 6	Con brotes en activo crecimiento (primavera y otoño) cada 15 días.	
Duraznero, Nectarino, Damasco, Cerezo	500 a 800	3 a 6	Desde fruto recién cuajado, repetir cada 15 días.	
Manzano, Peral	500 a 800	3 a 6	Desde caída de pétalos, cada 15 días.	
Arándano, Frambuesa, Frutilla, Mora	500 a 800	3 a 6	Antes y después de floración, cada 15 días.	
Hortalizas, Tomate, Papas	500 a 800	3 a 6	15 días después del trasplante, cada 15 días.	
Olivos	500 a 800	3 a 6	Desde inicio de cuaja de frutos.	
Melón, Sandía	500 a 800	3 a 6	Desde inicio de cuaja de frutos.	
Paltos	500 a 800	3 a 6	Con brotes en activo crecimiento (primavera y otoño) cada 15 días. A partir de frutos de 2 cm.	

PRECAUCIONES Al aplicar FOSFIREND debe tomarse la precaución que el agua utilizada tenga un pH inferior a 6,5 para evitar precipitación del Ingrediente Activo. En caso que el agua tenga un pH superior a 6,5 se debe añadir en forma previa a la dilución un regulador de pH, tal como ácido fosfórico.

Fosfito de Potasio
Fertilizante bioestimulador de las defensas vegetales

FANAFOS K

NPK 0-30 / 30-20

Presentaciones: 1, 5, 10, 20 litros

Características:

Fanafos K es un fertilizante líquido a base de fosfito de potasio, el cual rápidamente absorbido por la planta tiene la capacidad de trasladarse en forma ascendente y descendente. Su forma de acción se caracteriza por ser capaz de aportar moléculas del ion fosfito, activando en la planta mecanismos de defensa frente al ataque de diversos patógenos, logrando así una protección ecológicamente amigable y sustentable.

Traslación a través de Xilema y del Floema, por lo que su movilidad es a través de todos los órganos de la planta, en los que ejerce su control de dos formas:

- 1 - Directa, inhibiendo la fosforilación oxidativa en el metabolismo de los patógenos Oomycetes
- 2 - Indirecta, al estimular las defensas naturales de las plantas a través de una respuesta sistémica inducida, incrementándose el nivel de fitoalexinas en la planta.



Efectos y resultados:

- Aumenta la sanidad de los vegetales en general
- Mejora la sanidad en soja frente a Enfermedades de Fin de Ciclo y Mancha Ojo de Rana
- Mejora la sanidad en vid frente a Peronospora
- Estimula la brotación y recupera el estado general de los cultivos anuales así como también de frutales en general.
- Mejora la respuesta vegetal frente a hongos Oomycetes como *Phytophthora sp.*



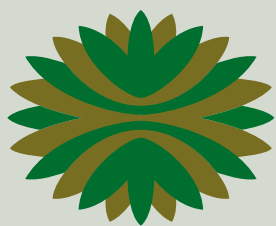
* Convenio Facultad de Agronomía-Patología S.A. Delta 2012

Composición:

Fosfito de Potasio.....	71 % p/v
Fósforo total* (P ₂ O ₅).....	30 % p/p
Potasio total (K ₂ O).....	20 % p/p
Densidad.....	1.4 g/mL
pH.....	4.0
*Ácido fosforoso 485 g/L	

Dosis y modalidad de uso aconsejados (vía foliar):

Cultivo	Dosis (L/Ha)
Soja	1 a 1,5
Trigo, Cebada	1 a 1,5
Arroz	2 a 3
Cítricos	4 a 8
Frutales	3 a 6
Vid	2 a 3



WUXAL®

Ascofol

WUXAL® ASCOFOL es una suspensión de algas marinas naturales – *Ascophyllum Nodosum* - altamente concentradas. Tiene efecto estimulante del crecimiento en plantines, así como un efecto anti-stress en todas las etapas del cultivo.

Debido a su contenido en hormonas vegetales y micronutrientes, estimula la división celular, mejorando el cuajado y el calibre de los frutos. Reduce el russeting.

Bioestimulante natural que mejora la resistencia de las plantas ante la presencia de hongos patógenos – SAR.

Producto aprobado para agricultura orgánica.

ANÁLISIS

2,5 - 0 - 0 - 1,25

Expresado en % en peso

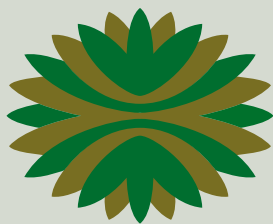
Venta autorizada
por el M.G.A. y P.
Reg. N° 228/031

COMPOSICIÓN QUÍMICA

MACROELEMENTOS	p/p%	g/lit	MICROELEMENTOS	p/p%	g/lit
Nitrógeno (N)	2,5	31,8	Cobre (Cu)	0,0003	0,004
Amoniacal	2,4		Iodo (I)	0,003	0,038
Orgánico	0,1		Hierro (Fe)	0,005	0,064
Potasio (K)	1,25	19,1	Manganeso (Mn)	0,8	10,16
Calcio (Ca)	0,14	1,78	Zinc (Zn)	0,5	6,35
Azufre (S)	0,8	10,2	Boro (B)	3	38,1
Densidad		1,27 g/cm ³			
pH aproximado		6,0			

La fertilización Foliar fue una técnica de lenta incorporación, pero hoy se encuentra ampliamente difundida en todos los cultivos.

En nuestro país, la línea Wuxal contribuyó directamente a ello y es indiscutida gracias a su calidad y eficiencia, siendo la pionera y referente en Uruguay y el mundo.



WUXAL®

Ascofol



FORMA DE APLICACIÓN

WUXAL® ASCOFOL suspensión se puede aplicar por vía foliar o fertirrigación. Para mejorar el efecto de la aplicación foliar, las pulverizaciones deben realizarse evitando las horas de máxima insolación. WUXAL® ASCOFOL suspensión se puede aplicar como tratamiento de semilla o como solución enraizante para baños de plantines o estaquillas.

