

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**EFFECTO DE LA FERTILIZACIÓN Y APLICACIÓN DE BIOESTIMULANTES
EN EL DESARROLLO INICIAL DE PLANTACIONES DE *Eucalyptus
globulus* SOBRE SUELOS DE LAVALLEJA**

por

**Braulio CANTERA ROSSO
Santiago IHLENFELD GAGLIARDI**

**TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo**

MONTEVIDEO

URUGUAY

2014

Tesis aprobada por:

Director: -----

Ing. Agr. (MSc) Graciela Romero

Ing. Agr. (MSc) Marcelo Ferrando

Ing. Agr. Ramiro Suarez

Fecha: 1 de julio de 2014

Autores: -----

Braulio Cantera Rosso

Santiago Ihlenfeld Gagliardi

AGRADECIMIENTOS

A nuestros tutores Marcelo Ferrando y Graciela Romero por su dedicación, disponibilidad, apoyo y ánimo

Al Ing. Agr. Ramiro Suarez de la empresa Timac Agro Uruguay S.A. por su asesoramiento y proporción de material

A la Lic. Sully Toledo por su amabilidad, dedicación y profesionalismo.

A nuestras respectivas familias y amigos por el aliento, sostén y buena energía a lo largo de toda la carrera

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	VII
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
1.1. <u>OBJETIVOS</u>	5
1.1.1. <u>Objetivo general</u>	5
1.1.2. <u>Objetivos específicos</u>	5
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	6
2.1. RESEÑA SOBRE EL GÉNERO <i>Eucalyptus</i>	6
2.2. CARACTERIZACIÓN DE LA ESPECIE <i>Eucalyptus globulus</i> Labillardière.....	6
2.2.1. <u>Descripción general de la especie</u>	6
2.2.2. <u>Distribución natural</u>	8
2.3. HISTORIA Y PRODUCCIÓN DEL <i>Eucalyptus globulus</i> EN URUGUAY.....	8
2.3.1. <u>Breve reseña histórica</u>	8
2.3.2. <u>La producción en Uruguay</u>	9
2.3.2.1. Importancia del componente genético.....	9
2.3.2.2. Efectos del sitio.....	11
2.4. ASPECTOS NUTRICIONALES DE LA ESPECIE.....	13
2.4.1. <u>Macronutrientes</u>	15
2.4.2. <u>Micronutrientes</u>	17
2.4.3. <u>Deficiencias nutricionales y fertilización</u>	19
2.5. ENFERMEDADES DEL <i>Eucalyptus globulus</i> : MANCHA FOLIAR POR MYCOSPHAERELLA (MLD).....	23
2.5.1. <u>Reseña</u>	23
2.5.2. <u>MLD en Uruguay</u>	25
2.5.3. <u>Reseña sobre <i>Teratosphaeria nubilosa</i></u>	27
2.5.3.1. Síntoma y signo de <i>Teratosphaeria nubilosa</i>	28
2.5.3.2. Biología y ciclo de <i>Teratosphaeria nubilosa</i>	28
2.5.3.3. Distribución Mundial de <i>Teratosphaeria nubilosa</i>	30
2.5.4. <u>Daños ocasionados por la enfermedad</u>	31
2.5.5. <u>Manejo y control de la enfermedad</u>	32

2.5.6. <u>Efectos de la nutrición de la planta sobre la enfermedad</u>	35
2.6. BIOESTIMULANTES: UNA ALTERNATIVA PARA LA PRODUCCIÓN.....	36
2.6.1. <u>Conceptos generales</u>	36
2.6.2. <u>El efecto de los compuestos húmicos en la asimilación del fósforo</u>	37
2.6.3. <u>Fitorreguladores: complejos hormonales</u>	39
2.6.3.1. Auxinas.....	40
2.6.3.2. Citoquininas.....	41
2.6.3.3. Giberelinas.....	41
2.6.4. <u>Complejos anti estrés: glicinbetaína</u>	42
2.6.5. <u>Otros fitorreguladores</u>	43
3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	45
3.1. DESCRIPCIÓN Y UBICACIÓN DEL SITIO EXPERIMENTAL.....	45
3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL Y TRATAMIENTOS.....	45
3.2.1. <u>Top- Phos®</u>	46
3.2.2. <u>Nitrofoska®</u>	47
3.2.3. <u>Fertileader®</u>	47
3.3. EVALUACIONES REALIZADAS.....	48
3.3.1. <u>Análisis de suelo</u>	48
3.3.2. <u>Análisis foliares</u>	49
3.3.3. <u>Temperatura y humedad</u>	49
3.3.4. <u>Medidas dasométricas</u>	50
3.3.5. <u>Evaluación sanitaria</u>	51
3.3.6. <u>Aislamiento e identificación del patógeno</u>	54
3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS.....	55
4. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	56
4.1. EVALUACIÓN A LOS 6 MESES DEL TRANSPLANTE.....	56
4.1.1. <u>MLD y supervivencia</u>	56
4.1.2. <u>Altura y diámetro</u>	56
4.1.3. <u>Concentración foliar de nutrientes</u>	57
4.2. EVALUACIÓN A LOS 12 MESES DEL TRANSPLANTE.....	58
4.2.1. <u>Tratamientos aplicados al suelo</u>	58

4.2.1.1. MLD y supervivencia.....	58
4.2.1.2. Altura y diámetro.....	59
4.2.1.3. Concentración foliar de nutrientes.....	61
4.2.2. <u>Tratamientos foliares</u>	62
4.2.2.1. MLD y supervivencia.....	62
4.2.2.2. Altura y diámetro.....	63
4.2.2.3. Concentración foliar de nutrientes.....	64
4.3. EVALUACIÓN A LOS 15 MESES DEL TRANSPLANTE.....	66
4.3.1. <u>Evaluación de nutrientes foliares</u>	66
4.3.1.1. Tratamientos de la parcela principal.....	66
4.3.1.2. Tratamientos foliares.....	67
4.4. IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL.....	69
5. <u>CONCLUSIONES</u>	72
6. <u>RESUMEN</u>	74
7. <u>SUMMARY</u>	75
8. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	76
9. <u>ANEXOS</u>	86

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1. Requerimientos ecológicos de <i>Eucalyptus globulus</i>	12
2. Valores usuales de ciertas características químicas para suelos de prioridad forestal en la zona 2.....	13
3. Clasificación de Nutrientes.....	15
4. Intervalos de suficiencia de nutrientes en hoja juvenil para <i>E. globulus</i>	21
5. Contenido de nutrientes (%) de Nitrofoska® foliar SL y Fertileader®.....	47
6. Análisis químico del suelo.....	49
7. Registros mensuales de temperatura y humedad relativa durante el período evaluado.....	50
8. Porcentaje de sobrevivencia y severidad por MLD para los tratamientos de parcela principal, a los 6 meses del trasplante.....	56
9. Promedios de altura y diámetro al cuello, y análisis estadístico para los tratamientos de parcela principal, a los 6 meses del trasplante	57
10. Concentraciones foliares de macro y micronutrientes y análisis estadístico para los tratamientos de la parcela principal, a los 6 meses del trasplante.....	58
11. Porcentaje de sobrevivencia y severidad por MLD para los tratamientos de parcela principal, a los 12 meses del trasplante	59
12. Promedios de altura y diámetro al cuello, y análisis estadístico para los tratamientos de parcela principal, a los 12 meses del trasplante	59
13. Concentraciones foliares de macro y micro nutrientes, y análisis estadístico para los tratamientos de parcela principal, a los 12 meses del trasplante.....	61
14. Porcentaje de sobrevivencia y severidad por MLD para los tratamientos foliares: Testigo, Fertileader® y Nitrofoska®, a los 12 meses del trasplante	62
15. Promedios de altura y diámetro al cuello, y análisis estadístico para los tratamientos de parcela secundaria, a los 12 meses	

del transplante	64
16. Concentraciones foliares de macro y micro nutrientes, y análisis estadístico para los tratamientos de parcela secundaria a los 12 meses del transplante.....	65
17. Concentraciones foliares de macro y micro nutrientes, y análisis estadístico para los tratamientos de parcela principal, a los 15 meses del transplante	67
18. Concentraciones foliares de macro y micro nutrientes, y análisis estadístico para los tratamientos de parcela secundaria a los 15 meses del transplante.....	68

Figura No.

1. Medición de altura y calibre a la base.....	51
2. Mancha foliar. Daño cero (0%).....	52
3. Mancha foliar. Daño I (0-25%).....	53
4. Mancha foliar. Daño II (25-50%).....	53
5. Mancha foliar. Daño III (50-75).....	53
6. Mancha foliar. Daño IV (75-100%).....	54
7. Cultivo de MLD en cámara húmeda.....	55
8. Árboles con sintomatología correspondiente a MLD.....	69
9. Cultivo de MLD luego de cámara húmeda.....	71
10. Síntomas de MLD a los 12 meses. Daño de copas.....	71

Gráfico No.

1. Evolución del crecimiento para altura en función del tiempo.....	60
2. Evolución del crecimiento para altura en función del tiempo.....	60
3. Humedad media registrada por día.....	70

1. INTRODUCCIÓN

La historia de la forestación en Uruguay podría dividirse en dos etapas: La primera abarcaría desde los orígenes hasta el año 1987, período durante el cual la silvicultura no habría de superar las 31.000 hectáreas. La segunda tendría como propulsora la promulgación de la nueva Ley de Desarrollo Forestal No. 15.939, la cual catapultaría la superficie destinada a este rubro, así como el desarrollo de industrias forestales y por ende, de la economía forestal (FAO, 2004).

Según datos expresados en el anuario estadístico agropecuario de la DIEA (URUGUAY. MGAP. DIEA, 2013) la superficie total de montes en el Uruguay habría ascendido a 1.812.000 ha, considerando que unas 962.000 ha pertenecerían a monte artificialmente implantado, mientras que las 850.000 ha restantes corresponderían al monte nativo. Los eucaliptos, en general, ocuparían en el entorno de 694.000 ha plantadas, siendo la especie *Eucalyptus globulus* la de mayor extensión en todo el territorio nacional con casi 350.000 ha afectadas (URUGUAY. MGAP. DGF, 2012)

Desde 1991 la región sureste del país ha sido la más plantada con *Eucalyptus globulus*, siendo el departamento de Lavalleja sin dudas el de mayor importancia para dicha especie, posiblemente debido a una combinación de ventajas relativas a la aptitud y crecimiento de estos ejemplares, la distancia cercana a la capital del país y el costo de la tierra (Balmelli y Resquín, 2002). Estos factores explican el número actual de hectáreas afectadas en dicho departamento, el cual se acerca a 95.324 (URUGUAY. MGAP. DGF, 2012)

La introducción de *Eucalyptus globulus* al Uruguay se remonta a 1853, difundándose su cultivo en forma masiva, al igual que en otros países. La mala calidad de los primeros árboles y la elevada consanguinidad llevaron a cierto desprestigio de la especie, retomándose el cultivo activamente en la actualidad, con lotes de semillas adecuadas para las condiciones ecológicas del Río de La Plata (Brussa, 1994). Doldán et al. (2008) afirman que dicha especie presenta los valores más altos de rendimiento bruto de pasta de celulosa, lo cual ocasiona un gran interés por la misma en la creciente industria forestal uruguaya e internacional.

El género *Eucalyptus* es nativo de Australia y ciertas islas de la región como Indonesia, Papúa Nueva Guinea o Filipinas. Con el correr de los años el

ser humano ha ingresado especies de estos centros de origen a otros ecosistemas en donde se propagan en forma de plantaciones con fines económicos (Turnbull, 2000). Según Wingfield, Slippers et al., citados por Hunter et al. (2006), la plantación de *Eucalyptus* en ambientes que difieren de sus zonas de origen genera una mayor susceptibilidad de la especie a plagas y enfermedades, incluyendo aquellas presentes en su hábitat nativo como a nuevas plagas propias del nuevo ambiente.

Dentro de las enfermedades de mayor incidencia a nivel mundial se encuentran las fúngicas foliares, siendo los géneros *Mycosphaerella* y *Teratosphaeria* los más reportados a nivel nacional (Balmelli et al., citados por Pérez, 2004). La enfermedad causada por estos agentes patógenos se denomina MLD (*Mycosphaerella leaf disease*). Produce una reducción en la capacidad fotosintética de las hojas, ocasionando una defoliación prematura, muerte regresiva de brotes y mermas en crecimiento a nivel general (Park y Keane 1982, Lundquist y Purnell 1987, Milgate et al., Mohammed et al., citados por Hunter et al. 2006). Según Smith (2006) *Teratosphaeria nubilosa* sería una de las especies más peligrosas a nivel mundial por su agresividad.

Una alta incidencia y gravedad de MLD es observada principalmente en follaje juvenil, haciéndolo un problema predominante de las plantaciones de *Eucalyptus spp.* jóvenes (Lundquist y Purnell 1987, Tejedor, citado por Pinkard y Mohammed 2005). Sin embargo, varias especies de *Mycosphaerella spp.* podrían afectar hojas adultas de *Eucalyptus spp.*, ya que tendrían la capacidad de generar estructuras capaces de atravesar directamente la cutícula de las mismas (Ganapathi, Park y Keane, citados por Hunter et al., 2006).

La enfermedad de MLD se disparó en Uruguay a principios del año 2007, época en la cual las condiciones fueron propicias para el desarrollo de síntomas similares a los de la enfermedad, causando una defoliación severa en plantaciones de *E. globulus* jóvenes. Estos hechos, junto a una evolución en la persistencia, incidencia y severidad de los mismos dieron la pauta de que un nuevo patógeno habría sido introducido al país (Pérez et al., 2009)

Simeto et al. (2008) afirma que generalmente, las medidas de manejo sobre esta enfermedad se dirigen hacia la reducción de su impacto, ya que una vez que el patógeno se ha establecido en plantaciones forestales de gran escala las posibilidades de erradicación son limitadas. Por otro lado, según

Smith (2006) las estrategias de manejo se deberían basar en una buena planificación previa, no utilizando la especie *E. globulus* en zonas de alto riesgo, realizando un correcto manejo de malezas y aplicando fungicidas en momentos críticos de la infección. Esta última medida podría ser la más dificultosa por razones de certificación ambiental, costos y posibles inconvenientes climáticos al momento de su aplicación.

Es preciso resaltar que para la declaración de terrenos forestales dentro de la Ley 15.939 se consideran aquellos que por sus condiciones naturales o de ubicación no serían aptos para la realización de cualquier otra explotación. De este modo, los suelos catalogados como de “prioridad forestal” por el decreto No. 26/993 posiblemente carezcan de buena productividad ganadera en campo natural siendo a su vez marginales para la agricultura por sus caracteres físicos, geográficos o de baja fertilidad. Por estos motivos un suelo forestal no necesariamente pueda cubrir las necesidades fisiológicas de una plantación (Principi y Loza, citados por Crucci, 2007).

Azcón-Bieto y Talón (2008) afirman que una buena nutrición puede determinar, no solo, un aumento o disminución en el crecimiento y desarrollo de la planta, sino también una variación en la resistencia de la misma frente a plagas y enfermedades. A su vez, los efectos del ataque de ciertos patógenos, como sería el caso de *Mycosphaerella spp*, se podrían ver acrecentados tanto por carencia de nutrientes como por déficit hídricos (Smith, 2006).

Basurco et al. (2000) asegura que dentro de los tratamientos silvícolas de una plantación es necesario tener en cuenta las características del lugar y los requerimientos de la especie. Una de las prácticas silvícolas que se debe atender en primer lugar es la fertilización, dado que la pretensión sería asegurar las exigencias nutricionales de los árboles y mantener los niveles de fertilidad del suelo. También afirma que muchos autores recomiendan la fertilización localizada en el momento de la plantación en masas de eucaliptos. Sin embargo, las dosis recomendadas suelen ser algo diferentes dependiendo de la zona donde se encuentra localizada la plantación.

Actualmente, la mayoría de las plantaciones comerciales son fertilizadas utilizando prácticamente la misma formulación: N-P-K, independiente de la especie, tipo de suelo y época de plantación. Las fuentes más comunes para el agregado de estos nutrientes han sido: sulfato de amonio (21%N), superfosfato

simple (21% P₂O₅), superfosfato triple (45% P₂O₅) y cloruro de potasio (60% K₂O) (Bellote y Ferreira, 1995).

Si bien en el Uruguay se ha constatado una alta probabilidad de obtener respuestas positivas al agregado de fósforo en la instalación de plantaciones de *Eucalyptus spp.* (Zamalvide y Ferrando, 2010), los resultados no desprenden grandes variaciones en rendimiento para el agregado de potasio (Zamalvide y Ferrando, 2010) o bien para la adición de nitrógeno, a pesar de haberse realizado correcciones exitosas en situaciones de deficiencia para este último caso (Perdomo y Crucci, 2010).

Por otra parte, Ferrando y Zamalvide (2010a) afirman que las plantaciones realizadas en suelos del Uruguay mostraron deficiencias de Boro por sobre otros micronutrientes. El B sería un oligoelemento esencial para el desarrollo de las plantas, siendo necesario no solo para el aumento de rendimientos, sino que también para mantener una buena calidad de los cultivos. En árboles, su deficiencia puede estar dada tanto por la falta en suelo como por condiciones ambientales, siendo necesaria su prudencial fertilización como método de prevención frente a situaciones ambientales desfavorables.

La bioestimulación ha tomado fuerza en los últimos años apuntando a entregar pequeñas dosis de compuestos activos para el metabolismo vegetal, de tal manera de ahorrarle a las plantas gastos energéticos innecesarios en momentos de estrés. De esta forma se lograría mejorar largo de brotes, cobertura foliar, profundidad de los sistemas radiculares, resistencia frente a enfermedades, etc. (Fichet, 2009)

La eficiencia de la fertilización fosfatada se ve reducida por los procesos de retrogradación del fósforo en el suelo hacia formas insolubles o no directamente disponibles para la absorción por parte del vegetal. Diferentes estudios han comprobado la capacidad de compuestos orgánicos para disminuir la incidencia de estos procesos, aumentando la disponibilidad del nutriente para la planta (Storino, 2009). Erro et al. (2010) afirma que la presencia de ácidos húmicos en la fertilización fosfatada no solo aumenta la disponibilidad del P en el suelo, sino que también estimula el desarrollo de raíces y la absorción de micronutrientes.

Por su parte, los agentes precursores de auxinas se encargarían de estimular microorganismos presentes en el suelo para la producción exógena de dicha hormona, favoreciendo así el desarrollo de raíces adventicias en estados juveniles del árbol. Sumado a esto, Fett-Neto et al. (2000) comprobaron

que el desarrollo de raíces se ve acelerado por la presencia de auxinas en micropropagación de *Eucalyptus globulus*.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la utilización de fuentes nutricionales con bioestimulantes frente a la aplicación de fertilizantes químicos tradicionales sobre una plantación joven de *Eucalyptus globulus* situada en la zona de Barriga Negra (Lavalleja).

1.1.2. Objetivos específicos

1) Evaluar la respuesta diferencial en crecimiento (diámetro al cuello y altura) y contenido foliar de nutrientes por la aplicación de fertilizantes con bioestimulantes al momento de la plantación, en comparación a un fertilizante tradicional con igual contenido de nutrientes.

2) Evaluar la respuesta en crecimiento (diámetro al cuello y altura) y contenido foliar de nutrientes a partir de la aplicación (a los 6 y 12 meses de edad) de fertilizantes foliares con y sin bioestimulantes.

3) Evaluar los efectos de la presencia de los patógenos foliares: *Mycosphaerella spp.* y *Teratosphaeria spp.*, considerando su incidencia y severidad para cada uno de los tratamientos aplicados.

2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. RESEÑA SOBRE EL GÉNERO *Eucalyptus*

Según FAO (1981) los eucaliptos son de origen austro-malayo, extendiéndose su distribución natural desde los 7° N a 43°39' S. La mayoría de las especies pertenecientes a este género se encontrarían confinadas en territorio australiano (centro de origen), reportándose unas pocas para Papua, una para Nueva Guinea, Sulawesi y Mindanao, dos para Timor, Flores, Sunda, Alor y Wetar (Pryor, citado por Brussa, 1994). Existen unos 600 taxones específicos y subespecíficos en el género *Eucalyptus*, originarios de Australia e islas vecinas (Brussa, 1994).

2.2. CARACTERIZACIÓN DE LA ESPECIE *Eucalyptus globulus* Labillardière

2.2.1. Descripción general de la especie

Eucalyptus globulus es conocido vulgarmente como eucalipto blanco, eucalipto criollo, *tasmanian blue gum* o *southern blue gum* (Brussa, 1994). Taxonómicamente pertenece a la clase angiospermas, subclase dicotiledóneas, familia de las mirtáceas. Según Potts et al. (2004) fue descubierto por exploradores franceses en la isla de Tasmania en el 1792, siendo así una de las primeras especies de eucaliptos en ser formalmente descrita gracias a Labillardière en el año 1799.

Según FAO (1981), se trata asimismo del primer eucalipto en ser plantado extensivamente fuera de Australia, ya que tanto bovinos como ovinos no se verían atraídos por las hojas juveniles, pudiendo así combinar ambos rubros. A pesar de haber desilusionado como especie aserrable en muchos países debido a sus elevadas tensiones de crecimiento, continúa siendo una especie ampliamente plantada para la producción de pasta de celulosa.

La especie posee un gran tamaño, con una altura máxima en su país de origen que oscila entre los 45-55 m, presentando un tronco recto y macizo, con una copa abierta y pesada. Presenta facilidad para establecerse, caracterizándose por su rápido crecimiento y cierre temprano del dosel, teniendo a su vez la cualidad de rebrotar vigorosamente y ser firme contra los vientos. Podría presentar una madurez reproductiva a partir de los 5 años de edad, observándose en sus semillas un elevado porcentaje de germinación. Su

sistema radicular se caracteriza por ser muy extenso y denso, siendo este un factor importante para el control de la erosión.

Según Brussa (1994), posee un follaje péndulo de textura media a gruesa. Al igual que muchas especies del género presenta un polimorfismo foliar; las primeras hojas y juveniles son opuestas, sin pecíolo, de bases cordadas y soportadas por tallos de sección cuadrangular, pruinosos. De forma elíptica a oval-elípticas (7-15 x 4-10 cm), ápice obtuso o abruptamente mucronado, amplexicaules, glaucas discoloras. Las hojas intermedias y adultas son alternas, pecioladas (3-4 y 2-3 cm respectivamente), tienen ápice agudo, acuminado y son verdes concoloras. Las hojas intermedias son lanceoladas (20-30 x 3-6 cm) y poseen base redondeada. Las hojas adultas son falcadas (10-25 x 2-3,5 cm) y presentan base amplia, cuneada y nervaduras secundarias oblicuas.

Las flores son solitarias, raramente se observan 2-3 flores agrupadas, sésiles o pedunculadas (0,2 cm). Los botones florales son de forma obovoide (1,5-2,5 x 1,5-1,8 cm), pruinosos, con cuatro costillas muy visibles, opérculo umbonado, verrucoso, igual o menos largo que el hipantio. La floración ocurre principalmente a fines de otoño y en invierno.

