



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DIVISIÓN DE CIENCIAS FORESTALES

ETIOLOGÍA Y SÍNDROME DE LOS CANCROS
Botryodiplodia, Cryphonectria y Fusicoccum EN
PLANTAS Y VARETAS DE EUCALIPTO
(Eucalyptus camaldulensis Dehnh)

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIAS
FORESTALES**

PRESENTA:

JUAN CRUZ AVILÉS

BIBLIOTECA DIVISION DE CIENCIAS FORESTALES

**Chapingo, Texcoco, Edo. de México
Agosto del 2000**



DIRECCIÓN GENERAL DE
DEPTO. DE EDUCACIÓN Y CULTURA
OFICINA DE EXAMENES Y TÍTULOS



ETIOLOGÍA Y SÍNDROME DE LOS CANCROS *Botryodiplodia*, *Cryphonectria* y *Fusicoccum* EN PLANTAS Y VARETAS DE EUCALIPTO (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh).

Tesis realizada por **Juan Cruz Avilés** bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIAS FORESTALES

DIRECTOR:



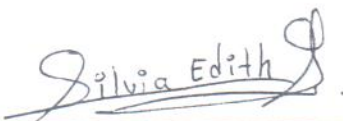
Dr. David Cibrián Tovar

ASESOR:



Dr. Hugo Ramírez Maldonado

ASESOR:



M. C. Silvia Edith García Díaz

ETIOLOGÍA Y SÍNDROME DE LOS CANCROS *Botryodiplodia*, *Cryphonectria* y *Fusicoccum* EN PLANTAS Y VARETAS DE EUCALIPTO (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh).

El jurado que revisó y aprobó el examen de grado de **Juan Cruz Avilés** autor de la presente tesis de Maestría en Ciencias en Ciencias Forestales estuvo constituido por:

PRESIDENTE:



Dr. David Cibrián Tovar

ASESOR:



Dr. Hugo Ramírez Maldonado

ASESOR:



M. C. Silvia Édith García Díaz

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo y en particular a la División de Ciencias Forestales por permitirme integrarme a su posgrado y dotarme de conocimientos técnicos y científicos especializados, herramientas que me permiten concluir una etapa profesional en el campo forestal.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por brindarme los apoyos económicos fundamentales para el proceso capacitación, acciones que engrandecen a nuestro pueblo.

En forma especial hago un reconocimiento a la Reserva Natural Xochitla por patrocinar y brindarme el tiempo necesario, facilidades por las que estoy muy agradecido, mil gracias por dar la oportunidad a personas que al igual que ellos desarrollan trabajos en pro de un ambiente mejor para todos y quienes me han enseñado a amar más a los árboles.

Al Departamento de Entomología y Patología Forestal de la DiCiFo, caracterizado por su fructífera labor en el campo de la Salud Forestal Nacional, por las facilidades brindadas para el uso de sus instalaciones.

Al Dr. David Cibrián Tovar, amigo que respeto y cuyo ejemplo trato de seguir, por la acertada dirección y entera disposición en el presente trabajo.

Al Dr. Hugo Ramírez Maldonado, maestro de rectitud y de enseñanza, por su apoyo incondicional mostrado en la parte estadística,

A la M. C. Silvia Edith García Díaz, por su apoyo en el laboratorio y por sus consejos atinados, que sentaron las bases sólidas en esta línea de investigación.

A la ilustradora Leticia Arango, por su gentileza mostrada en el armado de las fotocomposiciones.

Al Ing. Rodolfo Campos B., al Ing. Tulio Méndez M., al M. C. Jairo Cristobal A., a María Marcos Mtz., Wenceslao Sánchez y Rosalío Mejía, amigos todos ellos, por sus consejos y apoyo en el invernadero y laboratorio. Al Ing. Reyes Bonilla por albergar el material experimental utilizado en la presente tesis.

DEDICATORIA

A mis padres Aurelio y Socorro por brindarme gran parte importante de su vida, inculcándome el deseo de superación y que gracias a sus esfuerzos, ejemplo, dedicación y cariño que he recibido en todo momento, me han sabido guiar para lograr otra de mis metas; por ello me siento orgulloso de compartir juntos el presente triunfo.

A mis hermanas Silvia, Albina H., Lilia y Erendida: a quienes quiero mucho, porque con ellas he compartido momentos difíciles y de alegría, sus sonrisas recuerdo siempre, y a mis hermanos: José, Refugio, Andrés, Adán, Ramón y Celso les agradezco sus constantes palabras de aliento para sacar adelante el presente trabajo.

A la Biol. Lorena Martínez Glz. por su linda amistad y decidido apoyo para la realización del presente trabajo y de quién aprendí que la amistad no necesita de estaciones para florecer.

A mis amigos y compañeros de la maestría: Martín Santiago, Juana Fonseca, Roberto Machuca, Tamarit Urias, Enrique Buendia, Noé Santa Cruz, Angel Leyva, Moisés García, Isidro Lazcano, Ambrosio y Oscar Trejo, gracias por su invaluable amistad.

DATOS BIOGRÁFICOS

El autor nació el día 10 de marzo de 1970, en el Hospital Central Militar de la Ciudad de México, D. F. Desde muy pequeño radica en la Heroica Ciudad de Santa María Asunción Tlaxiaco, perteneciente a la Región Mixteca Alta del estado de Oaxaca, en este lugar realizó sus primeros estudios en la Escuela Primaria Vespertina "José Domingo Vázquez"; y en el año de 1982 ingresó a la Escuela Secundaria Técnica No 36 de la misma ciudad, culminando sus estudios de secundaria en 1985.

Para el año de 1986, se incorporó a la Preparatoria Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo, y en 1989 elige la licenciatura y forma parte de la comunidad de la División de Ciencias Forestales, egresando de la misma en julio de 1993 como Ingeniero Forestal con Orientación en Silvicultura.

En mayo de 1994, realizó su Servicio social con un programa denominado "Diseño y Construcción de áreas verdes de dos Instituciones de Enseñanza Pública", ambas pertenecientes al Municipio de Nexquipayac, Atenco en el estado de México.

Durante los años 1994-1995, realizó trabajos de investigación referentes al ciclo de vida, control químico y biológico del insecto descortezador del pino *Dendroctonus frontalis*, en la Región Mixteca Alta del estado de Oaxaca.

De diciembre de 1994 a junio de 1996, se integró a la empresa privada Integración Forestal del Sur "INFOSUR" en el estado de Oaxaca, desempeñando funciones de Director y Asesor Técnico en Programas de Sanidad Forestal.

En junio de 1997, obtuvo el Título de Ingeniero Forestal, sustentando la tesis titulada "Evaluación del insecticida deltametrina en el control del insecto descortezador *Dendroctonus frontalis* Zimm en Tlaxiaco, Oaxaca. En agosto de ese mismo año, decidió ingresar al Programa de Maestría en Ciencias en Ciencias Forestales de la División de Ciencias Forestales en la Universidad Autónoma Chapingo.

Durante 1999-2000, realiza trabajos independientes relacionados con el campo de la Salud Forestal. Entre otras actividades, se encuentra la asistencia a Seminarios y Cursos de Capacitación relacionadas con el ámbito forestal. Actualmente es socio fundador de la Asociación Mexicana de Arboricultura (AMA) y miembro de la Sociedad Internacional de Arboricultura (ISA).

RESUMEN

ETIOLOGÍA Y SÍNDROME DE LOS CANCROS *Cryphonectria*, *Botryodiplodia* y *Fusicoccum* EN PLANTAS Y VARETAS DE EUCALIPTO (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh).

Cruz Avilés Juan M. C.

División de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo

Agosto del 2000

(Bajo la dirección del Dr. David Cibrián Tovar)

En Chapingo, México en 1999 y 2000, se hicieron pruebas de patogenicidad de los hongos *Cryphonectria cubensis*, *Botryodiplodia theobromae* y *Fusicoccum* sp con cepas de estos hongos se hicieron inoculaciones en plantas de *Eucalyptus camaldulensis* que tenían dos años de edad; las plantas se mantuvieron en condiciones de invernadero, bajo un rango de temperaturas de 25-29°C y condiciones de alta humedad ambiental. La inoculación de las cepas de los hongos mencionados se hizo en la parte baja y alta del tronco y se utilizaron métodos de inserción y punción. *Botryodiplodia theobromae* requirió de 7-12 días para manifestar la primera aparición de picnidios y de 12-15 días para la emisión inicial de conidios, el hongo causó la muerte de la planta en 2 meses, en ese mismo tiempo colonizó todo el tronco. *Cryphonectria cubensis* requirió de 57-63 días para causar la muerte del árbol, a los 33-56 días de la inoculación se presentó la formación de picnidios y a los 56-60 días después la liberación de conidios. *Fusicoccum* sp. causó la muerte de la planta inoculada en 63 días y requirió de 50-54 días para la formación de picnidios y de 60-63 días la primera emisión de conidios. En cada uno de estos hongos se realizó mediciones de picnidios y conidios, éstas se compararon con las mencionadas en la literatura y se concluyó con la corroboración de las especies y el género mencionados.

Como fase previa a la inoculación en planta viva, se hicieron inoculaciones de los tres hongos en varetas recién cortadas y mantenidas a una temperatura constante de 29°C. Se compararon los tiempos de desarrollo y los tamaños de las estructuras reproductivas.

PALABRAS CLAVE: cancro, síndrome, métodos de inoculación, *Eucalyptus camaldulensis*

ABSTRACT

ETIOLOGY AND SYNDROME OF *Cryphonectria*, *Botryodiplodia* AND *Fusicoccum* CANKERS IN TREES AND SHORT PIECES OF EUCALYPTUS STEMS (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh).

Cruz Avilés Juan M. C.

División de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo

August of 2000

(Under the direction of Dr. David Cibrián Tovar)

In 1999 and 2000, in Chapingo Mexico, sets of pathogenicity test were developed. Cultures of *Cryphonectria cubensis*, *Botryodiplodia theobromae* and *Fusicoccum* sp were inoculated in trees of *Eucalyptus camaldulensis*. Trees young two years old. Were kept under greenhouse conditions, the temperature range was from 25-29°C and high humidity environment was maintained. The inoculations were made at two positions, one in the base and the other in the top of the tree stems. *Botryodiplodia theobromae* required an average of 7-12 days to show the pycnidia and 12-15 days for the first conidia release, the inoculated tree were died in two months and the entire stem of the tree were occupied by the fungi in that time. *Cryphonectria cubensis* required of 33-56 days from the inoculations date to show the first pycnidia, and of 56-60 days to release the conidia. The death of inoculated trees was evident of 57-63 days after inoculations. *Fusicoccum* sp needed of 50-54 days to generate the first pycnidia and 60-63 days to release conidia. The inoculated trees become dead in 63 days. Measures of pycnidia and conidia of the three fungi were taken and comparisons with others mentioned in literature were made, become no differences in sizes and shapes were found between then it was concluded that the studied fungi belongs to the two species and the genus mentioned.

As a previous work, small piece of cultures were inoculated in short pieces of eucalyptus stems, these stems were kept in constant temperature of 29°C. Comparisons between developments times and sizes of reproductive structures were made.

KEYWORDS: canker, syndrome, methods of inoculation, *Eucalyptus camaldulensis*

Contenido

	Página
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	viii
Índice de cuadros.....	xviii
Índice de figuras.....	xxiii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
2.1. Objetivos Generales.....	3
2.2. Objetivos Específicos.....	3
3. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
3.1. Importancia del género <i>Eucalyptus</i>	5
3.1.1. Distribución.....	6
3.1.2. Usos.....	7
3.2. Descripción general de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh.....	8
3.2.1. Características sobresalientes.....	8
3.2.2. Lugar de origen.....	8
3.2.3. Distribución.....	9
3.2.4. Descripción.....	9
3.2.5. Hojas.....	10

3.2.6. Flores.....	10
3.2.7. Frutos.....	11
3.2.8. Corteza.....	11
3.2.9. Usos.....	11
3.2.10. Factores limitantes.....	12
3.3. Cancros.....	13
3.3.1. Definición.....	13
3.4. Principio de compartimentación.....	20
3.5. Cancro del eucalipto: <i>Fusicoccum aesculi</i> (Deuteromycotina: Sphaeropsidales).....	21
3.5.1. Telemorfo.....	21
3.5.2. Anamorfo.....	22
3.5.3. Distribución.....	22
3.5.4. Hospedantes.....	22
3.5.5. Síntomas.....	23
3.5.6. Diagnósis de la enfermedad.....	23
3.5.7. Ciclo de la enfermedad.....	24
3.5.8. Características morfológicas.....	24
3.5.9. Importancia actual y futura de la enfermedad.....	25
3.5.10. Manejo de la enfermedad.....	26
3.6. Cancro del eucalipto: <i>Botryosphaeria rhodina</i> (Berk. & Curt.) Von Arx. <i>Lasiodiplodia</i> (= <i>Botryodiplodia</i>) <i>Botryodiplodia theobromae</i> Patouillard (Deuteromycotina: Sphaeropsidales).....	26

3.6.1. Telemorfo.....	27
3.6.2. Anamorfo.....	27
3.6.3. Características morfológicas.....	27
3.6.4. Distribución.....	29
3.6.5. Hospedantes.....	30
3.6.6. Daños	31
3.6.7. Síntomas.....	32
3.6.8. Condiciones que favorecen al patógeno.....	34
3.6.9. Ciclo de la enfermedad.....	35
3.6.10. Control.....	36
3.7. Cancro del eucalipto <i>Cryphonectria cubensis</i> Bruner (DIAPHORTALES: VALSACEAE).....	37
3.7.1. Agente causal.....	37
3.7.2. Significancia.....	38
3.7.3. Distribución.....	39
3.7.4. Hospedantes.....	41
3.7.5. Detección.....	42
3.7.6. Síntomas de la enfermedad.....	43
3.7.7. Condiciones que favorecen al patógeno.....	45
3.7.8. Requerimientos para su desarrollo <i>in vitro</i>	47
3.7.9. Características morfológicas.....	49
3.7.10. Daños.....	50
3.7.11. Control.....	52

4. MATERIALES Y METODOS.....	54
4.1. Descripción general de áreas de estudio.	55
4.1.1. Reserva Natural Xochitla.....	55
4.1.2. Plantaciones Industriales Mexicanas de la empresa COPAMEX S. A. de C. V. Acaponeta Nayarit.....	56
4.1.3. Plantaciones de PLANFOSUR en Las Choapas Veracruz....	56
4.1.4. División de Ciencias Forestales.....	57
4.2. Recorridos de Campo.....	58
4.3. Colecta de material vegetativo.....	59
4.4. Manejo del material vegetativo.....	59
4.5. Preservación y traslado de material colectado.....	60
4.6. Descripción de sintomatología.....	60
4.7. Procesamiento del material vegetativo.....	60
4.8. Procedimiento de aislamiento y purificación.....	61
4.9. Elaboración de preparaciones.....	64
4.10. Pruebas de patogenicidad.....	65
4.11. Inoculación.....	65
4.12. Métodos de inoculación a realizar.....	66
4.13. Preparación del material experimental para la inoculación artificial.....	67
a) Inoculación a árboles de <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	67
b) Inoculación a varetas de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> colocadas en cámara húmeda.....	70

4.14. Experimento factorial en un diseño experimental	
completamente al azar.....	71
a) Diseño experimental para las varetas de eucalipto.....	72
b) Diseño experimental para las plantas de eucalipto.....	75
4.15. Incubación.....	77
a) Varetas de eucalipto en cámara húmeda.....	78
b) Plantas de eucalipto en condiciones de invernadero.....	78
4.16. Descripción de síntomas y signos.	79
4.17. Identificación del agente causal.....	80
4.18. Reaislamientos de hongos inoculados.....	80
4.19. Elaboración de preparaciones.....	81
4.20. Medición de estructuras.....	81
4.21. Análisis estadístico.....	82
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	83
5.1. Descripción de sintomatología de muestras colectadas en	
campo.....	83
5.1.1. Muestras colectadas en la Reserva Natural Xochitla.	83
5.1.2. Muestras de las Plantaciones forestales de Acaponeta	
Nayarit.....	84
5.1.3. Muestras de las Plantaciones forestales de Las Choapas	
Veracruz.....	84
5.2. Procesamiento del material vegetativo.....	85
5.2.1. Aislamientos obtenidos.....	85

a) Aislamientos del cancro <i>Botryodiplodia</i>	86
b) Aislamientos del cancro <i>Fusicoccum</i>	87
c) Aislamientos del cancro <i>Cryphonectria</i>	88
5.2.2. Elaboración de preparaciones.	90
5.3. Pruebas de patogenicidad.	92
5.3.1. Descripción de signos y síntomas.	92
5.3.1.1. Descripción de signos y síntomas en plantas de <i>E.</i> <i>camaldulensis</i> inoculadas.....	92
1) Plantas Testigo inoculadas con medio de cultivo PDA.....	93
a) Por método de Punción en la parte Alta.....	93
b) Por método de Punción en la parte Baja.....	93
c) Por método de Inserción en la parte Alta.....	94
d) Por método de Inserción en la parte Baja.....	95
2) Plantas inoculadas con el cancro <i>Botryodiplodia</i>	95
a) Por método de Punción en la parte Alta.....	95
b) Por método de Punción en la parte Baja.....	96
c) Por método de Inserción en la parte Alta.....	98
d) Por método de Inserción en la parte Baja.....	98
3) Plantas inoculadas con el cancro <i>Fusicoccum</i>	99
a) Por método de Inserción en la parte Alta.....	99
b) Por método de Inserción en la parte Baja.....	101
c) Por método de Punción en la parte Alta.....	102

d) Por método de Punción en la parte Baja.....	102
4) Plantas inoculadas con el cancro <i>Cryphonectria</i>	103
a) Por método de Inserción en la parte Alta.....	103
b) Por método de Inserción en la parte Baja.....	104
c) Por método de Punción en la parte Alta.....	105
d) Por método de Punción en la parte Baja.....	106
5.3.1.2. Descripción de signos y síntomas en varetas de <i>E.</i> <i>camaldulensis</i> inoculadas.....	113
1) Varetas Testigo inoculadas con medio de cultivo PDA.....	113
a) Por el método de Inserción.....	113
b) Por el método de Punción.....	113
2) Varetas inoculadas con el cancro <i>Botryodiplodia</i>	114
a) Por el método de Inserción.....	114
b) Por el método de Punción.....	115
3) Varetas inoculadas con el cancro <i>Fusicoccum</i>	116
a) Por el método de Inserción.....	116
b) Por el método de Punción.....	116
4) Varetas inoculadas con el cancro <i>Cryphonectria</i>	117
a) Por el método de Inserción.....	117
b) Por el método de Punción.....	119
5.4. Determinación de cada uno de los agentes causales de enfermedad.....	124

5.4.1. Reaislamientos.....	124
5.4.2. Elaboración de preparaciones.....	126
5.4.3. Medición de estructuras de reproducción.....	131
5.4.3.1. Medición de picnidios.....	131
5.4.3.2. Medición de conidios.....	139
5.4.3.3. Análisis de varianza realizado a los tamaños de picnidios obtenidos en los tres cancros de estudio....	148
a) Tamaños de picnidios del cancro <i>Botryodiplodia</i>	149
b) Tamaños de picnidios del cancro <i>Fusicoccum</i>	151
c) Tamaños de picnidios del cancro <i>Cryphonectria</i>	153
5.4.3.4. Análisis de varianza realizado a los tamaños de conidios obtenidos en los tres cancros de estudio....	155
a) Tamaños de conidios del cancro <i>Botryodiplodia</i>	156
b) Tamaños de conidios del cancro <i>Fusicoccum</i>	157
c) Tamaños de conidios del cancro <i>Cryphonectria</i>	159
5.4.4. Determinación del agente causal.....	161
a) Identificación del cancro <i>Botryodiplodia</i>	161
b) Identificación del cancro <i>Fusicoccum</i>	163
c) Identificación del cancro <i>Cryphonectria</i>	164
5.5. Descripción de avances de lesión desarrollados en varetas de eucalipto inoculadas.....	166
5.6. Porcentajes de infección desarrollados en las plantas, con dos métodos y dos partes de inoculación.....	168