MISCIBILIDAD / PREPARACIÓN

WUXAL® ASCOFOL suspensión se puede mezclar con la mayor parte de los productos fitosanitarios. Solicite información de compatibilidad a nuestro departamento técnico. Preparación del caldo de pulverización:

1. Llenar parcialmente el tanque con agua.
2. Poner en marcha el agitador.
3. Añadir WUXAL® ASCOFOL suspensión.
4. Añadir eventualmente otros tipos de WUXAL®.
5. Añadir eventualmente productos fitosanitarios.
6. Completar el tanque de agua.
7. Aplicar dilución de pulverización de inmediato.

ALMACENAMIENTO

Debe almacenarse en lugares secos y frescos, evitando temperaturas extremas por debajo de 0°C y superiores a 30°C.

ENVASES:

1, 5 Y 100 litros

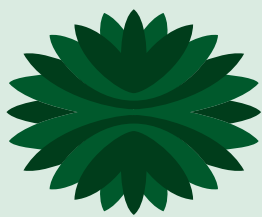
CULTIVO	DOSIS		OBSERVACIONES
	cc/100lt*	lt/há	
Vid		1,5 - 2 3 3	Estadio 5 - 6 hojas. Antes de floración. Después del cuajado.
Duraznos		2	Inicio de floración.
Cítrualas		2	Plena floración.
Nectarinos		3	Frutos de 5 - 10 mm.
Cítricos		3 3 3	Inicio de floración. Caída de pétalos. Cuajado de frutos.
Arándanos		2 2 2	Inicio de floración. Plena floración. En crecimiento del fruto repetir cada 14 días.
Frutillas		3 3 3	Inicio de brotación primavera. Antes de floración. Primeros frutos cuajados.
Tomate, Melón Pimiento, Pepino		2	4 Tratamientos a partir de floración a intervalos de 14 días.
Viverismo/Floricultura	0,1 - 0,2%		Fertirrigación.
Plantines en general	0,1 - 0,2%		Baño de raíces al trasplante.
Céspedes y praderas			3 - 4 tratamientos.
Repollo		3	4 - 6 hojas verdaderas.
Coliflor		3	Intervalos de 14 días.
Brócoli		3	Formación del cogollo.
Manzano		2 - 3	Inicio de floración.
Peral		3 3	Inicio de floración. Aplicar conjuntamente con WUXAL® BORO líquido. 2ª aplicación plena floración.
Olivo		3 3 3	Brotación. Inicio de floración. Plena floración. En las últimas dos aplicaciones agregar WUXAL® BORO líquido.
Cebolla	0,3% 0,1%	2	Almácigo. Luego de hoja bandera. Trasplante. Baño de raíces. 10 - 15 días posteriores.
Zanahoria		2,5	Efectuar 3 aplicaciones a partir de 4 hojas en intervalos de 10 - 14 días.
Forestales		1 - 2	Aplicar en primavera y otoño para estimular el crecimiento y promover la sanidad - SAR.

* La concentración cada 100 litros está calculada para un gasto de caldo de 1000 l/ha.



Fabricado por:
AGLUKON Spezialdünger GmbH & Co. KG
Heerdter Landstrasse 199
40549 Düsseldorf, Alemania

Representante exclusivo: MAISOR S.A.
Magallanes 1910 - C.P. 11800 Montevideo - Uruguay
Telefax: (598) 29245321 - (598) 29245563
maisor@maisor.com.uy - www.maisor.com.uy



WUXAL®

Doble

WUXAL® DOBLE suspensión es un fertilizante foliar súper concentrado, con macro y micronutrientes. Especialmente indicado para las etapas con altas demandas de nutrientes como desarrollo vegetativo, cuajado, crecimiento de frutos y granos. Recomendado para frutales y hortalizas en general, vid, olivos, forestales, cereales y oleaginosas.