Los frutos son sésiles, desde obcónicos a subglobosos (1-2 x 1,5-2,3 cm), conservando las cuatro costillas notorias. El disco puede ser plano o convexo, a nivel o algo exserto, definiendo así lobos que cubren parcialmente las 4 a 5 valvas situadas más o menos a nivel.

FAO (1981), Brussa (1994), describen la corteza como áspera, gris, persistente en la base y lisa en la parte superior. Caracterizada por su comportamiento caduco en largas fajas, ritidoma de color crema, grisáceo y castaño.

La madera es pardo amarillenta clara, de textura abierta, presentando generalmente el grano entrelazado, anillos de crecimiento bastante marcados, fuerte y relativamente durable (FAO, 1981).

El duramen tiene una coloración parda amarillenta, con una densidad "seco al aire" de 780 kg/m³ (Celulosa Argentina, citado por Brussa, 1994) a 900 kg/m³ (Boland et al., citados por Brussa, 1994), siendo apto para construcciones

en general, carpintería de obras, pisos, laminados, durmientes, pulpa o combustible.

2.2.2. Distribución natural

Según FAO (1981) es un árbol originario de Tasmania, Promontorio de Wilson, costa adyacente de Victoria; las islas en el estrecho de Bass entre Tasmania y el continente. Varios autores (Hall et al., Boland et al., citados por Brussa, 1994) lo adjudican como natural de la región sur de Australia, incluida Tasmania, entre los 37° y 43°30' S, tanto en localidades costeras como continentales, con altitudes respecto al nivel del mar de 450 m. Esta región se caracteriza por su clima templado-frío uniforme, temperaturas máximas promedio de 20-23 °C y mínimas promedio de 0-8 °C, subhúmedo a húmedo con precipitaciones en el entorno de los 600 a 1400 mm anuales mayoritariamente invernales, pudiéndose registrar hasta 40 heladas por año.

2.3. HISTORIA Y PRODUCCIÓN DEL *Eucalyptus globulus* EN URUGUAY

2.3.1. Breve reseña histórica

Dentro del género *Eucalyptus*, la especie *E. globulus* ha sido la más destacada en Uruguay, siendo la primera en sobresalir con fines productivos. Características como su velocidad de crecimiento, resistencia a fitopatógenos e insectos, rusticidad y producción abundante de semillas incentivaron a que se cultivara como árbol de abrigo, sombra e incluso con fines ornamentales, tanto en el ámbito rural como urbano (Brussa, 1994).

Su introducción al país se remonta a 1853, momento a partir del cual se difundiría inmediatamente en forma masiva. Esta situación se habría observado también en otros países (Brussa, 1994). Según Helguera y Lombardo (1953), a finales del siglo XIX ya existían rodales de esta especie en todo el país, llegando recién a ser superado en intensidad de cultivo a partir de la segunda década del siglo XX por *Eucalyptus camaldulensis* y *Eucalyptus tereticornis*.

Brussa (1994) comenta que la popularidad inicial de *E. globulus* ssp. *globulus* fue decreciendo conforme se le fueron buscando otros usos. Esto se debió a la mala conformación de los ejemplares y a la elevada consanguinidad que los mismos traían desde su origen. Sumado a esto, el excesivo calor estival constituyó un obstáculo para el desarrollo vegetativo de los primeros ejemplares, los cuales fueron fuente de semilla de casi todos los montes del

país, evidenciándose un excesivo número de ramas secas en aquellos sitios poco propicios.

Más tarde, a fines del siglo XX se retomaría activamente el cultivo de *E. globulus* con lotes de semillas de procedencias adecuadas para las condiciones ecológicas del Río de la Plata, al tiempo que comenzarían a realizarse ensayos continuos con nuevas especies y orígenes con el fin de proporcionar una mejor respuesta a las distintas exigencias, tanto de sitio forestal como de mercado.

2.3.2. La producción en Uruguay

En la actualidad la superficie afectada por *E. globulus* es de 349.416 ha, de las cuales 95.324 ha se encuentran en el departamento de Lavalleja (Departamento donde se instaló el ensayo en estudio) (URUGUAY. MGAP. DIEA, 2013).

FAO (1981) reporta para Uruguay que “*en condiciones favorables, pero no excepcionales, se obtienen 25 m³/ha/año de incremento medio anual*”. Agrega también que las plantaciones se ubican principalmente al sur del Río Negro sobre gran variedad de suelos, excepto aquellos de mal drenaje y superficiales. Sin embargo, UPM Forestal Oriental (2012) indica rendimientos promedio de 7-12, 7-11 y 12-18 m³/ha/año para las regiones Litoral, Norte y Centro-Sur respectivamente.

Se puede utilizar como cortina rompevientos, barrera contra luz y ruido excesivo, leña, extracción de aceites esenciales, producción de miel a partir de las flores, para el control de la erosión y, en algunos casos, para aserrado (Skolmen y Ledig, 1990).

La enorme demanda que generan las industrias de producción de celulosa por la madera de *E. globulus* ha llevado a que esta especie haya sido la de mayor área plantada en Uruguay en la pasada década (Doldán et al., 2008). Su gran utilización para la producción de pulpa radica en que su corteza es aceptable para la mayoría de los procesos de producción de pasta de celulosa, lográndose así mayores rendimientos (Skolmen y Ledig, 1990).

2.3.2.1. Importancia del componente genético

Zobel, citado por Gallo (2012) explica que la variación genética es una herramienta fundamental con la que cuenta el mejoramiento genético. Previo a

la inclusión de una especie arbórea en un programa de mejoramiento, es necesario cuantificar la variación presente, determinar su causa y naturaleza, para poder así utilizarla a favor de los intereses del mejorador. En este sentido Old, Wingfield et al., citados por Smith (2006), concuerdan que la variación dentro y entre especies reduce la probabilidad de epidemias en los bosques nativos.

Las poblaciones forestales han sido relativamente poco influenciadas por el hombre, siendo las especies forestales por lo general genéticamente variables, radicando en una ventaja para el mejorador. “*Se considera que los árboles poseen una mayor variabilidad que el resto de los organismos*” (Gallo, 2012).

Según Gallo (2012), existen diferentes fuentes de variación en una especie; entre procedencias geográficas, entre sitios de una procedencia, entre rodales de un mismo sitio y entre árboles individuales en un rodal. Siendo esta última la principal variación a ser usada en un programa de mejoramiento genético.

La resistencia frente a ciertos agentes causales de enfermedades foliares como MLD (enfermedad foliar causada por *Mycosphaerella*), ha demostrado estar bajo un elevado control genético en *E. globulus*, comprobándose en 3 de 4 casos mayor densidad celular en hoja y en el mesófilo en empalizada de las familias resistentes. A su vez, se habrían encontrado estomas más cerosos en comparación con familias más susceptibles (Smith, 2006).

La selección genética a favor de propiedades estructurales, de crecimiento y de la forma del fuste, en asociación con las características de manejo de las plantaciones, genera considerables incrementos en la tasa de crecimiento (Dargavel, citado por Smith, 2006). Sin embargo, el riesgo de ataque por patógenos en condiciones de monocultivo se vería incrementado en gran proporción, por lo que resulta absolutamente necesario realizar una cuidadosa selección genética y distribución espacial de los diferentes genotipos con el fin de disminuir dicho riesgo (Park, Keane et al., citados por Smith, 2006).

A pesar de los daños registrados en plantaciones comerciales y de ser una de las especies más importantes en el país, la selección de genotipos resistentes de *E. globulus* aún está pendiente. Los programas de mejoramiento se encuentran enfocados únicamente en lograr clones superiores en

crecimiento y rendimiento pulpable. Sumado a esto la mayor parte de la semilla que se utiliza en Uruguay proviene de Jeeralang (Australia), procedencia que ha demostrado ser muy susceptible a MLD (Balmelli et al., 2014).

2.3.2.2. Efectos del sitio

Los árboles son un cultivo que utiliza el ambiente sobre el cual habrían de desarrollarse, incluyendo el suelo, por un tiempo más prolongado que otros posibles usos de la tierra. Es así que la planificación sobre el sitio a escoger y recaudos a tomar se hace inminente, en especial considerando que sería prácticamente inconcebible realizar un cambio de cultivo, afectando este sobre el ambiente a mediano-largo plazo (Califra y Durán, 2010).

Según FAO (1981), los factores ambientales limitantes para la producción de *Eucalyptus* se distinguen, por lo general, como: climáticos (Ej: temperatura, aridez, humedad), edáficos (Ej: profundidad del suelo, fertilidad, textura y estructura, presencia de carbonatos o cloruros asimilables) y bióticos (Ej: plagas, enfermedades y competencia de vegetación).

Gallo (2012) afirma que las especies forestales introducidas tienen posibilidades de éxito productivo solamente en regiones cuyas condiciones climáticas sean similares a las de su área de origen. Esto permitiría una mejor adaptación a determinadas regiones dentro de un país.

A pesar de que el *E. globulus* posee una gran adaptabilidad climática, las introducciones más exitosas a nivel mundial han ocurrido en lugares con un clima templado y moderado o en altas elevaciones con temperaturas frías en las áreas tropicales. El clima ideal para su desarrollo debería carecer de temporadas secas severas, con precipitaciones anuales que rondan los 900 mm y temperaturas mínimas que no disminuyan de los -7 °C (Skolmen y Ledig, 1990). Se han reportado muy buenos crecimientos en latitudes cercanas a los 38°S, veranos frescos y húmedos con temperaturas que no superan los 22°C, siendo estas condiciones muy similares a las del estado de Victoria en Australia, uno de los centros de origen de la especie (Golfari, 1985).

En la mayor parte de las plantaciones realizadas con esta especie se ha utilizado semilla importada (principalmente de Chile y en menor medida de España y Australia), en general sin mejoramiento o mejorada para condiciones diferentes a las nuestras. También se ha utilizado semilla cosechada

localmente, generalmente sin selección y muchas veces de origen desconocido. Lamentablemente, la elección de dichas fuentes de semilla no se basó en una adecuada evaluación local, por lo que se desconocía su capacidad de adaptarse a nuestras condiciones agro-ecológicas o de tolerar las principales enfermedades y plagas (Balmelli et al., 2006).

Los mayores valores de crecimiento se han obtenido sobre suelos profundos areno – arcillosos (FAO, 1981). Además, tendría un buen desempeño en suelos limosos a arcillosos (Kelly et al., citados por Brussa, 1994). Se adapta a gran variedad de terrenos con buen drenaje, desde arenosos a pedregosos, donde presenta muy buen desarrollo (Brussa, 1994). Requiere un bajo nivel de salinidad y una profundidad de aproximadamente 0,6 m o más (FAO 1981, Skolmen y Ledig 1990).

Cuadro No. 1. Requerimientos ecológicos de *Eucalyptus globulus*

Variable	Valores
Precipitación media anual (mm)	>600
Temperatura media anual (°C)	11,4 a 18,0
Temperatura mínima (°C)	-6
Profundidad suelos	Moderada a profunda
Drenaje Suelos	Bueno a moderado
Meses secos	0 - 5
Humedad relativa anual (%)	> 70
Heladas Anuales	5 - 30
Textura del suelo	Limosos a franco-arcillosos
Reacción del suelo (pH)	5 - 7

Fuente: adaptado de García et al., citados por Acosta (2008)

En Uruguay, la declaración de terrenos de “prioridad forestal” presente en el decreto No. 26/993 referente a la Ley 15.939 restringe la plantación, cualquiera sea la especie utilizada, a aquellas superficies que por sus condiciones naturales o de ubicación no serían aptas para la realización de cualquier otra explotación (Principi y Loza, citados por Crucci, 2007). De esta manera, la mayoría de dichos terrenos se podrían clasificar, a nivel de grandes grupos, como Luvisoles, Acrisoles, Brunsoles y Argisoles, tratándose a su vez de suelos ácidos a muy ácidos, con bajos niveles de bases, texturas medias a livianas, bajo contenido de materia orgánica y por lo tanto baja fertilidad (Califra y Durán 2010, Hernández 2010, Zamalvide y Ferrando 2010).

La categoría 2 del grupo CONEAT, incluida dentro de dichos terrenos de prioridad forestal, comprende suelos superficiales, con agregados de terrenos profundos de texturas medias. Los suelos dominantes corresponderían al grupo de los brunosoles subéutricos háplicos y típicos, ocupando en conjunto más del 70% del área, desarrollándose mayoritariamente entre los afloramientos de rocas (fundamentalmente migmatitas y granitos intrusivos). Se evidencia también la presencia de litosoles y luvisoles próximos a afloramientos o en áreas más rocosas de la unidad (Durán y García, 2007).

La unidad Santa Clara, presente en dicha región, comprende principalmente suelos de tipo 2.12, 2.11a y 2.11b, los cuales difieren tanto en los porcentajes de afloramiento rocosos como en sus pendientes, siendo los primeros suelos de hasta un 5% de rocosidad y 15% de pendiente, los segundos entre 5 y 10% de rocosidad y pendientes de 5 a 20%, mientras que los terceros poseerían un paisaje quebrado, con un porcentaje de rocosidad mayor al 10% y pendientes de entre 10 y 40% (Durán y García, 2007).

Cuadro No. 2. Valores usuales de ciertas características químicas para suelos de prioridad forestal en la zona 2.

Suelo	pH	MO	P	K	Ca	Mg	CIC	Sat
Luvisol sobre Cristalino (Suelos 2)	En agua	%	Ppm	Meq/100g de suelo				%
	5.0	3.8	3	0.45	4.5	2.1	11.1	55

Fuente: Zamalvide y Ferrando (2010)

2.4. ASPECTOS NUTRICIONALES DE LA ESPECIE

Entre un 90 y 95% del peso seco de las plantas estaría constituido principalmente por los elementos carbono, oxígeno e hidrógeno, producto de la incorporación de CO₂ a partir de la atmósfera y el agua absorbida del suelo. El restante 5 a 10% constituye la comúnmente denominada “fracción mineral” y es donde la mayoría de los estudios científicos han sentado sus bases para la producción, sanidad y crecimiento de los cultivos (Bonilla, 2000).

Las plantaciones forestales de eucalipto en nuestro país han significado un gran cambio en el uso del suelo, a partir de la conversión de zonas ganaderas y/o agrícolas al rubro forestal. Los suelos considerados de aptitud forestal presentan muy buenas condiciones para el desarrollo de especies como

Eucalyptus spp. Sin embargo, son considerados marginales debido a su baja fertilidad, alta rocosidad o pedregosidad, acidez, bajos niveles de bases, texturas medias a livianas y bajos contenidos de materia orgánica (Hernández, 2010)

El estado nutricional de los árboles está determinado en gran medida por las características químicas y microbiológicas del suelo, ya que proporciona una parte importante de los elementos minerales que necesitan para su crecimiento y desarrollo. Por su parte, la materia orgánica del suelo influye positivamente favoreciendo que el mismo sea suelto y poroso, conteniendo a su vez grandes cantidades de nitrógeno, el cual necesitaría mineralizarse para ser liberado. Es importante destacar la importancia de la participación de microorganismos durante este proceso.

A su vez, el pH del suelo influye en la disponibilidad de la mayor parte de los nutrientes, en las propiedades físicas del suelo y en la vida microbiana. *Eucalyptus globulus*, en particular, tolera suelos muy ácidos, con relaciones de C/N elevadas (mineralización lenta) y niveles de nutrientes bajos (Lugo, citado por Acosta, 2008)

Las raíces de las plantas absorben elementos del ambiente de manera indiscriminada, por lo que la simple presencia de un nutriente en el organismo no necesariamente lo convierte en esencial para su desarrollo (Tisdale y Nelson, 1970).

Arnon y Stout, citados por Tisdale y Nelson (1970), Bonilla (2000) definen un elemento esencial por las siguientes características:

1. Una deficiencia de dicho elemento haría imposible completar el ciclo vegetativo de la planta, o bien su ciclo reproductivo
2. Los síntomas por falta del nutriente en cuestión pueden ser suplidos solamente con la adición del mismo elemento
3. El elemento está directamente relacionado con la nutrición y metabolismo del organismo.

Según Bonilla (2000), aquellos elementos que no cumplen con estas condiciones, pero compensan ciertos efectos tóxicos de otros elementos, o bien son igualmente importantes en determinadas funciones del vegetal como la regulación osmótica, se caracterizarían como “elementos beneficiosos”.

De este modo, y haciendo énfasis sobre los nutrientes esenciales, podemos encontrar dos grupos definidos en relación a su concentración en planta: Macronutrientes y micronutrientes (Tisdale y Nelson 1970, Bonilla 2000, Alfenas et al. 2004, Agrios 2007, Halvin et al. 2014).

Cuadro No. 3. Clasificación de nutrientes

Clasificación	Elementos
Macronutrientes Esenciales	N, P, K, S, Mg, Ca
Micronutrientes Esenciales	B, Fe, Mn, Zn, Cu, Mo, Cl, Ni
Elementos beneficiosos	Na, Si, Co, I, V...

Fuente: adaptado de Bonilla (2000)

2.4.1. Macronutrientes

Los macronutrientes son elementos constituyentes de biomoléculas estructurales como proteínas, lípidos y carbohidratos, además de actuar en ciertas ocasiones como osmolitos. Esto determina que su presencia sea necesaria en concentraciones considerables dentro de los organismos (Bonilla, 2000).

El primer nutriente a considerar sería el **Nitrógeno**. Si bien es el elemento más abundante en la atmósfera, es frecuentemente uno de los más limitantes para la producción de cultivos, ya que su molécula de N_2 poseería un triple enlace, haciéndola muy estable. En suelo puede encontrarse de manera orgánica o inorgánica, siendo esta última la única absorbible por las plantas, principalmente bajo formas de nitrato (NO_3^-), amonio (NH_4^+) o nitrito (NO_2^-) (Perdomo y Barbazán, 1999). En el organismo vegetal se encuentra formando parte de proteínas funcionales, paredes celulares y en especial de la clorofila. Al ser un nutriente móvil en planta, su deficiencia ocasiona una clorosis o amarillamiento, comenzando a vislumbrarse en hojas maduras por translocación a fosas de demanda mayores como serían las hojas jóvenes y brotes (Tisdale y Nelson 1970, Romero y Marius 2002, Halvin et al. 2014).

El **Fósforo** por su parte, tiene un papel estructural importante en muchas moléculas, siendo pieza fundamental de los ácidos nucleicos y fosfolípidos, además de conformar enlaces ricos en energía bajo formas de ATP o ADP (Bonilla, 2000). Es absorbido por la planta mayoritariamente como $H_2PO_4^-$. Es

inmóvil en suelo y con una dinámica muy dependiente del pH (Hernández, 2010). Una deficiencia en el suministro de este nutriente puede traducirse en una merma significativa del crecimiento y observarse a través de pequeñas manchas de color púrpura en la zona internerval de hojas maduras principalmente. Por tratarse de un nutriente móvil en los organismos es rápidamente translocado hacia regiones meristemáticas (Tisdale y Nelson 1970, Havlin et al. 2014). Dichas deficiencias tienen una estrecha relación con la dinámica del fósforo en suelo, ya que solo una parte del mismo permanece como disponible para su absorción por parte de las raíces (Havlin et al., 2014).

Por otro lado, el **Potasio** es considerado como el “tercer elemento mayor” requerido para el crecimiento de las plantas (Tisdale y Nelson, 1970). Según Bonilla (2000) desempeña un papel clave en la osmorregulación por su influencia en la apertura y cierre de estomas, así como también en la activación de más de 50 sistemas enzimáticos. El nutriente es absorbido como ión K^+ , siendo la fracción asimilable, del total presente en suelo, muy pequeña. Romero y Marius (2002) comentan que una deficiencia de potasio generaría manchas necrosadas en zonas internervales y distales de hojas bajas o viejas, muerte de ápices, problemas de lignificación, disminución en el crecimiento y pérdida de turgencia en raíces y tallos.

En el caso del **Azufre** cumple una gran cantidad de funciones importantes en el crecimiento vegetal como la composición de ciertos aminoácidos (cisteína y metionina) para la síntesis de proteínas, activación de enzimas proteolíticas, forma parte de vitaminas y coenzimas, es esencial para la síntesis de variados aceites e incluso se lo ha asociado a la resistencia al frío y heladas (Havlin et al., 2014). Es absorbido desde el suelo en forma de anión sulfato (SO_4^{2-}) aunque también podría ingresar bajo la forma de dióxido de azufre (SO_2) de manera foliar. Una deficiencia en el suministro de este nutriente afectaría a nivel celular el funcionamiento de los cloroplastos, ocasionando el amarillamiento de hojas juveniles, por tratarse de un elemento poco redistribuible. Además, los tallos se podrían presentar más rígidos y quebradizos (Bonilla 2000, Romero y Marius 2002).

El **Magnesio**, aparece como un elemento fundamental de la clorofila, por lo que cumple un rol protagónico en la actividad fotosintética. Es también requerido para la actividad de muchas enzimas fosforiladoras y compone ciertas estructuras necesarias para la síntesis proteica como los ribosomas (Del Pino,

2011). Es absorbido bajo la forma de Mg^{+2} y tiene una gran movilidad dentro del vegetal, resultando su deficiencia en una clorosis internerval de hojas maduras o bajas, comenzando con un amarillamiento en etapas tempranas, para tornarse de color marrón o incluso necrosarse en situaciones de deficiencia severa (Tisdale y Nelson 1970, Romero y Marius 2002, Havlin et al. 2014).

Por último, el **Calcio**, es absorbido por las plantas como Ca^{+2} . Tiene un rol importante en la estructura y permeabilidad de las membranas celulares, además de ser esencial para la elongación y división celular (Del Pino, 2011). La falta de este elemento generaría una detención del desarrollo de ápices de raíces o yemas terminales de tallos, al ser un elemento inmóvil en planta (Tisdale y Nelson 1970, Romero y Marius 2002, Havlin et al. 2014), además del debilitamiento de tejidos foliares, haciéndolos más susceptibles al ataque de patógenos (Molina, 2002).

Buscher y Hudson, citados por Cabrera (2004) aseguran que el calcio podría reducir la degradación de paredes celulares causada por diversas enzimas hidrolasas, como es el caso de las celulasas de origen microbial. A su vez, ciertas enzimas presentes en hongos como *Botrytis cinerea*, tales como las poligalacturonasas, hidrolizarían las pectinas presentes en la pared celular de los vegetales. Una suficiencia nutricional del nutriente calcio podría inhibir la síntesis o actividad de dicha enzima, protegiendo los grupos carboxilos presentes en las pectinas (Chardonnet et al., 1997).

2.4.2. Micronutrientes

Los micronutrientes se pueden encontrar en ciertos compuestos enzimáticos, por lo que si bien son fundamentales para el metabolismo de los vegetales, no serían demandados más que en pequeñas concentraciones (Bonilla, 2000).