5.7. Análisis de varianza realizado a los índices de lesión obtenidos para cada uno de los cancros, inoculados con dos métodos en las varetas de eucalipto.....	169
a) Cancro <i>Botryodiplodia</i>	169
b) Cancro <i>Cryphonectria</i>	170
c) Cancro <i>Fusicoccum</i>	171
5.8. Análisis de varianza realizado a los índices de lesión desarrollados por los tres cancros, inoculados con dos métodos en las varetas de eucalipto.....	171
5.9. Análisis de varianza realizado a los índices de lesión obtenidos para cada uno de los cancros, inoculados con dos métodos y dos partes de inoculación en los árboles de eucalipto.....	174
a) Cancro <i>Botryodiplodia</i>	174
b) Cancro <i>Fusicoccum</i>	175
c) Cancro <i>Cryphonectria</i>	176
d) Cancro <i>Cryphonectria</i>	177
5.10. Análisis de varianza realizado a los índices de lesión desarrollados por los tres cancros y un testigo, con dos métodos y dos partes de inoculación en los árboles de eucalipto.....	179
6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	181
7. LITERATURA CITADA.....	184
8. ANEXOS.....	189

Índice de cuadros

Cuadro	Página
1. Número de tratamientos y repeticiones para el establecimiento de las pruebas de patogenicidad en varetas de <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	74
2. Número de tratamientos y repeticiones para el establecimiento de las pruebas de patogenicidad en plantas de <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	76
3. Características morfológicas del reisolamiento obtenido de tejidos infectados con el cancro <i>Botryodiplodia</i> provenientes de varetas y plantas de eucalipto inoculadas artificialmente.....	124
4. Características morfológicas del reisolamiento obtenido de tejidos infectados con el cancro <i>Fusicoccum</i> provenientes de varetas y plantas de eucalipto inoculadas artificialmente.....	125
5. Características morfológicas del reisolamiento obtenido de tejidos infectados con el cancro <i>Cryphonectria</i> provenientes de varetas y plantas de eucalipto inoculadas artificialmente.....	126
6. Medición de picnidios obtenidos del material colectado en campo e infectado con el cancro <i>Botryodiplodia</i> , en la especie de <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	132
7. Medición de picnidios obtenidos del crecimiento del hongo sembrado en el medio de cultivo PDA y que sirvió para la inoculación artificial con el cancro <i>Botryodiplodia</i>	133
8. Medición de picnidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro <i>Botryodiplodia</i> , en varetas inoculadas artificialmente de <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	133
9. Medición de picnidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro <i>Botryodiplodia</i> , en plantas inoculadas artificialmente de <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	134

Cuadro	Página
10. Medición de picnidios obtenidos del material colectado en forma original e infectado con el cancro <i>Cryphonectria</i> , en la especie de <i>Eucalyptus grandis</i>	134
11. Medición de picnidios obtenidos del crecimiento del hongo sembrado en el medio de cultivo PDA y que sirvió para la inoculación artificial con el cancro <i>Cryphonectria</i>	135
12. Medición de picnidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro <i>Cryphonectria</i> , en varetas inoculadas artificialmente de <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	135
13. Medición de picnidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro <i>Cryphonectria</i> , en plantas inoculadas artificialmente de <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	136
14. Medición de picnidios obtenidos del material colectado en forma original e infectado con el cancro <i>Fusicoccum</i> , en la especie de <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	137
15. Medición de picnidios obtenidos de los aislamientos y purificaciones del cancro <i>Fusicoccum</i> sembrado en el medio de cultivo PDA y que sirvió para la inoculación artificial.....	137
16. Medición de picnidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro <i>Fusicoccum</i> , en varetas inoculadas artificialmente de <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	138
17. Medición de picnidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro <i>Fusicoccum</i> , en plantas inoculadas artificialmente de <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	138
18. Medias de "altura" de picnidios obtenidos para el cancro <i>Botryodiplodia</i> en los diferentes hospedantes y su agrupamiento de acuerdo a la prueba Tukey al 95% de confiabilidad.....	149
19. Medias de "ancho" de picnidios obtenidos para el cancro <i>Botryodiplodia</i> en los diferentes hospedantes y su agrupamiento de acuerdo a la prueba Tukey al 95% de confiabilidad.....	150
20. Medias de "grosor de pared" de picnidios obtenidos para el cancro <i>Botryodiplodia</i> en los diferentes hospedantes y su agrupamiento de acuerdo a la prueba Tukey al 95% de confiabilidad.....	150

Cuadro	Página
21. Medias de "altura" de picnidios obtenidos para el cancro <i>Fusicoccum</i> en los diferentes hospedantes y su agrupamiento de acuerdo a la prueba Tukey al 95% de confiabilidad.....	151
22. Medias de "ancho" de picnidios obtenidos para el cancro <i>Fusicoccum</i> en los diferentes hospedantes y su agrupamiento de acuerdo a la prueba Tukey al 95% de confiabilidad.....	152
23. Medias de "grosor de pared" de picnidios obtenidos para el cancro <i>Fusicoccum</i> en los diferentes hospedantes y su agrupamiento de acuerdo a la prueba Tukey al 95% de confiabilidad.....	152
24. Comparaciones entre hospedantes para la variable "altura" de picnidios obtenidos para el cancro <i>Cryphonectria</i>	154
25. Comparaciones entre hospedantes para la variable "ancho" de picnidios obtenidos para el cancro <i>Cryphonectria</i>	154
26. Comparaciones entre hospedantes para la variable "grosor de pared" de picnidios obtenidos para el cancro <i>Cryphonectria</i>	155
27. Largo de conidios obtenidos de <i>Botryodiplodia</i> en los diferentes hospedantes y su agrupamiento de acuerdo a la prueba Tukey al 95% de confiabilidad.....	156
28. Ancho de conidios obtenidos de <i>Botryodiplodia</i> en los diferentes hospedantes y su agrupamiento de acuerdo a la prueba Tukey al 95% de confiabilidad.....	157
29. Largo de conidios de <i>Cryphonectria</i> en los diferentes hospedantes y su agrupamiento de acuerdo a la prueba Tukey al 95% de confiabilidad.....	158
30. Medias de "ancho" de conidios para el cancro <i>Cryphonectria</i> en los diferentes hospedantes y su agrupamiento de acuerdo a la prueba Tukey al 95% de confiabilidad.....	159
31. Largo de conidios obtenidos para el cancro <i>Fusicoccum</i> en los diferentes hospedantes y su agrupamiento de acuerdo a la prueba Tukey al 95% de confiabilidad.....	159
32. Ancho de conidios obtenidos para el cancro <i>Fusicoccum</i> en los diferentes hospedantes y su agrupamiento de acuerdo a la prueba Tukey al 95% de confiabilidad.....	160

Cuadro	Página
33. Tiempos que tardaron los cancros en cubrir la longitud y perímetro de las varetas de eucalipto inoculadas por el método de inserción y punción.....	166
34. Análisis de varianza para índices de lesión desarrollados en varetas con el cancro <i>Botryodiplodia</i>	169
35. Índices de lesión desarrollados en varetas con el cancro <i>Botryodiplodia</i>	170
36. Análisis de varianza para índices de lesión desarrollados en varetas con el cancro <i>Cryphonectria</i>	170
37. Índices de lesión desarrollados en varetas con el cancro <i>Cryphonectria</i>	170
38. Análisis de varianza para índices de lesión desarrollados en varetas con el cancro <i>Fusicoccum</i>	171
39. Índices de lesión desarrollados en varetas con el cancro <i>Fusicoccum</i> y con ambos métodos de inoculación.....	171
40. Análisis de varianza para el factor método de inoculación con el nivel de inserción de los tres cancros inoculados en varetas de eucalipto.....	172
41. Prueba de Tukey realizada a los índices de lesión obtenidos por el método de inserción para los tres cancros inoculados en varetas de eucalipto.....	172
42. Análisis de varianza para el factor método de inoculación con el nivel de punción de los tres cancros inoculados en varetas de eucalipto.....	173
43. Prueba de Tukey realizada a los índices de lesión obtenidos por el método de punción para los tres cancros inoculados en varetas de eucalipto.....	173
44. Análisis de varianza de los índices de lesión obtenidos por los factores método y parte inoculados así como sus interacciones del cancro <i>Botryodiplodia</i> inoculado en los árboles de eucalipto.....	175
45. Prueba de Tukey realizada a los índices de lesión desarrollados en el cancro <i>Botryodiplodia</i> con los dos métodos de inoculación y dos partes inoculadas en árboles de eucalipto.....	175

Cuadro	Página
46. Análisis de varianza de los índices de lesión obtenidos por los factores método y parte inoculados así como sus interacciones del cancro <i>Fusicoccum</i> inoculado en árboles de eucalipto.....	176
47. Prueba de Tukey realizada a los índices de lesión desarrollados en el cancro <i>Fusicoccum</i> con los dos métodos de inoculación y dos partes inoculadas en árboles de eucalipto.....	176
48. Análisis de varianza de los índices de lesión obtenidos por los factores método y parte inoculados así como sus interacciones del cancro <i>Cryphonectria</i> inoculado en árboles de eucalipto.....	177
49. Prueba de Tukey realizada a los índices de lesión desarrollados en el cancro <i>Cryphonectria</i> con los dos métodos de inoculación y dos partes inoculadas árboles de eucalipto.....	177
50. Análisis de varianza de los índices de lesión obtenidos por los factores método y parte inoculados así como sus interacciones del <i>Testigo</i> inoculado con PDA en árboles de eucalipto.....	178
51. Prueba de Tukey realizada a los índices de lesión desarrollados en el <i>Testigo</i> con los dos métodos de inoculación y dos partes inoculadas en árboles de eucalipto.....	178
52. Análisis de varianza de los índices de lesión obtenidos por los factores cancro, método y parte inoculados en árboles de eucalipto.....	179
53. Prueba de Tukey realizada a los índices de lesión obtenidos por los factores: cancro, método y parte inoculados en los árboles de eucalipto en condiciones de invernadero.....	180
54. Prueba de Tukey realizada a las medias de índices de lesión de los factores método y parte inoculados en árboles de eucalipto.....	180

Índice de figuras

Figura	Página
1. Aparición de signos y síntomas promedio registrados en los árboles de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> inoculados con dos métodos, dos alturas, tres canchros y un testigo; y tres repeticiones.....	108
2. Ilustración de los signos y síntomas del canchro <i>Botryodiplodia</i> , inoculado en plantas de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> en condiciones de invernadero.....	109
3. Ilustración de los signos y síntomas del canchro <i>Cryphonectria</i> inoculado en plantas de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> en condiciones de invernadero.....	110
4. Ilustración de los signos y síntomas del canchro <i>Fusicoccum</i> inoculado en plantas de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> en condiciones de invernadero.....	111
5. Ilustración de los signos y síntomas del Testigo inoculado en plantas de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> en condiciones de invernadero.....	112
6. Aparición de signos y síntomas promedio registrados en las varetas de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> inoculados con dos métodos, tres canchros y un testigo; con cinco repeticiones.....	120
7. Ilustración de los signos y síntomas del canchro <i>Botryodiplodia</i> , inoculado en varetas de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> en condiciones de laboratorio.....	121
8. Ilustración de los signos y síntomas del canchro <i>Cryphonectria</i> , inoculado en varetas de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> en condiciones de laboratorio.....	122
9. Ilustración de los signos y síntomas del canchro <i>Fusicoccum</i> , inoculado en varetas de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> en condiciones de laboratorio.....	123
10. Ilustración del aislamiento y estructuras microscópicas típicas del canchro <i>Botryodiplodia</i>	128

Figura	Página
11. Ilustración del aislamiento y estructuras microscópicas típicas del cancro <i>Cryphonectria</i>	129
12. Ilustración del aislamiento y estructuras microscópicas típicas del cancro <i>Fusicoccum</i>	130
13. Distribución de las mediciones realizadas a conidios obtenidos del material colectado en campo e infectado con el cancro <i>Botryodiplodia</i> , en la especie de <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	140
14. Distribución de las mediciones a conidios obtenidos del crecimiento del hongo sembrado en el medio de cultivo PDA y que sirvió para la inoculación artificial con el cancro <i>Botryodiplodia</i>	141
15. Distribución de las mediciones realizadas a conidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro <i>Botryodiplodia</i> , en varetas inoculadas artificialmente de <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	141
16. Distribución de las mediciones realizadas a conidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro <i>Botryodiplodia</i> , en plantas inoculadas artificialmente de <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	142
17. Distribución de las mediciones realizadas a conidios obtenidos del material colectado en campo e infectado con el cancro <i>Cryphonectria</i> , en la especie de <i>Eucalyptus grandis</i>	143
18. Distribución de las mediciones realizadas a conidios obtenidos del crecimiento del hongo sembrado en el medio de cultivo PDA y que sirvió para la inoculación artificial con el cancro <i>Cryphonectria</i>	144
19. Distribución de las mediciones realizadas a conidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro <i>Cryphonectria</i> , en varetas inoculadas artificialmente de <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	144
20. Distribución de las mediciones realizadas a conidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro <i>Cryphonectria</i> , en plantas inoculadas artificialmente de <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	145
21. Distribución de las mediciones realizadas a conidios obtenidos del material colectado en campo e infectado con el cancro <i>Fusicoccum</i> , en la especie de <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	146
22. Distribución de las mediciones realizadas a conidios obtenidos del crecimiento del hongo sembrado en el medio de cultivo PDA y que sirvió para la inoculación artificial con el cancro <i>Fusicoccum</i>	146

Figura

23. Distribución de las mediciones realizadas a conidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro <i>Fusicoccum</i> , en varetas inoculadas artificialmente de <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	147
24. Distribución de las mediciones realizadas a conidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro <i>Fusicoccum</i> , en plantas inoculadas artificialmente de <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	148
25. Índices promedio de lesión desarrollados por cada uno de los canchros inoculados en las varetas de eucalipto.....	167
26. Porcentaje de infección desarrollados en las plantas de eucalipto inoculadas con tres canchros más un testigo, dos métodos y dos partes de inoculación.....	168

1. INTRODUCCION

Las plantaciones forestales en México y en el mundo dependen grandemente de varias especies del género *Eucalyptus*, tanto para la obtención en el corto plazo de materias primas destinadas a satisfacer la demanda de la industria forestal de celulosa, como para papel y madera estructural entre otros. Por ello las plantaciones forestales y áreas recreacionales en donde se utilizan especies de eucaliptos, las enfermedades han llamado la atención, por la posibilidad de que éstas afecten el valor de las cosechas o el éxito de establecimiento de plantaciones y reforestaciones.

Dentro de las enfermedades que más afectan a varias especies de eucaliptos del mundo, destacan por su importancia, los canchros de fuste y ramas. Según la literatura, los géneros: *Cryphonectria*, *Botryodiplodia*, y *Fusicoccum* (= *Dothiorella*), están identificados como los agentes más importantes en varios países como Sudáfrica, Australia, Brasil, India, Estados Unidos y Colombia.

En México, las enfermedades causadas por canchros en eucaliptos se identifican en áreas de alto valor comercial, como son las plantaciones forestales comerciales establecidas en el trópico.

Adicionalmente, en el Altiplano mexicano, se tienen árboles de *E. camaldulensis*, que muestran síntomas de cancrrosis; en este trabajo se reconocieron daños en árboles localizados de la Reserva Natural Xochitla en Tepotzotlán, Estado de México. En las plantaciones comerciales provocan cuantiosas pérdidas económicas, mientras que en áreas recreacionales la enfermedad provoca la caída de ramas, la formación de canchros en el fuste y un debilitamiento general del árbol.

Por lo anterior, en el laboratorio de Patología y Entomología Forestal de la División de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma Chapingo, conjuntamente con la Reserva Natural Xochitla A. C., se desarrolló un trabajo de investigación que permita determinar el agente causal y la etiología de la enfermedad con la finalidad de desarrollar estrategias de manejo y conocimiento de la enfermedad.

La información disponible sobre los canchros es limitada y considerando que existe escasa información sobre las enfermedades se propone el presente trabajo con los objetivos siguientes:

2. OBJETIVOS:

2.1. Objetivos generales

- Identificar al agente causal de canchros en los eucaliptos de: La Reserva Natural Xochitla, Plantaciones de las Choapas, Veracruz y Plantaciones en Acaponeta, Nayarit.
- Describir la etiología y el ciclo de vida de los canchros *Cryphonectria*, *Botryodiplodia*, y *Fusicoccum* y bajo condiciones de invernadero y laboratorio.
- Conocer a cada uno de los canchros: *Cryphonectria*, *Botryodiplodia*, y *Fusicoccum* en forma global y su comportamiento en varetas y plantas de *Eucalyptus camaldulensis*.

2.2. Objetivos particulares

- Aislar al agente causal del cancro de los eucaliptos de: La Reserva Natural Xochitla, Edo. de México; Plantaciones Industriales de Acaponeta, Nayarit; y Las Choapas Veracruz, a partir de corteza infectada de árboles, para llevar a cabo pruebas de patogenicidad.

- Identificar a cada uno de los agentes causales de los canchros *Cryphonectria*, *Botryodiplodia*, y *Fusicoccum* de *Eucalyptus camaldulensis* y *E. grandis*.
- Evaluar los índices de lesión (largo X ancho) expresados en centímetros cuadrados de los canchros: *Cryphonectria*, *Botryodiplodia*, y *Fusicoccum* desarrollados en plantas y varetas de *Eucalyptus camaldulensis*.
- Describir los signos y síntomas de cada uno de los canchros: *Cryphonectria*, *Botryodiplodia*, y *Fusicoccum* inoculados en varetas de *Eucalyptus camaldulensis* colocadas en cámara húmeda y en condiciones controladas de temperatura en laboratorio.
- Describir los signos y síntomas de cada uno de los canchros: *Cryphonectria*, *Botryodiplodia*, y *Fusicoccum* en plantas inoculadas de *Eucalyptus camaldulensis* en condiciones de invernadero.

3. REVISIÓN DE LITERATURA.

3.1. Importancia del género *Eucalyptus*.

Etimológicamente el nombre genérico *Eucalyptus*, deriva de las palabras griegas *éu*= bien y *kalyptós*= cubierto; refiriéndose al botón floral, que cubre el opérculo de consistencia leñosa a los estambres y pistilos (FAO, 1990).

El género *Eucalyptus*, de la familia Myrtaceae tiene una diversidad de especies adaptadas a una amplia variedad de hábitats, desde el nivel del mar hasta los 2300 msnm. Se encuentran en casi todos los tipos de suelos, desde ácidos hasta alcalinos (Hall *et al.* 1970).

Los eucaliptos han sido denominados los auténticos gigantes del reino vegetal, por las enormes tallas que llegan a alcanzar, así por ejemplo *Eucalyptus regnans* ha alcanzado 132 metros de altura y con más de 10 metros de diámetro (Montoya, 1995).

3.1.1. Distribución

Según Hepting 1971, los eucaliptos comprenden alrededor de 540 especies reconocidas y 150 variedades, en su mayoría endémicas de Australia. Alcanzando los arbustos 10 pies de alto y los árboles gigantes 300 pies de altura.