ANÁLISIS

16 - 16 - 16 - 12

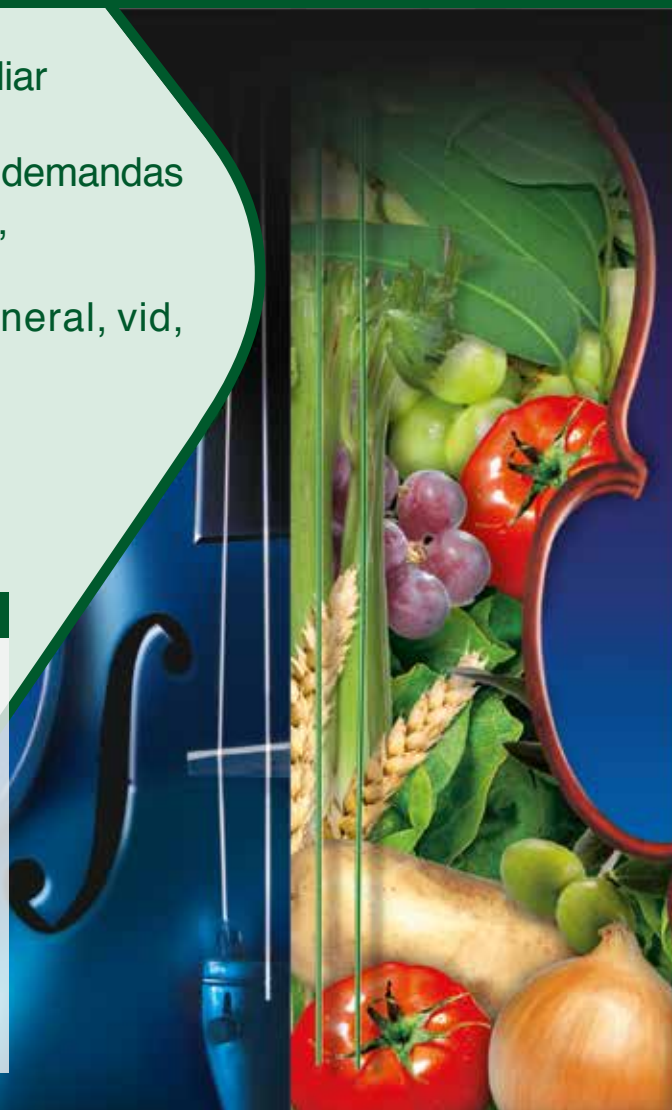
Expresado en % en peso

Venta autorizada
por el M.G.A. y P.
Reg. N° 228/031

COMPOSICIÓN QUÍMICA

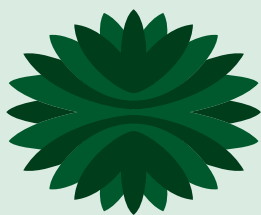
MACROELEMENTOS	g/lit	MICROELEMENTOS	mg/lit
Nitrógeno (N)	240	Boro (B)	300
Fósforo (P ₂ O ₅)	240	Cobre (Cu)	750
Potasio (K ₂ O ₅)	180	Hierro (Fe)	1500
Azufre (S)	15	Manganeso (Mn)	750
Densidad aprox	1,5 g/cm ³	Zinc (Zn)	750
pH producto aprox	6,5	Molibdeno (Mo)	15

Además contiene vitaminas, fitohormonas, agentes quelatizantes, agentes reguladores del pH, humectantes, adherentes y antievaporantes.



La fertilización Foliar fue una técnica de lenta incorporación, pero hoy se encuentra ampliamente difundida en todos los cultivos.

En nuestro país, la línea Wuxal contribuyó directamente a ello y es indiscutida gracias a su calidad y eficiencia, siendo la pionera y referente en Uruguay y el mundo.



WUXAL®

Doble



FORMA DE APLICACIÓN

WUXAL® DOBLE suspensión puede ser aplicado con cualquier equipo de aspersión así sea mochila, pulverizadora o atomizadora. Puede aplicarse en combinación con pesticidas en general mejorando la calidad de los caldos de aspersión en caso de que se usen aguas duras, debido a que contiene sustancias tampón.

ALMACENAMIENTO

En algunos casos puede ocurrir una cristalización limitada después de un largo período de almacenamiento, pero esto no afecta ni la calidad, ni la efectividad del fertilizante, debiéndose agitar bien para que retome su estado original. Debe almacenarse en lugares secos y frescos, evitando temperaturas extremas por debajo de -5°C y superiores a 40°C.

ENVASES:

1, 5, 25 Y 100 litros

CULTIVO	DOSIS		OBSERVACIONES
	cc/100lt*	lt/há	
Plantas Ornamentales	50	0,5	Plántulas y plantas jóvenes susceptibles como Adiantum, Gloxinia, etc. Otras especies ornamentales.
	100	1	
Hortalizas en general	100 100 - 200	1 - 2	En invernáculos. En el campo: efectuar un mínimo de 3 tratamientos.
Papa Tomate	100 - 300	1 - 3	Aplicar con cada tratamiento fungicida.
Frutales Olivos Viñedos	150 - 300	1,5 - 3	Aplicar conjuntamente con los tratamientos fungicidas, antes y después de la floración, toda vez que sea necesaria una estimulación del vigor y crecimiento de las plantas.
Citrus	150 - 250	1,5 - 2,5	Efectuar el primer tratamiento en invierno previo a la aparición de las yemas florales. El segundo tratamiento en yemas florales. Tercer tratamiento a caída de pétalos. Cuarto, quinto y sexto tratamiento a intervalos de 5 semanas.
Arándanos	100 - 200	1 - 2	Aplicar en vivero durante el crecimiento vegetativo para vigorizar la planta.
Cereales		1 - 3	Aplicar conjuntamente con el tratamiento herbicida.
Soja		1 - 2	Efectuar dos tratamientos; el primero en la etapa vegetativa y el segundo en la etapa reproductiva del producto.
Viveros Forestales	25 50 100		Propagación bajo nebulización. Aplicar 2 - 3 veces por semana. Almacigos. Trasplantes.
Forestales		1 - 2	Aplicar en primavera y otoño junto con WUXAL® ASCOFOL para estimular el crecimiento y promover la sanidad. Tratar desde el trasplante hasta el cambio de hoja.

* La concentración cada 100 litros está calculada para un gasto de caldo de 1000 l/ha.



Fabricado por:
AGLUKON Spezialdünger GmbH & Co. KG
Heerdter Landstrasse 199
40549 Düsseldorf, Alemania

Representante exclusivo: MAISOR S.A.
Magallanes 1910 - C.P. 11800 Montevideo - Uruguay
Telefax: (598) 29245321 - (598) 29245563
maisor@maisor.com.uy - www.maisor.com.uy



NATIVO



300 SC

1 Lt.

Fungicida
Suspensión Concentrada

Principio Activo	Porcentaje en peso	Concentración en volumen
Trifloxystrobin	9,3 %	100 gr/l
Tebuconazole	18,5 %	200 gr/l

Grupo químico del ingrediente activo: Trifloxistrobina (estrobirulina)
Tebuconazole (Triazol)



CUIDADO



VER ABAJO O EMBALAJE
Lote: Fecha de Fabricación: Fecha de Vencimiento:

Venta autorizada por el Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca.

Registro N°:2976

USO AGRÍCOLA

Prohibido su uso para fines distintos a los especificados en la etiqueta.