Boro: es absorbido por la planta desde la solución del suelo, donde la forma predominante es la de ácido bórico no disociado (H_3BO_3), pudiendo también ser absorbido en menor frecuencia bajo sus formas aniónicas ($H_2BO_3^-$, HBO_3^{-2} , BO_3^{-3} , y $B_4O_7^{-2}$). Su función en el vegetal se centra en el aspecto estructural, formando parte de paredes celulares, membranas plasmáticas y cumpliendo tareas claves en la elongación celular. Por su naturaleza inmóvil en planta, la deficiencia en dicho elemento se puede traducir en una falta de

desarrollo de brotes apicales, así como también en una baja fertilidad del polen o bien aborto de estructuras reproductivas (Ferrando, 2010b).

Hierro: puede ser absorbido como Fe^{+3} y más fácilmente, dada su mayor solubilidad, como ión ferroso (Fe^{+2}). Forma parte de muchos grupos de enzimas redox del tipo hemoproteínas, necesarias para el metabolismo, siendo esencial también en la formación de proteínas fundamentales para la fotosíntesis, respiración y fijación de nitrógeno (Bonilla, 2000). Su deficiencia en suelos calizos es muy habitual, ya que la solubilidad del *Fe* es muy baja a pH básicos, presentándose como una clorosis en hojas jóvenes, pudiendo generar incluso un amarillamiento general de la hoja en situaciones severas (Tisdale y Nelson 1970, Havlin et al. 2014).

Manganeso: es absorbido por las plantas como ión manganeso (Mn^{+2}) y en diversos casos asociado a estructuras orgánicas. Al igual que el hierro se trata de un nutriente inmóvil, por lo que los síntomas de deficiencias aparecerían como una clorosis internerval en hojas juveniles, produciendo también una desorganización de las membranas a nivel celular (Bonilla 2000, Romero y Marius 2002, Havlin et al. 2014). Este elemento es parte de diversas enzimas dentro de cloroplastos encargadas de catalizar reacciones redox y del transporte de electrones en el proceso de fotosíntesis (Bonilla, 2000).

Zinc: el zinc cumple una función importante en la activación de ciertos complejos enzimáticos necesarios para el metabolismo hormonal como la síntesis de auxinas. Además, participa en la estabilidad del ribosoma y está presente en la ARN polimerasa, lo cual lo convierte a su vez en un regulador de la expresión génica (Bonilla 2000, Agrios 2007). Las raíces lo absorben como Zn^{+2} y su deficiencia puede ocasionar clorosis en hojas jóvenes, reducción en el tamaño de hojas y falta de desarrollo en brotes (Tisdale y Nelson 1970, Romero y Marius 2002, Havlin et al. 2014).

Cobre: el elemento es absorbido por las plantas en forma de ión cúprico, Cu^{+2} , o bien asociado a ciertos complejos orgánicos (Havlin et al., 2014). Se encarga de la activación de varias enzimas metabólicas, siendo algunas muy importantes para el proceso de transporte de electrones en la fotosíntesis, como la plastocianina, o en la respiración, como sería el caso de la citocromo c oxidasa. Su deficiencia se manifiesta en forma similar a la del boro, con dificultades en el proceso de lignificación, disminución en el desarrollo de

brotos, hojas juveniles recurvadas y proliferación de brotes laterales (Bonilla 2000, Romero y Marius 2002).

Molibdeno: es constituyente de enzimas que catalizan reacciones redox, principalmente de la nitrato reductasa y la nitrogenasa. Se encuentra en el suelo en su mayoría como MoO_4^{-2} aumentando su disponibilidad en conjunto con un aumento del pH. La falta del nutriente puede ocasionar síntomas similares a los de deficiencia en nitrógeno, por estar ligado directamente con procesos que involucran a dicho elemento (Tisdale y Nelson 1970, Bonilla 2000, Havlin et al. 2014).

Cloro: según Bonilla (2000) el cloro cumple un rol importante en la preservación del gradiente de pH existente entre las vacuolas y el citoplasma de las células, cumple funciones de regulador osmótico, estaría implicado en los mecanismos de apertura y cierre de estomas, así como en el proceso de fotólisis dentro de la fotosíntesis. Es absorbido en forma de ión Cl^- con una solubilidad muy elevada y no es común que existan deficiencias en este nutriente salvo en ensayos artificiales dónde podría darse una reducción en el desarrollo radicular, una disminución en el crecimiento de hojas con manchones cloróticos, bronceados y hasta necróticos.

Níquel: en los últimos tiempos diversos estudios han incluido al níquel como un elemento esencial por su presencia en la enzima ureasa, necesaria para la degradación de urea dentro del organismo vegetal. La urea surge del metabolismo de ciertos ureidos encargados del transporte de NH^+ en planta, siendo necesaria su hidrólisis con el fin de evitar síntomas por toxicidad, como podría ser una necrosis apical, debido a un exceso en dicho compuesto (Bonilla 2000, Havlin et al. 2014).

Es necesario resaltar que la mayoría de los micronutrientes descriptos anteriormente pueden desarrollar niveles altos de toxicidad a concentraciones elevadas, por lo que el suministro y la presencia de los mismos deben considerarse con especial cuidado (Tisdale y Nelson 1970, Bonilla 2000, Havlin et al. 2014).

2.4.3. Deficiencias nutricionales y fertilización

Dentro de los suelos del país, aquellos declarados como de prioridad forestal estarían entre los de menor fertilidad natural. Sin embargo, al

compararlos con suelos de otros países, de los cuales se suele tomar información tecnológica, las diferencias son significativas. Teniendo como referencia ciertas zonas forestadas en Brasil, los suelos del Uruguay poseerían alrededor de 10 veces más cantidad de bases intercambiables y una saturación de bases 5 veces superior (Zamalvide y Ferrando, 2010).

En términos generales es esperable que en nuestro país exista un menor número de nutrientes limitantes, y en caso de existir, se observaría una respuesta hasta dosis menores (Zamalvide y Ferrando, 2010).

Según Barbazán (1998), el análisis de planta con fines de evaluación de la fertilidad de un suelo, es la determinación de la concentración de un elemento o fracción del mismo en una muestra proveniente de una parte definida de la planta, muestreada en determinada etapa de su desarrollo fisiológico. Su correcta interpretación permite identificar ciertas carencias en lo que a disponibilidad de nutrientes en suelo respecta.

En cultivos de más de un año o en individuos que permanecen en el suelo más de un ciclo productivo, como sería el caso de la forestación o frutales, el análisis de planta es una herramienta clave para orientar recomendaciones de fertilización. En dichas situaciones, un análisis de suelo podría no ser suficiente, dado que no se dispone de una calibración ajustada que tenga en cuenta la exploración real del sistema radicular del árbol, el cual llegaría a extraer nutrientes desde capas profundas del suelo.

Barboza (2013) presenta un cuadro explicativo sobre los niveles nutritivos de suficiencia para la especie *Eucalyptus globulus* en su fase juvenil, tomando en cuenta a la mayoría de los nutrientes considerados como esenciales.

Cuadro No. 4. Intervalos de suficiencia de nutrientes en hoja juvenil para *E. globulus*

ELEMENTO		NIVEL DE SUFICIENCIA
N	%	1,2 – 1,8
P		0,1 – 0,14
K		0,4 – 0,8
Ca		0,4 – 1,3
Mg		0,1 – 0,22
S	ppm	1,5 – 2,0
B		30 – 51
Cu		2,5 – 24,0
Fe		50 – 156
Mn		190 – 710
Zn		15 – 51

Fuente: adaptado de Boardman et al. (1997), Barboza (2013)

Basurco et al. (2000) asegura que dentro de los tratamientos silvícolas de una plantación es necesario tener en cuenta las características del lugar y los requerimientos de la especie. Una de las prácticas silvícolas que se debe atender en primer lugar es la fertilización, dado que la pretensión sería asegurar las exigencias nutricionales de los árboles y mantener los niveles de fertilidad del suelo. También comenta que muchos autores recomiendan la fertilización localizada en el momento de la plantación en masas de Eucaliptos. Sin embargo, las dosis recomendadas suelen ser algo diferentes dependiendo de la zona donde se encuentra localizada la masa.

Actualmente, la mayoría de las plantaciones comerciales a nivel mundial son fertilizadas con utilización de prácticamente la misma formulación, N-P-K, independiente de la especie, tipo de suelo y época de plantación. Las fuentes más comunes para el agregado de estos nutrientes han sido normalmente: sulfato de amonio (21%N), superfosfato simple (21% P₂O₅), superfosfato triple (45% P₂O₅) y cloruro de potasio (60% K₂O) (Bellote y Ferreira, 1995).

Por otro lado, la deficiencia de diversos micronutrientes podría ser corregida en una gran variedad de cultivos por medio de una fertilización foliar localizada en respuesta a síntomas por falta del elemento (Tisdale y Nelson, 1970). Sin embargo, Smith (2006) asegura que, si bien en *Eucalyptus spp.* esta práctica podría tener resultados positivos, su resultado no estaría

completamente estudiado, debiendo valorar incluso su rentabilidad económica en situaciones de plantaciones a gran escala.

En Uruguay, la roturación del suelo a la hora del laboreo generaría que la materia orgánica proveniente de pasturas naturales ricas en nitrógeno se mineralice rápidamente dejando gran parte de este elemento sin poder ser aprovechado por los árboles debido a la velocidad de la reacción (Zamalvide y Ferrando, 2010).

Perdomo et al., citados por Perdomo y Crucci (2010) aseguran que los valores de concentración de nitrógeno foliar podrían ser utilizados con éxito para detectar situaciones con deficiencia, siendo este diagnóstico necesario para la determinación de dosis ajustadas a la hora de evaluar la rentabilidad de una fertilización nitrogenada. Por otra parte, cabe destacar que si bien a nivel genérico no existiría una deficiencia en lo que respecta a este nutriente, en caso de existir, podría ser corregida exitosamente por el agregado artificial del mismo (Perdomo y Crucci, 2010).

La mayoría de los suelos forestados en nuestro país presentan, además, bajos contenidos naturales de fósforo, atribuyendo la posible existencia de valores medios o altos a fertilizaciones residuales anteriores, existencia de chacras viejas o por su concentración en zonas con mayor aptitud agrícola (Zamalvide y Ferrando, 2010)

Graciano et al. (2004) afirma que existe información general sobre la respuesta positiva de *Eucalyptus spp.* al agregado de nutrientes en los primeros 18 meses luego de la plantación, siendo el fósforo uno de los principales nutrientes que impone restricciones a la productividad en lo que respecta a este género. Esta afirmación se puede adicionar a las experiencias de Basurco (2000) en la provincia española de La Coruña donde resalta al fosforo como un nutriente determinante para el crecimiento en los primeros años de una plantación.

En el Uruguay, estudios recientes aseguran una alta probabilidad de obtener una respuesta positiva al agregado de fósforo en la instalación de plantaciones de *Eucalyptus spp.*, llegando a obtener incrementos máximos en

altura de entre 10 a 20% en los primeros años bajo dosis del orden de los 50g de P₂O₅ por planta (Zamalvide y Ferrando, 2010).

Para el caso del Potasio, considerado como uno de los tres elementos más influyentes en el crecimiento y desarrollo vegetal, podemos decir que no se encontrarían mayores deficiencias en el país, siendo los contenidos de K intercambiable generalmente medios a altos, presentando además una reserva significativa de este nutriente en formas no intercambiables (Zamalvide y Ferrando, 2010).

Por último, Ferrando y Zamalvide (2010a) afirman que las plantaciones sobre suelos del Uruguay presentarían deficiencias de boro por sobre otros micronutrientes. El B, considerado como un oligoelemento esencial para el desarrollo de las plantas, podría presentar bajos niveles de disponibilidad no solo por la falta en suelo, sino también por condiciones ambientales que lo mantengan indisponible para la absorción de los árboles, como por ejemplo, una baja cantidad de agua disponible. De este modo, sería necesario evaluar de manera prudente una fertilización como método de prevención frente a dichas situaciones ambientales desfavorables.

2.5. ENFERMEDADES DEL EUCALYPTUS GLUBULUS: MANCHA FOLIAR POR MYCOSPHAERELLA (MLD)

2.5.1. Reseña

Los agentes causales de MLD pertenecen al Reino Fungi, Filum Ascomycota, Clase Dothideomycete, Orden Capnodiales (Simeto et al., 2009).

El número de especies de *Mycosphaerella* que han sido identificadas en *Eucalyptus* asciende a más de 100, causando principalmente manchas foliares (Crous et al. 2007, Crous, Burgues et al., citados por Pérez et al. 2009). Colectivamente es conocida como mancha foliar por *Mycosphaerella* (MLD). Sin embargo, Crous et al. (2007) demostraron que el género *Mycosphaerella* es polifilético, por lo que un gran número de especies que producen esta enfermedad en *Eucalyptus* han sido transferidas al género *Teratosphaeria*. Por lo tanto, MLD en eucaliptos es causada por ambas, *Mycosphaerella* spp. y *Teratosphaeria* spp. (Crous et al. 2007, Hunter et al. 2009, Pérez et al. 2009).

Si bien *Eucalyptus globulus* es una de las especies más susceptible a MLD, a nivel global ataca también *E. maidenii*, *E. nitens*, *E. dunnii*, *E. viminalis* y en menor medida a *E. grandis* (Romero et al., 2013). Al ser generalmente las plantaciones grandes extensiones de cultivos puros y coetáneos que desarrollan copas muy cercanas, generan un ambiente propicio (elevada humedad relativa, baja circulación de aire) para la aparición y desarrollo de enfermedades foliares (Smith 2006, Simeto 2008).

El reconocimiento de la especie en cuestión se ha basado en características como la morfología de la lesión y su posición en la hoja, morfología del cuerpo fructífero, de las ascosporas y su modo de germinación, tamaño y forma de los conidios. A pesar de esto, hoy en día han sido apoyadas o suplantadas por modernas técnicas de identificación molecular (Carnegie et al., Crous et al., citados por Old et al., 2003), sobrepasando dificultades de identificación y resultados erróneos debido a la dificultad para presenciar fructificaciones (Smith 2006, Simeto 2008). Se ha logrado incluso detectar el/los patógeno/s en cuestión previo a la manifestación de sintomatología alguna (Maxwell, 2004).

Ciertas especies como *Teratosphaeria nubilosa* (= *Mycosphaerella nubilosa*) y *Teratosphaeria cryptica* (= *Mycosphaerella cryptica*) actúan como patógenos primarios, infectando tejido vivo de las hojas y adquiriendo nutrientes de ellos mediante una relación hemibiotrófica (Hunter et al., Park y Keane, citados por Pérez et al., 2009). Particularmente dichas dos especies podrían ser consideradas como las principales causantes de MLD en el mundo (Park y Keane 1982, Carnegie y Ades 2002, Maxwell 2004, Hunter et al. 2009, Pérez et al. 2009). En contraste, muchas especies de *Teratosphaeria* y *Mycosphaerella* en *Eucalyptus* son al parecer patógenos secundarios colonizadores de tejido necrótico, previamente atacado por patógenos primarios más agresivos, insectos o necrosado a causa de senescencia natural (Crous, Crous et al., citados por Pérez et al., 2009).

Es importante destacar la condición heteroblástica que presenta un gran número de especies de eucaliptos, como el caso de *E. globulus*, existiendo diferencias anatómicas y morfológicas en cuanto a las ceras superficiales y su orientación entre el follaje de ejemplares adultos y juveniles. Al presentar MLD mayor incidencia y severidad previo al cambio de hoja, es una enfermedad problemática en plantaciones jóvenes, habiéndose reportado significativas

reducciones de crecimiento en el corto plazo (Maxwell 2004, Lundquist y Purnell, Tejedor, citados por Pinkard y Mohammed 2005). En este sentido Simeto (2008) señala que si bien la enfermedad infecta principalmente tejido joven existen especies, dentro del complejo causal, capaces de afectar follaje adulto en la especie *Eucalyptus globulus*. Por su parte, Park y Keane (1982) encontraron que en Australia la especie *Mycosphaerella nubilosa* (*Teratosphaeria nubilosa*) infectaba sólo hojas juveniles dentro del subgénero *Symphomyrtus*, al cual pertenece *E. globulus*.

Existe una gran preocupación en torno a la utilización de monocultivos debido a su susceptibilidad a enfermedades. En el caso de que estos no sean resistentes a un patógeno agresivo y se encuentre con él, podrían producirse devastaciones. Sumado a esto, los monocultivos de especies arbóreas en comparación con monocultivos agrícolas tardan muchos años, sino décadas, en cosecharse y generar un retorno económico, por lo tanto, si una enfermedad se establece en una plantación joven pueden experimentarse pérdidas considerables (Winfield, 1990).

Diversos factores pueden aumentar la susceptibilidad de un monocultivo a epidemias foliares. En primer lugar, la homogeneidad y uniformidad genética, ya que se componen de una sola especie coetánea con igual tipo de follaje. En segundo lugar, factores de diseño espacial de las plantaciones tales como canopies cerrados que disminuyen el flujo de aire aumentando la humedad relativa, creándose así condiciones favorables para la proliferación de patógenos (Smith, 2006).

Estudios realizados por Maxwell (2004) muestran que entre enfermedades, trastornos nutricionales y plagas, MLD sería la más severa y frecuente en plantaciones de 1 y 2 años de *E. globulus* en el suroeste de Australia.

2.5.2. MLD en Uruguay

Un gran número de especies de *Mycosphaerella* y *Teratosphaeria* han sido reportadas atacando *Eucalyptus* en Uruguay, incluyendo *M. marksii*, *M. walkeri*, *T. suberosa*, *M. aurantia*, *M. grandis*, *M. lateralis*, *M. scytalidii*, *Pallidocercospora heimii* (citado como *M. heimii*), *Pseudocercospora norchiensis*, *T. gauchensis*, *T. molleriana* (citada como *M. vespa*), *T. nubilosa*, *T. ohnowa*, *T. pluritubularis* (Balmelli et al. 2004, Simeto et al. 2009, Pérez et al.

2009a, Pérez et al. 2009b, Balmelli et al. 2014), generando así una gran variedad de síntomas (Park et al., citados por Old et al., 2003). Dentro del género *Mycosphaerella*, la especie *marksii* fue identificada como la más frecuente en el Uruguay (Romero et al., 2013).

Ciertas especies de las anteriores como *M. aurantia*, *M. heimii* *M. marksii* y *P. norchiensis* han sido reportadas causando manchas foliares en mirtáceas nativas, conjeturándose movimientos de los mismos desde plantaciones comerciales a la flora nativa (Pérez, citado por Simeto et al., 2009).

La enfermedad presenta una gran dispersión a nivel nacional, encontrándose en todos los sitios evaluados en el relevamiento sanitario realizado por Simeto et al. (2009) que abarcó diferentes tipos de suelos, relieves, posiciones topográficas, sitios forestado por primera vez, reforestaciones y diferentes tratamientos silviculturales. Concluyendo que la elección del sitio de plantación no sería una alternativa efectiva para reducir el riesgo de daño por MLD.

En otoño de 2007 se pudieron observar defoliaciones severas en plantaciones jóvenes de *E. globulus* del país acompañadas de síntomas similares a los causados por MLD. La gravedad de la defoliación parecía indicar que un nuevo agente patogénico había sido introducido. Por este motivo, se iniciaron investigaciones buscando aislar e identificar el/los patógeno/s en cuestión. Lográndose mediante morfología y comparaciones de secuencias de ADN comprobar la presencia de *Teratosphaeria nubilosa* (*Mycosphaerella nubilosa*), siendo este el primer registro del patógeno para Sudamérica. Es muy probable que su origen sea la Península Ibérica, donde *E. globulus* se planta extensivamente (Pérez et al., 2009). Al mismo tiempo Pérez et al. (2009) reportaban para la provincia brasilera de Rio Grande del Sur infecciones severas por *Teratosphaeria* spp., causando contundentes defoliaciones en árboles jóvenes, sugiriéndose por lo tanto que el patógeno se introdujo desde Uruguay. Situación similar se pudo observar en Nueva Gales del Sur en el año 2003, con defoliaciones de una magnitud nunca antes registradas (Carnegie, 2007a).

Así mismo, parece haber poca duda respecto a que el patógeno en Uruguay está representado por un único clon, siendo *T. nubilosa* por lo tanto

homotálico, condición en la cual un solo individuo puede reproducirse sexualmente por sí mismo (Park y Keane, citados por Pérez et al., 2009).

A pesar de los daños y derivadas pérdidas económicas registradas en el país, la selección de genotipos resistentes a la enfermedad es aún un debe. Los materiales utilizados en el país son en su mayoría clones seleccionados por crecimiento, calidad de la madera y semilla importada de Jeeralang (Australia), origen que ha demostrado una alta susceptibilidad a enfermedades foliares (Balmelli et al., 2014).

2.5.3 Reseña sobre *Teratosphaeria nubilosa*

La familia Teratosphaeriaceae se caracteriza por presentar pseudotecios superficiales a inmersos (hipófilos) que generalmente se encuentran en un estroma de células pseudoparenquimales de color marrón. De apariencia globulosa, uniloculares, papilados de hasta 150 μm de diámetro, ápice ostiolado (10 – 15 micras de diámetro); pared con 2 a 3 capas marrones y de textura medio angular, dispersos, raramente agrupados, pseudoparáfisis frecuente. Ascas fasciculadas conteniendo 8 esporas, 30–50 x 9–14 μm bitunicadas, presentando frecuentemente endotúnica de varias capas. Ascosporas de forma elipsoide a obovoide con extremos obtusos (12 – 18 x 3 – 4 μm), rectas a ligeramente curvas, estrecha hacia los extremos (mayor prominencia hacia el extremo inferior), bi a triseriadas, de paredes finas y un solo septo de mayor grosor que las mismas, centrado o no, ligeramente constreñida en el tabique o no, en principio hialinas tornándose marrón claro, verruculosas, cubiertas frecuentemente de vaina mucóide y a menudo después de la descarga se doblan ligeramente. Los tubos germinativos crecen desde ambos extremos de la ascospora paralelos a su eje mayor (Park y Keane 1982, Carnegie y Ades 2002, Crous et al. 2004, Crous et al. 2007).

Es patógeno primario de *Eucalyptus globulus*, una de las especies más susceptibles a dicha enfermedad, siendo capaz de infectar hojas juveniles de esta especie pero no así hojas adultas, consecuentemente la transición de hoja joven a adulta está estrechamente correlacionada con la severidad potencial del ataque por este hongo patogénico (Park, citado por Maxwell, 2004). Es capaz de producir enfermedad en otros hospedantes que no sean eucaliptos y también puede ser saprófito facultativo en otras manchas causadas por especies del complejo MLD (Hunter et al., 2009).