El genero *Eucalyptus* es natural de Australia y Tasmania, pero también ocurre en el archipiélago Indo-Malayo, Filipinas y Nueva Guinea. Su rango natural latitudinal va de 7° N a 43° 39' S y el longitudinal va aproximadamente de 110° E a 154° E. El eucalipto se desarrolla en un gran número de países debido a su rápido crecimiento, principalmente en áreas que reciben más de 700 mm de precipitación pluvial y que no presenten heladas. (Lamprecht, 1990).

Más de 100 países por todo el mundo cultivan eucaliptos en plantaciones, y se dice que ningún otro árbol ha alcanzado tan amplia difusión, FAO, 1990. Para 1993, la FAO reportó la cantidad de 10.06 millones de hectáreas plantadas con eucaliptos fuera de Australia. El género *Eucalyptus* en la actualidad es el más importante para plantaciones, en ellas destacan por su alta producción: *E. grandis*, *E. camaldulensis*, *E. tereticornis*, *E. globulus*, *E. urophylla*, *E. viminalis*, *E. saligna*, *E. deglupta*, *E. exserta*, *E. citriodora*, *E. paniculata* y *E. robusta* (Penfold y Willis, 1961).

3.1.2. Usos

El género *Eucalyptus* tiene una amplia gama de usos, muchas especies han sido introducidas como árboles ornamentales o de sombra; otras se utilizan en plantaciones forestales de rápido crecimiento, de un tronco se obtiene leña, postes, aceites esenciales, madera aserrada, pasta para papel, chapa, tableros, carbón, etc., además se han utilizado como árboles ornamentales, barreras cortavientos, cinturones de protección, conservación de cuencas, protección y recuperación de suelos (Fierros, 1978; Wayne *et al.* 1987).

La gran plasticidad para adaptarse a condiciones ecológicas muy variadas, los buenos desarrollos y el gran número de especies que presenta el género *Eucalyptus* en su zona de distribución natural, como en diferentes partes del mundo en donde ha sido introducido, lo hacen uno de los más atractivos cuando se piensa en posibles especies a probar para diversos objetivos (Fierros, 1978).

El género *Eucalyptus* fue introducido en México a fines del siglo pasado, cuando un agricultor europeo trajo las primeras semillas a Córdoba, Ver., extendiéndose rápidamente en todo el país, debido a su gran adaptabilidad y rápido crecimiento. A principios de este siglo, el naturalista Miguel Ángel de Quevedo, realizó las primeras reforestaciones en los bordes del gran canal y Río Churubusco, utilizando a *E. resinifera* Sm. La introducción a nivel experimental, se inició en 1953 en la Cd. Valles San Luis Potosí por la Empresa Fibracel, S.A., donde se probaron 57 especies diferentes, dando los mejores resultados a los tres años y

medio las especies *E. umbellata* Gaertn., *E. saligna* Sm., *E. resinifera* Sm. con 21.8 cm, 19.4 cm y 18.1 cm de diámetro normal (Fierros, 1978).

3.2. Descripción general de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh

3.2.1. Características sobresalientes

E. camaldulensis es la especie de eucalipto que más se planta en las zonas subhúmedas y húmedas de América Central y una de las especies que mejores resultados ha mostrado en estas áreas. La especie es de rápido crecimiento y la leña que produce es de buena calidad. El árbol crece bien en una gran variedad de climas, en suelos relativamente pobres y en áreas con sequías prolongadas; rebrota vigorosamente. Su desarrollo es limitado por suelos compactados o con horizontes endurecidos superficialmente, o por la presencia de malezas en las primeras etapas de crecimiento.

3.2.2. Lugar de origen

La especie es nativa de Australia, donde esta ampliamente distribuida, ocupando grandes superficies de masas puras a lo largo de los ríos. Esta amplia distribución le lleva a presentar una enorme variabilidad genética y en consecuencia, le concede un enorme potencial de selección. Se han detectado en el continente Australiano variedades como: *E. camaldulensis* var. *obtusa*, *E.*

camaldulensis var. *pendula* y *E. camaldulensis* var. *subcinerea* (Hall et al. 1970).

3.2.3. Distribución

E. camaldulensis, es el eucalipto de más amplia distribución en Australia, principalmente en la mayoría de las tierras áridas y semiáridas. Sin embargo, esto no ocurre en las tierras húmedas de las costas orientales y del sudoeste del país. Se encuentra en todos los estados australianos con excepción de Tasmania. Junto con *E. grandis* y *E. globulus*, es una de las especies de eucalipto más ampliamente plantada en el mundo, aproximadamente 500 000 has plantadas. Las plantaciones ocurren en Argentina, Arizona, California, Egipto, Kenya, Marruecos, Nigeria, Pakistán, Senegal, Sierra Leona, España, Sri Lanka, Sudán, Tanzania, Alto Volta, Uruguay, y Zimbabwe.(N.A.S., 1980).

3.2.4. Descripción

Es una especie siempre verde, de 24-40 m de altura, logra alcanzar hasta 50 m de altura y 1.5-2 metros de diámetro en algunas regiones de Australia, árbol monoico con copa generalmente extendida e irregular, sombra media; ramas péndulas, es de rápido crecimiento, vive alrededor de 50 años, aunque existen reportes de que han logrado vivir hasta más de 100 años. Ramillas terminales rojizas, largas y delgadas que cuelgan en ángulos agudos. Forma un sistema

radicular profundo y bastante amplio. Se pueden formar raíces aéreas en el tronco (Montoya, 1995).

3.2.5 Hojas

Presentan dimorfismo foliar, las jóvenes son más anchas que las adultas, opuestas y posteriormente alternas, pecioladas; las adultas son alternas, péndulas, pecioladas, recurvadas, delgadas y largamente acuminadas o bien oblongo-lanceoladas, de borde liso, glabras, color verde opaco en el haz, el envés ocasionalmente es gris, poco olorosas; miden de 10 a 23 cm de largo, nervadura central prominente en ambas caras de la hoja, pecíolos cilíndricos amarillos de 1 a 2 cm de largo.

3.2.6. Flores

Blanquecinas, pequeñas, dispuestas en umbelas axilares con 3 a 25 flores (generalmente más de 8), con botones florales de forma aovada, de base semiredonda y cubierta larga, cónica, punteada o rostrada. Los botones miden de 4 a 5 mm de diámetro, con el tubo del receptáculo hemisférico y opérculo rostrado; estambres doblados en el botón floral, anteras con tecas paralelas.

3.2.7. Frutos

Frutos o cápsulas seminales hemisféricos de 5 a 7 mm de diámetro, con el reborde convexo y bien notable, generalmente en ramilletes al final de peciolo delgados, de color ligeramente marrón, con una tapa redondeada con 3-4 dientes prominentes de casi 2 mm de longitud, elevados y curvados hacia adentro. Semillas numerosas y pequeñas, angulosas, de color amarillo dorado, ligeramente marrón, aproximadamente 110 000 a 220 000 semillas por kilogramo.

3.2.8. Corteza

Su corteza se desprende fácilmente en forma de tiras largas o en placas irregulares, dejando ver una nueva corteza lisa, color grisáceo o blanquecina, a veces parduzca. La madera es dura, de grano entrelazado ondulado, pesada, durable, color rojiza, tiene tendencia a torcerse (Montoya, 1995 y Martínez *et al.* 1994).

3.2.9. Usos

Dentro de sus principales usos destacan el ornamental, cortinas rompevientos y plantaciones lineales para cortavientos agrícolas, caminos y cercados. Constituye un combustible excelente cuando la madera esta completamente seca. Madera de uso comercial y familiar, durmientes de ferrocarril y algunas

veces para pulpa para papel. Por su elevado consumo de agua ha sido utilizado para desecar terrenos pantanosos y en la lucha contra el paludismo, muy apreciada por apicultores para producción de miel de buena calidad (Montoya, 1995).

3.2.10. Factores limitantes

Como factores limitantes al crecimiento se considera la presencia de malezas en las primeras etapas del establecimiento, suelos vertisoles o suelos arenosos con poca retención de humedad. En plantación se han presentado ataques de hormigas defoliadoras (*Atta spp*), También se han reportado ataques de hongos *Cylindrocladium sp.* En la mayoría de los países de América Central se han visto ataques del cancro *Cryphonectria cubensis* cuando se han plantado en suelos muy compactados o superficiales que impiden el desarrollo radicular. En Panamá se han detectado ataques de langostas defoliadoras, hongos y un insecto (*Cerambix sp*) que corta los árboles de hasta 3 cm de diámetro, anillando el árbol.

En México, el aceite aromático de las hojas y tronco hacen que este árbol tenga baja susceptibilidad al ataque de insectos, para algunos estados del país se reportan: plaga de la araña roja *Oligonychus ununguis*, que extrae los jugos de las plantas; y enfermedades ocasionadas por *Alternaria sp.*, *Cephalothecium sp.*, *Cercospora sp.*, *Fusarium sp.* y *Phytophthora sp* (Martínez y Chacalo, 1994).

Cibrián *et al.* 1998, reporta a *E. camaldulensis* afectado por canchros de los géneros: *Fusicoccum*, *Botryodiplodia*, *Macrophoma*, *Dendrophoma*, *Phoma*, *Cytospora*, *Diplodina*, *Hysterium* y *Sphaeropsis*, varios de estos hongos estuvieron asociados con tejidos dañados, pero no se realizaron pruebas de patogenicidad que demostrarán su naturaleza patogénica.

3.3. CANCROS

3.3.1. Definición

En muchos libros de texto sobre árboles de sombra o patología forestal, los canchros son clasificados de acuerdo a tipos o clases para facilitar su instrucción y discusión (Tattar 1978, Manion 1991).

Michau (1987) menciona que “Toda herida es una puerta abierta a las enfermedades por la destrucción de una parte del tejido protector constituido por la corteza”.

Muchos hongos causantes de canchros en tallo y en raíz, colonizan la planta hospedante vía la apertura de heridas, muerte de ramas, tocones de ramas, ramitas, cicatrices de hojas o menos comúnmente a través de hojas (Biggs, 1989).

Manners en 1986 define al cancro como una lesión causada por el patógeno, en la cual un área de necrosis, que en general incluye al cambium, se extiende lentamente debido al lento crecimiento del patógeno, ya que dicho crecimiento es detenido a intervalos por el crecimiento excesivo del hospedero o por una combinación de estas dos circunstancias.

French en 1988 define a un cancro como un área muerta visible, usualmente de extensión limitada sobre la corteza de una planta. Si el hospedante sobrevive a la enfermedad, forma callos alrededor del tejido muerto y en hospedantes perennes puede formar capas concéntricas de tejido calloso. Si el hongo crece a una velocidad más rápida que el hospedante, entonces las capas no pueden formarse y el resultado es un tipo de cancro difuso. En general, los cancros deforman pero no matan a sus hospedantes, y por esta razón muchas de estas enfermedades no son de grandes consecuencias; sin embargo, otras son extremadamente importantes como el que causa el tizón del castaño *Cryphonectria parasítica*.

Algunas enfermedades localizadas en el tronco se caracterizan por la formación de lesiones (áreas muertas) sobre los tejidos de la corteza y cambium. La muerte de estos tejidos está asociada, generalmente, con una herida, ramas muertas o algún daño de tipo mecánico y se extiende radialmente a partir de la herida. Esta lesión localizada se le denomina cancro. Un cancro varía ampliamente en forma y tamaño, éstos usualmente son parásitos facultativos y frecuentemente encontrados creciendo sobre la corteza de árboles vivos en

tallo principal, ramas y ramillas muertas. Los canchros generalmente producen cuerpos fructíferos sobre corteza recientemente muerta. Las esporas de estos cuerpos fructíferos así como las del mismo hongo están creciendo saprófiticamente y sirven como fuente de inóculo para nuevas infecciones (Tattar, 1978).

Muchos canchros están restringidos a la invasión de tejidos de corteza, sin embargo, algunos hongos tienen la habilidad para atacar corteza y xilema que mueren debido a los efectos de toxinas o secreción de enzimas (Tattar, 1978).

Agrios en 1998, define a un canchro como una herida localizada o lesión necrótica; con frecuencia sumida bajo la superficie del tallo, ramas o ramitas de una planta leñosa.

Partridge *et al.* (1980) clasifican a los canchros dentro de los síntomas que expresan muerte protoplasmática y desintegración celular y lo define como una lesión necrótica hundida, que comienza en la corteza de las ramas, troncos o raíces. Normalmente llegan a ser profundos y anchos por un crecimiento secundario normal o acelerado del cambium (callosidad), y meristemas traumatizados junto con una lenta invasión de los patógenos dentro del tejido de cambium y madera circundante.

Manion (1991), señala que los hongos que inducen canchros pueden ser agrupados en cuatro categorías:

- a) Saprófitos que contribuyen a declinamientos.
- b) Los que infectan anualmente.
- c) Parásitos facultativos que producen canchros perennes en forma de "tiro al blanco" y
- d) Los que producen canchros difusos.

Muchos hongos saprófitos están asociados con árboles debilitados, los cuales son incapaces de producir las suficientes barreras (de tipo morfológico y químico) para prevenir la invasión (Manion 1991). Saprófito es un término, que se aplica a aquel organismo que vive a expensas de una planta muerta y lo utiliza como alimento, la mayoría de los hongos son saprófitos obligados (Romero, 1993).

Un hongo que produce un cancro anual, usualmente ataca árboles debilitados, es un oportunista que infecta tan pronto como se presenta la herida e invade rápidamente antes de que el árbol tenga la oportunidad de responder. El hongo está activo sólo una temporada, después los árboles se recuperan del daño, los hongos ya no pueden continuar creciendo y mueren; entonces el cancro es cubierto por tejido calloso y requiere de una nueva infección para intensificar el daño (Foster *et al.* 1974; Tainter *et al.* 1996).

Parásitos significa "junto al alimento" y técnicamente es un término que se aplica a aquel organismo que vive a expensas de una planta o animal. A los hongos que pueden vivir como saprófitos o como parásitos, dependiendo de las

circunstancias, se les conoce como saprófitos facultativos, o parásitos facultativos. Los hongos parásitos facultativos viven normalmente una vida saprofítica, pero si encuentran un hospedante susceptible son capaces de parasitarlo (Romero, 1993).

Un hongo que produce canchros perennes o de “tiro al blanco” es muy similar a un hongo que causa canchros anuales, en cuanto a que este también invade cuando las defensas del hospedante son lentas para responder. La invasión de los tejidos del hospedante durante el final del verano, otoño e invierno provoca que la defensa sea débil. Los hongos que producen canchros perennes difieren de los anuales en cuanto a que los primeros son buenos competidores saprofíticamente sobre los tejidos muertos por el cancro. Estos también pueden tolerar, mucho mejor que los hongos que producen canchros anuales, algunas de las respuestas del hospedante (Manion, 1991).

En los canchros difusos, el patógeno se extiende más rápidamente que en los canchros de “tiro al blanco”, y por consiguiente, el hospedante forma o no pequeños tejidos callosos en el margen de la lesión. Los canchros difusos progresan más velozmente que el crecimiento radial del árbol, y por lo tanto, suelen estrangular al árbol después de varios años de infección y es de entre las enfermedades, la mas destructiva (Tattar, 1978; Tainter *et al.* 1996).

Cibrián *et al.* 1999b, menciona que los canchros difusos no muestran sus límites claramente, el área infectada avanza con tal rapidez que no le da tiempo al

hospedante para que se forme una estructura de defensa y por consiguiente no se puede identificar.

Las enfermedades pueden causar diversos tipos de daños cuando sus incidencias se incrementan de forma anormal. Sus daños se manifiestan en cualquier edad de la planta y pueden afectar todas sus partes, las consecuencias directas pueden ser la muerte de los árboles, la reducción del crecimiento, la deformación y el deterioro de los productos.

Los principales hongos responsables de los canchros son los Ascomycetes, y Basidiomycetes, creciendo en el tejido vivo del cambium y toleran la respuesta del hospedante. Es muy común que dentro de este tipo de enfermedad, se presente una interacción entre insectos y el patógeno, ya que los patógenos que causan canchros usualmente requieren alguna grieta u orificio para entrar a la corteza y madera. Los insectos y pequeños animales pueden romper la corteza y otorgar al patógeno un punto de entrada. Aun cuando este tipo de enfermedad, en forma general, tiene poco efecto en la reducción del crecimiento del hospedante, es importante por cuanto predisponen a los árboles a los ataques de otros patógenos más agresivos o a insectos plagas. Por otra parte, por las características de la enfermedad, los fustes se ven reducidos en su valor comercial. En el caso de una infestación severa, los árboles sufren muerte del cambium, estrangulamiento y en consecuencia, mueren. Los árboles atacados por la enfermedad, son más susceptibles de fracturarse y

resquebrajarse, porque su resistencia mecánica se ve reducida (Tainter *et al.* 1996; Shigo, 1997).

Las infecciones en árboles vivos por canchros, están influenciadas por el sitio, la edad, el vigor del árbol, las condiciones ambientales y prácticas culturales. El estrés por sequía, la falta de fertilidad, la defoliación por insectos, o daños por herbicidas, predisponen al árbol a los canchros. En general, los canchros son más comunes en árboles jóvenes, o árboles suprimidos bajos en vigor, o sobre árboles en sitios pobres. Frecuentemente, muchos canchros ocurren sobre árboles predispuestos a la infección por estrés ambiental, tal como arrastre de herbicidas, defoliación por insectos o químicos o daños en la raíz (Stack y Lamey, 1995).

La temperatura es uno de los factores externos que mas afectan el crecimiento y la esporulación de los hongos, en general, los hongos crecen normalmente entre los 20° y 32°C; a los 10°C su crecimiento es lento, y a temperaturas de congelación se detiene y entra entonces en una especie de letargo hasta que vuelven las condiciones favorables. Con respecto a temperaturas altas, los hongos que crecen a 26.5°C, disminuyen su velocidad de crecimiento entre los 38° y 42°C, pero si se les expone a 54°-65°C, mueren irremediabilmente. Dentro de ciertos límites, la temperatura puede inhibir el tipo de fructificación o modificar algunas características de ciertas estructuras reproductivas (Romero, 1993).

Un programa completo para el control de enfermedades causadas por canchros puede estar basado en el conocimiento del agente causal, el árbol hospedante, la cultura y condiciones ambientales bajo las cuales el árbol está creciendo, y los métodos avalados de control. El control involucra a la prevención de la enfermedad y el tratamiento (Stack y Lamey, 1995).

3.4. Principio de Compartimentación

Este concepto fue desarrollado por A. Shigo (1987), en el considera que los árboles tienen la propiedad de crear fronteras o barreras al avance de la pudrición y, de esta manera, aislar las partes infectadas; estas barreras están constituidas por tejidos ricos en sustancias antisépticas, inhibidoras de la descomposición, como los taninos. A esto se le denomina compartimentación y se compone de dos etapas: la primera considera la madera existente antes de la formación de la herida; la segunda es la que tiene que ver con la madera producida después de efectuada la lesión.

La primera etapa opone tres tipos de barreras a la podredumbre:

- Barreras transversales: las cuales se forman en el interior de los vasos, oponiéndose a la progresión longitudinal de la descomposición en la madera.
- Barreras frontales: que se implantan a nivel de los anillos de la madera, que se oponen a la progresión en profundidad de la podredumbre.
- Barreras radiales: están situadas en los rayos medulares, y bloquean la podredumbre en su progresión lateral.