Instrucciones de almacenamiento: Guardar el producto en su envase original, etiquetado, evitando la luz directa del sol, en un lugar fresco, seco y seguro, bajo llave. Debe guardarse en un lugar exclusivo para sustancias tóxicas o peligrosas y debe estar aislado de alimentos, bebidas, raciones u otros materiales. Dicho lugar del depósito debe estar señalizado con un cartel de advertencia que diga "Cuidado-Veneno (con símbolo de calavera)"

Registrado por: Bayer S.A.
Paysandú 1283 - Montevideo
Tel.: (02) 902 00 13

Fabricación extranjera
País de origen: Argentina

Generalidades e instrucciones para su uso:

Nativo® 300 SC es un fungicida de amplio espectro, de acción sistémica y mesostémica, compuesto por dos ingredientes activos, el Trifloxystrobin y el Tebuconazole.

Trifloxystrobin le confiere la actividad mesostémica, caracterizada por una alta afinidad con la superficie foliar, siendo absorbido por las capas cerosas, redistribuyéndose sobre toda la superficie de la planta por vapor superficial. Trifloxystrobin tiene actividad traslaminar. Es particularmente activo durante el comienzo del desarrollo de las enfermedades, aportando a **Nativo® 300 SC** un prolongado efecto residual.

Tebuconazole es un fungicida de actividad sistémica, distribuyéndose en forma ascendente en la planta. Detiene el desarrollo de los hongos interfiriendo en la biosíntesis de sus membranas celulares. El Tebuconazole posee efecto preventivo y buen poder curativo.

Debido al modo de acción de **Nativo® 300 SC**, el mismo puede usarse en forma preventiva y/o curativa.

CULTIVO	PLAGA/ENFERMEDAD/MALEZA		DOSIS (cc/ha)	OBSERVACIONES
	Nombre común	Nombre científico		
TRIGO	Roya anaranjada	Puccinia recondita	600 - 800	Aplicar a la aparición de los primeros síntomas, tomando en cuenta los umbrales de daño establecidos para cada enfermedad/momento, del cultivo. En situaciones climáticas predisponentes para el desarrollo de las enfermedades o ante elevadas presiones de la enfermedad, utilizar las dosis mayores. No realizar más de 1 aplicación por temporada.
	Septoriosis	Septoria triticii		
	Macha amarilla	Drehsclera triticii repentis		
	Golpe blanco	Fusarium graminearum	800	Al inicio de la floración, cuando se comienzan a observar las primeras anteras sobre las espigas
CEBADA	Mancha en red	Drehsclera teres	600 - 800	Aplicar a partir de elongación, de acuerdo a los umbrales de daño establecidos para cada enfermedad. Utilizar las dosis elevadas en situaciones en que las condiciones climáticas son propicias para el desarrollo de las enfermedades, o ante situaciones de elevada presencia de las mismas.
	Mancha borrosa	Bipolaris sorokiniana		
	Roya enana	Puccinia hordei	600 - 800	A la aparición de las primeras pústulas. Utilizar las dosis mayores si existen condiciones predisponentes para el desarrollo de la enfermedad o ante situaciones de elevada presencia de la misma.
	Fusarium	Fusarium graminearum	800	Aplicar durante espigazón, cuando el 50% de la espigas se encuentran fuera de la vaina.
	Oidio	Erysiphe graminis	600 - 800	A la aparición de los primeros síntomas. Utilizar la dosis elevada si existen condiciones predisponentes para el desarrollo de la enfermedad o ante situaciones de elevada presencia de la misma.
GIRASOL	Cancro del tallo	Phomopsis helianthi	1000	Las aplicaciones se realizan en forma preventiva, dentro del período indicado por las alarmas de Phomopsis, a las cuales se accede registrándose en la página web de Agromil (Alerta Phomopsis). Si se dan varios períodos infectivos durante el ciclo del cultivo, puede ser necesaria otra aplicación. No realizar más de 2 aplicaciones con Nativo® 300 SC . En caso de ser necesarias más aplicaciones continuar con productos de distinto modo de acción.
	Roya negra	Puccinia helianthi	800	Aplicar a la aparición de las primeras pústulas.

CULTIVO	PLAGA/ENFERMEDAD/MALEZA		DOSIS (cc/ha)	OBSERVACIONES
	Nombre común	Nombre científico		
ARROZ	Manchado confluyente de las vainas	Rhizoctonia oryzae sativae	600	Cuando se observan las primeras panojas sobre el cultivo.
	Podredumbre del tallo	Sclerotium oryzae	600	Cuando se observan las primeras panojas sobre el cultivo.
	Bruzzone	Pyricularia oryzae	800	Aplicar preventivamente durante la floración del cultivo o a la aparición de los primeros síntomas. Dependiendo de la variedad y las condiciones climáticas reinantes, una 2da. aplicación puede ser necesario. En tal caso utilizar un fungicida con distinto modo de acción.
PAPA	Tizón temprano	Alternaria solani	500 - 750 + 0,5 lts/ ha de aceite Optimizer.	Preventivamente al inicio de la fase de tuberización o a la detección de los primeros síntomas. Realizar una segunda aplicación a los 14 días. De ser necesario aplicaciones posteriores, continuar con productos de distinto modo de acción. Las dosis menores se utilizan en forma preventiva, si ya existe presencia de la enfermedad usar las dosis de 750 cc/ha.
SOJA	Mancha parda	Septoria glycine	500	Aplicar a partir de formación de vainas (R3) hasta formación de granos (R5), ó cuando las enfermedades han alcanzado un 5 % de severidad en el tercio inferior de la planta.
	Mancha purpura	Cercospora kikuchi		Aplicar al aparecer los síntomas haciendo coincidir el tratamiento con la aplicación para enfermedades de fin de ciclo.
	Oidio	Mycosphaerella diffusa(**)		Monitorear los cultivos periódicamente. En caso de detectarse la presencia de roya en cultivos vecinos o a nivel zonal aplicar preventivamente a partir de estado R3 (fin de floración ó cuajado). Se sugiere consultar al programa nacional de vigilancia para obtener información complementaria a nivel zonal.
	Roya asiática	Phakospora pachyrhizi		

NOTA: Nativo® 300 SC debe aplicarse siempre junto con Optimizer a razón de 500 cc/ha

Compatibilidad y Fitotoxicidad.