2.5.3.1. Síntoma y signo de *Teratosphaeria nubilosa*

Los síntomas, mayoritariamente observables en hojas jóvenes, consisten en manchas necróticas a ambos lados de la hoja. La coloración varía de amarillo cremoso a marrón pálido, encontrándose frecuentemente rodeadas por un círculo violáceo. Cuando maduran se tornan gris negruzcas en el envés de la hoja ya que ostentan densos grupos de cuerpos fructíferos. El diámetro oscila entre 10-20 mm (Mansilla et al., 2005). Carnegie y Ades (2002) informan diámetros de hasta 15 mm para las lesiones causadas por *Teratosphaeria nubilosa*, una coloración amarillo–marrón en la superficie abaxial y rojo–amarillo a rojizo muy intenso en la superficie adaxial de la hoja juvenil, señalando que raramente el margen de la lesión se presenta elevado o calloso, difuso y de color rojo–purpúreo (Crous et al., 2004).

La forma varía desde manchas diminutas y redondas a grandes e irregulares, pudiendo afectar brotes y produciendo torceduras en hojas inmaduras (Old et al., 2003). Frecuentemente se fusionan en una gran lesión de tejido necrosado (Simeto et al., 2009).

2.5.3.2. Biología y ciclo de *Teratosphaeria nubilosa*

La enfermedad tiende a manifestarse primariamente en árboles debilitados debido a condiciones inadecuadas de suelo, drenaje y/o topografía, comenzando poco después de la plantación y siendo más notoria durante la primavera y el verano (Romero et al., 2013).

El complejo patogénico causante de MLD forma su fructificación en la cara abaxial de la hoja principalmente, pudiéndose observar los pseudotecios sobre las manchas, a medida que la lesión envejece emergen en la superficie. Las esporas formadas son fuente de inóculo primario. Se dispersan principalmente gracias al viento, por salpicado de agua es generalmente restringida a contagios dentro del mismo árbol (Carnegie y Ades 2002, Beresford, Crous, citados por Simeto 2008, Simeto et al. 2009). La aparición de las fructificaciones se da 12 semanas después de la germinación (Mansilla et al. 2005, Simeto 2008).

El ciclo de esta especie comienza con la liberación de las esporas de origen sexual; ascosporas, luego de un período de alta humedad. La temperatura óptima para dicho proceso en *T. nubilosa* es de 25° C. Las esporas

son eyectadas a una distancia de 12-15 mm por encima de los ascomas donde el viento podría dispersarlas a distancias considerables (Park y Keane 1982, Simeto 2008). Las lluvias funcionan como principal estímulo sobre los ascomas maduros, períodos más largos de lluvia liberan mayor cantidad de esporas. El proceso continúa si la humedad es suficiente hasta que se agotan las ascosporas (Cheah y Hartill, Park, citados por Hunter et al., 2009). Se han constatado períodos de descarga de hasta 12 meses para algunas especies de MLD (Park, citado por Simeto, 2008).

La germinación de la ascospora tarda de 5 a 8 días, recién después de 3 semanas aproximadamente aparecen los primeros síntomas (Mansilla et al. 2005, Smith 2006, Simeto 2008). Las ascosporas requieren de una alta humedad relativa (aproximadamente 90%) o de agua libre sobre la hoja y temperaturas entre 3 y 30° C (20° C óptimo) para germinar. En este sentido se han demostrado altos niveles de enfermedad acompañada de defoliación severa cuando el follaje era expuesto a un período de hoja mojada por 5-7 días. Aumentando la severidad conforme aumenta el período de hoja húmeda (Simeto 2008, Park y Keane, Park, citados por Hunter et al. 2009).

La penetración de *Teratosphaeria nubilosa* en la hoja es indirecta, utilizando como vía de entrada a los estomas. Dentro de estos se desarrolla el tubo germinativo produciendo hifas en los poros de los estomas y cavidades subestomáticas. Crecen a través del tejido vascular y colonizan el tejido de la hoja, posterior a la clorosis las hifas se desarrollan intercelularmente a lo largo del mesófilo esponjoso, finalmente se agregan en las cavidades subestomáticas (Park y Keane, citados por Hunter et al., 2009).

Ha sido registrado por varios autores un rápido incremento de la infección entre el invierno a la primavera y un leve incremento entre la primavera y el verano (Carnegie et al., 1994). Las lluvias en verano parecen favorecer la aparición *Mycosphaerella* (Park, citado por Carnegie et al., 1994), por lo tanto, es probable que existan diferencias en susceptibilidad entre las proveniencias de eucaliptos explicadas por un proceso adaptativo y, por lo tanto, de selección natural. Las semillas provenientes de sitios con lluvias veraniegas podrían haber sufrido un proceso de selección natural más intenso (Carnegie et al., 1994).

Condiciones de elevada humedad o períodos prolongados de lluvia provocan epidemias en las plantaciones ya que favorecen la liberación de esporas de los pseudotecios, la dispersión e infección. También se generan conidios sobre o dentro de las estructuras de fructificación asexual. Por lo tanto, las plantaciones se exponen a niveles muy altos de inóculo, siendo así, prácticamente, todo el follaje expuesto a la infección. No existe un patrón único de desarrollo de la enfermedad, cada combinación de huésped–patógeno determinará la etiología de la misma (Old et al., 2003).

2.5.3.3. Distribución Mundial de *Teratosphaeria nubilosa*

MLD ha sido reportada sobre *Eucalyptus* spp. en la mayoría de los bosques de Australia, sin embargo, el conocimiento de las especies presentes y sus impactos estaría aún inacabado. La enfermedad se presentaría también prácticamente en todos los países donde se ha forestado con especies del género, denotando su notable capacidad de movimiento internacional (Park et al., citados por Old et al. 2003, Romero et al. 2013).

T. nubilosa fue aislada e identificada en Australia y Nueva Zelanda (Dick, Dick y Gadgil, Park, Carnegie, citados por Maxwell, 2004). Reportándose para Australia en Victoria, Tasmania, Australia occidental, Nueva Gales del Sur y Australia del Sur (Carnegie et al., Dungey et al., Carnegie, Milgate et al., Maxwell, Carnegie, Jackson et al., Barber et al., citados por Hunter et al., 2009).

En varios países de África también ha sido identificada sobre plantaciones comerciales de *Eucalyptus* spp., encontrándose ampliamente dispersa en las siguientes provincias de Sudáfrica: Gauteng, Kwa-Zulu Natal, Limpopo, Mpumalanga, provincia Oriental y Occidental del Cabo, habiéndose constatado también su presencia sobre *E. globulus* en el sur, suroeste y oeste de Etiopía, en Kenia, Tanzania y en Zambia (Crous y Wingfield, Crous, Crous et al., Hunter et al., Pérez, Gezahgne et al., Hunter et al., citados por Hunter et al., 2009). En el continente europeo también se la ha identificado sobre *E. globulus*, particularmente en 7 localidades en España y norte de Portugal (Hunter et al., citados por Hunter et al., 2009). En América fue registrada atacando *E. globulus* tanto en Brasil como en Uruguay (Crous y Alfenas, Pérez, citados por Hunter et al., 2009).

2.5.4. Daños ocasionados por la enfermedad

Los hongos patogénicos asociados a *Eucalyptus spp.* pueden disminuir considerablemente el rendimiento en madera (Park et al., Old et al., citados por Cheewangkoon et al., 2008). En situaciones severas puede observarse muerte de brotes apicales, ramas e incluso árboles completos. Como consecuencia de lo anterior, los ejemplares afectados padecen de una significativa reducción del área fotosintética y un retraso en el desarrollo, pudiéndose generar importantes pérdidas económicas (Simeto et al., 2009). En plantaciones jóvenes (1-3 años) de eucaliptos se producen daños graves encontrándose gran parte del área foliar con manchas necróticas y produciéndose defoliación prematura (Romero et al., 2013). Además, se habría constatado una correlación negativa entre porcentaje de incremento en diámetro, altura y severidad de *Mycosphaerella*, redundando esto en un declive de crecimiento en plantaciones jóvenes de *Eucalyptus globulus* (Carnegie et al., 1994). Este ataque predispone al árbol al efecto de factores abióticos y/o al efecto de otros patógenos (Balmelli et al., 2004).

Ha sido demostrado que MLD causa una reducción de la tasa de crecimiento de *E. globulus*. Una disminución del 10% del área foliar causaría reducciones de hasta 17% en altura (Carnegie et al. 1994, Carnegie et al. 1998, Maxwell 2004). Estudios realizados en *E. globulus* demuestran que defoliaciones repetidas generan un mayor efecto sobre el crecimiento del árbol en comparación con un acontecimiento aislado (Candy et al., Abott et al., Collett y Neumann, Wills et al., citados por Balmelli et al., 2013). Al mismo tiempo, el daño sería mayor si los árboles se encontrasen en condiciones sub óptimas de crecimiento o bajo algún tipo de estrés (Stone, Stone y Brick, Carnegie y Angel, citados por Carnegie, 2007).

Maxwell (2004) demostró en el suroeste de Australia que sobre *Eucalyptus globulus* los daños ocasionados dependen más de las especies de MLD presentes, el nivel de inóculo inicial y las condiciones climáticas que de la procedencia plantada o el estado nutricional de los ejemplares. Dicho autor habría encontrado que en *E. globulus* MLD es producida por varias especies patogénicas, remarcando que los niveles severos de enfermedad se presentan en hoja juvenil. Sin embargo, plantea la concientización acerca de que *M. cryptica* y *M. marksii* (encontradas comúnmente atacando hojas adultas)

podrían volverse un problema económicamente importante en plantaciones, debiéndose monitorear su epidemiología.

En plantaciones jóvenes de *E. globulus* de Uruguay se han registrado daños graves a partir del año 2007, volviéndose frecuentes defoliaciones de más del 80%. Estos altos niveles de daño causan reducciones de hasta un 25% en el diámetro de las plantaciones en el primer año y mortalidad acumulada mayor al 70% en el sexto año (Balmelli et al. 2013, Balmelli et al., citados por Balmelli et al. 2014).

2.5.5. Manejo y control de la enfermedad

No existirían métodos de control de la enfermedad que sean económicamente viables en las plantaciones, por lo que las medidas preventivas son fundamentales para reducir el impacto sobre el crecimiento de los árboles. Por ejemplo, la reducción en la densidad de plantación favorece la ventilación, pasaje de luz y absorción de nutrientes (Mansilla et al., 2005). Es así que resulta importante un monitoreo continuo del crecimiento de las plantaciones con el fin de detectar defoliaciones e identificar el/los patógeno/s presentes para así poder planificar el manejo más adecuado (Romero et al., 2013).

Mansilla et al. (2005) destacan el hecho de fertilizar considerando la defoliación a la cual se someten los especímenes, tendiendo a soslayar la pérdida de nutrientes y capacidad fotosintética. Del mismo modo mencionan la importancia de una adecuada selección del sitio, que en conjunto con la fertilización, podrían potenciar la recuperación del árbol post daño. Haciendo énfasis en una adecuada elección de especie-sitio y resaltando la importancia de un correcto control de malezas. En este sentido, el uso de fertilizantes de liberación lenta pre y post daño es sugerido para aumentar el crecimiento y favorecer así la recuperación luego de eventos de defoliación (Pinkard et al., citados por Carnegie, 2007).

Por otra parte, factores tales como especies de *Eucalyptus*, edad de los árboles y variaciones de sitio (clima y nutrición) determinan a su vez que la prescripción de manejo no sea única para todas las situaciones particulares (Smith, 2006). En vivero puede ser rentable el control de MLD utilizando productos químicos (Mansilla et al., 2005). La utilización de fungicidas además de ser perjudicial para el medio ambiente se encuentra seriamente restringida

por organismos de certificación tales como **Forest Stewardship Council** (FSC), por lo que esta aplicación deberá tomar en cuenta tales restricciones (Hunter et al., 2009).

Una medida importante de manejo preventiva es la selección de material genético acorde a la situación patogénica que se presenta. Por ejemplo, la utilización de clones o especies mejoradas caracterizadas por una mayor densidad de células en el parénquima en empalizada adaxial y hojas finas, sería efectiva contra la patogénesis por estar directamente relacionada con la formación de la peridermis necrofílica posterior a la infección. De hecho los materiales que demuestran ser más resistentes poseen una peridermis necrofílica con mayores capacidades de restringir la infección, previniendo así el ataque por MLD ya que algunas especies patogénicas no son capaces de penetrar las células del mesófilo fuertemente empaquetadas (Smith, 2006). La variación en susceptibilidad a nivel de orígenes y familias o dentro de cruza ya sea entre procedencias o híbridos interespecíficos ha sido demostrada (Carnegie et al., Dungey et al., citados por Old et al. 2003, Simeto et al. 2009).

En Uruguay, se han constatado valores moderados a altos de heredabilidad para defoliación en ensayos sobre *E. globulus* por lo que podría esperarse una adecuada respuesta a la selección. Sin embargo, se presentan algunas limitantes ya que la esporulación del patógeno *in vitro* no se ha logrado viéndose impedido el desarrollo de protocolos de inoculación artificial. Presentándose como alternativa la selección de genotipos resistentes a campo lo que complejiza la situación, resultando fundamental comprender la interacción entre los patógenos, el hospedero y el ambiente, para lograr una adecuada eficiencia de selección (Simeto et al., 2009).

La estrategia más eficiente para reducir la enfermedad a niveles aceptables en las plantaciones es mediante la implantación de bosques con materiales genéticos resistentes (Carnegie et al., Tibbits et al., Dungey et al., Alfenas et al., Milgate et al., citados por Balmelli et al., 2014).

Balmelli et al. (2014) demostraron que en *Eucalyptus globulus* la selección en el primer año por baja severidad de la enfermedad y en el segundo año por alta proporción de hoja adulta es viable para disminuir el daño que causa MLD, publicándose ganancias genéticas esperadas altas (37,5 a 51,7%) cuando se selecciona por baja severidad o bajo nivel de defoliación a los 8

meses, así como también ganancias esperadas altas (46,3 a 52,2%) cuando se selecciona a los 20 meses por alta proporción de hoja adulta. Existiendo una fuerte correlación (0.75) entre severidad de la enfermedad y defoliación ya que esta sucede como consecuencia de la primera, lo que redundaría en que seleccionando por una característica indirectamente se mejorará la otra. No ocurre lo mismo entre estas dos características y la proporción de hoja adulta a los 20 meses.

Los individuos de las diferentes procedencias evaluadas habrían arrojado una heredabilidad estimada para el cambio hacia hojas adultas antelado moderadamente alta (0,41), también por selección por baja severidad de las manchas (0.38) y por baja defoliación (0.43). Siendo las mismas mayores a las obtenidas seleccionando por crecimiento (0.21 a 0.34) y de similar magnitud que las obtenidas para supervivencia (0.33 a 0.45). Otro indicador del fuerte control genético del cambio de fase vegetativo en *E. globulus* la alta correlación genética entre ensayos debida a una muy baja interacción genotipo por ambiente registrada; 0.88 a 0.96 (López et al., citados por Balmelli et al., 2014) y 0.39 a 1.03 (Hamilton et al., citados por Balmelli et al., 2014).

El alto control genético observado y su estabilidad en diferentes ambientes generan una oportunidad para seleccionar y mejorar genéticamente con la finalidad obtener materiales con un precoz cambio de hoja, representando una medida de escape a enfermedades como MLD que afecta principalmente follaje juvenil (Ferreira, Carnegie et al., Park et al., citados por Balmelli, 2014). Sin embargo, existen algunas limitaciones al adoptar esta estrategia como lo es la limitada producción de semilla de *E. globulus* que se observa en Uruguay, la alternativa a esta estrategia sería la producción clonal que enfrenta igualmente limitantes como la escasa capacidad de enraizamiento (Le Roux y Van Staden, Tejedor, citados por Balmelli et al., 2014).

En adición, una mayor resistencia del follaje juvenil reduciría los daños durante las primeras etapas de la plantación que son los más críticas (Balmelli et al. 2013, Balmelli et al. 2014), aunque existen posibilidades de que el éxito no sea tal si el patógeno en cuestión cambiase. El cambio de hoja anticipado, por su parte, permite disminuir el impacto de los patógenos incapaces de infectar follaje adulto aunque sigue existiendo igualmente un alto riesgo durante la etapa más crítica (Balmelli et al., 2014).

Dado que la severidad de la enfermedad ha aumentado en las plantaciones, es fundamental que se continúe con la línea de investigación para entender la biología, epidemiología y la población genética del patógeno, con la finalidad de lograr información valiosa para la selección de árboles y conjunto de prácticas silvícolas que tiendan a disminuir el impacto futuro de MLD cobrando particular importancia si la industria se mueve hacia la utilización de clones e híbridos (Maxwell, 2004). En ese sentido Simeto et al. (2009) señalan que el uso de clones podría lograr un cambio de hoja antelado en comparación con plantaciones de origen seminal, pudiendo resultar en un menor nivel de daño foliar debido a que el follaje adulto presenta una menor susceptibilidad frente a *Teratosphaeria nubilosa*.

Hoy en día cobran importancia tecnologías de mapeo de enfermedades apoyadas en sistemas de información geográfica para el manejo de enfermedades. Siendo esto una herramienta emergente importante para la comprensión de la dinámica de las enfermedades, clima e interacción con el hospedante. Dicho análisis geoespacial puede utilizarse para elaborar mapas de clasificación de riesgo de enfermedades importantes, permitiendo a los encargados del manejo de la plantación planificar las operaciones de emergencia con antelación buscando mitigar los daños por enfermedades (Borecky y Otvos, citados por Carnegie, 2007).

2.5.6. Efectos de la nutrición de la planta sobre la enfermedad

La especie, edad del árbol, el estado nutricional y la calidad del sitio se encuentran estrechamente relacionados con la pérdida de crecimiento debido al daño foliar (Smith 2006, Pinkard y Beadle, citados por Balmelli et al. 2013).

Los efectos en el crecimiento de largo plazo debido a la defoliación por MLD podrían agruparse en 2 tipos, el primero se caracteriza por una detención inicial del crecimiento para luego retomar la tasa de crecimiento de un árbol sano y en el segundo la disminución en la tasa de crecimiento es permanente (Snowdon, citado por Balmelli et al., 2013). Según Smith (2006), defoliaciones mayores al 80% culminan en un efecto del tipo 2 y menores al 80% causan un efecto de tipo 1. A su vez, estos tipos de respuesta se ven condicionadas por la severidad del daño, la frecuencia de ocurrencia, la especie de eucalipto, su edad y estado nutricional en el momento de la infección (Collet y Neumann, Rapley, citados por Smith, 2006). Concordantemente Carnegie y Ades, Milgate

et al., citados por Smith (2006) señalan al sitio, el estado nutricional y la disponibilidad hídrica, como factores determinantes del crecimiento del árbol y que, en caso de existir algún estrés ambiental el impacto de MLD podría potenciarse.

Según Smith (2006), los efectos de la nutrición en el crecimiento de árboles infectados por MLD aún no son comprendidos en su totalidad, requiriéndose más investigación en cuánto a dosis, combinación de nutrientes y potencial de micronutrientes como cobre y zinc para aumentar la densidad del mesófilo en empalizada.

La reducción de los efectos en sitios de alta productividad debido a que los árboles presentan mayor capacidad de producir follaje para compensar la defoliación provocada por la enfermedad fue demostrada por Pinkard (Smith, 2006) . Estudios sobre fertilización e impacto de la enfermedad mostraron que los árboles que recibieron mayores dosis de fósforo tuvieron un menor nivel de infección (Carnegie y Ades, Carnegie, citados por Smith, 2006). Por lo tanto, estrategias de manejo como la fertilización y el control de malezas podrían aumentar la disponibilidad de nutrientes, agua en el suelo y el flujo de aire dentro de la plantación, permitiendo a la planta tolerar mejor la enfermedad.

Posterior al cambio de hoja las tasas de crecimiento de los árboles afectados podrían retomar un nivel similar a la de ejemplares sanos, sugiriendo que los mismos podrían sobrepasar altos niveles de daño sin impacto en sus tasas de crecimiento a largo plazo. Sin embargo, árboles que se desarrollan en condiciones sub-óptimas sobre sitios pobres y con carencias nutricionales, podrían ser incapaces de recuperarse eficientemente luego de ocurrido los daños, perdiendo su capacidad de alcanzar tasas de crecimiento similares a las registradas previo a la infección (Smith, 2006).

2.6. BIOESTIMULANTES: UNA ALTERNATIVA PARA LA PRODUCCIÓN

2.6.1. Conceptos generales

Los bioestimulantes son moléculas con una amplia gama de estructuras. Pueden estar compuestos por hormonas, extractos de algas o extractos vegetales metabólicamente activos, tales como aminoácidos, ácidos orgánicos, polisacáridos, oligopéptidos, polipéptidos, vitaminas u otros reguladores del crecimiento recientemente descubiertos (Saborío 2002, Fichet 2009).

Son utilizados principalmente para incrementar el crecimiento y rendimientos de plantas, así como para superar períodos de estrés (Fichet, 2009). Pueden generar, además, un impacto positivo en la germinación, la floración, el cuajado y/o el desarrollo de frutos y órganos en general al ser aplicados en cantidades pequeñas (Saborío, 2002).

En el mercado de insumos, en tanto, existen diferentes productos que apuntan a distintos resultados. Así es que algunos estimulan más el sistema subterráneo de la planta, mientras que otros estarían dirigidos a la parte aérea (Fichet, 2009).

La bioestimulación apunta a entregar pequeñas dosis de compuestos activos para el metabolismo vegetal, de modo de ahorrarle a las plantas gastos energéticos en momentos de estrés. De esta forma se logra mejorar el largo de brotes, cobertura foliar, profundidad de los sistemas radiculares, etc. (Fichet, 2009). En adición, estos compuestos pueden actuar también como suplemento de aminoácidos de alto consumo, incentivar la formación de sustancias biológicamente activas o antioxidantes, regular el metabolismo de microelementos, incrementar la síntesis de polifenoles como defensa frente al ataque de insectos o bien mejorar la regulación fisiológica bajo condiciones de estrés hídrico (Saborío, 2002)

Algunos de los bioestimulantes de origen natural más utilizados son derivados de algas marinas, basando su éxito en la recuperación de elementos hormonales y/o nutricionales de organismos acuáticos para su aplicación sobre cultivos agrícolas. Dentro de las primeras en ser utilizadas se encuentra la especie *Ascophyllum nodosum* (Fichet, 2009).

Hirigoyen (2011) comprueba dicho efecto encontrando un menor índice de daño de copa de infección asociado a un rebrote de hojas nuevas, el cual habría sido estimulado por la aplicación de una suspensión concentrada a base de alga marina *Ascophyllum nodosum* al 27,5%, junto a un alto contenido de microelementos (boro, zinc y manganeso), reguladores del crecimiento (Auxinas, Giberelinas y Citoquininas) y osmorreguladores como betaínas. Dicha fertilización habría logrado disminuir la incidencia del ataque de *Teratosphaeria nubilosa*, promoviendo la generación de mayor cantidad de rebrotes.