Después de la herida, el cambium empieza a producir un nuevo tejido, no conductor, protector pero estructuralmente débil. El cual está constituido por células de paredes finas llenas de sustancias inhibidoras de la descomposición. Este tejido constituye la barrera, que aísla madera infectada de la madera nueva que produce después de la herida. Es lo que podríamos llamar un sello natural que el mismo árbol desarrolla para sanar la herida. Esta barrera se muestra muy fuerte, ya que al parecer dicha madera prácticamente jamás se ve afectada si no se hace ninguna herida al árbol. Pero la realidad es diferente, porque esta frontera, constituida por células poco lignificadas, es física y estructuralmente débil. Constituye una zona privilegiada de fisuras del árbol, hendiduras circulares de donde pueden partir muy a menudo hacia el exterior fisuras radiales. Esto es más crítico en el caso de heridas grandes, superiores a los 5 centímetros de diámetro. (D. Rivas, 1996)

3.5. Cancro del eucalipto: *Fusicoccum* (Deuteromycotina: Sphaeropsidales)

3.5.1. Telemorfo

La forma sexual de este hongo se conoce como *Botryosphaeria dothidea*, el cual es un ascomiceto (Cibrián *et al.* 1999b).

3.5.2. Anamorfo

En bibliografía especializada del eucalipto se menciona a *Fusicoccum* como una forma asexual del hongo *B. dothidea*. Otras formas asexuales relacionadas con el mismo hongo ascomiceto, son los géneros *Macrophoma* y *Dothiorella* (Cibrián *et al.* 1999b).

3.5.3. Distribución

En México, se ha encontrado al cancro *Fusicoccum* en áreas recreacionales como la Reserva Natural Xochitla en Tepetzotlán, estado de México afectando a la especie de *Eucalyptus camaldulensis*. Aunque existen reportes de este cancro afectando plantaciones de eucaliptos en el estado de Nayarit. En el mundo tiene una amplia distribución, en Sudáfrica causó graves pérdidas en clones susceptibles (Cibrián *et al.* 1999b).

3.5.4. Hospedantes

Cibrián *et al.* 1999b, reporta a la enfermedad afectando a los hospedantes de *Eucalyptus camaldulensis* y *E. urograndis*. Aunque se conoce que tiene más de 100 especies de árboles como hospedantes, puede estar en ambientes tropicales y templados, en donde infecta frutales, coníferas, árboles urbanos, etc. De las especies de eucaliptos se reporta a *Eucalyptus camaldulensis* como la más susceptible de todas, así como las cruas derivadas de esta especie.

3.5.5. Síntomas

Los síntomas de la enfermedad son la formación de canchros difusos en *Eucalyptus camaldulensis*, al igual que provoca la muerte de puntas de ramas y ramillas, la superficie de la corteza se torna café grisácea, rojiza o café claro, esto depende del diámetro de la punta o rama. El hongo puede obligar a la ramilla a formar tejido de cicatrización, el cual es corchoso y rodea a la parte afectada. En la superficie del tronco de árboles moribundos forma canchros difusos de gran longitud. En ocasiones se forman vetas oscuras de varios centímetros de longitud, dichas vetas están formadas por hileras de picnidios de color oscuro. Los árboles infectados en el tronco tienen follaje clorótico o de color café (Cibrián *et al.* 1999a y b).

3.5.6. Diagnóstico de la enfermedad

Los signos visibles son picnidios subcorticales, de color negro, envueltos en un estroma, se pueden presentar individual o en grupos, tienen un poro y miden 218 μm de largo por 164 μm de ancho. Los conidióforos son simples y cortos. Sus conidios son hialinos, de una célula, de forma fusoide y miden 15 μm de largo por 6 μm de ancho. En la corteza de ramillas y troncos infectados se aprecian grupos de picnidios, en troncos de diámetros superiores a 10 cm forman líneas de color oscuro, las cuales son visibles desde una distancia de 1 metro, dichas líneas parecen vetas oscuras y alcanzan a medir más de un

metro de longitud. En las puntas de árboles jóvenes o en ramillas de apenas 1 cm de diámetro, afectadas por el hongo, se nota que los picnidios levantan la corteza (Cibrián *et al.* 1999b).

3.5.7. Ciclo de la enfermedad

La diseminación de las esporas se presenta durante los días nublados y las noches, las esporas son llevadas por el agua de lluvia, por el viento o por instrumentos de poda. Las esporas pueden penetrar por las lenticelas, fracturas de crecimiento en la corteza o lesiones en el follaje, los brotes o los troncos. Una vez dentro de la planta, las lesiones en las plantas aparecen en días o semanas. En los eucaliptos se espera que solo pasen pocas semanas para la manifestación de los primeros síntomas (Cibrián *et al.* 1999b).

3.5.8. Características morfológicas

En bibliografía especializada del eucalipto, sólo pudo encontrarse reportes de la forma sexual: *Botryosphaeria dothidea*, en cuanto a las características morfológicas. En los que se describe a los peritecios de *Botryosphaeria dothidea* (Moug.) Ces. et de Not (= *B. ribis* (Tode.:Fr.) Grossenb. & Dugger), los cuales fueron ocasionalmente observados sobre ramas muertas. Estos fueron oscuros y de cuellos cortos. Las ascas fueron bitunicadas (70-120 x 16-24 µm) y cada una contenía ocho ascosporas. Las ascosporas (16-25 x 7-10 µm) fueron unicelulares, hialinas y ovoides. Los conidióforos fueron frecuentemente

observados sobre tejido muerto y moribundo. Estos fueron oscuros, picnidios ostiolados. Las células conidiógenas desarrolladas desde la pared interna de los picnidios y los primeros conidios desarrollados holoblásticamente (Smith *et al.* 1994).

Otros estudios a cerca de la diagnosis de *Botryosphaeria dothidea*, requieren del reconocimiento del estado conidial (*Dothiorella*), el cual es caracterizado por presentar estroma picnidial negros que diferencia bajo la superficie de la corteza muerta y abren en la madurez. El estroma varia en tamaño y son de 1-4 mm en largo. Cada uno contiene varias cavidades picnidiales de 150-250 μm en diámetro. Los conidios exudados desde el picnidio por el poro, están en masas blancas durante períodos de alta humedad relativa. Los conidios (17-25 x 5-7 μm) son unicelulares, hialinos y variados desde elipsoidales a fusiformes con bases truncadas distinguibles. Los conidios de algunos aislamientos llegan a ser oscuros con la edad y desarrollan de 2 a 3 septas previo a la germinación. La germinación de conidios tienen de 1 a 2 tubos germinales originando ambos desde los ápices próximos (Wayne *et al.* 1987).

3.5.9. Importancia actual y futura de la enfermedad

La infección del hongo, afecta a los tejidos internos, las enzimas que libera el micelio destruye la corteza interna, el cambium y la albura, lo que conduce al marchitamiento y muerte descendente. Cuando los árboles tienen cierto vigor, pueden detener la infección y entonces la ramilla infectada mostrará ligeros

hinchamientos alrededor de las lenticelas atacadas. La muerte de puntas conduce a una deformación de la copa y una reducción del crecimiento. El avance descendente de la enfermedad está fuertemente relacionado con factores de estrés, que al desaparecer, hacen que el árbol recupere su resistencia (Cibrián *et al.* 1999b).

3.5.10. Manejo de la enfermedad

Cibrián *et al.* 1999b, propone la eliminación de árboles severamente afectados al igual que la poda o remoción de tejidos infectados de árboles con infección ligera en la punta. Reconocimiento y uso de especies o procedencias menos susceptibles. Es posible que desde el punto de vista genético se tenga resistencia al patógeno y que se deban buscar clones con esta característica. El uso de Derosal en una dosis de 100 ml disueltos en 100 litros de agua y aplicados al suelo y a la copa puede prevenir infecciones; sin embargo, el tratamiento se recomienda sólo para árboles de alto valor.

3.6. Cancro del eucalipto: *Botryosphaeria rhodina* (Berk. & Curt.) Von Arx. *Lasiodiplodia* (= *Botryodiplodia*) *Botryodiplodia theobromae* Patouillard (Deuteromycotina: Sphaeropsidales).

Del griego *bótryos*, racimo, y *sphaira* (en latín *sphaera*) esfera, en alusión a los Pseudotecios fusionados o unidos a manera de racimos en la fructificación. Los

Pseudotecios son de tamaño medio a grande, erumpentes, hundidos en un estroma pulvinado. Las ascosporas son hialinas, rara vez morenas, ovoides, o elipsoides y carecen de septos. Generalmente se desarrolla en tallos leñosos muertos y en madera, causa la muerte regresiva de algunas plantas y la pudrición de frutos cítricos. Anamorfos: *Botryodiplodia* Sacc y *Lasiodiplodia* Ell. et. Everh (Ulloa y Herrera 1994).

3.6.1. Telemorfo

La forma sexual o el estado perfecto del hongo *Botryodiplodia theobromae* es conocido por el nombre de *Botryosphaeria rhodina*, un hongo que pertenece a los ascomicetos (Lewis, 1978; Cibrián *et al.* 1999b).

3.6.2. Anamorfo

Botryosphaeria rhodina es usualmente encontrado en el estado picnidial o fase asexual: *Lasiodiplodia theobromae* sinónimo: *Botryodiplodia theobromae* (Lewis, 1978; Wayne *et al.* 1987; Cibrián *et al.* 1999b). Fase que fue colectada en campo para la realización de las pruebas de patogenicidad.

3.6.3. Características morfológicas

Los picnidios son formados sobre la corteza de ramas muertas. Las esporas producidas en los picnidios son elipsoidales a ovoidales, las paredes son

gruesas, y con estrías longitudinales en su superficie y no comprimidos en el septo; la superficie de la espora es lisa. El tamaño promedio de las esporas que provienen de ramas de olivo ruso son de 30.4 μm por 16.4. Las esporas son usualmente hialinas y no septadas cuando son expulsadas de picnidios, convirtiéndose en moreno oscuro y septados después de la expulsión (Glenn, 1976; Lewis, 1978; Cedeño *et al.* 1992).

Los picnidios negros pueden levantarse individualmente pero son usualmente encontrados en grupos de 2-4 mm de un lado a otro. Ellos expulsan conidios en masas que pronto se tornan morenos. Ellos usualmente aparecen en grupos y orientados en hileras con pequeñas crestas y surcos en la corteza. Cuando los peritecios o picnidios pequeños son cortados con una hoja afilada y examinados con una lente de mano o microscópicamente, ellos exhiben contenidos blancos y paredes negras. Esta característica, es típica de especies de *Botryosphaeria* y hongos relacionados (Glenn, 1976; Lewis, 1978; Wayne *et al.* 1987).

En la superficie de la corteza aparecen picnidios subcorticales, semiesféricos, que miden 232 μm X 123 μm , son de color negro, presentan ostiolo, están en grupos y salen entre las fisuras de la corteza, sus paredes son gruesas, formada por células parenquimatosas. Los conidios producto de los picnidios inmaduros son hialinos, sin septas y de forma oval. Al madurar se vuelven café oscuro, y presentan una septa a la mitad del conidio. Los conidios miden 27 μm X 18 μm . Las áreas cubiertas de picnidios pueden ocupar hasta 10 cm de diámetro, de forma irregular, a la vista se observan como masas polvosas de color negro, el

tamaño de masas puede variar en tamaño, según la ramilla, rama o tronco infectado del árbol (Cibrián *et al.* 1999b).

3.6.4. Distribución

Bortyosphaeria rhodina (Sinónimo: *Physalospora rhodina*) es un patógeno versátil,

oportunista (que ataca árboles debilitados por calor, sequía u otro patógeno) y cosmopolita porque ataca plantas leñosas y herbáceas en más de 280 géneros. Esto ocurre alrededor del mundo, principalmente en la franja entre los 40° de latitud Norte y 40° de latitud Sur (Wayne *et al.* 1987).

En Texas y Nebraska E.U.A., el hongo *Botryodiplodia theobromae* ha causado muertes rápidas en los sicomoros y serias enfermedades en tallos de olivos rusos, respectivamente (Glenn, 1976; Lewis, 1978; Wayne *et al.* 1987).

En los llanos orientales de Venezuela se encuentra una de las plantaciones forestales monoespecífica (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*) y contigua más grande del mundo tropical (500.000 ha), donde se registró mortalidad de árboles atribuida a *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. and Maubl (= *Botryodiplodia theobromae* Pat.), ampliamente distribuido en el área. No obstante se considera que este hongo, o cualquier otro agente, puede progresar como patógeno en los tejidos sólo cuando la planta está debilitada, como consecuencia de un estrés fisiológico severo (Torres *et al.* 1994).

Se determinó que *B. theobromae*, anamorfo de *Botryosphaeria rhodina*, era el causante de las lesiones y la gomosis que presentan los limoneros (*Citrus aurantiifolia*) y los naranjos (*Citrus sinensis*) cultivados en Caño Amarillo, Municipio Autónomo Panamericano, Estado Táchira, Venezuela (Cedeño y Palacios, 1992).

En México, se reporta en los estados de Nayarit, Sur de Sinaloa y sureste de México (Cibrián *et al.* 1999b).

3.6.5. Hospedantes

Botryodiplodia theobromae tiene un amplio rango de hospedantes, es encontrado por todo el mundo en una amplia variedad de plantas en las zonas tropicales, subtropicales y templadas (Lewis, 1978).

Otras plantas hospedantes crecen en los Estados Unidos, tales como el sicomoro, olivo ruso, manzano, fresno espinoso, aguacate, azalea, baccharis, alcanfor, carissa, catalpa, castaño, eucaliptos, higuera, parra, árbol de hule, acebo, tilo, macadamia, malva, mango, mimosa, limón, naranja trifoliada, palma de coco, peral, peral espinoso, nogal, caquí, pino de la isla Norfolk, encino, rosal, sasafrás, roble de seda, zumaque, mundillo, sauce, uva y jazmín amarillo (Wayne *et al.* 1987, Lewis, 1978, Glenn, 1976; Cedeño *et al.* 1992).

En México, se ha encontrado a *Botryodiplodia theobromae* atacando especies de eucalipto, entre las que destacan: *E. camaldulensis*, *E. tereticornis*, *E. urograndis*, y *E. urophylla* y a especies de hoja ancha como *Gmelina arborea* (Cibrián et al. 1999a).

3.6.6. Daños

Dependiendo de la planta hospedante, el hongo causa: canchros, muerte de ramas, pudrición de frutos, pudrición de semillas, destrucción de hojas, gomosis, pudrición de raíz, pudrición de cuello o manchas negras de madera (Wayne et al. 1987).

Una investigación en 1960, reveló que el cancro *Botryodiplodia theobromae* fue el causante de una seria enfermedad en tallo del Olivo ruso en barreras de protección contra el viento en Nebraska U.S.A. (Glenn, 1976).

Causa la muerte de puntas, ramas e incluso de árboles completos (Cibrián et al. 1999b).

El hongo causa canchros en árboles localizados en las zonas templadas (Lewis, 1978).

Los tejidos mueren rápidamente en dirección longitudinal, pero lentamente en dirección transversal. El cinchamiento completo del tallo principal puede tomar

muchos años. Los árboles infectados pueden tener una parte del tallo muerto; otros, tallos con muchas ramas pequeñas muertas y otros con daños no perceptibles (Glenn, 1976).

Los efectos de la infección pueden extenderse de pequeños canchros, a la mortalidad de árboles. Los canchros pequeños tienen poco efecto sobre árboles. Los canchros grandes reducen la velocidad de crecimiento, causan madera defectuosa y debilitan al tallo para hacer al árbol más vulnerable a daños de rotura por el viento. La muerte regresiva cambia el patrón de crecimiento y la forma de los árboles individuales. La bifurcación terminal resulta de la muerte regresiva. La muerte regresiva severa puede matar los árboles (Lewis, 1978).

3.6.7. Síntomas

B. rhodina es una de tres especies de *Botryosphaeria* que causa canchros idénticos, muerte regresiva de ramitas y gomosis sobre árboles de durazno. *B. rhodina* entra a través de heridas de tallos, especialmente heridas de podas. El grado de estrés impuesto sobre las plantas por otros factores influye en la extensión del daño. Las plantas son capaces de producir gomas o resinas en el sitio de infección. La goma o resina impregna el tejido afectado y puede exudar en el margen de la lesión. Esto es común en durazno, pino, de la isla de Norfolk y olivo ruso (Wayne *et al.* 1987).

Los canchros causados por *B. rhodina* tienen forma elongada, el avance del hongo en los tallos es más rápido hacia adelante que alrededor de estos. Pueden pasar varios años antes de que el tallo enfermo sea rodeado totalmente. El único síntoma puede ser la muerte de ramas. Los picnidios se desarrollan en la corteza y ramas muertas (Wayne *et al.* 1987).

En los sicomoros *B. rhodina*, causa muerte regresiva. La infección se inicia en áreas de ruptura o heridas en ramitas, y avanza progresivamente hacia ramas grandes. El hongo crece en la albura, a la cual finalmente mata y mancha con tono sombrío como señal de avance en la corteza. Los canchros de forma alargada, son cuatro veces más amplios que anchos y el manchado de la albura se da en una extensión de 30-40 cm más allá del cancro (Wayne *et al.* 1987).

En arbolado tropical *B. rhodina* fue la causante de una mancha negra en la madera de ciertos árboles, la mancha esta asociada con heridas hechas por insectos descortezadores. Los insectos vectores son sospechosos de ser importantes en regiones templadas, pero nunca ha sido asociado con árboles enfermos causados por éstos hongos (Wayne *et al.* 1987).

El cancro negro es una enfermedad importante del eucalipto, causa la muerte de puntas, ramas e incluso árboles completos. Los árboles que tienen muerte de puntas, se observan deformados, con sus ramas inferiores creciendo vigorosamente, la muerte de puntas es rápida. En puntas dañadas se tienen longitudes de tallo necrosado que varían de 10 a 100 cm. En los troncos provoca

lesiones circulares a ovales alargadas de hasta 15 cm de longitud. Las lesiones son oscuras, cubiertas con grandes masas de esporas. También infecta hojas en donde causa lesiones grandes, de color café, en ellas existen picnidios y esporas de este hongo. En Gmelina, ataca las puntas de árboles previamente debilitados (Cibrián *et al.* 1999a y b).

3.6.8. Condiciones que favorecen al patógeno

Las manchas de *B. rhodina* varían en virulencia y muestra escasos hospedantes específicos. Los daños ocasionados por las manchas son favorecidos por el estresamiento que puede ser causado por calor y falta de agua. El hongo se desarrolla a temperaturas altas, cercanas o menores a 40° C y crece más rápido en el rango de 30° –34° C, y de forma más satisfactoria por encima de la temperatura óptima para el crecimiento de muchas plantas. Los canchros se desarrollan más rápidamente sobre los hospedantes en el verano (30° –35° C), principalmente sobre árboles estresados. Experimentalmente el hongo ha causado pocos o ningún daño sobre plantas inoculadas a temperaturas de entre 20° –25° C (Wayne *et al.* 1987).

En adición, la identificación del hongo, se puede realizar por medio de la producción de picnidios sobre madera muerta; los cultivos del hongo se pueden realizar de las áreas de avance del cancro *Botryodiplodia theobromae* y pueden ser hechas en Papa-Dextrosa-Agar (Lewis, 1978).

El hongo *Botryodiplodia theobromae* tiene una temperatura óptima de crecimiento de 86°F y desarrollo del tubo germinativo de 93°F (Glenn, 1976).

El hongo produce canchales en ramas y tallo principal. Esto es favorecido por altas temperaturas y condiciones de estrés por sequía (Glenn, 1976; Lewis, 1978).