Aunque no se conocen problemas específicos de miscibilidad con Nativo® 300 SC y el resto de los fitosanitarios utilizados comúnmente, es recomendable realizar una prueba a pequeña escala de forma de chequear compatibilidad física, biológica y fitocompatibilidad previo a la aplicación de la mezcla. **No hacer mezclas de tanque para más de un día de aplicación.**

Tiempo de espera: Cereales 35 días; Arroz 21 días; Girasol 35 días; Papa 30 días; Soja 30 días.

Tiempo de reingreso al cultivo. No entrar al cultivo hasta que haya secado el depósito del producto aplicado.

Otras informaciones necesarias respecto al uso:

- **Cereales y arroz:** 1 aplicación por temporada
- **Girasol:** 1 a dos aplicaciones por temporada
- **Papa:** No más de 2 aplicaciones por temporada
- **Soja:** 1 aplicación por temporada

Modo de preparación y técnica de aplicación.

Diluido en agua. Cargar 1/3 del tanque del pulverizador con agua limpia, comenzar la agitación y agregar la dosis necesaria de Nativo® 300 SC. Mantener la agitación y completar el tanque con agua. Agitar el caldo durante la aplicación. No preparar producto para más de un día de aplicación. De detenerse la aplicación durante un periodo, poner los agitadores en funcionamiento y permanecer unos minutos agitando la mezcla antes de comenzar la marcha.

No efectuar el llenado de agua de las maquinarias de aplicación directamente desde corrientes naturales de agua o fuentes superficiales, el cual deberá realizarse siempre mediante el uso de recipientes intermedios.

Nativo® 300 SC puede ser aplicado con equipos aéreos o terrestres.

Suspender las aplicaciones con vientos superiores a los 15 Km./h en el caso de aplicaciones terrestres y de 10 Km./h en el caso de aplicaciones aéreas.

No realizar aplicaciones aéreas a una distancia inferior a 500 metros de cualquier zona urbana o suburbana y centro poblado.

No realizar aplicaciones terrestres mecanizadas en cultivos extensivos (cereales, oleaginosas y forrajeras) a una distancia inferior a 300 metros de cualquier zona urbana o suburbana y centro poblado.

No realizar aplicaciones aéreas en todo tipo de cultivo, a una distancia inferior a 30 metros de corrientes naturales de agua (ríos, arroyos y cañadas) o fuentes superficiales (lagos, lagunas, represas y tajamares).

No realizar aplicaciones aéreas de productos fitosanitarios en todo tipo de cultivo a una distancia inferior a 50 metros del límite del predio de escuelas rurales.

No realizar aplicaciones terrestres de productos fitosanitarios en todo tipo de cultivo a una distancia inferior a 30 metros del límite del predio de escuelas rurales.

No realizar aplicaciones terrestres con máquinas autopropulsadas o de arrastre en todo tipo de cultivos a una distancia inferior a 10 metros de cualquier corriente natural de agua o fuentes superficiales.

No aplicarlo con humedad relativa inferior al 60%, temperaturas mayores a los 29°C y vientos superiores a los 10 Km./h.

Se debe asegurar una buena cobertura del cultivo durante la aplicación, logrando entre 50 a 70 gotas/cm² (tarjetas hidrosensibles).

Suspender las aplicaciones durante las horas de mayor calor, si el follaje se encuentra mojado o si existe posibilidad de una lluvia inminente.

Precauciones, indicación de veneno y antidotos:

Clasificación Toxicológica: Clase III. Ligeramente peligroso. (IPCS/OMS 2004).

Antídotos: No tiene

Medidas a tomar como primeros auxilios:

- **En caso de ingestión:** provocar el vómito introduciendo dos dedos en la boca hasta tocar la garganta.
- **Contacto con los ojos:** lavado con agua limpia abundante durante 15 minutos manteniendo los párpados separados.
- **Contacto con la piel:** Quitar la ropa contaminada y lavar la piel con abundante agua.
- **En caso de inhalación:** retirar a la persona del ambiente contaminado y llevarla a un ambiente bien ventilado.

Precauciones para evitar daños a las personas que lo aplican o manipulan y a terceros:

- Evitar la ingestión, inhalación y el contacto con la piel y ojos.
- No comer, beber o fumar durante la manipulación, preparación y aplicación del producto.
- Luego de la aplicación, lavar con abundante agua y jabón todas las partes del cuerpo que hayan estado expuestas al producto.
- No destapar los picos de la pulverizadora con la boca.

Equipos de protección personal a utilizar durante la preparación y aplicación del producto:

- Usar guantes, botas, careta, antiparras y ropa adecuada durante la manipulación, preparación y aplicación del producto.
- Lavar cuidadosamente los elementos empleados con el producto.
- Lavar el equipo protector luego de cada aplicación.

Advertencias sobre protección del medio ambiente y peligrosidad a organismos acuáticos y peces, aves y abejas:

- No contaminar fuentes o corrientes de agua con restos del producto o el lavado del equipo de aplicación.
- No pulverizar contra el viento y evitar la deriva.
- **Peces:** Muy tóxico para peces.
- **Aves:** Poco tóxico para aves.
- **Abejas:** Poco tóxico para abejas.
- Derivas o escurrimientos desde áreas tratadas con **Nativo® 300 SC** hacia fuentes de agua adyacentes pueden resultar peligrosas para peces.

Disposición final de envases

Una vez vaciado el contenido del envase haga el "Triple lavado" del mismo volcando el líquido resultante en el tanque de la pulverizadora. Luego perforo el envase para evitar su reutilización.

Los envases deben ser trasladados al centro de recolección mas cercano una vez realizado el triple lavado y que los mismos hallan sido perforados. Las cajas de cartón pueden ser incineradas evitando inhalar los vapores de combustión.