2.6.2. El efecto de los compuestos húmicos en la asimilación del fósforo

Los compuestos húmicos son principalmente compuestos orgánicos como: ácidos húmicos y fúlvicos constituyentes de la materia orgánica. Se derivan de diferentes materias primas originadas principalmente de yacimientos de carbón orgánico como lignitos, turbas, etc. (Molina, 2002)

Las investigaciones de muchos años indican que las moléculas complejas de sustancias húmicas están compuestas por carbohidratos, proteínas y aminoácidos, esqueletos de lignina, polifenoles y otros compuestos en un arreglo geométrico variable y altamente polimerizado (Singh, 2002).

Según Storino (2009) la eficiencia de la fertilización fosfatada se ve generalmente reducida por los procesos de retrogradación del fósforo en el suelo hacia formas insolubles o no directamente disponibles para la absorción por parte del vegetal. Diferentes estudios han comprobado la capacidad de compuestos orgánicos para disminuir la incidencia de estos procesos, aumentando la disponibilidad del nutriente para la planta.

Dichas sustancias húmicas poseerían grupos funcionales carboxílicos e hidroxílicos cargados negativamente, y grupos amino, cargados positivamente los cuales tendrían una acción acomplejante frente a metales catiónicos, o bien frente a aniones como fosfatos, sulfatos, nitratos, etc. Estos complejos formarían humatos y fulvatos, evitando dicha retrogradación, fijando así nutrimentos aplicados como fertilizantes, disminuyendo las pérdidas por lixiviación e inmovilización.

Los ácidos húmicos, son a su vez activadores de la flora microbiana del suelo, con lo que aumentan la mineralización de materia orgánica y la consecuente liberación de nutrimentos a formas disponibles para las raíces de las plantas, incrementan la capacidad de intercambio catiónico del suelo y la retención de humedad (Molina, 2002).

Erro et al. (2012) reportaron mayor peso seco de plantas de trigo fertilizadas con superfosfato y materiales húmicos. Dichos autores adjudicarían la mejora a un aumento en la fracción disponible de fósforo, principalmente en suelos alcalinos y ácidos. La modificación en la estructura molecular, debido a la formación de puentes metálicos entre el P y dichos materiales húmicos,

ocasionaría una mayor solubilidad del complejo generando así una elevada capacidad de extracción de Ca, Mg, P, Fe y S.

Dicho autor afirma también que la presencia de ácidos húmicos en la fertilización fosfatada no solo aumenta la disponibilidad del P en el suelo, sino que estimula el desarrollo de raíces y la absorción de micronutrientes. Por su parte, Mora et al. (2009) agregan que la presencia de dichas sustancias húmicas podría incrementar la translocación desde la raíz hacia los tallos de nutrientes esenciales como el nitrógeno, además de estimular el crecimiento radicular y la producción de hormonas como las citoquininas o ácido abscísico.

2.6.3. Fitorreguladores: complejos hormonales

El funcionamiento normal de los organismos pluricelulares exige mecanismos precisos de regulación que permitan una perfecta coordinación de las actividades de sus células, tejidos y órganos. Además, el organismo debe ser capaz de percibir y responder a las fluctuaciones de su ambiente. Entre los posibles mecanismos de regulación, el más conocido es el sistema de mensajeros químicos, que permite la comunicación entre las células y coordina sus actividades. En las plantas, la comunicación química se establece fundamentalmente a través de hormonas (fitohormonas), aunque no se excluye la existencia de otros posibles mediadores químicos (Segura, 2008)

Las hormonas son moléculas orgánicas que se producen en ciertas regiones de la planta y que se trasladan, o no, de dicho lugar hacia otro, actuando sobre procesos fisiológicos vitales a muy bajas dosis. Las estimuladoras o reguladoras del crecimiento son básicamente tres: auxinas, giberelinas y citoquininas. Otros dos compuestos hormonales importantes podrían ser el etileno y el ácido abscísico (Fichet, 2009)

De este modo, es preciso resaltar que a nivel de conceptos, una fitohormona sería un producto de origen natural, endógeno en las plantas; mientras que un fitorregulador podría ser tanto una sustancia natural, como sintética, aunque ambas desempeñarían funciones similares. Algunos de estos fitorreguladores, en concentraciones altas, podrían ser letales para la planta, pasando así a la categoría de herbicidas (Acosta et al., 2008)

2.6.3.1. Auxinas

Las auxinas están implicadas en muchos procesos del desarrollo vegetal, ya que afectan la división, el crecimiento y la diferenciación de células. En este sentido, diversos estudios indican que interviene en procesos como el crecimiento del tallo, la diferenciación vascular, dominancia apical, el enraizamiento de esquejes, formación de raíces adventicias o secundarias y la dinámica meristemática en yemas apicales (determinando la filotaxia).

Químicamente, las auxinas son fitohormonas que poseen una estructura formada por una carga negativa en el carboxilo, separada de otra carga residual positiva por una distancia de 0,55nm. Esta última carga podría estar localizada sobre un anillo indólico o aromático (Acosta et al., 2008).

El precursor de las auxinas es el aminoácido triptofano. La auxina más común es el ácido indolacético (AIA), pero existen una serie de auxinas sintéticas con mayor actividad y estabilidad. Entre ellas están: ácido indolbutírico (IBA), el 2,4 D (que es usado como herbicida a altas concentraciones), el ácido naftalenacético (ANA), el dicamba, el tordón o picloram y el 2,4,5 T (ácido 2,4,5 Triclorofenoxiacético) (Saborío, 2002).

Poseen un método de transporte polar dentro del organismo vegetal y su modo de acción depende de la concentración de la hormona, así como del tipo de órgano sobre el cual actúe y su sensibilidad frente al compuesto. Una sobredosis podría generar la inhibición del crecimiento o incluso la muerte del organismo.

Históricamente, los fitorreguladores auxínicos sintéticos han sido utilizados como herbicidas debido a su estabilidad (resistencia a la oxidación por luz, enzimas u otros agentes). Actualmente se comercializan en diversas formulaciones con numerosas posibilidades de empleo (Acosta et al., 2008).

La aplicación localizada de auxinas a meristemas en los que la iniciación de órganos se habría visto anulada, restauraría la iniciación de los primordios en el lugar de aplicación (Reinhardt et al., citados por Segura, 2008).

Fett-Neto et al. (2000) verifican dichos efectos positivos del agregado de auxinas en el desarrollo de raíces adventicias por medio del estudio de la velocidad de enraizamiento y longitud de raíces en estacas de *Eucalyptus saligna* y *Eucalyptus globulus*. En ambas especies fue posible reducir el tiempo

medio de enraizamiento y aumentar la longitud de la raíz, en bajas o en altas concentraciones respectivamente.

2.6.3.2. Citoquininas

Históricamente, el término citoquinina se acuñó como nombre genérico de una serie de sustancias, naturales o sintéticas, capaces de estimular la división celular en presencia de auxinas. Hoy en día es conocido que las mismas ejercen una multitud de efectos sobre el desarrollo de la planta como la formación de órganos, alargamiento celular, retraso en la degradación de la clorofila, desarrollo de cloroplastos, retraso de la senescencia y translocación de nutrimentos (Saborío 2002, Segura 2008).

Su biosíntesis ocurre a partir de la adenosina monofosfato y el sopentenil pirofosfato. La citoquinina con mayor actividad es la zeatina, pero existen otras citoquininas naturales como la adenina, la kihidrozeatina, la dimetilaliladenina (DMAA), la metiltiozeatina y otras de origen sintético como la kinetina, la benziladenina (BA), la tetrahidropiranilbenziladenina (PBA) y la difenilurea (Saborío, 2002).

Estas hormonas en conjunto con las auxinas participan en el control de la dominancia apical. El ácido indolacético (AIA) sintetizado en el ápice caulinar es transportado en sentido basípeto suprimiendo el crecimiento de las yemas laterales, por otra parte, las citoquininas, procedentes de la raíz, promoverían el rebrote de estas mismas yemas axilares, regulando así los parámetros de crecimiento del organismo (Segura, 2008)

2.6.3.3. Giberelinas

Las giberelinas (GAs) son fitohormonas que afectan, regulan o modulan múltiples y variadas respuestas del crecimiento. Los efectos más evidentes se observan en la estimulación del crecimiento del tallo, la inducción del desarrollo del fruto, la dormancia, la expresión sexual, la senescencia, la respuesta al fotoperíodo y la germinación de semillas (Saborío 2002, Iglesias y Talón 2008).

Desde el punto de vista químico, las GAs constituyen una familia de diterpenos tetracíclicos ácidos, cuya estructura básica está constituida por un anillo de *ent*-giberelano, el cual puede ser de 20 átomos o de 19 átomos de

carbono. Estudios realizados afirman que las giberelinas varían en su actividad biológica dependiendo de su conformación química, existiendo entonces precursores y giberelinas activas (Iglesias y Talón, 2008).

Chaves y Pereira (2003) aseguran que este tipo de hormona también aumenta la extensibilidad de las paredes celulares al favorecer el transporte de calcio. Las giberelinas y las auxinas tendrían un papel importante tanto en la comunicación a corta como a larga distancia de los estímulos de estrés, en especial en la señalización y coordinación de las respuestas del vegetal frente a deficiencias nutricionales o bien al ataque de patógenos.

2.6.4. Complejos anti estrés: glicinbetaína

Según Guy, citado por Chen y Murata (2011), cuando las plantas están expuestas a condiciones de estrés, se producen cambios metabólicos que resultan en la variación en los niveles de diversos metabolitos celulares como azúcares solubles, aminoácidos, ácidos orgánicos, poliaminas o lípidos. Dichas variaciones, podrían estar relacionadas con una mayor capacidad para tolerar tales condiciones de estrés.

Un grupo importante de tales metabolitos incluye los llamados “solutos compatibles”, los cuales serían pequeños metabolitos orgánicos muy solubles en agua y no tóxicos a concentraciones elevadas. Dentro de este grupo, uno de los compuestos mayormente estudiados es la glicinbetaína (Chen y Murata, 2011).

Las betaínas son compuestos de amonio cuaternario que podrían ser considerados como derivados metilados de aminoácidos. Estos complejos se encuentran muy extendidos en la naturaleza, tanto en animales, tejidos de las plantas o bien en una amplia variedad de algas (Blunden et al., citados por Zamarreo et al., 1997)

Estudios realizados comprueban que la acumulación de glicinbetaína aumenta la tolerancia de plantas a diferentes tipos de estrés abiótico en todas las etapas de su ciclo de vida. En tales casos, se exhiben diversos rasgos ventajosos como frutos y flores agrandados o un aumento del número de semillas. Por otra parte, accionan sobre mecanismos de osmorregulación, protección de los mecanismos de fotosíntesis frente al estrés por calor,

salinidad o incluso aumentarían la resistencia a bajas temperaturas (Chen y Murata, 2011).

Además, la presencia de dicho compuesto podría ser necesaria para la expresión de ciertos genes sensibles al estrés, incluyendo aquellos importantes en la codificación de enzimas encargadas de la eliminación de especies reactivas del oxígeno (Chen y Murata, 2011)

Fichet (2009) comenta que otros aminoácidos podrían ser promotores del crecimiento, catalogados como vigorizantes en períodos de estrés o de alta demanda de energía, como ser en el transplante de árboles, floración o cuajado de frutos y en la recuperación por estrés hídrico, heladas, granizos o ataque de plagas. Opciones de agregado de este tipo de aditivos serían la arginina (gran reserva de nitrógeno) o el triptófano (precursor del ácido indolacético).

2.6.5. Otros fitorreguladores

En los últimos años se ha comenzado a estudiar otros reguladores que difieren de las hormonas “clásicas” por sus efectos en el desarrollo de las plantas. Aunque su clasificación como hormonas puede ser cuestionada, este grupo de sustancias, heterogéneas en su estructura química, puede presentar características comunes y ejercer efectos importantes en el crecimiento y desarrollo de las plantas (Zacarías y Lafuente, 2008).

Una de las respuestas de defensa activas más efectivas frente al ataque de patógenos es la resistencia sistémica adquirida (RSA). La RSA implica la producción por la planta de una o varias señales móviles que están involucradas en la activación de los mecanismos de resistencia en partes no infectadas. Así, la infección predispone a la planta a resistir efectivamente ataques adicionales (Vlot et al., Mauch-Mani y Metraux, citados por Rangel et al., 2010).

En particular, los jasmonatos y salicilatos cumplirían una función preponderante en estas reacciones de defensa, por lo que su estudio se ha visto incrementado en tiempos recientes (Tinaut y Espinosa, 2003)

Se ha demostrado que las lesiones, el déficit hídrico y los inductores obtenidos de la pared celular de los hongos pueden originar la acumulación de ácido jasmónico y jasmonato de metilo en las plantas. Estos compuestos son activadores de genes involucrados en la resistencia de las plantas frente a

patógenos, insectos y genes que codifican proteínas de reservas, presentes en el metabolismo de aminoácidos o relacionados con la transducción de señales. En este proceso, es importante destacar la importancia del ácido abscísico, el etileno y la corriente eléctrica en la transmisión de la señal desde la herida hacia los jasmonatos (Zacarías y Lafuente, 2008).

El ácido salicílico (AS), por su parte, participa en procesos como la germinación de semillas, crecimiento celular, respiración, cierre de estomas, expresión de genes asociados a senescencia, repuesta a estrés abiótico y de forma esencial en la termogénesis, así como en la resistencia a enfermedades (Raskin, Métraux y Raskin, Humphreys y Chapple, Vlot et al., citados por Sánchez et al., 2010). Adicionalmente, se ha descrito que en algunos casos el efecto del AS dentro del metabolismo de las plantas puede ser de forma indirecta ya que altera la síntesis y/o señalización de otras hormonas que incluyen la vía del ácido jasmónico (AJ), etileno (ET), y auxinas (Lorenzo y Solano, Broekaert et al., Loake y Grant, Balbi y Devoto, citados por Rangel et al., 2010).

La expresión de la mayor parte de los genes que codifican proteínas PR, puede ser inducida por la aplicación exógena de este tipo de precursores de fitohormonas (Salicilatos, Jasmonatos, Etileno, etc.). Las PR son un conjunto de familias de proteínas con actividad antimicrobiana, así las familias PR-1, PR-4 y PR-5 poseen una potente acción antifúngica, y las familias PR-2, PR-3, PR-8 y PR-11 muestran actividad quitinasa, capaz de degradar los polisacáridos estructurales de las paredes de las hifas. Las PR-12 (defensinas vegetales), la PR-13 (tionina) y las PR-14 (osmotinas) son producidas como respuesta a la necrosis foliar (Tinaut y Espinosa, 2003).

El ácido salicílico, a su vez, parecería jugar un papel esencial en la ruta de transducción de señales que conduce a la activación de genes que codifican no solo para dichas proteínas PR, sino también para el establecimiento de la respuesta hipersensible, considerada como una muerte celular programada que se desarrolla para delimitar el área de infección de un patógeno, así como en la resistencia sistémica adquirida (RSA). Ésta es una respuesta de defensa a nivel sistémico que se produce como resultado de la exposición y supervivencia inicial a un patógeno (Raskin, Durner et al., citados por Rangel et al., 2010).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. DESCRIPCIÓN Y UBICACIÓN DEL SITIO EXPERIMENTAL

El experimento se llevó a cabo en el departamento de Lavalleja, en las cercanías de Polanco (33°51'27.81"S, 55° 3'36.69"O, 109 m de altitud), en la localidad de Barriga Negra. Se realizó sobre suelos pertenecientes a la Unidad Santa Clara, la cual incluye como suelos dominantes Brunosoles Subéutrios Háplicos y de forma asociada Litosoles Subéutricos Melánicos, Brunosoles Subéutricos Típicos, Luvisoles Ócricos Álbicos y Luvisoles Úmbricos Típicos. Los suelos corresponden a su vez al grupo CONEAT 2.12. El sitio presenta relieve típico serrano, encontrándose sobre basamento cristalino. El ensayo se encuentra inserto en una zona con una elevada proporción de suelos de prioridad forestal que alberga una importante producción comercial de *E. globulus*.

3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL Y TRATAMIENTOS

El diseño experimental utilizado fue de parcelas divididas distribuidas en bloques.

Los tratamientos de la parcela principal fueron Superfosfato de Calcio (0-21/23-0) y Top-phos® (2-24/24-0), aplicados al pozo, a ambos lados de la planta al momento de plantación, la dosis utilizada en ambos casos fue de 50 gr de P₂O₅ por planta. Además se aplicó a todo el ensayo 3 gr de Boro por planta bajo forma de Ulexita (12%B)..

Los tratamientos de las subparcelas consistieron en un testigo y dos tratamientos foliares (Nitrofoska® Foliar SL y Fertileader®) aplicados a los seis y doce meses de plantación. La dosis utilizada en ambos casos fue 150 ml por planta de disolución al 1%.

Cada subparcela incluía un total de 20 árboles, distribuidos en dos filas, con un árbol sin fertilizar como borde compartido para separar subparcelas en la misma fila, y una fila sin fertilizar como borde compartido hacia los costados. Se evaluó la totalidad de árboles existentes en cada subparcela. El marco de plantación fue de 4.0 m x 1.8 m.

Excepto por la fertilización, el resto de las prácticas agrícolas fueron realizadas de la forma usual por la empresa encargada del predio.

3.2.1. Top- Phos®

Según la cartilla de producto realizada por la empresa Timac-Agro®, Top-Phos es una gama de fertilizantes granulados que poseen la tecnología CSSP, la cual consiste en la protección del fósforo mediante el acomplejamiento (unión) de este nutriente con moléculas orgánicas a través de un puente metálico.

Este mecanismo de acción estaría relacionado con la asociación de sustancias orgánicas presentes en el suelo junto a los compuestos del fósforo. De esta manera, según el fabricante, habría sido posible caracterizar dichos compuestos húmicos por parte del Grupo Roullier, y sintetizarlos industrialmente para su utilización en los fertilizantes granulados fosfatados.

Dicha tecnología, evitaría que el fósforo sea retenido en el suelo por parte de agentes como aluminio, calcio, hierro o diversas arcillas, quedando disponible para el vegetal a través de la reacción entre exudados de raíces (ácidos orgánicos o fitosideróforos) y el nuevo complejo fosfatado.

Por otra parte, la empresa Timac-Agro® asegura que el producto contiene un factor estimulante de la vida microbiana, denominado como "Factor FT", el cual estaría unido a la molécula orgánica (CSSP) y sería liberado en forma gradual de modo de evitar su descomposición inmediata.

Dicho estimulante sería un precursor de la síntesis de fitoreguladores que activan la vida microbiana (Activador PNP-FT) y tendría un efecto positivo sobre la actividad enzimática del suelo, principalmente sobre las enzimas ureasa y fosfatasa, siendo precursor a su vez la síntesis de auxinas.

Acorde a lo declarado por el fabricante en dicha cartilla de producto, el factor FT permitiría generar entorno al gránulo una zona de gran fertilidad, volviendo disponibles para la planta un elevado número de nutrientes. Dicho factor tendría, a su vez, un efecto sobre la actividad microbiana circundante. La activación de fitohormonas y la mayor disponibilidad de nutrientes estimularían indirectamente las raíces de las plantas aumentando así el desarrollo de las mismas.

3.2.2. Nitrofoska® Foliar SL

Nitrofoska® Foliar SL es un fertilizante líquido en base a nitrógeno, fósforo y potasio con micronutrientes (Cuadro No. 5).

3.2.3. Fertileader®

Acorde a lo expresado por la cartilla del producto Fertileader®, propiedad de la empresa Timac-Agro®, el mismo se trataría de un bioestimulante de aplicación foliar, resultado de la combinación específica de micronutrientes y reguladores del crecimiento.

Dicho bioestimulante estaría formado por tres componentes diferenciados: un complejo anti estrés formado a base de moléculas de Glicina y Betaína, un complejo hormonal constituido por citoquininas, auxinas y giberelinas, y por último, un agregado de nutrientes específicos (calcio, boro y molibdeno)

En el Cuadro No. 5 se muestran los % de nutrientes aportados por los productos foliares utilizados.

Cuadro No. 5. Contenido de nutrientes (%) de Nitrofoska® foliar SL y Fertileader®

Elemento	Nitrofoska® Foliar SL	Fertileader ®
Nitrógeno	10	9
Fósforo	4	5
Potasio	7	4
Magnesio	0,2	
Hierro	0,015	0,02
Zinc	0,0005	0,05
Manganeso	0,0015	0,1
Boro	0,002	0,05
Cobre	0,0025	0,02
Molibdeno	0,0003	0,01

3.3. EVALUACIONES REALIZADAS

Durante el período de otoño a verano de 2013 se realizaron varias visitas de evaluación y toma de muestras. A los 6 y 12 meses del trasplante, se realizaron mediciones dasométricas y evaluaciones de daño por MLD. Se recogieron también en esas etapas de campo muestras foliares para análisis químicos y patológicos.

Cabe destacar que durante el segundo muestreo (primavera) se constató que los árboles habrían retomado muy recientemente la etapa de brotación, encontrándose hojas demasiado jóvenes o bien hojas en senescencia, las cuales no serían adecuadas para un correcto análisis de nutrientes. De este modo fue acordado un tercer muestreo foliar a los 15 meses luego de la implantación (diciembre de 2013) con el fin de obtener muestras foliares adecuadas para el análisis de nutrientes.

Tanto los análisis de suelo como los foliares para determinación de nutrientes se realizaron en el Laboratorio de Fertilidad de suelos de la Facultad de Agronomía.

3.3.1. Análisis de suelo

Previo a instalarse el ensayo se extrajeron muestras de suelo (0-20cm de profundidad) para realizar análisis químicos de modo de evaluar la composición y fertilidad del mismo (Cuadro No.5). Las muestras se secaron durante 48 horas a 40°C, moliéndose hasta que ninguna partícula supere los 2mm de tamaño. Se midió el pH en agua y KCl 1M por potenciometría (relación suelo/agua o suelo/KCl= 1/2,5). La materia orgánica, por su parte, fue determinada atacando las muestras con dicromato de K y ácido sulfúrico en ausencia de calor exterior, para calcular así el contenido de carbono orgánico por titulación con sulfato ferroso. La determinación de la cantidad de materia orgánica se realizó multiplicando el contenido de carbono orgánico por el factor convencional de Vammelen (1,724, considerando que la materia orgánica de los suelos contiene 58% de carbono).

La extracción de K, Na, Ca y Mg se realizó con acetato de amonio 1M bufferado a pH 7, determinándose luego por emisión (K y Na) y por absorción atómica (Ca y Mg). El P asimilable se analizó por el método Bray-1.

Cuadro No. 6. Análisis químico del suelo

Suelo	MO	pH	pH	P	K	Ca	Mg	Na
Muestra extraída de ensayo	%	En H ₂ O	En KCl	ppm	Meq/100g de suelo			
	4,2	5,13	4,43	5	0,60	4.71	2.16	0,80

3.3.2. Análisis foliares

Se realizaron muestreos foliares a los 6, 12 y 15 meses del transplante. Las muestras compuestas de cada subparcela estaba formada por 4 hojas de cada árbol, seleccionando la última hoja totalmente desarrollada de la última estación de crecimiento, de aproximadamente la mitad de la copa y los cuatro puntos cardinales. Las muestras fueron secadas a 60°C por 48 horas y luego molidas hasta un tamaño menor a un milímetro cuadrado.