3.6.9. Ciclo de la enfermedad

Los conidios de *Botryodiplodia theobromae*, usualmente vienen de picnidios que se encuentran sobre ramas y ramitas muertas en el mismo árbol o en uno adyacente y son la fuente de inóculo para las nuevas infecciones. El hongo puede vivir saprófiticamente y puede producir esporas por un año o más sobre partes de plantas leñosas que están muertas. Los conidios son liberados durante o después de la lluvia y son dispersados por el viento, pero pueden también ser transportados por insectos barrenadores, agua salpicada o de corrientes, y por instrumentos de poda. Ellos pueden estar solos o en grupos. Cuando son liberados ellos están en una o dos células y con frecuencia transparentes, pero ellos pronto tornan la corteza morena. Los conidios morenos toleran la desecación y son capaces de sobrevivir para la próxima estación de crecimiento en la corteza de árboles cítricos. Las esporas que se depositan en árboles debilitados, ya sean hojas, brotes tiernos o lesiones en tallos y ramas, tienen altas probabilidades de sobrevivir, penetrar, germinar y colonizar el tejido del hospedante (.Lewis, 1978; Wayne *et al.* 1987; Cibrián *et al.* 1999b).

La colonización no siempre resulta en un cancro. La susceptibilidad de los árboles involucra, la virulencia del hongo, y las condiciones ambientales como los factores determinantes para la formación del cancro. La cepa más virulenta puede causar canchros en árboles no estresados, pero la cepa menos virulenta no. El desarrollo de los canchros es favorecido por altas temperaturas y estrés por agua. Los conidios son nuevamente producidos en canchros establecidos, y el proceso de la infección es repetido si las condiciones ambientales son favorables (Lewis, 1978).

3.6.10. Control

La falta de información sobre el ciclo de la enfermedad limita las recomendaciones que pueden ser hechas para reducir el impacto de esta enfermedad (Glenn, 1976).

Las bajas ocasionadas por el cancro *Botryodiplodia* pueden reducirse con prácticas de cultivo. Evitando realizar heridas en los tallos y la formación de muñones en ramas. Las podas deben realizarse durante la tarde o durante el invierno cuando la colonización por *Botryodiplodia theobromae* es reducida a causa de las bajas temperaturas. Evitar plantar en sitios pobres y secos, porque el estrés por falta de agua favorece la infección y el desarrollo de la enfermedad. Los árboles de sombra pueden regarse durante los períodos de sequía. Cuando sea posible, se deben plantar plantas que estén adaptadas geográfica o climáticamente al sitio particular. La fuente de semillas puede ser local si es

posible. Usar cuando estén disponibles, especies genéticamente mejoradas con resistencia al cancro *Botryodiplodia* (Lewis, 1978).

La identificación de terrenos que ofrezcan menos estrés hacia los árboles y la determinación de la especie o procedencia de eucalipto que sea menos atacada por el hongo, permitirá lograr una mayor resistencia al patógeno. Los árboles actualmente afectados requerirán de mayor tiempo para alcanzar el diámetro mínimo de cosecha y tendrán una forma de fuste inadecuada, en ellos se recomienda la remoción y sustitución por especies o procedencias menos susceptibles. La poda de ramas y puntas muertas en árboles ligeramente afectados y su posterior destrucción mediante quema, permiten remover el inóculo del hongo de la plantación, pero los arboles podados no garantizan su recuperación. En árboles de alto valor comercial u estético, se pueden aplicar fungicidas sistémicos cuyo ingrediente activo sea *Benomyl* del tipo Derosal o Benlate pero sólo como preventivos (Cibrián *et al.* 1999a y b).

3.7. Cancro del eucalipto *Cryphonectria cubensis* Bruner (DIAPHORTALES: VALSACEAE)

3.7.1. Agente Causal

El cancro *Cryphonectria*, causado por el hongo *Cryphonectria cubensis* (Bruner) Hodges, Ascomycete, sinónimo de *Diaporthe cubensis* Bruner, es el agente

causal de la enfermedad cancrosa más importante en *Eucalyptus spp* en muchas áreas tropicales del mundo, donde estos árboles están creciendo como exóticos en plantaciones (Ciesla *et al.* 1996; Hodges *et al.* 1986; CATIE, 1991; Wingfield, 1998).

3.7.2. Significancia

Aunque el hongo es conocido en Australia donde el eucalipto es nativo, su ocurrencia ahí es oscura y no está asociado como un problema de enfermedad (Wingfield, 1998).

La información disponible sobre la importancia de *C. cubensis* era escasa, hasta antes de 1970, cuando fue reportada causando graves canchros sobre *Eucalyptus spp* en Surinam (Boerboom y Maas, 1970).

La enfermedad como tal fue descubierta en Sudáfrica en 1988 donde causó la eliminación de varios clones de eucalipto. A partir de entonces, en varias partes del mundo se reportaron severos brotes de la enfermedad, convirtiéndose en un factor limitante para el cultivo comercial de ciertas especies de *Eucalyptus* (Ciesla *et al.* 1996; Wingfield, 1998).

En muchos países de América tropical, el cancro del eucalipto es la principal enfermedad de las plantaciones. Para 1991 en América Central, todavía no había alcanzado altos niveles de incidencia; sólo había sido observada en la

zona atlántica de Costa Rica, donde las condiciones climáticas son favorables para el desarrollo del patógeno. Aunque no hay datos precisos sobre las pérdidas que ocasionó, se han reportado daños significativos que alcanzan el 57% en las plantaciones (CATIE, 1991).

Durante condiciones climáticas favorables, la velocidad de infección puede llegar a un 80%. En Brasil (Alfenas *et al.* 1983) y Surinam (Boerboom y Maas, 1970) reportan un 30 y 50% respectivamente, de los troncos en plantaciones de *Eucalyptus spp* muertos por este patógeno.

3.7.3. Distribución

La distribución del cancro *Cryphonectria* esta probablemente determinada por el clima tropical aparentemente necesario para el crecimiento y propagación del patógeno (Conradie *et al.* 1990; Florence *et al.* 1986).

En 1980, *Cryphonectria cubensis* fue registrada en plantaciones jóvenes de *Eucalyptus urophylla* en Magombe, Edea, United Republic of Cameroon. Este fue el primer registro de *C. cubensis* (previamente conocido como *Diaporthe cubensis* Bruner) en África y el viejo mundo. El hongo también ha sido registrado en Cuba, Surinam, Brazil, Puerto Rico, Costa Rica y los Estados Unidos de América (Florida y Hawaii), donde ha causado serias bajas en plantaciones de eucaliptos donde las condiciones favorecen el ataque (Gibson, 1981).

Conradie *et al.* 1990, hace un listado en donde reporta la presencia de *Cryphonectria cubensis* en Cuba, Surinam, Trinidad, Florida, Hawaii, Puerto Rico, Samoa Occidental, India, África del Norte, Sudáfrica, Hong Kong, Camerun y Venezuela.

Ocurre en los principales *Eucalyptus* que están creciendo en áreas que se encuentran entre los 30° Norte y Sur del Ecuador. En el Oeste de Australia, ocurre sobre raíces de *E. marginata* (Boerboom y Maas, 1970; Hodges *et al.* 1979; Ferreira 1989; Conradie *et al.* 1992).

El patógeno *Cryphonectria cubensis* (sinónimo: *Diaporthe cubensis*) (*Diaporthales: Valsaceae*), esta extendido en varios eucaliptos de Sudamérica y la Región del Caribe, esto también ocurre en Hawaii. En Sudamérica, esta enfermedad es intensificada en plantaciones de eucaliptos que se regeneran por brotes de tocones de la plantación original. El hongo se propaga de los tocones a los brotes. Muchas especies de eucaliptos han sido introducidas principalmente como árbol ornamental o han sido establecido experimentalmente en plantaciones forestales en el Sur de Florida y las partes calurosas de California (Wayne *et al.* 1987).

Reportes indican la presencia de este cancro en Sudáfrica, Surinam y la Región del Caribe, este también ocurre en Hawaii, Brasil, Costa Rica y Cuba (Ramírez, 1997).

En México se ha reportado recientemente afectando plantaciones forestales de eucaliptos en áreas tropicales de Acaponeta, Nayarit; Tabasco y Veracruz (Hodges, 1998; Cibrián *et al.* 1999a).

3.7.4. Hospedantes

Cryphonectria cubensis corresponde a un patógeno primario de *Eucalyptus* spp., atacando a un gran número de especies de este género , especialmente en la franja tropical. Fuera del género *Eucalyptus* solo se ha encontrado en: *Eugenia caryophyllus* (craveiro-da-India) en Brasil y en *Tibochina urvilleana* (siete cueros mexicano) en Colombia (Gibson, 1981; Ramírez, 1997).

En Florida, las plantaciones de *Eucalyptus grandis* (goma rosa) y *E. camaldulensis* (goma roja), están sujetas al cancro *Cryphonectria cubensis* que se desarrolla sobre el tronco prácticamente al nivel del suelo (Wayne *et al.* 1987).

Las especies susceptibles de *Eucalyptus* plantadas recientemente en áreas donde el hongo estuvo ya presente, se volverán a infestar, esto ha sido explicado por la rápida aparición del cancro en plantaciones recientes de *Eucalyptus* en áreas aisladas. Árboles de *Eucalyptus* plantados en lugares muy aislados, por ejemplo, dentro del Amazonas o sobre grupos de Islas tales como Hawaii o Samoa Occidental, son infectados por *Cryphonectria cubensis* dentro de un tiempo corto de su instalación (Hodges *et al.* 1986).

Muchas especies de eucaliptos varían ampliamente en susceptibilidad al ataque de *C. cubensis*, como se muestra en la siguiente clasificación:

Altamente susceptibles: *E. saligna*, *E. maculata* y *E. camaldulensis*.

Moderadamente susceptibles: *E. grandis*, *E. alba*, *E. propinqua* y *E. tereticornis*.

Moderadamente resistentes: *E. robusta*, *E. microcorys* y *E. paniculata*.

Altamente resistentes: *E. citriodora*, *E. urophylla*, *E. torelliana* y *E. deglupta*.

Esta clasificación es una aproximación, debido a que puede encontrarse variable susceptibilidad entre procedencias de las mismas especies (Ferreira *et al.* 1977; Gibson, 1981; Wayne *et al.* 1987; Ciesla *et al.* 1996).

En México se reporta la presencia de *Cryphonectria cubensis* en plantaciones forestales tropicales, principalmente sobre *Eucalyptus grandis*, *E. camaldulensis*, *E. saligna*, *E. tereticornis* y *E. urophylla* (Hodges, 1998; Cibrián *et al.* 1999a).

3.7.5. Detección

El agente causal, *Cryphonectria* (sin. *Diaporthe*) *cubensis*, es un Ascomycete que se detecta por la presencia de un gran número de peritecios o picnidios sobre la superficie del cancro. Los picnidios tienen forma de pera y producen masas de conidios ovalados, unicelulares y de color amarillo-naranja, usualmente superficiales sobre el cancro o ligeramente hundidos en la corteza. En el campo también se encuentra la fase perfecta, que se determina por la presencia de peritecios formados en grupos sueltos con bases globosas ligeramente metidos en la corteza; los peritecios se observan como pelitos,

debido a su cuello largo que sobresale de la superficie, la longitud de los cuellos es determinada por la cantidad de humedad. Las ascosporas (ocho por saco) son hialinas, bicelulares, sin constricción, cilíndricas, con los extremos redondos, rectos o curvos (CATIE, 1991; Ciesla *et al.* 1996).

3.7.6. Síntomas de la enfermedad

En Sudáfrica, el cancro *Cryphonectria* normalmente mata árboles jóvenes en los primeros dos años de crecimiento, cinchando tallos en la base. Los árboles cinchados se marchitan y mueren de repente en el verano durante los períodos secos calientes. Los árboles susceptibles que escapan a la muerte, tienden a tener hinchadas sus bases rodeadas por corteza resquebrajada en la que pueden verse fácilmente las estructuras asexuales del hongo fructificando (Wingfield, 1998).

El cancro del eucalipto es una enfermedad que sólo aparece en las plantaciones. Los síntomas empiezan a manifestarse en el quinto mes a partir de la siembra, y la enfermedad dura hasta un año y medio, provocando la muerte de las plantas por estrangulamiento del tallo. Los árboles maduros reaccionan formando una corteza nueva sobre el área necrosada, de modo que se observan fisuras por la presión sobre la corteza vieja y desgarramiento del tronco. En estas áreas, aun cuando no aparezca el cancro típico, es posible observar gran cantidad de puntitos negros sobre el tejido (CATIE, 1991).

El síntoma característico de la enfermedad es una depresión en la corteza, principalmente en la base del tronco, la cual presenta un color más oscuro que contrasta con el tejido sano, rodeada por un callo de cicatrización. Conforme el callo se desarrolla, la cáscara se seca, se resquebraja y se desprende la corteza en forma de tiras, dejando la madera expuesta. El área afectada puede presentar hinchazón prominente en la base del fuste. El tamaño del cancro depende de la susceptibilidad del hospedero y de las condiciones ambientales. Si bien los síntomas se presentan en la base del tallo, ocasionalmente pueden presentarse a diferentes alturas, en las axilas de las ramas secas o quebradas (CATIE, 1991; Ramírez, 1997).

En árboles adultos, la enfermedad provoca la pérdida en la resistencia del tronco, por lo que ocasiona quebraduras en la zona del cancro; además, reduce la capacidad de crecimiento, el número y vigor de los brotes. Los árboles que logran sobrevivir con el daño pierden su potencial de competitividad (CATIE, 1991).

Cibrián *et al.* 1999a, menciona que se forman cancros a lo largo y en la base de los troncos. Los cancros se forman en las cicatrices de ramas caídas naturalmente, en estas cicatrices se observan áreas de corteza semicirculares, colapsadas, miden hasta 30 cm de diámetro. Sobre la superficie de las partes de corteza afectada se encuentran abundantes picnidios o peritecios, en ambos casos son estructuras en forma de botella, de color negro y con cuello largo, su gran número le confiere a la parte dañada un color oscuro, visible desde varios

metros de distancia. Los peritecios miden hasta tres milímetros de altura y sobresalen de la corteza.

Síntomas sobre *E. grandis* en Florida son similares a los de varias otras especies en Sudamérica y la Región del Caribe. Las lesiones se desarrollan superficialmente en la corteza cerca de la base del tronco de dos años de edad y lentamente ahondan y se expanden alrededor del tallo. El único síntoma externo en etapas tempranas puede ser áreas ligeramente deprimidas. Sin embargo más tarde, la corteza superficial agrietada longitudinalmente y hacerse más áspero y iniciando a desprenderse superficialmente. El margen del cancro es abrupto. El cancro es más extensivo en la corteza exterior (floema secundario viejo) y puede afectar muchos de los tejidos sin dañar el cambium. La corteza enferma exterior puede ser mudada del mismo árbol. Otras lesiones, afectan el cambium y pueden quedarse delimitadas por un callo rugoso o matar el árbol por cinchamientos. El cinchamiento es raro en Florida, sin embargo, cuando el cambium esta muerto, secciones de madera decolorada, lesiones de un metro o más de largo son comunes, y múltiples lesiones pueden ocurrir en un árbol dado, canchros ocasionales ocurren arriba de la base del tronco, con frecuencia centrados sobre muñones de ramas (Wayne *et al.* 1987).

3.7.7. Condiciones que favorecen al patógeno

La temperatura y humedad son los factores ambientales más importantes para el desarrollo de la enfermedad. Los ataques severos se presentan en regiones con

una precipitación anual superior a los 1 200 mm y temperaturas superiores a los 20°C e inferiores a los 32°C. El hongo puede sobrevivir como saprófito o como patógeno de otros hospederos nativos del bosque tropical. Las ascosporas y conidios se pueden propagar hacia plantaciones de eucalipto, por medio del viento, insectos o la lluvia que disemina el inóculo sobre árboles sanos, donde acelera su reproducción aprovechando como puerta de entrada las fisuras de la corteza o heridas naturales. (CATIE, 1991; Ramírez, 1997).

Cryphonectria cubensis infecta árboles a través de heridas. La infección de las bases de árboles jóvenes es la situación más común en Sudáfrica. En este país, *C. cubensis* casi nunca produce peritecios y este, esta distribuido principalmente por conidios. Los propágulos de infección más comunes son esporas asexuales que son dispersadas por salpicadura de lluvia. Las esporas sexuales que son diseminadas por el viento son casi inexistentes en Sudáfrica, considerando que ellos son comunes en otras partes del mundo como Brasil (Wingfield, 1998).

Condiciones de alta temperatura y humedad son importantes para el desarrollo de la infección a través de heridas. Los ataques severos se presentan en regiones con una precipitación anual superior a los 1200 mm y temperaturas superiores a los 20°C e inferiores a los 32°C (CATIE, 1991; Ciesla *et al.* 1996).

Como una indicación de esta preferencia para climas calientes *C. cubensis* crece rápidamente en cultivo puros a 30° C. Observaciones en Sudamérica han

indicado que el cancro *Cryphonectria* es más severo en Regiones con constantes tiempos calurosos y abundante lluvia. El sur de Florida es considerado a ser algo desfavorables para la enfermedad porque los inviernos son relativamente fríos (por estándar tropical) y veranos, aunque calientes, son algo secos (Wayne *et al.* 1987).

El crecimiento de *C. cubensis* en cultivo tiene un óptimo entre 28-30°C y el ataque en campo es similarmente favorecido por temperaturas superiores a 23°C combinado con alta humedad y precipitaciones (Gibson, 1981).

La enfermedad aumenta extraordinariamente después de un prolongado estancamiento por elevación del manto freático, ello es debido a que los árboles, habituados a un suelo ligeramente arenoso durante mucho tiempo, sufrían a causa de una aereación insuficiente de sus sistema radical (Hernández, 1985).

La enfermedad puede ser provocada aparentemente por la penetración del hongo a través de heridas que dejan las pequeñas ramas en su caída natural, por los daños mecánicos que causan unas ramas al rozar con otras, a través de grietas que se producen en el tronco y las ramas a consecuencia del crecimiento del árbol (Hernández, 1985).

3.7.8. Requerimientos para su desarrollo *in vitro*

Cryphonectria cubensis es un hongo que crece rápidamente en la mayoría de los medios de cultivo comunes, las colonias son de color amarillo marrón y produce

pequeños picnidios con paredes blandas cubiertas con micelio de color amarillo-naranja brillante (Hodges et al. 1979). Después de 10 días, los picnidios se toman negros y las conidios son expulsados en una masa cremosa coloreada (Boerboom y Maas, 1970). En el medio de cultivo PDA = Papa-Dextrosa-Agar (caldo de 250 grs de papa, 20 grs de dextrosa, 20 grs de agar, agua para hacer un litro de medio), el hongo *Cryphonectria cubensis* crece fácilmente y forma colonias radiales de color anaranjado que invaden todo el medio (90 mm de diámetro) en sólo seis días de incubación, a una temperatura de entre 28 y 30°C. Cuando se incuba a temperaturas inferiores a 25°C o superiores a 35°C el crecimiento es lento; y es nulo a temperaturas inferiores a 10°C o superiores a 40°C (CATIE, 1991).