MANTENER FUERA DEL ALCANCE DE LOS NIÑOS Y DE PERSONAS INEXPERTAS.

En caso de intoxicación llamar al CIAT Telef.: 1722. Concurrir al médico llevando la etiqueta, el folleto o el envase.

NO TRANSPORTAR NI ALMACENAR CON ALIMENTOS.

NO LAVAR LOS EQUIPOS DE APLICACIÓN EN LAGOS, RÍOS Y OTRAS FUENTES DE AGUA.

LEA ATENTAMENTE LA ETIQUETA (Y EL FOLLETO ADJUNTO - SI EXISTE -) ANTES DE USAR EL PRODUCTO.

UY9103384.1

First report of *Teratosphaeria pseudoecalypti* in Uruguay

S. Soria · R. Alonso · L. Bettucci · S. Lupo

Received: 11 March 2014 / Accepted: 21 August 2014
© Australasian Plant Pathology Society Inc. 2014

Abstract *Teratosphaeria pseudoecalypti* was found causing leaf blight disease on *Eucalyptus globulus* and *E. maidenii* in forestry plantations in Uruguay. The pathogen was identified by morphological characteristics and sequence analysis of the ITS-2, part of the β T and part of the EF-1 α DNA.

Keywords *Eucalyptus* plantations · Leaf spot · Phylogeny · *Teratosphaeria* · South America

In Uruguay, after the approval of the forestry law in 1987, the forested area with exotic species increased from 25,000 to 990,030 ha in 2012. *Eucalyptus* is the most widely planted genus, covering 726,323 ha. The main planted species of *Eucalyptus* are: *E. globulus* (51 %), *E. grandis* (34 %) and *E. dunnii* (11 %) (MGAP 2013).

Plantations for industrial purpose with short cycle, high density and uniform genotypes, could favor the development of pathogens. Mycosphaerella Leaf Disease (MLD) caused by species of *Mycosphaerella* and *Teratosphaeria* represent one of the major diseases affecting *Eucalyptus* spp. worldwide. Many species of *Mycosphaerella* and *Teratosphaeria* affecting eucalypt have been reported in Uruguay (Lupo et al. 2008).

However, it was only since 2007, when *T. nubilosa* was first recorded (Pérez et al. 2009) that severe damage began to appear mainly in *E. globulus* plantations. *T. nubilosa* has become the main phytosanitary problem in *E. globulus* stands, producing significant defoliation and tree death.

Teratosphaeria pseudoecalypti was first discovered in Australia on *Eucalyptus* sp. and *E. grandis* x *E. camaldulensis* (Andjic et al. 2010). The main symptom associated with *T. pseudoecalypti* are subcircular to irregular leaf spots, initially pale green, turning chlorotic before becoming necrotic, light to medium brown, with red-purple margin on the upper and lower surface. Although this symptom can be confused with that produced by *Teratosphaeria eucalypti*, analysis of different regions of DNA showed that it was caused by a new species, recorded to date only in Australia (Andjic et al. 2010).

In the last 2 years, a new leaf blight disease has been observed in Uruguay on both juvenile and adult leaves of several *Eucalyptus* species. The symptom observed were yellow necrotic leaf spots turning necrotic and dark brown with chlorotic margins (Fig. 1). The aim of this study was to identify the foliar pathogen causing this disease using multi gene phylogeny.

Juvenile leaves with leaf blotches were collected from *E. globulus* and *E. maidenii* plantations at the south east region of Uruguay. The lower surface of blotches was covered by dark pycnidia. Monosporic isolates were performed from conidia produced on pycnidia and grown onto 2 % Malt Extract Agar (MEA) at 25 °C. Colonies reached 10–20 mm after 4 weeks on MEA in the dark. All isolates are

S. Soria (✉) · R. Alonso · L. Bettucci · S. Lupo
Laboratorio de Micología, Facultad de Ciencias-Facultad de Ingeniería, Universidad de la República,
Julio Herrera y Reissig 565, Montevideo, Uruguay
e-mail: soria.silvina@gmail.com



Fig. 1 Leaf spots of *Teratosphaeria pseudoecalypti* on *Eucalyptus globulus*

maintained in the Facultad de Ingeniería fungal culture collection (FI). The microscopic characterization of pycnidia and conidia was performed. Conidia produced in culture were curved and hyaline, with 1–2 septa, (26.0) 28.0 (32.5) μm x (2.0)–2.6–(2.8) μm . The cultural and micromorphological characteristics were similar to those of *T. eucalypti*, except by the hyaline conidia (Fig. 2).

Genomic DNA was extracted from fungal mycelia as described by Lee and Taylor (1990).

Partial DNA amplification of the beta-tubulin region (βT) and elongation factor 1-alpha (EF-1 α) were performed. Primers used in each amplification were T1 and Bt2b (Glass and Donaldson 1995; O'Donnell and Cigelnik 1997), and EF1-728 and EF1-968 F (Carbone and Kohn 1999) respectively. The complete amplification of the internal transcribed spacer region (ITS-2) with primers ITS-3 and ITS-4 (White et al. 1990) was also performed. PCR conditions for each primers pair were as described by the authors. PCR products were purified and sequenced by Macrogen Korea (Seoul, Korea).

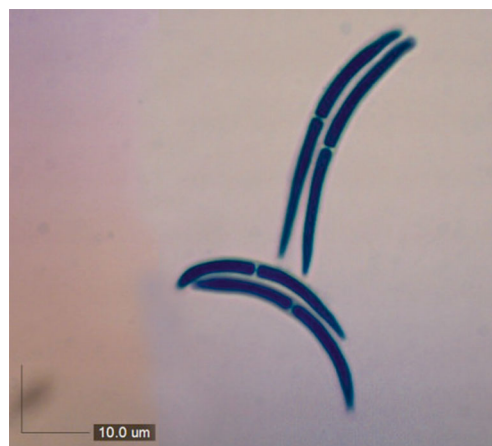


Fig. 2 Conidia morphology of *Teratosphaeria pseudoecalypti* strain FI2292 in vivo, cotton blue stained. Bar 10 μm

Sequences obtained were manually corrected using Mega version 5.1 (Tamura et al. 2011) and aligned with reference sequences from the GenBank using Clustal W (Thompson et al. 1994). All sequences derived in this study were deposited in GenBank and accession numbers are shown in Table 1. Phylogenetical analysis of a combined data set sequence of the three genes (βT , EF-1 α and ITS-2) was carried out with PAUP v4.0b10 (Swofford 2003) using the method of Maximum Parsimony (TreeBase 16019).