La determinación de nitrógeno (N) total se realizó mediante el método Kjeldahl, utilizándose 0,5 gramos de material vegetal por parcela, ácido sulfúrico y catalizador en las proporciones indicadas.

Para la realización de los análisis restantes, se procedió a incinerar las muestras en mufla a 500°C por 5 horas hasta obtener cenizas. La determinación de fósforo (P) total y boro (B) se realizó mediante métodos colorimétricos (el del Ácido Ascórbico y el de la Azometina-H, respectivamente). En el caso del potasio (K) total se utilizó la técnica de espectrometría de emisión. Por último, las concentraciones de magnesio (Mg), calcio (Ca), hierro (Fe), cinc (Zn), cobre (Cu) y manganeso (Mn) fueron determinadas mediante Absorción Atómica.

3.3.3. Temperatura y humedad

Se instaló un dispositivo para medir la temperatura y humedad relativa del aire, el cual registraba los valores cada una hora. La información resumida se presenta en el siguiente cuadro.

Cuadro No. 7. Registros mensuales de temperatura y humedad relativa durante el período evaluado

	Temperatura			Humedad Relativa
	Mínima	Promedio	Máxima	Promedio
nov-12	6,6	21,8	34,6	70,5
dic-12	9,6	24,6	40,6	69,0
ene-13	7,6	24,1	41,1	69,7
feb-13	7,1	22,6	40,1	76,4
mar-13	1,5	18,9	36,1	78,6
abr-13	2,6	17,7	34,6	84,2
may-13	-3,5	13,5	30,1	91,0
jun-13	-6	10,6	27,6	89,5
jul-13	-4,5	10,1	26,6	93,0
ago-13	-4,5	9,9	28,6	85,9
sep-13	-1,4	17,4	35,1	83,3

3.3.4. Medidas dasométricas

Para evaluar el desarrollo y crecimiento de los árboles bajo los tratamientos se realizaron dos medidas dasométricas a los 6 y 12 meses del transplante.

En cada ocasión se registró la altura total de la totalidad de los árboles, utilizándose para ello una pértiga graduada con apreciación de 1 cm y capaz de medir alturas de hasta 5 m. También se midió el diámetro en la base de las unidades muestrales (utilizando un calibre de apreciación 1 mm), tomándose dos medidas de diámetro, una del mayor y otra del menor para luego promediarse y obtener una mejor estimación de la circunferencia del tallo.

Figura No. 1. Medición de altura y calibre a la base



3.3.5. Evaluación sanitaria

Se realizó una estimación del daño por el complejo MLD a través del *Crown Damage Index* (Índice de daño de copa, CDI) modificado. El CDI surge en Australia en el año 2003 como un método sólido y estandarizado que evalúa los daños a nivel de copa causados por diversas plagas (Stone et al., Matsuki et al., citados por Smith, 2006).

Según Smith (2006) el uso de un método estandarizado y repetible facilita tanto la operativa como la investigación, permitiendo comparar los niveles de daño entre períodos de tiempo, parcelas, plantaciones, empresas y grupos de investigación. Los síntomas de daño a los árboles y los estreses como necrosis, defoliación y decoloración se cuantifican elaborando un índice que evalúa el estado sanitario del árbol. Existe una disyuntiva generada por la percepción de daño que tiene cada persona sobre un árbol, en este sentido, durante la evaluación sanitaria a campo en este experimento, se generó un valor de CDI modificado promediando y discutiendo la categorización generada por cada observador.

Para resolver el valor que adoptaba el índice modificado en cada árbol se tuvieron en cuenta diferentes tipos de daños así como la magnitud relativa de cada uno. Los tipos de daño según Hirigoyen (2011) se pueden describir como:

Decoloración: se constata cuando la hoja pierde su color verde característico tornándose amarillenta o desde rojiza a purpúrea. Se pueden observar manchas cloróticas o los márgenes amarillos.

Necrosis: este daño se caracteriza por la presencia de tejido muerto; formando ampollas o como manchas necróticas en las hojas.

Defoliación: la defoliación se cuantifica como aquel daño en el que se observan orificios en la hoja, bordes festoneados o directamente faltan hojas.

La estimación de la incidencia de los daños según Stone et al., citados por Hirigoyen (2011) es el porcentaje o proporción de follaje o plantas afectadas por cada tipo de daño en comparación con un árbol sano. Esta estimación es muy utilizada por su practicidad y precisión.

En el presente trabajo se adaptó el CDI original a los fines prácticos del ensayo, utilizándose 5 categorías de daño visual para cada árbol (véase Figuras No. 4 a No. 8): 0 (inexistencia de daño foliar), I (0-25%), II (25-50%), III (50-75%) y IV (75-100%). La estimación de la severidad de los daños según Stone et al., citados por Hirigoyen (2011) es el porcentaje promedio de daños en el follaje afectado.

Figura No. 2. Mancha foliar. Daño cero (0%)



Figura No. 3. Mancha foliar. Daño I (0-25%)



Figura No. 4. Mancha foliar. Daño II (25-50%)



Figura No.5. Mancha foliar. Daño III (50-75)



Figura No. 6. Mancha foliar. Daño IV (75-100%)



3.3.6. Aislamiento e identificación del patógeno

Si bien los síntomas observados a campo correspondían a los provocados por MLD se debió igualmente confirmar *a posteriori* la presencia de dicha enfermedad.

El método de cultivo empleado fue el de cámara húmeda. Se recortaron zonas infectadas de las hojas y se pusieron durante 2 horas en remojo en una solución de agua e hipoclorito de sodio. Luego se lavaron las hojas otros 2 minutos con agua, se las dejó secar y se las sembró en cajas de Petri cerradas y debidamente etiquetadas. La incubación fue a temperatura estable, en una atmósfera saturada de humedad y en oscuridad durante aproximadamente 3 semanas, estas condiciones permiten el desarrollo del patógeno para poder así identificarlo.

Figura No. 7. Cultivo de MLD en cámara húmeda



3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

El análisis estadístico de los datos se realizó mediante Análisis de Varianza, realizándose contrastes ortogonales entre distintos tratamientos. Para la realización de estos análisis se utilizó el software gratuito InfoStat (versión estudiantil 2013, actualizada el 28-10-2013).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. EVALUACIÓN A LOS 6 MESES DEL TRANSPLANTE

A continuación se pasará a detallar los resultados obtenidos a los seis meses de implantada la masa forestal, en lo que respecta a supervivencia y daños por MLD, parámetros morfológicos (altura total y diámetro a la base) y concentración de nutrientes en hoja.

4.1.1. MLD y supervivencia

En el siguiente cuadro se muestran los promedios de supervivencia y severidad por ataque del complejo MLD para los dos tratamientos iniciales considerados: fertilización en suelo con Top-Phos® y Superfosfato de Calcio. No se detectaron diferencias entre los tratamientos.

Cuadro No. 8. Porcentaje de supervivencia y severidad por MLD para los tratamientos de parcela principal, a los 6 meses del transplante

TRATAMIENTOS	MLD (CDI)	Supervivencia (%)
Top-Phos®	1,29	93,4
Superfosfato de Calcio	1,22	94,3

4.1.2. Altura y diámetro

El Cuadro No. 9 enmarca los resultados obtenidos en base a la medición de altura promedio (en metros) y diámetro promedio al cuello (en milímetros) de los individuos evaluados a los seis meses de implantación.

Cuadro No. 9. Promedios de altura y diámetro al cuello, y análisis estadístico para los tratamientos de parcela principal, a los 6 meses del transplante

TRATAMIENTOS	Altura (m)	Diámetro (mm)
Top-Phos®	115,1	26,0
Superfosfato de Calcio	99,4	20,9
CONTRASTES	p-valor	
Top-Phos® vs. Superfosfato	0,065	0,048
CV %	4,85	6,04
Error Estándar	3,00	0,82

Tanto la altura promedio como el diámetro promedio a la base, a los seis meses del transplante, fueron mayores en las parcelas tratadas con Top-Phos® que en las tratadas con Superfosfato de Calcio (p-valor: 0,065 y p-valor: 0,048 respectivamente)

Dichos resultados se condicen con los obtenidos por Subramani et al. (2010), Panda et al. (2012), quienes ya habrían reportado beneficios en lo que respecta a crecimiento vegetal mediante la aplicación de bioestimulantes. A su vez, veríamos reafirmados los conceptos manejados por Singh (2002), Storino (2009), Erro et al. (2010) sobre los beneficios de la adición de ácidos húmicos al suelo.

4.1.3. Concentración foliar de nutrientes

En el siguiente cuadro se puede observar las concentraciones foliares de macro y micronutrientes de los distintos tratamientos, a los seis meses del transplante.

Cuadro No. 10. Concentraciones foliares de macro y micronutrientes y análisis estadístico para los tratamientos de la parcela principal, a los 6 meses del transplante

TRATAMIENTO	N	P	Ca	Mg	K	Fe	Cu	Zn	B
	%					ppm			
Top-Phos®	1,32	0,11	0,74	0,25	0,61	49	3	20	111
Superfosfato	1,31	0,11	0,69	0,24	0,67	47	4	21	91
CONTRASTES	p-valor								
Top-Phos® vs. Superfosfato	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV %	7,61	11,35	12,93	8,33	20,73	14,15	11,13	10,54	19,64

ns: no significativo (p -valor > 0,100)

Contrariamente al análisis en altura y diámetro, para las concentraciones de nutrientes en hoja no fue posible encontrar diferencias significativas entre los tratamientos evaluados.

Igualmente, vale resaltar que todos los valores de concentración estaban por encima de los niveles críticos establecidos por Boardman et al. (1997), Barboza (2013), para hojas juveniles de la especie *Eucalyptus globulus*. El Hierro en particular habría sido el que más se acercara a un nivel crítico de deficiencia en ambos casos, mientras que el Boro mostró valores muy por encima de los rangos de suficiencia considerados, probablemente debido a la fertilización inicial con Ulexita.

4.2 EVALUACIÓN A LOS 12 MESES DEL TRANSPLANTE

4.2.1 Tratamientos aplicados al suelo

4.2.1.1 MLD y supervivencia

En el Cuadro No. 11 se pueden observar valores porcentuales de supervivencia en cada uno de los tratamientos de fertilización en suelo y promedios de severidad en el ataque de *Mycosphaerella spp.*

Cuadro No. 11. Porcentaje de supervivencia y severidad por MLD para los tratamientos de parcela principal, a los 12 meses del trasplante

TRATAMIENTOS	MLD (CDI)	Supervivencia (%)
TopPhos®	2,23	84,0
Superfosfato de Calcio	2,14	78,3

Si bien no fue posible realizar un análisis estadístico, podemos observar un mejor desempeño en supervivencia para los individuos tratados con Top-Phos®. De alguna manera, se podría hipotetizar que la aplicación del producto, junto a un mayor crecimiento en altura y diámetro a los 6 meses, habría favorecido una mayor resistencia de estos individuos frente a condiciones adversas propias del invierno, ya sea por heladas o bien severidad del ataque de patógenos.

4.2.1.2 Altura y diámetro

El cuadro presentado a continuación muestra los resultados obtenidos en promedio de altura y diámetro al cuello para aquellos tratamientos de fertilización inicial.

Cuadro No. 12. Promedios de altura y diámetro al cuello, y análisis estadístico para los tratamientos de parcela principal, a los 12 meses del trasplante

TRATAMIENTOS	Altura (m)	Diámetro (mm)
Top-Phos®	152,2	34,8
Superfosfato de Calcio	132,4	29,2
CONTRASTES	p-valor	
Top-Phos® vs. Superfosfato	0,099	ns
CV %	1,47	3,22
Error Estándar	4,79	2,17

ns: no significativo (p -valor $> 0,100$)

En el cuadro anterior se puede evidenciar una diferencia significativa (p -valor: 0,099) en altura a favor del tratamiento con bioestimulantes, mientras que no existirían diferencias para la variable diámetro promedio.

En los Gráficos No. 1 y No. 2 se muestra la tendencia en crecimiento observada para la plantación. Tanto en altura como en diámetro la tendencia permanece uniforme en el tiempo, por lo que se puede afirmar que las diferencias entre tratamientos permanecerían constantes, al menos en las primeras etapas de crecimiento.

Gráfico No. 1. Evolución del crecimiento para altura en función del tiempo

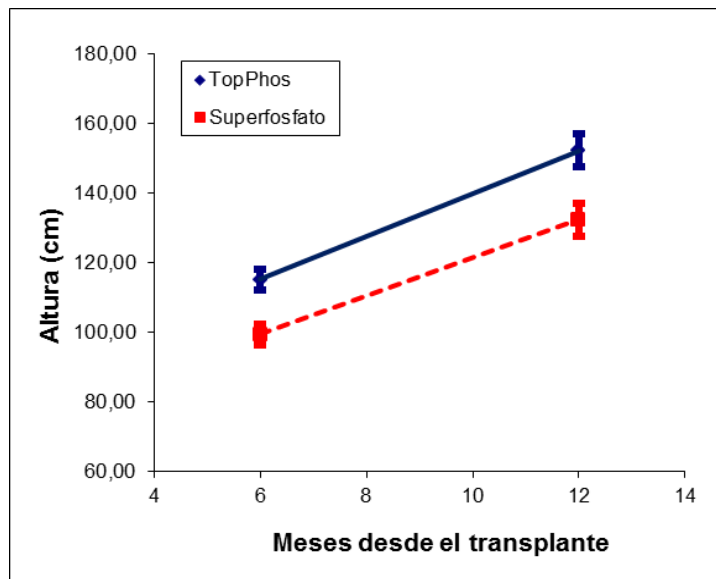
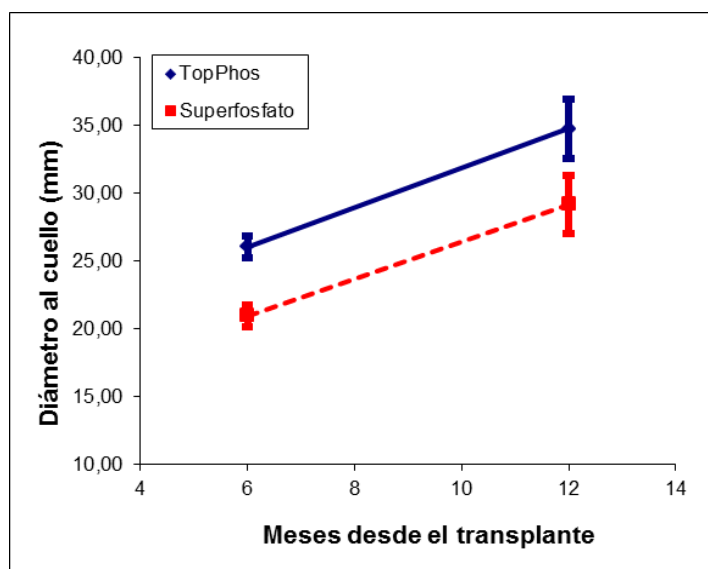


Gráfico No. 2. Evolución del crecimiento para diámetro en función del tiempo



Por otra parte, podemos visualizar una disminución en la significancia de dichas diferencias con el correr del tiempo, lo cual podría dar algún indicio de lo demostrado por Zamalvide y Ferrando (2004) quienes reportan una disminución en la respuesta al agregado de fósforo al momento del trasplante, en términos de rendimiento relativo, a medida que aumenta la edad de la planta.

4.2.1.3 Concentración foliar de nutrientes

En el Cuadro No. 13 se muestran los valores obtenidos en el análisis foliar de las muestras extraídas al año de implantación.

Cuadro No. 13. Concentraciones foliares de macro y micro nutrientes, y análisis estadístico para los tratamientos de parcela principal, a los 12 meses del trasplante

TRATAMIENTO	N	P	Ca	Mg	K	Fe	Cu	Zn	B
	%					ppm			
Top-Phos®	2,13	0,19	0,44	0,16	0,90	49	7	28	30
Superfosfato	2,25	0,22	0,49	0,17	0,96	42	7	28	35
CONTRASTE	p-valor								
Top-Phos® vs. Superfosfato	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV %	2,25	9,54	20,22	10,75	25,82	20,29	25,66	16,20	8,16

ns: no significativo (p -valor > 0,100)

Los resultados observados no demuestran diferencias significativas entre tratamientos para ninguno de los nutrientes evaluados. Por otra parte, es posible ver un aumento en las concentraciones de N, P y K, comparándolas con aquellas registradas en el primer muestreo, así como frente los valores catalogados como normales descriptos anteriormente (ver Cuadros No. 10 y No. 13)

Es preciso remarcar también, que para todos los casos, los valores de concentración en hoja para el nutriente Hierro no habrían alcanzado los niveles mínimos establecidos. Esto se condice con estudios realizados por Zamalvide y Ferrando (2010) quienes reportan deficiencias para este nutriente en las especies *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus grandis* en diversos suelos de nuestro país.

Por otra parte, las muestras extraídas podrían haberse tratado de hojas demasiado nuevas, acumulando una cantidad de nutrientes excesiva por tratarse de órganos con alta demanda, llegando a presentar concentraciones no representativas para su correcto análisis. Barbazán (1998) comenta que la concentración de nutrientes móviles en hoja (como es el caso) tiene un pico máximo en las primeras etapas de desarrollo de los órganos, disminuyendo con el correr del tiempo. Por estas razones, no deberían muestrearse tejidos fisiológicamente muy jóvenes, ni tejidos pasados de madurez.

Finalmente, los datos presentados muestran una marcada disminución en la concentración de boro respecto a los valores del primer muestreo. Dicho nutriente posee una baja retranslocación dentro de la planta, por lo que sería necesario un aporte constante para satisfacer las demandas del cultivo. A su vez, se trata de un elemento poco retenido por el suelo, estando sujeto a pérdidas por lixiviación (Ferrando y Zamalvide, 2012, ver Cuadros No. 10 y No. 13)

4.2.2 Tratamientos foliares

A continuación se evaluarán los resultados obtenidos a partir del segundo muestreo a campo, considerando los tratamientos foliares realizados a los 6 meses del transplante.

4.2.2.1 MLD y supervivencia

Seguidamente se presentan los resultados obtenidos para porcentaje de supervivencia y severidad de ataque del patógeno *Mycosphaerella spp.* Si bien no fue posible realizar un análisis estadístico de los resultados, se puede observar una mejora en la resistencia al patógeno y supervivencia luego de aplicaciones foliares de nutrientes, ya sea con o sin bioestimulantes

Cuadro No. 14. Porcentaje de supervivencia y severidad por MLD para los tratamientos foliares: Testigo, Fertileader® y Nitrofoska®, a los 12 meses del transplante

TRATAMIENTOS	MLD (CDI)	Supervivencia (%)
Testigo	2,22	73,3
Fertileader®	2,06	83,3
Nitrofoska®	2,09	82,5

Es probable que el agregado de nutrientes como boro y calcio de manera exógena, junto a la adición de compuestos bioestimulantes hayan cumplido un rol fundamental en la recuperación de los arboles fertilizados foliarmente, tanto en su resistencia a condiciones ambientales y patógenos, como a su recuperación frente a daños ocasionados.

Según varios autores (Fichet 2009, Chen y Murata 2011) la glicinbetaína aumentaría la resistencia de las plantas a diversos tipos de estrés mediante la generación de enzimas de protección, activación de genes de defensa, continuidad de los mecanismos que generan la fotosíntesis en momentos de estrés, variación en niveles de metabolitos celulares y mayor control de la osmorregulación. Por otra parte, el agregado de auxinas y citoquininas motivaría el desarrollo de tejidos nuevos, esenciales en la recuperación de área foliar (Acosta et al. 2008, Segura 2008). Finalmente el boro podría haber contribuido a la brotación axilar como respuesta a los daños experimentados (Andrade et al., Manttielo et al., citados por Hirigoyen, 2011), mientras que el Calcio ayudaría a mantener la integridad celular, generando una barrera más fuerte para el ataque de ciertos patógenos (Chardonnet, 1997).

Igualmente, no es posible afirmar que existan diferencias entre los tratamientos de aplicación foliar a través del análisis de los datos mostrados anteriormente.

4.2.2.2. Altura y diámetro

En el Cuadro No. 15 se pueden observar los resultados obtenidos en promedios de altura y diámetro al cuello para cada uno de los tratamientos foliares aplicados.

Cuadro No. 15. Promedios de altura y diámetro al cuello, y análisis estadístico para los tratamientos de parcela secundaria, a los 12 meses del trasplante

TRATAMIENTOS	Altura (m)	Diámetro (mm)
Testigo	138,2	29,2
Fertileader®	126,5	29,1
Nitrofoska®	123,6	29,8
CONTRASTES	p-valor	
Testigo vs. Resto	0,032	ns
Fertileader® vs. Nitrofoska®	ns	ns
CV %	4,51	8,65
Error Estándar	3,37	1,47

ns: no significativo (p-valor > 0,100)

La única diferencia significativa encontrada, entre parcelas testigo y el resto de los tratamientos foliares, podría deberse a la diferencia en supervivencia observada anteriormente, determinando un menor número de plantas por parcelas, lo cual se traduce en una mayor altura media por prevalecer aquellos individuos de mayor porte.

A modo de confirmar dicha aseveración se realizó una comparación entre sumatorias de altura por parcela, no existiendo diferencias entre los tratamientos evaluados.

4.2.2.3 Concentración foliar de nutrientes

En el siguiente cuadro se puede observar la comparación entre parcelas testigo y los dos tratamientos de aplicación foliar considerados (Fertileader® y Nitrofoska®).

Cuadro No. 16. Concentraciones foliares de macro y micro nutrientes, y análisis estadístico para los tratamientos de parcela secundaria a los 12 meses del transplante

TRATAMIENTO	N	P	Ca	Mg	K	Fe	Cu	Zn	B
	%					ppm			
Testigo	2,15	0,21	0,44	0,17	0,97	44	7	25	33
Fertileader®	2,34	0,24	0,54	0,16	0,95	40	7	32	37
Nitrofoska®	2,14	0,23	0,44	0,15	0,87	47	7	31	31
CONTRASTES	p-valor								
Testigo vs Resto	ns	0,012	ns	ns	ns	ns	ns	0,023	ns
Fertileader® vs Nitrofoska®	ns	ns	0,072	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV %	6,23	3,73	10,95	6,03	7,72	20,99	15,30	8,38	35,06

ns: no significativo (p-valor > 0,100)

Es posible visualizar una diferencia significativa para los nutrientes fósforo y zinc, obteniendo mayores resultados bajo la aplicación de cualquier fertilizante foliar (p-valor: 0,012 y p-valor: 0,023 respectivamente).

En cualquiera de los casos, podríamos atribuir dicha diferencia o tendencia al agregado de nutrientes a través de la aplicación foliar, lo cual aumentaría el contenido de nutrientes en hoja. Sin embargo, vale destacar que los niveles de suficiencia respectivos para los elementos considerados se encuentran por encima de los rangos establecidos (fósforo) o bien dentro de los niveles considerados normales (zinc).