Aunque se han desarrollado numerosos medios para el aislamiento selectivo del hongo. El principio involucrado en el desarrollo de estos medios incluye inhibición selectiva o aumento del hongo. Actualmente existe un medio semiselectivo denominado *Cryphonectria*, el cual esta basado en ambos principios. El medio definitivo de *Cryphonectria* incluye 20 g de Difco Bitek Agar, 10 g de D-glucosa, 1 g de L-asparagina, 0.1665 g de i.a. de Dicloran, 0.001 g de i.a. de Vinclozolin y 2 g de ácido gálico por litro de agua destilada. El medio semiselectivo descrito, provee un medio mejorado de aislamiento de *C. cubensis* en asociación con microorganismos encontrados en suelo forestal y tejido leñoso de *Eucalyptus*. Este medio resulta ser una herramienta potencialmente valiosa para estudios ecológicos de *C. cubensis* (Conradie et al. 1992).

3.7.9. Características morfológicas

Los picnidios de *Endothiella* (Sacc), el anamorfo de *Cryphonectria cubensis*, son producidos durante la estación lluviosa sobre la corteza muerta que circunda al cancro (Florence *et al.* 1986).

Los picnidios y peritecios, a veces ambos al mismo tiempo, son formados en abundancia sobre la corteza muerta, especialmente en hendiduras. Los picnidios son cilíndricos generalmente piriformes con un cuello atenuado de tamaño variable, superficiales o con sus bases sólo escasamente embebidas en la corteza, solitarios o fusionados a sus bases en grupos de dos a cinco. De color café rojizo al inicio, ellos oscurecen a casi negro, excepto en la punta que continúan cafésosos. Ellos miden de 0.4 a 1.2 mm en altura y de 0.2 a 0.8 mm en diámetro basal (Hodges *et al.* 1979; Wayne *et al.* 1987).

Reportes de Ferreira *et al.* 1977, indican que las dimensiones de las ascas, ascosporas y conidios del patógeno *C. cubensis* son: 25-33 X 5.0-6.5 μm , 5.8-8.2 X 2.2-3.0 μm (bicelulares), y 2.5-4.0 X 1.8-2.2 μm ("clavados a ovals generalmente") respectivamente. Sin embargo Barnard *et al.* 1987, reportan que las dimensiones de las ascas, ascosporas y conidios del patógeno *C. cubensis* son: 27.7 X 5.8 μm , 6.7 X 3.0 μm (bicelulares), y 3.6 X 1.6 μm (en general ovals) respectivamente.

Los conidios son expulsados bajo condiciones de humedad en zarcillos amarillentos de 3 mm de longitud, son individualmente transparentes (hialinos), unicelulares, clavados a generalmente ovoides (Hodges *et al.* 1979; Florence *et al.* 1986; Wayne *et al.* 1987).

Los peritecios se desarrollan durante períodos secos, son negros, parcialmente inmersos en la corteza, solitarios o en pequeños grupos y a veces alineados en una hendidura. Sus cuellos varían en longitud dependiendo de la humedad, los formados cercanos al nivel del suelo cuando la humedad es alta pueden ser de 10 mm o mas en longitud. Inicialmente los peritecios son de color café brillante y cambia a café oscuro y negros cuando están maduros (Hodges *et al.* 1979; Florence *et al.* 1986; Wayne *et al.* 1987).

Las ascas son clavadas, con una capa apical espesa perforada por un canal estrecho; cada una con ascosporas organizadas biserialmente, transparentes, bicelulares, elípticas con finales redondeados, rectos o ligeramente curvos. El papel epidemiológico de las ascosporas y conidios no ha sido reportado (Hodges *et al.* 1979; Florence *et al.* 1986; Wayne *et al.* 1987).

3.7.10. Daños

Dentro de los principales daños que reporta Ramírez en 1997 destacan:

- Muerte de ejemplares juveniles de entre los 5 meses y 2 años de edad.
- Reventamiento y desprendimiento de la corteza en forma de tiras.

- Pérdidas de rebrotes en tocones.
- Rechazo de trozas de árboles afectadas con canchros para fabricación de pulpa para papel.
- Pérdida de incremento volumétrico.

En árboles adultos, la enfermedad provoca pérdida en la resistencia del tronco, por lo que ocasiona quebraduras en la zona del canchro; además reduce la capacidad de crecimiento, el número y el vigor de los brotes. Los árboles que logran sobrevivir con el daño pierden su potencial de competitividad (CATIE, 1991).

En la zona Atlántica de Costa Rica, donde las condiciones climáticas son favorables para el desarrollo del patógeno, se reportan daños significativos que alcanzan hasta el 57% en las plantaciones (CATIE, 1991).

La enfermedad en estado avanzado, puede ocasionar la muerte del árbol, en su fuste quedan deformaciones gangrenosas que frecuentemente tienen una longitud de varios metros (Hernández, 1985).

La mayor severidad de daño, esta relacionada con regiones más tropicales, donde la media mensual de temperatura es igual o superior a 23°C y una precipitación igual o superior a 1200 mm, ocasionando daños como: muerte de plantas a partir de tres años de edad y un efecto negativo en la aparición de brotes de tocón, que portan canchros típicos (Ferreira, 1997).

3.7.11. Control

Un control del cancro del eucalipto consiste en evitar plantar las siguientes especies en regiones de alto riesgo: *E. saligna* y algunas procedencias de *E. propinqua* y *E. dunnii*. Las procedencias de otras especies populares del Sudeste brasileño, actualmente las procedencias de *E. camaldulensis*, *E. citriodora*, *E. paniculata*, *E. pilularis*, *E. microcorys*, *E. pelliata*, *E. resinifera*, *E. tereticornis*, *E. robusta*, *E. urophylla* y *E. torelliana* tienen de moderada a alta resistencia al cancro. Otra alternativa es que en plantíos de clones resistentes al cancro, se multiplique por enraizamiento a partir de selección en plantaciones fuertemente atacadas con más de seis años de edad (Ferreira, 1997).

El manejo de esta enfermedad ha sido lograda en gran parte a través de selección por resistencia combinada con otras características de cultivo deseables dentro de las especies (Gibson, 1981).

En las plantaciones forestales del sureste en México, se recomienda para el control de *C. cubensis* la inoculación artificial con el patógeno, para probar que ellos son resistentes. Se recomienda que árboles de cada clon sean inoculados en más o menos un año de edad. Si la prueba clonal es establecida en más de una localidad, las inoculaciones necesitan solo ser hechas en una localidad, ya que ellas no son sensitivas a variaciones locales de humedad (Hodges, 1998).

Debido a que actualmente no se recomienda tratar con fungicidas la corteza del eucalipto, varias veces al año, principalmente de índole económico, corresponde sólo respetar todos los principios sanitarios pertinentes en los rodales existentes y eliminar todos los árboles atacados rápidamente de los bosques. El control de *C. cubensis* debe orientarse a la búsqueda de resistencia intra o inter - específica a la enfermedad, tomándose en cuenta una especial preparación del suelo (Hernández, 1985; Ramírez, 1997).

A largo plazo, el control de la enfermedad en un cultivo silvícola es posible mediante cualquiera de los dos métodos: Por selección en campo o por reproducción para obtener resistencia. En Brasil, se ha obtenido resistencia estable al cancro *C. cubensis* mediante selección intensiva de campo, seguida por reproducción vegetativa (Sharma *et al.* 1985, citado por Conradie *et al.* 1990).

Los medios más eficaces para reducir pérdidas o infecciones debido al cancro *Cryphonectria* es asegurando que las especies, variedades o clones menos susceptibles a la enfermedad no sean plantados en áreas de alto riesgo. La susceptibilidad relativa de clones puede ser evaluada mediante la inoculación artificial de árboles, tal protección ha demostrado ser particularmente útil reduciendo la incidencia de la enfermedad en partes de Sudáfrica (Alfenas *et al.* 1983; Wingfield, 1998; Cibrián *et al.* 1999a).

4. MATERIALES Y METODOS

La metodología desarrollada estuvo basada principalmente en los postulados de Koch que a continuación se resumen:

- 1.- El patógeno debe encontrarse asociado con la enfermedad en todas las plantas enfermas que se examinen.
- 2.- El patógeno deberá aislarse y desarrollarse en medios de cultivo puros y nutritivos. Se deberán describir sus características (parásito obligado), o bien debe permitirse que se desarrolle sobre una planta hospedante susceptible (parásito obligado) y registrar su presencia y los efectos que produzca.
- 3.- El patógeno que se desarrolle en un cultivo puro, debe ser inoculado en plantas sanas de la misma variedad o especie en que apareció la enfermedad y debe producir la misma enfermedad en las plantas inoculadas.
- 4.- El patógeno deberá aislarse una vez más en un cultivo puro y sus características deben corresponder a las anotadas en el segundo punto.

A fin de cumplir con los objetivos del presente proyecto de investigación se desarrolló la metodología que a continuación se describe.

4.1. Descripción general de áreas de estudio.

4.1.1. Reserva Natural Xochitla

La Reserva Natural Xochitla se localiza entre las coordenadas 19°42'46" de latitud N y 99°11'51" de longitud W y a una altitud 2260 msnm, al oriente del municipio de Tepetzotlán Estado de México. Ocupa una extensión de 70 ha, incluyendo áreas construidas, jardines y caminos. Según la clasificación climática de Köppen y modificada por E. García (1978), se clasifica a Xochitla con un clima C(wo)(w)b(i') el cual pertenece a los templados con lluvias en verano, el más seco de los templados subhúmedos, verano fresco largo con poca oscilación y una precipitación media anual de 743 mm, (Medina, 1997). Los suelos de Xochitla son originados de depósitos aluviales recientes, provenientes de los ríos Cuautitlán y Tepetzotlán, clasificados de acuerdo a la FAO/UNESCO (1988), como Fluvisoles dístricos (FLd), (Colegio de Posgraduados en Ciencias Agrícolas, 1997). Dentro de las especies arbóreas más importantes en Xochitla destacan en orden de abundancia: Álamo plateado, Trueno, Pirul, Fresno blanco, Eucalipto, Sauce llorón, Cedro blanco, Yuca y otras en menor número.

4.1.2. Plantaciones Industriales Mexicanas de la empresa COPAMEX, S. A. de C. V. Acaponeta Nayarit.

Las plantaciones de la empresa COPAMEX, S.A. de C. V. se ubican en el sur de Sinaloa y norte de Nayarit; en este último estado en Acaponeta y, en el predio San Miguel II que se encuentra a una altitud de 125 msnm se realizaron colectas sobre una plantación de *Eucalyptus camaldulensis*, la cual presentaba síntomas como: muerte descendente, necrosis a nivel de cambium y estructuras esféricas agregadas en círculos de apariencia negruzca que alcanzaban los 10 cm de diámetro sobre la corteza. El agente causal fue identificado como *Botryodiplodia spp.*

4.1.3. Plantaciones de PLANFOSUR en Las Choapas Veracruz.

Las plantaciones de la empresa PLANFOSUR, S. de R. L.. de C. V. se localizan en Las Choapas, Veracruz, cuyas coordenadas son 93° 35' a 94°15' de longitud Oeste, y entre 17°04' a 18°05' de latitud Norte. El municipio de las Choapas limita al norte con el municipio de Coatzacoalcos, al sur con el estado de Oaxaca, al este con el estado de Tabasco, al oeste con Minatitlán y al Sureste con el estado de Chiapas Su clima es tropical con lluvias la mayor parte del año. El área donde se realizaron las colectas de material enfermo de *Eucalyptus grandis* que presentaba cancrrosis en los fustes, muerte del cambium y un hinchamiento del tronco tiene una altitud promedio es de 35 de msnm. La ubicación de los cancrs en los árboles varía de 0 a 7 metros, el

tamaño del cancro puede alcanzar más de 50 cm de longitud. En las placas de corteza afectada se observaron peritecios en grupos muy numerosos de color oscuro a manera de dedos, sobresaliendo de las placas de corteza. El agente causal fue identificado como *Cryphonectria cubensis*.

4.1.4. División de Ciencias Forestales.

Los ensayos de inoculación fueron realizados en las instalaciones de la Universidad Autónoma Chapingo ubicadas en el Departamento de la División de Ciencias Forestales, que consistió de un invernadero plástico cuyas dimensiones son de 6 por 6 metros por tres metros de altura, al cual se le pusieron instrumentos para la medición de temperaturas máximas y mínimas al igual que un humidificador para la proporción de humedad ambiental.

El material vegetal para el experimento fue obtenido de los viveros de la empresa COPAMEX en Nayarit, la especie utilizada fue *Eucalyptus camaldulensis* de dos años de edad.

Las plantas se mantuvieron en el vivero de la División de Ciencias Forestales, el cual se ubica geográficamente entre las coordenadas 98° 53' de Longitud Oeste y 19 ° 29' de Latitud Norte; presenta una altitud de 2240 msnm. El clima del lugar es un C (w_o) WB (i' o) clasificado como templado subhúmedo con lluvias en verano y poca variación térmica, temperatura media anual máxima de 24 °C,

temperatura media anual mínima de 6 °C y temperatura media anual de 17.1 °C; y una precipitación media anual de 600 mm (Catalán, 1987).

4.2. Recorridos de campo

Para emprender el presente trabajo de investigación, se planeó la realización de recorridos de campo a la Reserva Natural Xochitla, a las plantaciones forestales de las Choapas Veracruz (PLANFOSUR) y a las plantaciones industriales mexicanas de Acaponeta Nayarit (COPAMEX); en estas áreas se encontraron árboles de eucalipto infectados por los diferentes canchros estudiados; estos recorridos sirvieron para coleccionar material patológico con signos y síntomas de la enfermedad, características que ayudaron para determinar al agente causal de la enfermedad.

Con el apoyo del laboratorio de Entomología y Patología Forestal de la División de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma Chapingo, se realizaron los diferentes cortes de tejido vegetal en forma manual y mediante el uso del micrótopo de congelación de aquellas áreas de corteza afectadas por los canchros, así como la elaboración de preparaciones microscópicas temporales y semipermanentes para la observación en el microscopio, aislamientos, purificaciones e identificación de cada uno de los canchros y los agentes asociados.

4.3. Colecta de material vegetativo

La colecta de muestras se realizó cortando o extrayendo aquellas partes de árboles infectados, como son ramas pequeñas y corteza respectivamente, en estas muestras se tuvo cuidado de que presentaran estructuras y síntomas de cada uno de los hongos; lo anterior fue logrado mediante el apoyo de una lupa de bolsillo con aumento 10x, tijeras de podar y serrucho curvo. Para ello se visitaron las áreas afectadas de la Reserva Natural Xochitla, Plantaciones forestales PLANFOSUR en las Choapas , Veracruz y plantaciones industriales mexicanas de Acaponeta Nayarit.

4.4. Manejo del material vegetativo

Conforme se visitaron los lugares con presencia de las enfermedades en estudio, se obtuvieron muestras de cada uno de los agentes patógenos causales de las enfermedades en estudio, las cuales inmediatamente después de ser extraídas de los árboles hospedantes, eran depositadas en bolsas de polietileno, las cuales permitieron un mejor manejo de las muestras colectadas.

Para tener un control de cada una de las muestras colectadas, se etiquetaron con los siguientes datos: nombre del hospedante, parte del árbol de donde fue obtenida la muestra, fecha de colecta, apariencia general de la planta, distribución de la enfermedad en el terreno, insectos y otras enfermedades presentes.

4.5. Preservación y traslado de material colectado

Se procuró mantener el material colectado desde el campo en un ambiente fresco, cuidando de no exponerlo directamente al sol durante su traslado inmediato al laboratorio de Patología Forestal de la División de Ciencias Forestales, donde fue guardado en un refrigerador convencional a una temperatura de 3-5°C aproximadamente, para su posterior análisis.

4.6. Descripción de sintomatología

A cada una de las muestras colectadas se les realizó una descripción de la sintomatología, considerando los diferentes tipos de síntomas que estaban presentes como son: coloración del follaje, presencia de canchales, flujos de savia, corteza quebrada, cambio de coloración en la madera, daños por insectos y presencia de cuerpos de reproducción.

4.7 Procesamiento del material vegetativo

El procesamiento del material colectado fue realizado en el laboratorio de patología forestal; tratando que este proceso no fuera mayor a un lapso de una semana, con la finalidad de evitar problemas de degradación y contaminación.

La mayoría del material colectado, fue procesado para obtener los diferentes aislamientos de los hongos, siguiendo la técnica descrita para este fin. También

parte de este material se utilizó para realizar cortes de tejido vegetal en forma manual y mediante el uso del micrótopo de congelación de aquellas áreas de corteza afectada por el cancro, para posteriormente elaborar preparaciones microscópicas temporales y semipermanentes para la observación en el microscopio.

4.8. Procedimiento de aislamiento y purificación

Todo el material colectado fue observado al microscopio estereoscópico para localizar lesiones y buscar cuidadosamente los signos de los patógenos. En algunas ramas donde aún se observaba tejido vivo, fue necesario eliminar cierta porción de corteza para localizar el avance de la lesión. En la interfase del tejido vivo y muerto se hizo un corte y se extrajeron pequeñas muestras del material vegetal. Por otra parte, las ramillas muertas y donde existían los cuerpos fructíferos del hongo (picnidios) se obtuvieron pequeños pedazos del tejido muerto con éstas estructuras. Ambos tipos de muestras se trabajaron a través del siguiente procedimiento de aislamiento y purificación que a continuación se describe:

- a) Se cortó el material vegetal enfermo en porciones de un tamaño aproximado de 1 cm² que contenía parte enferma y parte sana, las cuales fueron lavadas en un recipiente que contenía agua destilada estéril.

- b) Posteriormente, los pedazos de material vegetal se colocaron en cajas de petrí previamente esterilizadas, sometiéndolas a desinfección superficial con una solución de hipoclorito de sodio al 1.5% durante 3 minutos.
- c) Luego fueron enjuagados en tres porciones separadas de agua destilada esterilizada durante tres minutos aproximadamente en cada una de las porciones.
- d) Los pedazos de tejido enfermo fueron colocados en papel filtro previamente esterilizado, para eliminar el exceso de agua.
- e) Bajo condiciones de esterilidad y con la ayuda de una aguja de disección se realizó la siembra en el medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA), colocando los pedazos de tejido enfermo al centro de la caja de petrí que contenía el medio. El medio de cultivo PDA utilizado fue el recomendado por Hodges et al. 1986; Wingfield et al. 1992, para los diferentes hongos, los cuales se desarrollaron bien en este medio. Al medio PDA preparado se le agregaron 3 gotas de ácido láctico por cada medio litro de PDA para evitar el crecimiento bacterial. Cada caja petrí sembrada fue sellada con cinta parafilm para evitar posible contaminación por otros hongos y ácaros.
- f) Las cajas con medio de cultivo se incubaron en una cámara de crecimiento (estufa) a una temperatura de 29-30°C y se realizaron observaciones cada 24 hrs.
- g) Cuando se presentó el crecimiento miceliar alrededor de las muestras sembradas, se realizaron purificaciones de las colonias que presentaron crecimientos a cajas petrí limpias con medio de cultivo PDA.

- h) Ya que se obtuvieron crecimientos miceliares en las nuevas cajas, fueron transferidas a tubos de ensaye que contenían medio de cultivo PDA inclinado, con la finalidad de ser utilizados en estudios posteriores o para la reproducción masiva y colección del hongo.
- i) Los tubos que fueron sembrados con los hongos, se conservaron en refrigeración, y cuando el crecimiento del hongo cubrió la superficie del tubo con medio de cultivo inclinado, se les colocó aceite mineral en condiciones de esterilidad para conservarlos por un tiempo mayor de tres años.
- j) Cada una de las colonias de hongos que se aislaron, fueron conservados para realizar las pruebas de patogenicidad y para verificar la identidad del agente causal.