All characters were unordered and of equal weight. Gaps were treated as missing data. Bootstrap support values were calculated from 1,000 heuristic search replicates. The congruence of a combined dataset sequence of the three genes (βT , EF-1 α and ITS-2) was tested. Partition homogeneity test had been performed in PAUP v4.0b10 (Swofford 2003).

The combined βT , EF 1- α and ITS-2 data set of the *Teratosphaeria* isolates included 657 nucleotides of which 84 were parsimony informative. The partition homogeneity test showed not significant differences ($P=0.39$) between data from the different gene regions. The parsimony analysis showed that the six Uruguayan isolates were grouped in a well supported clade with *Teratosphaeria pseudoecalypti* sequences with a bootstrap support of 98 % (Fig. 3).

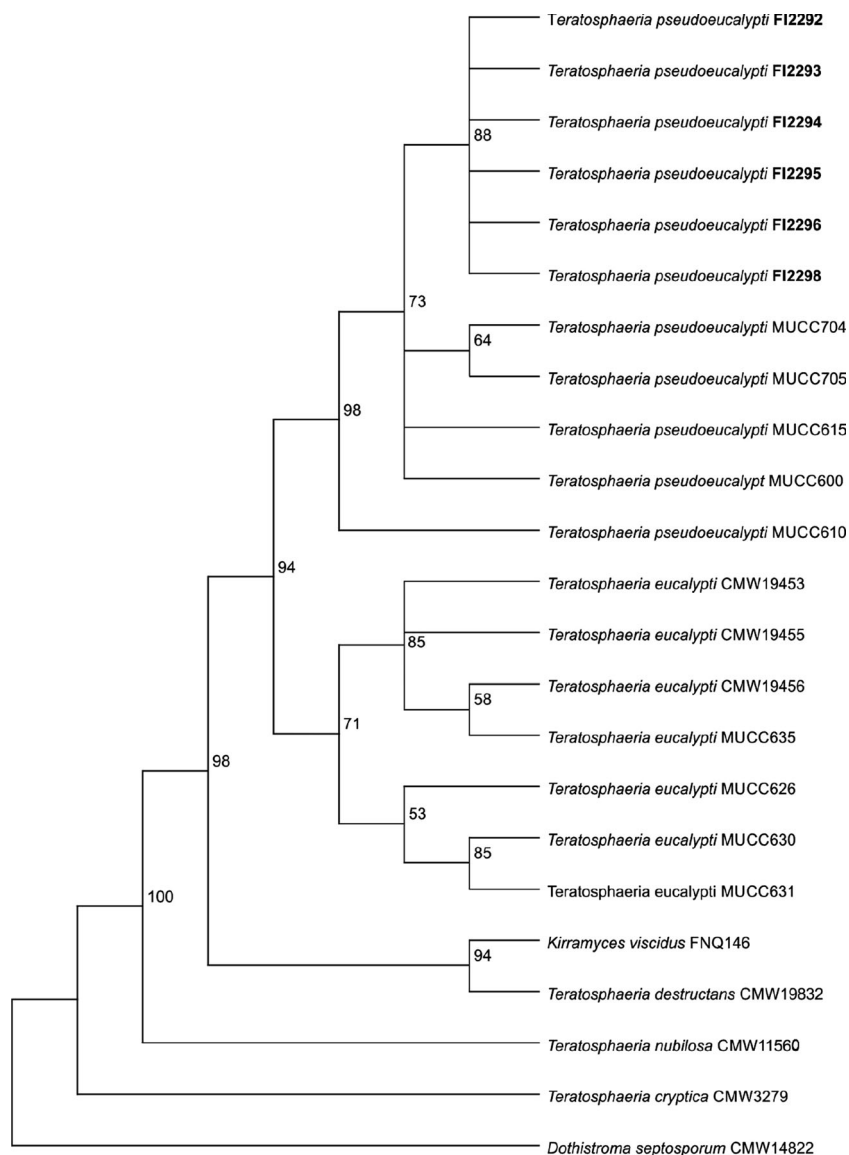
This study confirmed the presence for the first time of *T. pseudoecalypti* outside Australia and the susceptibility of other species of *Eucalyptus* to this pathogen. The presence of this pathogen in Uruguay shows a wide range of dispersion of *T. pseudoecalypti*. This constitutes a potential risk in temperate regions where forestry is mainly based on *Eucalyptus* spp.