Por otra parte, podemos observar una diferencia significativa en el efecto de los tratamientos para el nutriente calcio (p-valor: 0,072). Se visualiza un incremento diferencial en la concentración de dicho nutriente en favor de la aplicación de Fertileader®.

De este modo, el suministro de manera exógena del macronutriente como parte del producto fertilizante, en conjunto con una posible regulación de los canales de calcio por parte de las auxinas, podría estar ocasionando un aumento en la concentración del elemento en hoja.

Dicho resultado podría estar explicando los efectos observados en una supuesta mayor resistencia al complejo MLD descrita anteriormente (Cuadro No. 14). Varios autores (Chardonnet et al., Ippolito et al., Chardonnet et al., citados por Cabrera, 2004) aseguran que ciertos estudios han demostrado la acción beneficiosa del calcio en cultivos de vid contra el ataque de *Botrytis cinérea*, estando relacionado con una mejor estructura de la pared celular y generando una barrera más resistente frente al ataque del hongo. Si bien no hay trabajos disponibles para *Eucalyptus globulus*, podría ser un indicio de los efectos visualizados en el presente trabajo.

4.3. EVALUACIÓN A LOS 15 MESES DEL TRANSPLANTE

Debido a que las muestras obtenidas en la segunda salida pueden no haber sido representativas del estado nutricional real de los individuos, por ser hojas demasiado jóvenes, se presentan en esta sección los resultados obtenidos en un tercer muestreo foliar, a los 15 meses del transplante. En este muestreo se incluyen los nuevos tratamientos generados a partir de las aplicaciones foliares realizadas a los 12 meses del transplante.

4.3.1. Evaluación de nutrientes foliares

4.3.1.1. Tratamientos de la parcela principal

En el Cuadro No. 18 se presenta la información correspondiente a los contenidos nutricionales en hoja para los dos tratamientos iniciales en suelo. Como es posible observar, los resultados no habrían revelado ninguna diferencia estadísticamente significativa entre ambos tratamientos.

Cuadro No. 17. Concentraciones foliares de macro y micro nutrientes, y análisis estadístico para los tratamientos de parcela principal, a los 15 meses del transplante

TRATAMIENTO	N	P	Ca	Mg	K	Fe	Cu	Zn	B
	%					ppm			
Top-Phos®	1,34	0,12	0,95	0,23	0,56	56	5	20	36
Superfosfato	1,42	0,11	1,00	0,26	0,59	71	6	19	46
CONTRASTES	p-valor								
Top-Phos® vs. Superfosfato	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV %	12,50	15,49	6,84	11,79	5,99	66,84	20,01	14,60	21,06

ns: no significativo (p-valor > 0,100)

4.3.1.2. Tratamientos foliares

En el Cuadro No. 19 presenta los datos correspondientes a la contraposición del tratamiento testigo y la totalidad de los tratamientos con aplicación de fertilizante foliar, además de comparar aquellas parcelas con doble aplicación de Fertileader® y parcelas con doble aplicación de Nitrofoska®, a los 6 y 12 meses.

Cuadro No. 18. Concentraciones foliares de macro y micro nutrientes, y análisis estadístico para los tratamientos de parcela secundaria a los 15 meses del transplante

TRATAMIENTO	N	P	Ca	Mg	K	Fe	Cu	Zn	B
	%					ppm			
Testigo	1,52	0,12	0,91	0,23	0,64	50	6	20	48
Fertileader®	1,39	0,11	1,02	0,26	0,60	55	6	19	47
Fert-Fert*	1,35	0,11	1,06	0,28	0,53	108	5	20	44
Nitro-Nitro**	1,44	0,12	0,94	0,24	0,66	75	6	21	34
CONTRASTES	p-valor								
Testigo vs. All	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Fert-Fert vs. Nitro-Nitro	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV %	7,19	16,42	13,35	9,66	12,84	59,39	13,42	10,79	21,98

ns: no significativo (p-valor > 0,100)

*Doble aplicación de Fertileader® (a los 6 y 12 meses)

**Doble aplicación de Nitrofoska® (a los 6 y 12 meses)

En este último caso no se habrían observado diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los nutrientes evaluados, en lo que respecta a su concentración en hoja.

A pesar de ello, se observan concentraciones de calcio mayores en aquellas parcelas tratadas con Fertileader®, sea en una o dos ocasiones, atribuyéndose una eventual mejora en su concentración a la aplicación exógena del nutriente y aditivos bioestimulantes, si bien no es posible demostrarlo mediante los análisis estadísticos realizados.

Al igual que para el análisis a los 12 meses del transplante, este nutriente podría estar cumpliendo una función importante en lo relativo a la protección de los individuos contra la enfermedad de MLD.

4.4 IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL

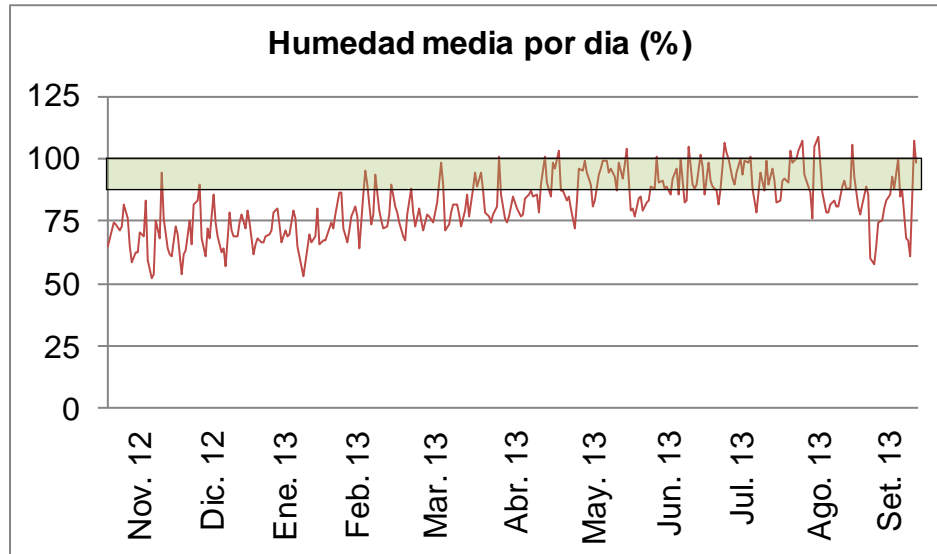
Se pudo constatar en las diferentes etapas de campo abundantes lesiones foliares (Figura No. 8). De características correspondientes a las observadas para el complejo MLD: tamaño que oscilaba entre los 4 y 9 mm de diámetro, circulares a irregulares, marrón claro con bordes oscuros, algo elevadas y presentes en ambas caras de la hoja. En ocasiones estas manchas se fusionaban entre sí formando una gran lesión de tejido necrótico.

Figura No. 8. Árboles con sintomatología correspondiente a MLD



A su vez, mediante el análisis de los datos de humedad obtenidos a campo por registro diario se realizó un gráfico ilustrativo donde se puede apreciar perfectamente ciertos períodos de alto riesgo infeccioso, con porcentajes de humedad elevados que podrían haber generado la germinación de esporas provenientes del hongo, junto a un aumento en su incidencia y severidad en el ataque.

Gráfico No. 3. Humedad media registrada por día



Las ascosporas necesitarían de una alta humedad relativa, cercana al 90%, o de agua libre sobre la hoja y temperaturas de entre 3 y 30 °C para poder germinar. Es probable que se den niveles altos de severidad en ataque, junto a defoliaciones graves a partir de períodos de hoja mojada de 5 días o más, aumentando su daño conforme aumenta dicho período (Simeto 2008, Park y Keane, Park, citados por Hunter et al. 2009).

El gráfico anteriormente presentado mostraría un primer período de riesgo de incidencia entre los meses de febrero y marzo, mientras que posteriormente se observaría una etapa más extensa y posiblemente de mayor riesgo, entre los meses de abril a agosto, demostrando así una de las posibles causales del aumento en la infección generada por el patógeno a campo.

En etapas de laboratorio, se pudieron observar pseudotecios globosos de tamaño variable sobre las manchas foliares. Los cultivos realizados presentaron micelios blancos a grisáceos, a su vez se observaron también algunos tonos verdosos, siendo más oscuros hacia los extremos. Posteriormente, fue posible recolectar ascosporas, de aspecto hialino, paredes regulares, uniseptadas, cuyo tamaño osciló de 10 a 12 μ por 3 a 5 μ . Lo mencionado anteriormente se corresponde con las descripciones realizadas por Crous et al. (2007), Hunter et al. (2009), Simeto et al. (2009) sobre *Teratosphaeriaceae* y *Teratosphaeria nubilosa*.

Figura No. 9. Cultivo de MLD luego de cámara húmeda.



Vale recalcar que en las 3 etapas de campo (marzo, setiembre y diciembre) se pudieron observar síntomas correspondientes a los causados por el complejo MLD, encontrándose todos los árboles afectados en mayor o menor proporción, lo que indica una alta presión de inóculo en la zona por condiciones predisponentes previas y una susceptibilidad elevada de la especie *Eucalyptus globulus* frente a la incidencia del hongo.

Figura No. 10. Síntomas de MLD a los 12 meses. Daño de copas.



5. CONCLUSIONES

A través de la experiencia planteada fue posible comparar el efecto de la utilización de fuentes nutricionales con y sin bioestimulantes sobre plantaciones de *Eucalyptus globulus* en la unidad de Santa Clara (Lavalleja).

En lo que respecta a parámetros morfológicos como altura total y diámetro a la base, se obtuvo un aumento diferencial del crecimiento inicial en favor de la utilización de Top-Phos® como fertilizante al momento de implantación, frente al uso de superfosfato de calcio. Los resultados desprenden diferencias significativas a los seis meses y una marcada tendencia a los doce meses. Por otra parte, no se habrían registrado variaciones en dichos parámetros descriptos entre los tratamientos foliares utilizados.

Las concentraciones de nutrientes en hoja se encontraron dentro de los rangos considerados como normales para la especie en todos los casos, no siendo así una limitante para el crecimiento y desarrollo, a excepción del hierro, para el cual se hallaron valores levemente inferiores a los niveles críticos manejados para etapas iniciales del crecimiento, las cuales podrían deberse a los bajos contenidos del nutriente en suelo. Las comparaciones de los efectos de la fertilización inicial con Top-Phos® y Superfosfato de Calcio no presentaron diferencias significativas para ningún nutriente.

En lo que respecta a fertilización foliar, se constató un beneficio en niveles de zinc y fósforo para cualquier tipo de aplicación foliar, ya sea Fertileader® o Nitrofoska® a los 12 meses del transplante.

Por otro lado, fue posible identificar un incremento significativo en concentración foliar para el nutriente calcio sobre parcelas tratadas foliarmente con aditivos bioestimulantes, frente a compuestos químicos convencionales, al año de implantación, lo cual podría ocasionar una mayor protección frente al ataque de patógenos. A su vez, podría observarse una leve mejoría en valores absolutos al compararlo con Nitrofoska® foliar a los quince meses de plantación.

Si bien no es posible afirmar de manera estadística, que haya una diferencia significativa en lo que concierne a la supervivencia de individuos, podemos visualizar un mejor desempeño en aquellas parcelas tratadas inicialmente con Top-Phos®. De este modo, se podría hipotetizar que el

agregado de sustancias húmicas y aditivos bioestimulantes al suelo, junto a un mayor crecimiento en altura y diámetro a los seis meses, habría favorecido la supervivencia de dichos individuos evidenciada a los doce meses.

Finalmente, se pudo comprobar la presencia del patógeno *Teratosphaeria nubilosa* en la totalidad de la plantación, pudiendo observar que el agregado de Fertileader® o Nitrofoska® de manera exógena generaría una leve mejora en el comportamiento sanitario frente a infecciones provocadas por este tipo de patógenos, así como en la supervivencia de árboles, probablemente a causa del desarrollo de una estructura foliar más resistente y una recuperación más veloz frente a los daños experimentados.

6. RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo comparar el efecto de la aplicación de fuentes nutricionales con bioestimulantes frente a aplicaciones con fuentes químicas tradicionalmente utilizadas en forestación. Los parámetros evaluados fueron: diámetro al cuello, altura total, incidencia y severidad del complejo MLD, contenido de nutrientes foliares y supervivencia. El ensayo se instaló en la zona de Barriga Negra (Lavalleja) dónde se realizaron tres instancias de relevamiento a campo: marzo (6 meses), setiembre (12 meses) y diciembre (15 meses) del año 2013. Los diseños experimentales utilizados fueron parcelas divididas en bloques completos al azar y diseño en bloques completos al azar. Los tratamientos de las parcelas mayores fueron Superfosfato de Calcio y TopPhos® al suelo en implantación. Las dosis aplicadas fueron 40 g de Fósforo como P₂O₅ por planta. Los tratamientos de las parcelas menores fueron un testigo foliar, Fertileader® a los 6 meses, Fertileader® a los 6 y 12 meses y Nitrofoska® Foliar SL también a los 6 y 12 meses desde la plantación. Las dosis empleadas fueron de 150 ml por planta en disolución al 1%. A los 6 y 12 meses se tomaron muestras foliares, se midió altura, diámetro al cuello, supervivencia y severidad de ataque por MLD. A los 15 meses sólo se tomaron muestras foliares. Se realizaron cultivos en cámara húmeda para identificar el patógeno con las muestras recolectadas. La utilización de Top Phos® reveló mayores crecimientos en diámetro al cuello, a los 6 meses, y altura total, a los 6 y 12 meses. La aplicación de Fertileader® provocó mayores contenidos de calcio en hoja, por sobre la aplicación de Nitrofoska®, a los 12 meses. Fue posible aislar e identificar el patógeno *Teratosphaeria nubilosa*, presente en la totalidad de individuos a campo, sin importar el tratamiento al cual fueron sometidas las unidades muestrales. Por último se evidenció una mejor supervivencia en parcelas tratadas con TopPhos® y mejor respuesta a MLD y supervivencia para Nitrofoska® y Fertileader® en comparación con el testigo foliar, a los 12 meses

Palabras clave: *Eucalyptus globulus*, *Mycosphaerella spp.*; *Teratosphaeria spp.*; Enfermedades de las plantas; Mancha foliar del Eucalyptus; Fertilización; Macronutrientes; Micronutrientes; Fósforo; Calcio; Crecimiento vegetal; Departamento de Lavalleja; Bioestimulantes

7. SUMMARY

The objective of this study was to compare the effect of the application of nutritional sources with bio-stimulators against traditional chemical sources, commonly used in forestry. The parameters evaluated were collar diameter, total height, complex MLD incidence and severity, leaf nutrient content and survival rate. The trial was carried in Barriga Negra (Lavalleja) where three instances of field survey were conducted: march (6 months), september (12 months) and december (15 months) in 2013. The experimental design used was complete randomized blocks with split plot. The treatments used for whole plots were calcium superphosphate and TopPhos® applied to the soil during planting. The doses were 40 g of phosphorous as P205 per plant. Split-plots treatments were foliar witness, Fertileader® at 6 months, Fertileader® at 6 and 12 months and Nitrofoska® foliar SL at 6 and 12 months since planting. The doses used were 150 ml per plant in a 1% solution. At month 6 and 12 leaf samples were taken and height, collar diameter, survival rate and severity of MLD complex's attack were measured. After 15 months only leaf samples were taken. Humid chamber cultivation was made in order to identify the pathogen in the collected samples. TopPhos® was significantly better than superphosphate in collar diameter (6 months) and total height (6 and 12 month). Fertileader® plots resulted in higher contents of foliar calcium than Nitrofoska® plots, at 12 months. It was possible to isolate and identify the pathogen: *Teratosphaeria nubilosa* present in all individuals, regardless of the treatment to which they were subjected. Finally, significant improvement in survival was revealed by adding Top-Phos®, and better reactions to MLD and survival for either Fertileader® or Nitrofoska® compared to foliar witness, at 12 months.

Keywords: *Eucalyptus globulus*; *Mycosphaerella* spp.; *Teratosphaeria* spp.; Plant diseases; Mycosphaerella Leaf Spot; Fertilization; Macronutrients; Micronutrients; Phosphorus; Calcium; Plant growth; Department of Lavalleja; Bioestimulants.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. AGRIOS, G. 2007. Fitopatología. 2a. ed. México, Limusa. 856 p.
2. ACOSTA, C. 2008. Evaluación de una fertilización en *Eucalyptus globulus* Labill. aplicada en la etapa de máxima acumulación nutritiva. Tesis Ing. Agr. Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Forestales. 64 p.
3. ACOSTA, M.; SÁNCHEZ, J.; BAÑÓN, M. 2008. Auxinas. In: Azcón-Bieto, J.; Talón, M. eds. Fundamentos de fisiología vegetal. Barcelona, España, Mc Graw-Hill. pp. 377-398.
4. ALFENAS, A.; ZAUZA, A.; MAFIA, R; ASSIS, T. 2004. Clonagem e doenças do eucalipto. Viçosa, UFV. 243 p.
5. BALMELLI, G.; RESQUIN, F. 2002. Avances en el mejoramiento genético de *Eucalyptus globulus* en el programa nacional forestal de INIA. (en línea). Montevideo, INIA. 74 p. Consultado feb. 2014. Disponible en <http://www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/tb/ad/2002/informe-2.pdf>
6. _____; MARRONI, V.; ALTIER, N.; GARCÍA, R. 2004. Potencial de mejoramiento genético para el manejo de enfermedades en *Eucalyptus globulus*. Montevideo, INIA. 44 p. (Serie Técnica no. 143)
7. _____; FERNÁNDEZ, P. 2006. Importancia de la fuente de semilla de *Eucalyptus globulus*. Evaluación económica en una plantación comercial con semilla de Chile y Australia. In: Día de Campo Forestal en la Región Sureste (2006, Tacuarembó). Textos. Montevideo, INIA. pp. 26 - 28 (Actividades de Difusión no. 462)
8. _____; SIMETO, S.; ALTIER, N.; MARRONI, V.; DIEZ, J. 2013. Long term losses caused by foliar diseases on growth and survival of *Eucalyptus globulus* in Uruguay. *New Forest*. 44(2): 249-263.
9. _____; _____; MARRONI, V.; ALTIER, N.; DIEZ, J. 2014. Genetic variation for resistance to *Mycosphaerella* leaf disease and *Eucalyptus* rust on *Eucalyptus globulus* in Uruguay. *Australasian Plant Pathology*. 43(1): 97-107.

10. BALZARINI, M.G.; GONZÁLEZ, L.; TABLADA, M.; CASANOVES, F.; DI RIENZO, J.A.; ROBLEDO, C.W. 2008. Infostat software estadístico; manual de usuario. Córdoba, Argentina, s.e. 336 p.
11. BARBAZÁN, M. 1998 Análisis de plantas y síntomas visuales de deficiencia de nutrientes. Montevideo, Facultad de Agronomía. 27 p.
12. BARBOZA, F. 2013. Efecto de la fertilización y aplicación de bioestimulantes en el desarrollo inicial de plantaciones de *Eucalyptus globulus* sobre suelos de Lavalleja y Rocha. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 48 p.
13. BASURCO, F.; NORIEGA, M.; ROMERAL, L.; TOVAL, G. 2000. Ensayos de fertilización localizada en masas clonales de *Eucalyptus globulus* en el momento de la plantación en la provincia de La Coruña. Pontevedra, Centro de Investigación y Tecnología de ENCE. 5 p.
14. BELLOTE, A.; FERREIRA, C. 1995. Nutrientes minerales y crecimiento de árboles abonados de *Eucalyptus grandis* en el Estado de São Paulo. *Bosque*. 16 (1): 69-75
15. BOARDMAN, R.; CROMER, R.N.; LAMBERT, M.J.; WEBB, M.J. 1997. Forest plantations. In: Reuter, D. J.; Robinson, J. B. eds. *Plant analysis, an interpretation manual*. 2th. ed. Collingwood, CSIRO. pp. 505-561.
16. BONILLA, I. 2000. Introducción a la nutrición mineral de las plantas. Los elementos minerales. In: Azcón-Bieto, J.; Talón, M. eds. *Fundamentos de fisiología vegetal*. Barcelona, España, Mc Graw-Hill. pp. 113-129.
17. BRUSSA, C. 1994. *Eucalyptus*; especies de cultivo más frecuente en Uruguay y regiones de clima templado. Montevideo, Hemisferio Sur. 328 p.
18. CABRERA, J. 2004. Aplicaciones de calcio pre cosecha en uva de mesa (*Vitis vinífera* L.) Cvs. Moscatel de Hamburgo e Italia para exportación. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 79 p.
19. CALIFRA, A.; DURÁN, A. 2010. Suelos de aptitud forestal; criterios para selección, área de distribución, características morfológicas, físicas y químicas. In: *Jornadas de Actualización Técnica; 10 Años de Investigación en Producción Forestal (2010, Montevideo)*. Trabajos presentados. Montevideo, Facultad de Agronomía. pp. 1-5.

20. CARNEGIE, A.; ADES, P.; KEANE, P.; SMITH, I. 1994. Variation in susceptibility Eucalyptus globulus provenances to Mycosphaerella leaf disease. Canadian Journal of Forest Research. 24: 1751- 1757.
21. _____.; _____.; _____.; _____. 1998. Mycosphaerella disease of juvenile foliage in a eucalypts species and provenance trial in Victoria, Australia. Australian Forestry. 61:190–194
22. _____.; _____. 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.
23. _____. 2007a. 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.
24. _____.; BURGESS, T.; BEILHARZ, V.; WINGFIELD, M. 2007b. New species of Mycosphaerella from Myrtaceae in plantations and native forests in eastern Australia. Mycologia. 99: 461 – 474.
25. CHAVES, M.; PEREIRA, J. 2003. Respuestas de las plantas al estrés múltiple y la habilidad de enfrentarse a un ambiente cambiante. In: Reigosa, M.; Pedrol, N.; Sánchez, A. eds. La ecofisiología vegetal; una ciencia de síntesis. Madrid, Paraninfo. pp. 557 -601.
26. CHARDONNET, C.; L'HYVERNAY, A.; DONECHE, B. 1997. Effect of calcium treatment prior to *Botrytis cinerea* infection on the changes in pectic composition of grape berry. Physiological and Molecular Plant Pathology. 50: 213-218.
27. CHEEWANGKOON, R.; CROUS, P.; HYDE, K.; GROENWALD, J.; TO-ANAN, C. 2008. Species of Mycosphaerella and related anamorphs on Eucalyptus leaves from Thailand. Persoonia. 21: 77–91.
28. CHEN, T.; MURATA, N. 2011. Glycinebetaine protects plants against abiotic stress: mechanisms and biotechnological applications. Okazaki, Japon. Plant, Cell and Environment. 34: 1-20.