De las colonias obtenidas del proceso de aislamiento y purificación, se preparó el material que sirvió para la realización de las diferentes pruebas de inoculación; así como también se realizaron mediciones de las estructuras reproductivas (picnidios y conidios) de cada uno de los hongos. Además se elaboró una bitácora correspondiente al desarrollo y crecimiento de cada una de las colonias, donde se registró cada uno de los eventos que se presentaron durante el aislamiento y crecimiento de los hongos, tales como aparición del micelio, crecimiento en diámetro, cambios de coloración de la colonia y formación de estructuras reproductivas del hongo.

4.9. Elaboración de preparaciones

Del material experimental que presentó síntomas y signos de cada uno de los canchros, así como de las colonias que se obtuvieron del proceso de aislamiento y purificación, se elaboraron preparaciones microscópicas temporales y fijas semipermanentes para su observación al microscopio, para verificar e identificar a cada uno de los agentes causales de canchros pertenecientes a los géneros: *Botryodiplodia*, *Cryphonectria* y *Fusicoccum* o cualquier otro a aislar.

Para la elaboración de las preparaciones, se realizaron cortes de tejido vegetal en forma manual y mediante el uso del micrótopo de congelación de aquellas áreas de corteza que presentaban cuerpos fructíferos de cada uno de los canchros, haciendo cortes finos de 50 μm . Los cortes obtenidos fueron colocados en portaobjetos con lactofenol y se observaron en el microscopio de luz a 10, 20 y 40X. En éstos, se observaron las características morfológicas del patógeno.

De los medios de cultivos, se obtuvieron muestras de micelio y cuerpos fructíferos que al observarlos en el microscopio también mostraron ciertos atributos específicos del hongo.

4.10. Pruebas de patogenicidad

Para conocer el comportamiento de cada una de las enfermedades, se realizaron pruebas de patogenicidad, utilizando diversas cepas en árboles y varetas del hospedante *Eucalyptus camaldulensis*.

Las colonias obtenidas del proceso de aislamiento y purificación, sirvieron para preparar los materiales y realizar en ellos las pruebas de patogenicidad. Éstas fueron realizadas, tanto en **a) varetas de *Eucalyptus camaldulensis* colocadas en cámara húmeda**, como en **b) plantas vivas de *Eucalyptus camaldulensis***. La especie *Eucalyptus camaldulensis* fue seleccionada por ser una de las especies de eucalipto más susceptibles y mayormente disponible (Smith *et al.* 1996).

4.11. Inoculación

Una vez que fueron identificadas las cepas correspondientes a los diferentes hongos aislados y purificados, éstas sirvieron para realizar los diferentes tipos de inoculación tanto a varetas como a árboles jóvenes de menos de 2 años de edad de *Eucalyptus camaldulensis* visiblemente sanos, especie de la cual se realizaron los aislamientos de los canchros *Fusicoccum* y *Botryodiplodia*. Los agentes patógenos fueron puestos en contacto con las varetas y árboles hospedantes de *Eucalyptus camaldulensis* a través de la inoculación artificial, una vez inoculados se mantuvieron en observación constante, para conocer la

susceptibilidad del hospedante y la patogenicidad de los hongos aislados, así como observar la secuencia de manifestación de signos, síntomas e índices de lesión de la enfermedad a través del tiempo.

4.12. Métodos de inoculación a realizar

Las inoculaciones se realizaron en varetas y plantas de eucaliptos (*Eucalyptus camaldulensis*), inoculando con cepas aisladas de la misma especie.

Las inoculaciones en las varetas obtenidas de plántulas de eucaliptos sanos, se realizaron en el centro de la vareta seleccionada. Los tipos de inoculación realizados para los diferentes canchros en estudio se basaron en recomendaciones hechas por Uribe y Rodas en 1996. Siendo los métodos de inserción y punción los más adecuados. Mientras que en las plantas de eucalipto seleccionadas, los tipos de inoculación fueron los mismos, y fueron realizadas individualmente en cada árbol en la parte: alta y baja según fuera el tratamiento asignado.

Para la realización de la inoculación con el método de *Inserción*, se procedió de la siguiente forma: Se limpió el área a inocular con alcohol al 70%, luego se realizó una herida en forma de flecha con la ayuda de una navaja esterilizada hasta exponer a la vista el xilema; con una aguja esterilizada se tomó un pedazo del inoculo de las cajas que contenían al micelio del hongo, el cual fue introducido en la herida y una vez realizado lo anterior, se cubrió con la corteza

removida inicialmente para sellar el medio de cultivo. Posteriormente se cubrió con algodón humedecido en agua destilada y estéril y por último con un pedazo de cinta parafilm se selló al medio de cultivo y la herida, enredándola alrededor del tallo en la parte inoculada.

Mientras que para el método de inoculación por *punción* se procedió de la siguiente forma: se limpió el área a inocular con alcohol al 70%, luego fue colocado el inóculo cubierto con algodón humedecido en agua estéril, se selló con cinta parafilm. Para después realizar sobre el área cubierta seis punciones con ayuda de una aguja esterilizada.

Cada unidad experimental (árboles y varetas) inoculada fue etiquetada con una clave de identificación que incluyó los siguientes datos: cancro inoculado, método de inoculación, parte inoculada, y repetición a la que correspondía el tratamiento asignado.

4.13. Preparación del material experimental para la inoculación artificial

a) Inoculación a árboles de *Eucalyptus camaldulensis*.

El procedimiento de inoculación realizado a las plantas de eucalipto de 110 cm de altura y perímetros dentro del rango de 22.80-26.72 mm, se describe a continuación:

- a) Las cajas de petrí con medios de cultivo que contenían las colonias de los hongos, se dejaron crecer hasta que la superficie del medio estaba cubierta completamente por micelio del hongo.
- b) Una vez que se tuvo lista la colonia y bajo condiciones de esterilidad, se procedió a fraccionar el medio de cultivo, haciendo pequeños trozos circulares de 6 mm de diámetro, los cuales fueron realizados con la ayuda de sacabocados en toda la superficie de la caja.
- c) Cada uno de los círculos cortados, fueron depositados en cajas petrí limpias y esterilizadas, hasta completar la cantidad necesaria para la realización de las inoculaciones.
- d) Se procedió a realizar la desinfección superficial del área a inocular con un algodón esterilizado y humedecido en alcohol al 70%.
- e) Para la inoculación por el método de inserción, se realizaron heridas a las plantas con una navaja de bisturí, realizando tres cortes: uno longitudinal y otros dos que partieron de la parte superior del primer corte, formando un ángulo de 45° , de manera que la herida tuviera forma de "↑".
- f) Con la punta de la navaja se levantó la epidermis del talluelo de las plántulas hasta dejar a la vista el xilema.
- g) Con una aguja de disección esterilizada se tomó un pedazo del inóculo de las cajas de petrí. Y se introdujo el inóculo con la finalidad de poner en contacto directo la superficie del medio de cultivo que contenía el micelio del hongo con la parte del xilema expuesto de las plántulas donde se realizó la herida.

- h) Ya que fue puesto en contacto el inóculo con la plántula, la epidermis de la corteza levantada fue usada para tapar parte del medio de cultivo, luego se colocó encima un pedazo de algodón esterilizado y humedecido con agua destilada y esterilizada y se presiono para asegurar su contacto en toda la herida realizada.
- i) Con un pedazo de cinta parafilm, se cubrió el medio de cultivo, la herida y el algodón, enrollando la cinta alrededor del talluelo.
- j) Para la inoculación por el método de punción, únicamente se realizó la desinfección superficial del área de inoculación con alcohol al 70% y se puso encima un pedazo del inóculo, que fue cubierto con un pedazo de algodón esterilizado y humedecido en agua destilada y esterilizada.
- k) Con un pedazo de cinta parafilm, se cubrió el medio de cultivo y el algodón, enrollando la cinta alrededor del talluelo.
- l) Con una aguja esterilizada se realizaron 6 punciones encima del área que contenía al pedazo de inóculo.
- m) Cada unidad experimental fue etiquetada, poniéndole el número de cepa correspondiente con la especie de donde se aisló y fecha de inoculación.
- n) Se realizaron observaciones y registros de información 6 días después de realizada la inoculación y posteriormente se hicieron cada tercer día.

b) Inoculación a varetas de *Eucalyptus camaldulensis* colocadas en cámara húmeda.

La metodología utilizada para la inoculación a varetas de eucalipto se describe a continuación:

- a) El material experimental se obtuvo de la parte media de 15 árboles de *Eucalyptus camaldulensis* que se encontraron visiblemente sanos, sin daños físicos y sin presencia de agentes patógenos. De éstas áreas se obtuvieron las varetas de un tamaño uniforme de 8.5 cm de longitud y un rango de perímetros de 14.81-19.32 mm.
- b) En un recipiente que contenía una solución de hipoclorito de sodio al 3%, se vertieron las varetas seleccionadas para su desinfección durante un lapso de tiempo de tres minutos.
- c) Luego fueron pasadas las varetas en tres recipientes que contenían agua destilada esterilizada con la finalidad de quitar las impurezas y excesos de hipoclorito. Finalmente fueron puestas las varetas en papel filtro esterilizado para quitar los excesos de agua.
- d) Una vez desinfectadas las varetas, se procedió a la inoculación artificial de forma análoga a la metodología realizada para la inoculación de las plantas, según fuese el método de inoculación. La única diferencia fue la cantidad de inóculo, ya que para las varetas se utilizaron discos de 4 mm de diámetro de medio de cultivo con el micelio, los cuales fueron elaborados con un sacabocados, lo anterior fue debido al grosor de las varetas y con la finalidad de causarles el menor daño posible.

- e) Las varetas inoculadas fueron guardadas en cajas petrí que en su base contenían un par de papel filtro esterilizado de 90 mm de diámetro y dos soportes con cabezas de algodón (cotonetes), encima de ellos fueron depositadas las varetas inoculadas, con la finalidad de evitar el contacto directo y prolongado de la vareta con el papel filtro humedecido.
- f) Una vez depositadas las varetas en las cajas petrí, se les agregó a cada una 5 ml de agua destilada esterilizada para mantener un ambiente húmedo en su interior.
- g) Posteriormente las varetas inoculadas fueron incubadas dentro de una estufa especial a una temperatura de 29-30°C.

La finalidad de utilizar varetas en cámara húmeda obedeció principalmente al estricto control de la temperatura de incubación, la cual es fundamental para el establecimiento y desarrollo de cada uno de los hongos inoculados con la mínima defensa del hospedante, además dicha metodología permite realizar una estimación de días que requieren cada uno de los hongos para esporular en tejido vegetal.

4.14.Experimento factorial en un diseño experimental completamente al azar

Para la realización de las diferentes pruebas de patogenicidad tanto a las varetas como a plantas, se utilizó un experimento factorial completamente al azar, debido a que se consideraron tres factores:

- 1) Hongos (Cancros): tres y un testigo
- 2) Métodos de inoculación: dos (punción e inserción) y
- 3) Parte inoculada de la planta: dos (alta y baja).

Debido fundamentalmente a que la variable respuesta índice de lesión es resultado de muchos factores (cancro, tipo de inoculación y parte inoculada), en este estudio se tuvieron los diferentes tratamientos formados mediante la combinación de los factores, los cuales estaban compuestos por tres cancros más un testigo; los dos métodos de inoculación (punción e inserción), y las dos partes a ser inoculadas (alta y baja). Esto permitirá el estudio de los tres factores individualmente y además el estudio del efecto de la interacción entre los factores en estudio.

Se optó por este experimento factorial en completamente al azar, por las ventajas que ofrece:

- Se economiza material experimental
- Se amplía el rango de validez de los resultados obtenidos del experimento y
- Permiten el estudio de las interacciones posibles entre los factores.

a) Diseño experimental para las varetas de eucalipto

Para la realización de las pruebas de patogenicidad en las varetas de eucalipto, se utilizó un experimento factorial 4x2 en completamente al azar. Debido a la

utilización de pequeñas partes de los árboles de eucaliptos para el experimento, solamente hubo variación en la parte a ser inoculada.

Los factores correspondieron al cancro y al método de inoculación; el factor cancro estuvo representado por tres hongos diferentes: *Botryodiplodia*, *Cryphonectria* y *Fusicoccum*, más un testigo; y el factor 2 por los métodos de inoculación: punción e inserción.

Debido al difícil manejo de un amplio número de cajas petrí en la estufa, se decidió utilizar cinco repeticiones por cada tratamiento. El número de tratamientos resultantes fue de 8 con cinco repeticiones cada uno, los cuales se resumen en el cuadro 1; obteniéndose un total de 40 unidades experimentales (varetas) inoculadas. Las observaciones se realizaron cada tercer día, tiempo transcurrido durante el cual se aprovechaba para agregarles 4-5 ml de agua purificada esterilizada a cada una de las cajas que contenían a las varetas.

Los tratamientos Testigo, tanto de punción como de inserción, fueron también lesionados de igual forma que los otros tratamientos, según fuese la asignación. La única diferencia que presentaban los tratamientos testigo, es de que en ellos, solo se inoculó el medio de cultivo PDA, con la finalidad de no influir en la respuesta a la infección.

Cuadro 1.: Número de tratamientos y repeticiones para el establecimiento de las pruebas de patogenicidad en varetas de *Eucalyptus camaldulensis*.

t = 8:	BP, BI, FP, FI, CP, CI, TP, TI	Tratamientos
r = 5:	I, II , III, IV, V	Repeticiones

Donde:

1. (BP) = Cancro *Botryodiplodia* y punción
2. (BI) =Cancro *Botryodiplodia* e inserción
3. (FP) = Cancro *Fusicoccum* y punción
4. (FI) = Cancro *Fusicoccum* e inserción
5. (CP) = Cancro *Cryphonectria* y punción
6. (CI) = Cancro *Cryphonectria* e inserción
7. (TP) = *Testigo* y punción
8. (TI) = *Testigo* e inserción

La asignación de los diferentes tratamientos cada una de las unidades experimentales, fue completamente al azar.

Las inoculaciones en varetas de eucaliptos con los diferentes canchros en estudio, fueron realizadas el día 29 de noviembre de 1999 y tres días después se procedió a retirar la cinta parafilm y el algodón que fue utilizado para cubrir las heridas realizadas en las varetas. Posteriormente, los primeros registros de

información fueron realizados 6 días después de la inoculación, y se estuvieron realizando cada tres días, durante un período de 45 días.

b) Diseño experimental para las plantas de eucalipto.

Para la realización de las pruebas de patogenicidad en las plantas de eucalipto, se utilizó un experimento factorial 4 X 2 X 2, en completamente al azar. Los factores correspondieron al cancro, al método de inoculación y la parte del árbol a ser inoculada; el primer factor (4) cancro estuvo representado por tres hongos diferentes: *Botryodiplodia*, *Cryphonectria* y *Fusicoccum*, más un testigo; el segundo factor (2) estuvo representado por los métodos de inoculación: punción e inserción y el tercer factor (2) por la parte del árbol a inocular: alta y baja. Debido a la escasa disponibilidad de material experimental homogéneo, se decidió utilizar tres repeticiones por cada tratamiento. En el cuadro 2, se presentan los 16 tratamientos resultantes, con tres repeticiones cada uno; obteniéndose un total de 48 unidades experimentales (plantas) inoculadas. Las observaciones se realizaron cada tercer día, tiempo transcurrido durante el cual se aprovechaba para regar a las plantas a capacidad de campo con agua normal.

Los tratamientos Testigo, fueron realizados de la misma forma que para las estacas, con la única diferencia de que se inocularon dos partes: alta y baja de manera individual.

El material experimental fue obtenido de los viveros de la empresa COPAMEX, en Nayarit, la especie utilizada fue *Eucalyptus camaldulensis* de dos años de edad, que reunían características de homogeneidad, el número de unidades experimentales fue de 48 y en ellas se evaluó el porcentaje de infección así como el índice de lesión.

Cuadro 2:. Número de tratamientos y repeticiones para el establecimiento de las pruebas de patogenicidad en plantas de *Eucalyptus camaldulensis*.

t = 16:	BAP, BAI, BBP, BBI FAP, FAI, FBP, FBI CAP, CAI, CBP, CBI TAP, TAI, TBP, TBI	Tratamientos
R = 3:	I, II, III, IV, V	Repeticiones

Donde:

No	SIGLAS	CANCRO	PARTE INOCULADA	MÉTODO DE INOCULACIÓN
1	BAP	<i>Botryodiplodia</i>	Alta	Punción
2	BAI	<i>Botryodiplodia</i>	Alta	Inserción
3	BBP	<i>Botryodiplodia</i>	Baja	Punción
4	BBI	<i>Botryodiplodia</i>	Baja	Inserción
5	FAP	<i>Fusicoccum</i>	Alta	Punción
6	FAI	<i>Fusicoccum</i>	Alta	Inserción
7	FBP	<i>Fusicoccum</i>	Baja	Punción
8	FBI	<i>Fusicoccum</i>	Baja	Inserción
9	CAP	<i>Cryphonectria</i>	Alta	Punción
10	CAI	<i>Cryphonectria</i>	Alta	Inserción
11	CBP	<i>Cryphonectria</i>	Baja	Punción
12	CBI	<i>Cryphonectria</i>	Baja	Inserción
13	TAP	<i>Testigo</i>	Alta	Punción
14	TAI	<i>Testigo</i>	Alta	Inserción
15	TBP	<i>Testigo</i>	Baja	Punción
16	TBI	<i>Testigo</i>	Baja	Inserción

La asignación de los diferentes tratamientos cada una de las unidades experimentales (plantas), fue completamente al azar.

Las inoculaciones en las plantas de eucaliptos con los diferentes canchros en estudio, fueron realizadas el día 17 de noviembre de 1999 y tres días después se procedió a retirar la cinta parafilm y el algodón que fue utilizado para cubrir las heridas realizadas en las plantas. Posteriormente, los primeros registros de información fueron realizados 6 días después de la inoculación, y se estuvieron realizando cada tres días, durante un período de 55 días.

4.15. Incubación

Según la literatura, el factor temperatura es uno de los que más afectan el crecimiento y esporulación de los hongos; en general, los hongos crecen normalmente entre los 20° y 32°C; a los 10°C su crecimiento es lento, y a temperaturas de congelación se detiene y entra entonces en una especie de letargo hasta que vuelven las condiciones favorables. Con respecto a temperaturas altas, los hongos que crecen a 26.5°C, disminuyen su velocidad de crecimiento entre los 38° y 42°C, pero si se les expone a 54°-65°C, mueren irremediablemente. Dentro de ciertos límites, la temperatura puede inhibir el tipo de fructificación o modificar algunas características de ciertas estructuras reproductivas (Romero, 1993). Las temperaturas que favorecen la rápida formación de canchros en plantas susceptibles inoculadas se encuentran entre un rango de 20-30°C (Wayne et al. 1987).