Table 1 Teratosphaeria and other isolates of reference considered in this study

Fungus	Culture no. ^a	Host	Location	GenBank Accession no.		
				EF-1	β -tubulin	ITS-2
<i>Teratosphaeria pseudoecalypti</i>	FI2292	<i>E. maidenii</i>	Retamosa, Uruguay	KJ466066	KJ425483	KJ361457
<i>T. pseudoecalypti</i>	FI2293	<i>E. maidenii</i>	Retamosa, Uruguay	KJ466065	KJ466060	KJ361458
<i>T. pseudoecalypti</i>	FI2294	<i>E. maidenii</i>	Retamosa, Uruguay	KJ466067	KJ466061	KJ361459
<i>T. pseudoecalypti</i>	FI2295	<i>E. globulus</i>	Retamosa, Uruguay	KJ466068	KJ466062	KJ361460
<i>T. pseudoecalypti</i>	FI2296	<i>E. globulus</i>	Retamosa, Uruguay	KJ466069	KJ466063	KJ361461
<i>T. pseudoecalypti</i>	FI2298	<i>E. globulus</i>	Retamosa, Uruguay	KJ466070	KJ466064	KJ361463
<i>T. pseudoecalypti</i>	MUCC600	<i>E. grandis</i> x <i>E. camaldulensis</i>	Harrisville, S-QLD, Australia	EU101594	EU101538	FJ793271
<i>T. pseudoecalypti</i>	MUCC610	<i>E. grandis</i> x <i>E. camaldulensis</i>	Miriam Vale, C-QLD, Australia	EU101599	EU101543	FJ793221
<i>T. pseudoecalypti</i>	MUCC615	<i>Eucalyptus</i> sp.	Davies Creek, FNQ, Australia	EU101613	EU101556	FJ793231
<i>T. pseudoecalypti</i>	MUCC704	<i>Eucalyptus</i> sp.	FNQ, Australia	FJ793205	FJ793209	FJ793213
<i>T. pseudoecalypti</i>	MUCC705	<i>Eucalyptus</i> sp.	FNQ, Australia	FJ793206	FJ793210	FJ793214
<i>Teratosphaeria eucalypti</i>	CMW19453	<i>E. nitens</i>	Settlement Rd, New Zealand	EU101585	EU101529	FJ793234
<i>T. eucalypti</i>	CMW19455	<i>E. nitens</i>	Coxs, New Zealand	EU101628	EU101571	FJ793260
<i>T. eucalypti</i>	CMW19456	<i>E. nitens</i>	Douthetts, New Zealand	EU101587	EU101531	FJ793236
<i>T. eucalypti</i>	MUCC635	<i>E. nitens</i>	Roses Tier, TAS, Australia	EU101614	EU101557	FJ793250
<i>T. eucalypti</i>	MUCC626	<i>E. grandis</i> x <i>E. tereticornis</i>	Kyogle, N-NSW, Australia	EU101602	EU101546	FJ793241
<i>T. eucalypti</i>	MUCC630	<i>E. grandis</i> x <i>E. tereticornis</i>	Kyogle, N-NSW, Australia	EU101606	EU101550	FJ793245
<i>T. eucalypti</i>	MUCC631	<i>E. grandis</i> x <i>E. tereticornis</i>	Kyogle, N-NSW, Australia	EU101626	EU101569	FJ793258
<i>M. nubilosa</i>	CMW11560	<i>E. globulus</i>	Tasmania	DQ240176	DQ658236	DQ658232
<i>Kirramyces viscidus</i>	FNQ146	<i>E. grandis</i>	Australia	EF031495	EF031483	EF031471
<i>Teratosphaeria destructans</i>	CMW19832	<i>E. grandis</i>	Sumatra, Indonesia	DQ632730	DQ632623	DQ632665
<i>Teratosphaeria cryptica</i>	CMW3279	<i>E. globulus</i>	Australia	DQ240179	DQ240179	DQ239971
<i>Dothistroma septosporum</i>	CMW14822	<i>P. ponderosa</i>	Oregon, Badon, USA	AY808625	AY808195	AY808300

^a Designation of isolates and culture collections *CMW*; Tree Pathology Co-operative Program, Forestry and Agricultural Biotechnology Institute, University of Pretoria, South Africa; *MUCC* Murdoch University Culture Collection, Perth, Western Australia; *FNQ* Far North Queensland; *FJ* Facultad de Ingeniería-Facultad de Ciencias, Laboratorio de Micología, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

Fig. 3 Consensus tree obtained from heuristic search of the combined β -tubulin, EF 1- α and ITS-2 sequences (TL: 508; CI: 0.9508; RI: 0.8649; RC: 0.8223). Bootstrap support values above 60 % are shown above the nodes. *Dothistroma septosporum* was used as outgroup taxon. Isolates in bold print are from this study



Acknowledgments We thanks to the Sociedad de Productores Forestales and to the Comisión Sectorial de Investigación Científica from Uruguay for the financial support. We also thanks Dr. Eduardo Abreo for the critical review of the manuscript.

References

- Andjic V, Pegg GS, Carnegie AJ, Callister A, StJ Hardy GE, Burgess TI (2010) *Teratosphaeria pseudoeucaalypti*, new cryptic species responsible for leaf blight of *Eucalyptus* in subtropical and tropical Australia. Plant Path 59:900–912
- Carbone I, Kohn LM (1999) A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. Mycologia 91:553–556
- Glass NL, Donaldson GC (1995) Development of primers sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. Appl Environ Microbiol 61: 1323–1330
- Lee S, Taylor J (1990) Isolation of DNA from fungal mycelia and single spores. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds) PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic, New York, pp 282–287
- Lupo S, Navarrete F, Alonso R, Carrau D, Bettucci L (2008) *Mycosphaerella* species on *Eucalyptus* spp. plantations in Uruguay. VI Congreso Latinoamericano de Micología: libro de resúmenes, ALM 1a ed. Buenos Aires pp 253
- O'Donnell K, E C (1997) Two different intragenomics rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. Mol Phylogenet Evol 7:103–116
- Pérez G, Hunter GC, Slippers B, Pérez C, Wingfield BD, Wingfield MJ (2009) *Teratosphaeria (Mycosphaerella) nubilosa*, the causal agent

- of *Mycosphaerella* leaf disease (MLD), recently introduced into Uruguay. *Eur J Plant Pathol* 125:109–118
- MGAP (Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca) (2013) <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,20,441,O,S,0,MNU;E;134;2;MNU>, Accessed 28 November 2013
- Swofford DL (2003) PAUP* Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Version 4.0 sinauer associates, Sunderland, MA
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S (2011) Mega:5 Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol* 28:2731–2739
- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ (1994) CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res* 22:4673–4680
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds) *JO*. Academic, New York, pp 315–322