29. CORTINAS, M.; CROUS, P.; WINGFIELD, B.; WINGFIELD, M. 2006. Multilocus gene phylogenies and phenotypic characters distinguish two fungi previously identified as *Colletogloeopsis zuluensis* causing Eucalyptus cankers. *Studies in Mycology*. 55: 133 – 146.
30. CROUS, P; GROENEWALD, J.; MANSILLA, J.; HUNTER, G.; WINGFIELD, M. 2004. Phylogenetic reassessment of *Mycosphaerella* spp. and their anamorphs occurring on Eucalyptus I. *Studies in Mycology*. 50: 195-214.
31. _____.; BRAUN, U.; GROENEWALD, J. 2007. *Mycosphaerella* is polyphyletic. *Studies in Mycology*. 58: 1 – 32.
32. CRUCCI, M. 2007. Evaluación de DRIS y nivel crítico en el diagnóstico nutricional de *Eucalyptus grandis*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 60 p.
33. DEL PINO, A. 2011. Nutrición catiónica. Montevideo, Facultad de Agronomía. 30 p.
34. DOLDÁN, J.; FARIÑA, I.; TARIGO, F. 2008. Utilización de *Eucalyptus spp.* Alternativas de plantaciones uruguayas para pulpa Kraft. Montevideo, LATU-JICA. pp. 30-34 (Informe de investigación no. 3).
35. DURÁN, A.; GARCÍA, F. 2007. Suelos del Uruguay; origen, clasificación, manejo y conservación. Montevideo, Uruguay, Hemisferio Sur. t.2, 358 p.
36. ERRO, J.; BAIGORRI, R.; URRUTIA, O.; APARICIO-TEJO, P.; IRIGOYEN, I.; TORINO, S.; GARCIA-MINA, J. 2012. Complexed-superphosphate (CSP); chemical characterization, agronomical validation and structure-activity relationship. In: International Phosphorus Workshop (6th., 2010, Navarra). Proceedings. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60 (8): 2008-2017.
37. FAO. 1981 El Eucalyptus en la repoblación forestal. (en línea). Roma. pp. 1 - 50. Consultado ene. 2014. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/004/AC459S/AC459S00.htm>
38. _____. 2004. Estudio de tendencias y perspectivas del sector forestal en América Latina. Informe nacional Uruguay. (en línea). Roma. 9 p. (Documento de Trabajo). Consultado ene. 2014. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/007/j2807s/j2807s00.htm#TopOfPage>

39. FERRANDO, M.; ZAMALVIDE, J. 2010a. Fertilización boratada en Eucalyptus. In: Jornadas de Actualización Técnica; 10 Años de Investigación en Producción Forestal (2010, Montevideo). Trabajos presentados. Montevideo, Facultad de Agronomía. pp. 55-59.
40. _____. 2010b. Fertilización de eucalipto con boro, efecto sobre los contenidos foliares. Montevideo, Facultad de Agronomía. 54 p.
41. _____.; ZAMALVIDE, J. 2012. Aplicación de boro en Eucalipto; comparación de fuentes. Revista Árvore 36(6): 1191-1197.
42. FETT-NETO, A.; FETT, J.; VIEIRA GOULART, L.; TERMIGNONI, R.; FERREIRA, A. 2001. Distinct effects of auxin and light on adventitious root development in *Eucalyptus saligna* and *Eucalyptus globulus*. Tree Physiology. 21: 457-464.
43. FICHET, T. 2009. Bioestimulantes; bienvenidos al fruto-culturismo. (en línea). Santiago de Chile. pp. 1-2. Consultado feb. 2014. Disponible en <http://www.freshplaza.es/article/18590/Bioestimulantes-Bienvenidos-al-Fruto-Culturismo>
44. GALLO, L. 2012. Mejoramiento genético forestal. Montevideo, Facultad de Agronomía. 29 p.
45. GOLFARI, L. 1985. Distribución regional y condiciones ecológicas de los eucaliptos cultivados en Argentina; problemas inherentes. Centro de Investigaciones y Experiencias Forestales. Publicación Técnica no. 1. 19 p.
46. GRACIANO, C.; GOYA, J.; CALDIZ, D. 2004. Acumulación y distribución de materia seca en *Eucalyptus globulus* (Labill.) plantado en macetas con tres tipos de suelo y fertilizado con fósforo. Ecología Austral. 14: 53-63.
47. GRAUDAL, L. 1993. Introducción a los principios sobre diseño y evaluación de experimentos de mejoramiento genético forestal. Humlebaek, Dinamarca, s.e. 120 p. (Nota de clase no. 6).
48. HAVLIN, J.; TISDALE, S.; NELSON, W.; BEATON, J. 2014. Soil fertility and fertilizers; an introduction to nutrient management. New Jersey, United States of America, Pearson. 516 p.

49. HELGUERA, G.; LOMBARDO, A. 1953. Los eucaliptos en el primer centenario de su introducción en el Uruguay. *Almanaque del Banco de Seguros del Estado* 1953: 172-210.
50. HERNÁNDEZ, J.; DEL PINO, A.; ARRATE, G. 2010a. Cuantificación de la extracción y reciclaje de nutrientes en Eucaliptus. *In: Jornadas de Actualización Técnica; 10 Años de Investigación en Producción Forestal (2010, Montevideo). Trabajos presentados. Montevideo, Facultad de Agronomía.* pp. 20-24.
51. _____. 2010b. Evolución de parámetros químicos de suelo bajo forestación; acidez, bases, materia orgánica. *In: Jornadas de Actualización Técnica; 10 Años de Investigación en Producción Forestal (2010, Montevideo). Trabajos presentados. Montevideo, Facultad de Agronomía.* pp. 16-19.
52. HIRIGOYEN, A. 2011. Evaluación del daño causado por mancha foliar (*Teratosphaeria nubilosa*) en *Eucalyptus globulus* ssp. *globulus*, bajo dos tratamientos de fertilización. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 60 p.
53. HUNTER, G.; WINGFIELD, B.; CROUS, P.; WINGFIELD, M. 2006. A multi-gene phylogeny for species of *Mycosphaerella* occurring on *Eucalyptus* leaves. *Studies in Mycology.* 55: 147 – 161.
54. _____.; 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.
55. IGLESIAS, D.; TALÓN, M. 2008. Giberelinas. *In: Azcón-Bieto, J.; Talón, M. eds. Fundamentos de fisiología vegetal. Barcelona, España, Mc Graw-Hill.* pp. 399-420.
56. LUNDQUIST, J.; PURNELL, R. 1987. Effects of *Mycosphaerella* leaf spot on growth of *Eucalyptus nitens*. *Plant Disease.* 71: 1025 – 1029.
57. MANSILLA, P.; AGUÍN, O.; PINTOS, C.; OTERO, L. 2005. Ficha 37/05 (*Mycosphaerella nubilosa*). Pontevedra, Servicio Agrario. Estación Fitopatológica do Areiro. 20 p.

58. MAXWELL, A. 2004. The taxonomy, phylogeny and impact of *Mycosphaerella* species on Eucalypts in South-Western Australia. Perth, Western Australia, Murdoch University. 249 p.
59. MOLINA, E. 2002. Fertilización foliar de cultivos frutícolas. In: Meléndez, G.; Molina, E. eds. Memorias del Laboratorio de Suelos y Foliare. San José, Costa Rica, Centro de Investigaciones Agronómicas. pp. 82-100.
60. MORA, M.; BACAICOA, E.; ZAMARREÑO, A.; GARNICA, M.; GARCIA-MINA, J. 2009. Relationships among the growth promoting action of a purified humic acid and its effects on the nutritional status and hormonal balance of cucumber plants cultivated in hydroponics. Zaragoza, Spain, University of Navarra. Department of Chemistry and Soil Chemistry. 41 p.
61. OLD, K.; WINGFIELD, M.; QING YUAN, Z. A manual of diseases of Eucalypts in South-East Asia. Bogor, Indonesia, Center for International Forestry Research (CIFOR). 106 p.
62. PANDA, D.; PRAMANIK, K.; NAYAK, B.R. 2012. Use of sea weed extracts as plant growth regulators for sustainable agriculture. International Journal of Bio-resource and Stress Management. 3(3): 404-411.
63. PARK, R.; KEANE, P. 1982. Three *Mycosphaerella* species from leaf diseases of Eucalyptus. Transactions of the British Mycological Society. 79: 95-100.
64. _____.; _____.; WINGFIELD, M.; CROUS, P. 2000. Fungal diseases of Eucalypt foliage. In: Keane, P.; Kile, G.; Podger, F.; Brown, B. eds. Diseases and pathogens of eucalypts. Melbourne, CSIRO. pp. 163-175
65. PERDOMO, C.; CRUCCI, M. 2010. Respuesta de plantaciones de eucaliptos a la fertilización nitrogenada. In: Jornadas de Actualización Técnica; 10 Años de Investigación en Producción Forestal (2010, Montevideo). Trabajos presentados. Montevideo, Facultad de Agronomía. pp. 48-54.
66. PÉREZ, G.; SLIPPERS, B.; WINGFIELD, B.; FINKENAUER, E.; WINGFIELD, M. 2009a. *Mycosphaerella* leaf disease (MLD) outbreak on *Eucalyptus globulus* in Brazil caused by *Teratosphaeria* (*Mycosphaerella*) *nubilosa*. *Phytopathologia Mediterranea*. 48: 302-306.

67. _____.; HUNTER, G.; SLIPPERS, B.; PÉREZ, C.; WINGFIELD, B.; WINGFIELD, M. 2009b. *Teratosphaeria (Mycosphaerella) nubilosa*, the causal agent of Mycosphaerella leaf disease (MLD), recently introduced into Uruguay. *European Journal of Plant Pathology*. 125: 109-118.
68. PINKARD, E.; MOHAMMED, C. 2005. Photosynthesis of *Eucalyptus globulus* with Mycosphaerella leaf disease. *New Phytologist*. 170:119-127.
69. POTTS, B.; VAILLANCOURT, R.; JORDAN, G.; DUTKOWSKI, G.; DA COSTA E SILVA, J.; MCKINNON, G.; STEANE, D.; VOLKER, P.; LÓPEZ, G.; APIOLAZA, L.; YONGJUN, L.; MARQUES, C.; BORRALHO, N. 2004. Exploration of the *Eucalyptus globulus* gene pool. In: IUFRO Conference on Eucalyptus in a Changing World (2004, Aveiro, Portugal). Proceedings. Christchurch, New Zealand, University of Canterbury. School of Forestry. pp. 11-15.
70. RANGEL, G.; CASTRO, E.; BELTRAN, E.; REYES, H.; GARCÍA, E. 2010. El ácido salicílico y su participación en la resistencia a patógenos en plantas. *Biológicas*. 12 (2): 90-95
71. ROMERO, G.; MARIUS, N. 2002. Deficiencias de nutrientes en eucalyptus. Montevideo, Facultad de Agronomía. 9 p.
72. _____.; OLIVERA, V.; RODRÍGUEZ, D. 2013. Enfermedades forestales en el Uruguay. Montevideo, Facultad de Agronomía. 55 p.
73. SABORIO, F. 2002. Bioestimulantes en la fertilización foliar; principios y aplicaciones. In: Meléndez, G.; Molina, E. eds. *Memorias del Laboratorio de Suelos y Foliaves*. San José, Costa Rica, Centro de Investigaciones Agronómicas. pp. 107-124.
74. SEGURA, J. 2008a. Citoquininas. In: Azcón-Bieto, J.; Talón, M. eds. *Fundamentos de fisiología vegetal*. Barcelona, España, Mc Graw-Hill. pp. 421-444.
75. _____. 2008b. Introducción al desarrollo. Concepto de hormona vegetal. In: Azcón-Bieto, J.; Talón, M. eds. *Fundamentos de fisiología vegetal*. Barcelona, España, Mc Graw-Hill. pp. 349-376.
76. SIMETO, S. 2008. Enfermedades foliares causadas por especies de *Mycosphaerella*. In: *Día de Campo Forestal en Zona Sureste (2008)*,

Rocha). Textos. Tacuarembó, INIA. pp. 38-44 (Actividades de Difusión no. 542)

77. _____; BALMELLI, G.; MARTÍNEZ, G.; TORRES, D. 2009. *Teratosphaeria Nubilosa* (Cooke) Crous & Braun, agente causal de manchas necróticas y defoliación en *Eucalyptus* spp. Revista INIA. no. 20:51- 52.
78. SINGH, B. 2002. Fertilización foliar de cultivos con ácidos húmicos. In: Meléndez, G.; Molina, E. eds. Memorias del Laboratorio de Suelos y Foliare. San José, Costa Rica, Centro de Investigaciones Agronómicas. pp. 101-106.
79. SKOLMEN, R.; LEDIG, T. 1990. *Eucalyptus globulus* Labill. Bluegum eucalyptus. In: Burns, R.; Honkala, B. eds. Silvics of North America; 2. Hardwoods. Washington, D. C., USDA. Forest Service. pp. 299-304 (Agriculture Handbook no. 654).
80. SMITH, A. 2006. The development of strategies for the management and research of foliar pathogens on Eucalypt plantations; using *Mycosphaerella* as a case of study. Thesis PhD. Tasmania, Australia. University of Tasmania. School of Agricultural Science. 215 p.
81. STORINO, F. 2009. Efectos de la aplicación de distintos tipos de fertilizantes órgano-fosfatados sobre el sistema suelo-planta. Memoria de Investigación. Tesis de Maestría en Agrobiología Ambiental. Pamplona, España. Universidad de Navarra. 60 p.
82. SUBRAMANI, A.; ANBURANI, A.; GAYATHIRI, M. 2011. Response of growth parameters of radish (*Raphanus sativus* L.) to various organic nutrients and biostimulants. Asian Journal of Horticulture. 6(1): 32-34.
83. TINAUT, M.; ESPINOSA, F. 2003. Jasmonatos y salicilatos; fitohormonas clave en la reacciones de defensa de las plantas y de comunicación en el ecosistema. In: Reigosa, M.; Pedrol, N.; Sánchez, A. eds. La ecofisiología vegetal; una ciencia de síntesis. Madrid, Paraninfo. pp. 633-724.
84. TISDALE, S.; NELSON, W. 1970. Fertilidad de los suelos y fertilizantes. Barcelona, Montaner y Somon. 700 p

85. TURNBULL, J. 2000. Economic and social importance of Eucalypts. In: Keane, P. J.; Kile, G. A.; Podger, F. D.; Brown, B. N. eds. Diseases and pathogens of eucalypts. Melbourne, CSIRO. pp. 1-7.
86. UPM Forestal Oriental. 2012. Informe de responsabilidad social y ambiental 2012. Montevideo, Mastergraf. 38 p.
87. URUGUAY. MINISTERIO DE GANADERÍA AGRICULTURA Y PESCA. DIRECCIÓN DE ESTADÍSTICAS AGROPECUARIAS. 2013. Anuario estadístico agropecuario. (en línea). Montevideo. 270 p. Consultado ene. 2014. Disponible en http://www.mgap.gub.uy/Dieaanterior/Anuario2013/DIEA_Anuario_2013.pdf
88. WINGFIELD, M. 1990. Current status and future prospects of forest pathology in South Africa. South African Journal of Science. 86: 60-62
89. ZACARIAS, L.; LAFUENTE, M. 2008. Etileno, ácido abscísico y otros reguladores del desarrollo. In: Azcón-Bieto, J.; Talón, M. eds. Fundamentos de fisiología vegetal. Barcelona, España, Mc Graw-Hill. pp. 445-466.
90. ZAMALVIDE, J.; FERRANDO, M. 2004. Respuesta a la fertilización fosfatada al transplante en *Eucalyptus globulus* y *grandis*. Montevideo, Facultad de Agronomía. 15 p.
91. _____; _____. 2010. Algunas consideraciones generales en relación al tema "Fertilización de Eucalyptus". In: Jornadas de Actualización Técnica; 10 Años de investigación en Producción Forestal (2010, Montevideo). Trabajos presentados. Montevideo, Facultad de Agronomía. pp. 38-47.
92. ZAMARREO, A.; CANTERA, R.; GARCIA-MINA, M. 1997. Extraction and determination of glycinebetaine in liquid fertilizers. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 45 (3): 774-776.

9. ANEXOS

ANEXO I. Datos dasométricos

Primera medición: 6 meses luego del trasplante

Bloque	Trat Parc Gr	Promedio Altura	Promedio Diámetro
1	1	122,29	29,29
1	2	114,89	24,11
2	1	114,35	23,29
2	2	95,58	20,24
3	1	108,74	25,54
3	2	87,58	18,48

Segunda medición: 12 meses luego del trasplante

Parcela	Bloque	Trat Parc Gr	Trat Parc Ch	Altura 2	Diámetro 2
1	1	1	1	158,1	35,5
2	1	1	3	138,8	30,9
3	1	1	2	166,2	39,7
4	1	2	1	157,6	37,4
5	1	2	3	143,7	33,7
6	1	2	4	144,6	38,2
7	1	2	2	145,4	34,9
8	2	1	3	140,8	28,8
9	2	1	1	134,5	26,8
10	2	1	2	162,6	38,3
11	2	2	1	132,7	26,0
12	2	2	3	153,3	34,9
13	2	2	2	132,6	31,6
14	2	2	4	121,8	28,7
15	3	1	1	146,6	34,3
16	3	1	2	145,4	33,9
17	3	1	3	141,5	34,0
18	3	2	1	124,4	24,1
19	3	2	4	104,3	22,6
20	3	2	3	109,2	23,3
21	3	2	2	101,4	20,9

ANEXO II. Contenidos de nutrientes foliares

Primer muestreo: 6 meses luego del trasplante

MESES	M	B	PG	PC	N	P	Ca	Mg	K	Fe	Cu	Zn	B
					%					ppm			
6	1	0	0	0	1,20	0,09	0,87	0,28	0,58	63	7	19	28
6	2	1	2	0	1,29	0,10	0,61	0,22	0,52	39	4	18	58
6	3	1	1	0	1,32	0,10	0,60	0,22	0,54	42	3	21	75
6	4	2	2	0	1,34	0,12	0,71	0,24	0,65	43	4	23	102
6	5	2	1	0	1,20	0,13	0,67	0,24	0,73	54	4	22	95
6	6	3	2	0	1,29	0,12	0,75	0,25	0,83	58	4	21	114
6	7	3	1	0	1,43	0,10	0,95	0,3	0,56	50	3	18	163

Segundo muestreo: 12 meses luego del transplante

MESES	M	B	PG	PC	N	P	Ca	Mg	K	Fe	Cu	Zn	B
					%					ppm			
12	1	1	1	1	2,07	0,21	0,38	0,16	0,87	61	7	27	33
12	2	1	1	3	2,13	0,21	0,44	0,17	0,95	54	7	27	48
12	3	1	1	2	2,35	0,21	0,46	0,16	0,94	54	8	33	21
12	4	1	2	1	2,07	0,19	0,39	0,17	1,01	52	8	22	37
12	5	1	2	3	1,87	0,17	0,43	0,17	0,92	43	8	26	30
12	6	1	2	4	1,93	0,20	0,46	0,16	0,80	42	7	28	30
12	7	1	2	2	2,24	0,21	0,45	0,16	1,00	53	6	27	18
12	8	2	1	3	2,04	0,21	0,49	0,2	0,97	50	7	30	28
12	9	2	1	1	1,76	0,18	0,54	0,21	1,16	66	7	26	29
12	10	2	1	2	2,21	0,21	0,46	0,17	1,00	46	6	25	39
12	11	2	2	1	1,93	0,21	0,47	0,18	0,90	42	6	20	28
12	12	2	2	3	2,04	0,25	0,39	0,16	1,04	57	6	32	31
12	13	2	2	2	2,35	0,24	0,61	0,17	0,92	32	8	32	41
12	14	2	2	4	2,18	0,22	0,42	0,14	0,94	57	6	28	36
12	15	3	1	1	2,24	0,12	0,26	0,11	0,38	23	4	24	19
12	16	3	1	2	2,13	0,23	0,51	0,15	1,06	43	7	31	38
12	17	3	1	3	2,04	0,22	0,57	0,16	0,97	44	8	34	38
12	18	3	2	1	2,46	0,22	0,47	0,16	0,99	39	7	33	33
12	19	3	2	4	2,29	0,25	0,44	0,15	0,88	43	7	36	28
12	20	3	2	3	2,29	0,22	0,53	0,18	0,79	45	8	34	44
12	21	3	2	2	2,43	0,27	0,57	0,16	0,92	36	7	36	53

Tercer muestreo: 15 meses luego del transplante

MESES	M	B	PG	PC	N	P	Ca	Mg	K	Fe	Cu	Zn	B
					%					ppm			
15	1	1	1	1	1,37	0,09	0,90	0,22	0,53	35	5	16	37
15	2	1	1	3	1,73	0,15	1,00	0,25	0,58	35	8	26	14
15	3	1	1	2	1,40	0,10	0,85	0,24	0,47	44	6	23	43
15	4	1	2	1	1,65	0,12	0,81	0,21	0,57	39	7	23	48
15	5	1	2	3	1,32	0,10	0,95	0,23	0,43	55	5	21	19
15	6	1	2	4	1,54	0,11	0,93	0,25	0,57	43	7	23	20
15	7	1	2	2	1,54	0,10	0,88	0,25	0,49	60	6	22	29
15	8	2	1	3	1,23	0,10	0,89	0,24	0,60	61	5	17	29
15	9	2	1	1	1,15	0,12	0,76	0,2	0,45	48	7	17	45
15	10	2	1	2	1,26	0,12	1,10	0,27	0,67	57	6	19	39
15	11	2	2	1	1,46	0,09	0,95	0,26	0,58	56	6	16	49
15	12	2	2	3	1,48	0,10	1,23	0,29	0,50	56	5	16	57
15	13	2	2	2	1,40	0,11	1,26	0,26	0,71	49	7	13	59
15	14	2	2	4	1,34	0,14	0,85	0,23	0,73	65	7	21	37
15	15	3	1	1	1,29	0,12	0,96	0,23	0,55	109	5	19	41
15	16	3	1	2	1,46	0,12	0,99	0,24	0,56	50	5	18	33
15	17	3	1	3	1,18	0,13	1,14	0,22	0,64	66	5	21	41
15	18	3	2	1	1,46	0,15	0,97	0,23	0,76	54	6	20	47
15	19	3	2	4	1,43	0,12	1,05	0,25	0,67	118	5	20	44
15	20	3	2	3	1,26	0,13	1,01	0,32	0,66	214	6	22	55
15	21	3	2	2	1,23	0,12	0,91	0,27	0,59	56	6	21	52

ANEXO III. Sumatorias de altura para comparación entre Testigo, Fertileader® y Nitrofoska®, a los 12 meses del transplante

TRATAMIENTOS	Sumatoria de Alturas (m)
Testigo	2051,67
Fertileader®	2141,00
Nitrofoska®	2162,00
CONTRASTES	p-valor
Testigo vs. All	0,762
Fertileader® vs. Nitrofoska®	0,956
CV %	20,58
Error Estándar	251,74