Por lo anterior, a las inoculaciones realizadas tanto en invernadero como en laboratorio, se les trató de proporcionar las condiciones adecuadas de temperatura y humedad para el desarrollo de los hongos, además de evitar que estos hongos fueran un foco activo de reproducción y dispersión de la enfermedad hacia árboles aledaños de eucaliptos susceptibles a la enfermedad. Por ello, las inoculaciones fueron colocadas bajo las siguientes condiciones:

a) Varetas de eucalipto en cámara húmeda

Por lo anterior, en el laboratorio de Patología Forestal de la División de Ciencias Forestales (DiCiFo), las inoculaciones realizadas en las varetas de eucaliptos con los diferentes canchros en estudio, fueron colocadas en una estufa especial en la que se controló la temperatura en el rango de 29-30°C de incubación durante todo el período de evaluación. La humedad a las varetas fue proporcionada constantemente por el papel filtro humedecido, el cual estaba ubicado en el interior de la caja petrí, aunque el porcentaje no pudo ser conocido; únicamente se precisó que bajo condiciones de esterilidad se adicionaba una dosis de 4-5 ml cada tercer día a cada una de las cajas petrí..

b) Plantas de eucalipto en condiciones de invernadero

Las plantas de eucalipto inoculadas, fueron colocadas en condiciones de invernadero en el área de Patología y Entomología Forestal de la DiCiFo, donde se mantuvieron bajo condiciones térmicas y con humedad no controlada. El

rango de temperaturas registradas fue entre 25-29°C, la cual fue lograda mediante el uso de un aparato calefactor calibrado para ofrecer dicha temperatura de manera constante; además de la humedad proporcionada por los riegos cada tercer día a capacidad de campo, se utilizó un aparato humidificador para brindar humedad ambiental, con la finalidad de simular condiciones ambientales de alta humedad relativa. La medición de la temperatura fue mediante el uso de un termómetro de máximas y mínimas, obteniendo el rango antes mencionado. Estas condiciones fueron proporcionadas durante todo el período de evaluación.

4.16. Descripción de síntomas y signos.

Una vez puesto en marcha cada uno de los ensayos tanto en plantas como en varetas, se procedió al registro y observación del establecimiento, desarrollo y reproducción de cada uno de los hongos inoculados a partir del día 6 después de realizada la inoculación. Para la toma de datos se elaboró un formato para varetas y plantas inoculadas, que contenía la fecha de evaluación, tratamiento inoculado, tamaño de la planta o vareta, inicio de la infección, tamaño de la lesión: ancho y largo expresados en cm², así como los signos, síntomas y eventos importantes de la enfermedad que se fueron presentando a través del tiempo de evaluación: tales como cambios de coloración de la corteza, presencia y desarrollo de cuerpos fructíferos, muerte de hojas, etc.

4.17. Identificación del agente causal

Para determinar la identificación de cada uno de los agentes patógenos, se recurrió a las metodologías obtenidas del aislamiento y purificación, reisolamiento, elaboración de preparaciones y medición de estructuras. Las cuales se llevaron a cabo a nivel microscópico y macroscópico, tratando de identificar las estructuras típicas de cada uno de los hongos inoculados.

4.18. Reaislamientos de hongos inoculados

Una vez que se presentaron los síntomas y signos de cada uno de los canchros inoculados, se procedió a realizar los reisolamientos de los hongos a partir de las plantas que desarrollaron los signos o de tejidos que se encontraron infectados; estos fueron realizados de la misma manera que los aislamientos originales efectuando la operación descrita en el punto de aislamiento y purificación; logrando la purificación de la cepa.

Durante los reisolamientos, se registraron los eventos más representativos durante el cultivo como: tiempo en cubrir totalmente la caja petrí con micelio del hongo, aspecto de la colonia, coloración del micelio, y presencia de picnidios y cirros. La colonia obtenida en los reisolamientos se comparó con la cepa original.

4.19. Elaboración de preparaciones

Del material experimental que presentó signos: cuerpos fructíferos de los diferentes cancros inoculados, se realizaron preparaciones semipermanentes para su identificación. La metodología utilizada fue similar a la que se siguió para las muestras colectadas en forma original.

4.20. Medición de estructuras

Se realizaron mediciones de los picnidios y conidios con ayuda del microscopio estereoscópico y compuesto. Para ello se utilizó, una plantilla graduada de 1 mm en micras, con ello se pudo conocer el coeficiente micrométrico y hacer la conversión de líneas contadas en el ocular a unidades métricas, ya sean en mm o micras; ya que dicha graduación será exclusiva para el microscopio a ser utilizado en las mediciones posteriores.

Las mediciones se realizaron tanto en las muestras colectadas en campo, en medios de cultivo original, material obtenido de la inoculación de varetas y árboles. El número de mediciones fue variada, y estuvo en función de la cantidad de estructuras disponibles del material colectado y las desarrolladas en laboratorio e invernadero para cada uno de los hongos.

Una vez obtenidos los resultados de las pruebas de patogenicidad, los reaislamientos y la medición de estructuras, se procedió a comparar la

información obtenida, con la literatura relacionada a la de identificación de cada uno de los hongos y así obtener la especie del patógeno que causa los diferentes canchros en estudio, sobre *Eucalyptus camaldulensis*.

4.21. Análisis estadístico

Para la realización de un análisis estadístico, de los datos obtenidos de las pruebas de patogenicidad tanto en varetas, como en los árboles, se utilizó el procedimiento estadístico de análisis de varianza, utilizando el paquete de computo SAS en la versión 6.12.

La realización del análisis de varianza y las pruebas de comparaciones múltiples de medias por el método de Tukey ($\alpha = 0.05$) para determinar cuales tratamientos resultaron ser o no diferentes. Las hipótesis formuladas fueron:

H₀: Los tratamientos no producen ninguna infección.

H₁: Al menos uno de los tratamientos produce infección.

Todas las pruebas se realizaron, tanto en las varetas, como en los árboles inoculados.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Descripción de sintomatología de muestras colectadas en campo

5.1.1. Muestras colectadas en la Reserva Natural Xochitla.

Los árboles de eucaliptos de donde se obtuvieron las muestras en la Reserva Natural Xochitla, Estado de México; presentaban en la corteza lesiones de tamaño variable y a todo lo largo del fuste del árbol, estas lesiones comúnmente llamadas canchros se encontraron en mayor medida en la base de inserción de las ramas con el tronco, provocando en la parte superior de la unión un sitio de fractura, en esa área había presencia de "Kino" o gotas de resina de color rojizo oscuro cristalizadas. Las hojas de los árboles con presencia de canchros, presentaron un color verde claro, alimonado o "clorótico". Los árboles con presencia de canchros, presentaban muerte de puntas de ramas y ramillas, caída de ramas por la presencia de vientos quebrándose principalmente en la zona de unión con el tronco, al igual que fue observado un debilitamiento general del árbol. Los picnidios del hongo, fueron encontrados en las placas de corteza como diminutos puntos negros observables sólo con la ayuda de una lupa manual 10 x, las placas de corteza presentaban una coloración café rojiza.

5.1.2. Muestras de las Plantaciones forestales de Acaponeta Nayarit.

Los eucaliptos de las plantaciones de Acaponeta Nayarit, presentaron muerte de puntas, muerte de ramas y de árboles completos. La muerte de puntas y de ramas en los árboles, hacen que éstos respondan emitiendo nuevas ramas abajo del área lesionada sustituyendo a las muertas, y por consiguiente deforman al árbol en general, al igual que reducen el valor comercial del mismo. En los troncos de árboles afectados, se observaron lesiones oscuras de forma irregular alargada a manera de un tiznado, en los que había presencia de masas polvosas de esporas negras, de ahí recibe el nombre la enfermedad de cancro negro. En las fisuras superficiales de la corteza de los troncos de los árboles afectados, se observaron picnidios subcorticales semiesféricos de color negro, que al cortarlos longitudinalmente presentaban un interior blanquecino.

5.1.3. Muestras de las Plantaciones forestales de Las Choapas Veracruz.

Las especies de eucaliptos utilizados en las plantaciones de PLANFOSUR son *E. grandis* y *E. urophylla*. De la especie *E. grandis*, fueron obtenidas las muestras, y en ellos se observó cancrrosis en los fustes, alcanzando hasta 7 metros de altura, los síntomas observados fueron: fracturas longitudinales en la corteza, en algunos árboles hubo un hinchamiento del tronco. La ubicación de los cancros en los árboles varía de 0 a 7 metros de altura, en cualquier lugar, el tamaño del cancro puede alcanzar más de 50 cm de longitud. En la corteza de los árboles afectados se observaron a las estructuras de reproducción:

peritecios en grupos muy numerosos de color oscuro en forma de pelillos o cuello largo, sobresaliendo en las fisuras y placas de la corteza. En una de las plantaciones de PLANFOSUR, se observó a *E. grandis* afectado en un 85% del arbolado en los lugares más secos. El cancro *Cryphonectria* causa la muerte del árbol, en un sólo árbol es posible encontrar más de un cancro. Las zonas de infección del árbol presentan corteza con rugosidades o ásperaciones. El problema del cancro es grave en la plantación. El síntoma externo visible son áreas ligeramente deprimidas, la corteza superficial es agrietada longitudinalmente y las tiras superficiales inician a desprenderse. El margen del cancro es abrupto; una ligero corte vertical realizado en campo, en la corteza superficial afectada, mostró los tejidos de color cafés y el avance de la lesión.

5.2. Procesamiento del material vegetativo

5.2.1. Aislamientos obtenidos

En el laboratorio de patología forestal de la División de Ciencias Forestales se realizaron las siembras de cada uno de los cancos en estudio, siguiendo la metodología descrita en el punto 4.8; sembrando aquellas partes de corteza muertas o enfermas, donde existían los cuerpos fructíferos (picnidios) para el hongo *Fusicoccum* y de esporas para los cancos *Botryodiplodia* y *Cryphonectria*; después de dos a cuatro días de sembrados los diferentes hongos, se observó un crecimiento micelial en las diferentes colonias de hongos, aunque en algunas siembras realizadas se tuvo la presencia de hongos

contaminantes, después de varios intentos se logro hacer crecer a los diferentes hongos de interés, por lo que se procedió a realizar la transferencia o reaislamiento a nuevas cajas con medios de cultivo PDA, con la finalidad de obtener un cultivo puro homogéneo de cada una de los hongos en estudio.

a) Aislamientos del cancro *Botryodiplodia*.

Para la siembra del cancro *Botryodiplodia*, se tomaron conidios o masas de esporas de la superficie de la corteza afectada mediante la ayuda de una aguja de disección esterilizada, posteriormente se pasaron a agua destilada esterilizada donde se separaron las masas de esporas y con una pipeta fueron transferidos mediante goteo a cajas con medio de cultivo PDA, donde hubo de uno, dos y tres conidios por gota sembrada, en cada caja se pusieron de tres a cuatro gotas separadas una de otra. Una vez que la siembra de las esporas empezaron a crecer, se realizaron nuevas transferencias, principalmente de aquellas colonias donde se habían sembrado solo una espora del cancro *Botryodiplodia*, para obtener así los denominados cultivos monospóricos.

Las colonias obtenidas de los reaislamientos, presentaron las siguientes características: A los dos días de haber sido transferidas, se observó un homogéneo crecimiento micelial de coloración blanquecino de forma radial filamentoso; al tercer día, la colonia en crecimiento ya había cubierto totalmente la superficie del medio de cultivo de la caja petrí, el hongo tenía una coloración grisácea al centro y blanquecina algodonosa en las áreas periféricas. A los seis

días, la colonia presentaba una coloración superficial grisácea en la periferia, mientras que en el centro se observaron tonos más oscuros; al reverso, se observó una coloración gris oscura casi negra. A los nueve días, la colonia se observó gris oscura totalmente, mientras que al observarla al reverso su tono fue totalmente negro. A los quince días, la colonia se observó totalmente negra, sin la presencia de estructuras de reproducción. La coloración ennegrecida de la colonia, se mantuvo varios días sin emitir signo visible alguno.

b) Aislamientos del cancro *Fusicoccum*.

Para el caso del cancro *Fusicoccum*, se tomaron pequeñas partes de corteza afectada con presencia de picnidios inmersos en ella, la cual fue sembrada siguiendo la metodología descrita en el punto 4.8.

A los dos días después de realizadas las siembras de las pequeñas partes de corteza en el medio de cultivo PDA, se empezó a notar el crecimiento micelial del hongo, las cuales eran de una coloración blanquecina de forma radial filamentosa, posteriormente se realizaron las transferencias de pequeñas partes del micelio a nuevas cajas con medio de cultivo, con la finalidad de purificar el cultivo del cancro.

Las colonias transferidas mostraron a los dos días un crecimiento micelial blanquecino filamentoso de forma radial alrededor del pedazo transferido; después a los cuatro días, las colonias eran de color blanquecina, de forma

filamentosa en la periferia y al centro se observó mas blanca algodonosa, el crecimiento micelial había cubierto toda la superficie del diámetro de la caja petrí que contenía al medio de cultivo; aunque el pedazo transferido presentaba cambios de coloración a uno más negruzco. A los seis días, las colonias ya se habían tornado de un color grisáceo en la periferia con áreas céntricas negruzcas y por el reverso, las colonias se observaron de color negro. De los doce a veintiún días, las colonias eran negras con agrupaciones aisladas en forma de protuberancias de donde emergieron gotas traslúcidas en grupos de cuatro o más de un diámetro menor de 1.5 milímetros cada gota, la colonia al observarse por atrás era de una coloración negro-azulosa. A los veinticuatro días, las colonias negruzcas, presentaban abultamientos aislados en forma de granulaciones que representaban a los picnidios de color gris negruzco.

c) Aislamientos del cancro *Cryphonectria*.

Pedazos de corteza con presencia de estructuras de reproducción (picnidios y/o peritecios) del hongo *Cryphonectria*, fueron colocados en cámara húmeda dentro de una estufa especial a 29°C por tres días, durante ese período, aparecieron sobre el ápice de las estructuras de reproducción, cirros de color naranja, correspondientes a masas de conidios. Para la siembra del hongo, se tomaron los conidios esporulados de las muestras colocadas en cámara húmeda, bajo condiciones de esterilidad se removieron los conidios mediante el apoyo de una aguja previamente esterilizada, y sembrados de forma directa a las cajas petrí con medios de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA).

Una vez sembrados los conidios, se formaron colonias blanquecinas, las cuales fueron transferidas para purificar el cultivo. A los cinco días después de realizarse las transferencias, las nuevas colonias mostraron un crecimiento micelial blanquecino cremoso, de forma filamentosa en la periferia y al centro blanquecina algodonosa, que había cubierta 2/3 partes del diámetro de la caja petrí. Aunque el centro de la colonia presentó un hundimiento del medio, dando apariencia de un crecimiento bacterial, en esa área no hubo crecimiento de micelio. A los ocho días, las colonias ya habían cubierto la totalidad de la superficie del diámetro de la caja petrí, las colonias presentaban un cambio de coloración de blanquecina a naranja pálido; este cambio de color se observa como un anillo concéntrico en la caja petrí, y además fueron observados diminutos abultamientos, que correspondieron a picnidios cubiertos en el ápice por micelio naranja, y bordeados por micelio blanco algodonoso. De once a dieciséis días después, las colonias ya se observaban en su totalidad naranjas amelonadas, con gran cantidad de picnidios diminutos de color naranja y cubiertos por micelio blanco amelonado, la colonia vista en su parte posterior, era de un color naranja cafésoso. A los veintiún días, las colonias de *Cryphonectria*, presentaban una coloración naranja cafésosa. Algunos picnidios presentaron abundante esporulación de masas de conidios naranja traslúcidos, los picnidios estaban rodeados por micelio algodonoso blanco amelonado.

5.2.2. Elaboración de preparaciones.

La elaboración de preparaciones microscópicas temporales y fijas semipermanentes, se obtuvieron del material experimental colectado en campo que presentó estructuras de reproducción de cada uno de los canchros. Para elaborar las preparaciones, se realizaron cortes tanto en forma manual y mediante el uso del micrótopo de congelación, haciendo cortes finos de 50 μm . Los cortes obtenidos fueron colocados en portaobjetos que presentaban un anillo de cera con lactofenol, luego se colocó encima un cubreobjetos, pasando después la preparación por fuego lento, con la finalidad de sellar los cortes obtenidos, y facilitar de esta forma su manejo al observarlos en el microscopio compuesto a 10, 20 y 40X. En éstos, se observaron las características morfológicas de cada uno de los agentes patógenos.

Los cortes obtenidos del canchro *Botryodiplodia*, mostraron ciertos atributos específicos del hongo, tales como: picnidios semiesféricos de color negro, agrupados en un estroma picnidial, ostiolados, subcorticales, emergiendo a través de la corteza y de color negro; cavidades semicirculares, separadas unas de otras, al realizar un corte longitudinal, se observó el interior de color blanco aperlado con paredes negras gruesas. Las características de los conidios maduros expulsados fueron: conidios de color moreno oscuro, de forma oval y con una septa a la mitad; usualmente presentaron estrías longitudinales que partían de la mitad del conidio hacia ambos extremos del mismo. Ellos fueron

encontrados en grupos compactos superficiales de apariencia polvosa y de forma semicircular sobre la corteza. Los conidios producto de picnidios inmaduros fueron hialinos, sin septas y de forma oval.

Mientras que los cortes obtenidos del cancro *Fusicoccum*, mostraron las siguientes características morfológicas: picnidios semiesféricos, subcorticales, emergiendo a través de la corteza, con un poro apical, y de color negro. En el interior de los picnidios, se observaron contenidos de color blanco en el que estaban inmersos conidios hialinos, unicelulares, de forma fusoide u elíptica con extremos redondeados, al igual que se observaron algunos conidios que tenían en sus bases conidióforos simples y cortos.

Las características morfológicas de los cortes realizados a las estructuras de reproducción del cancro *Cryphonectria* fueron: Peritecios negros en forma de botella con cuello largo, solitarios o en grupos dando apariencia de pelillos, emergiendo a través de la corteza, con sus bases ligeramente hundidas en la corteza, cavidades de forma irregular y llenas de esporas color naranja, paredes gruesas y oscuras, ápices cubiertos por miles de esporas anaranjadas. Los conidios fueron hialinos, bicelulares, y de forma elíptica con extremos redondeados.

5.3. Pruebas de patogenicidad.

Con base en la información generada, sobre las características morfológicas correspondientes a cada uno de los canchros en estudio a nivel de género, fue necesario aplicar los postulados de Koch enunciados en el punto 4, para determinar a cada uno de los agentes causales de enfermedad; mediante la realización de las pruebas de patogenicidad; las cuales consisten en la inoculación artificial a plantas de la misma especie, por diferentes métodos.

5.3.1. Descripción de signos y síntomas.

5.3.1.1. Descripción de signos y síntomas en plantas de *E. camaldulensis* inoculadas.

Debido a la gran cantidad de tratamientos establecidos y a pesar de que la respuesta de las plantas al desarrollo de la infección fue muy similar en las repeticiones realizadas para cada uno de los hongos contemplados, fue necesario realizar la descripción puntual promedio para uno de los canchros y métodos de inoculación, en los cuales se describen los síntomas y signos desarrollados a través del período de evaluación.

1) Plantas Testigo inoculadas con medio de cultivo PDA.

a) Por método de Punción en la parte Alta

Los árboles con este tratamiento fueron inoculados con discos de medio de cultivo puro de Papa-Dextrosa-Agar de 6 mm de diámetro, los signos y síntomas que se presentaron durante la toma de datos fueron los siguientes: En el área de inoculación únicamente se observaron las punciones realizadas que cicatrizaron a los nueve días posteriores, no hubo formación ni desarrollo de lesión en el área inoculada. Sólo se observó la emisión de brotes a partir del día 18 después de haberse realizado la inoculación en los árboles, los brotes surgieron por encima de la base del pecíolo de las hojas en la parte superior de la copa. En promedio se registraron 3 brotes emitidos, los cuales permanecieron hasta el final del período de evaluación. En general los árboles inoculados bajo este tratamiento, se observaron sanos tanto en hojas como en tallos, y en el área de inoculación sólo se observó una lesión de tipo mecánico, la cual cicatrizó de forma inmediata. Al final del período de evaluación un árbol presentó contaminación por un hongo no identificado debido a su temprana manifestación de síntomas.

b) Por método de Punción en la parte Baja

Los árboles inoculados con este tratamiento, mostraron los siguientes signos y síntomas: En el área de inoculación solo se observaron las punciones

realizadas, las cuales cicatrizaron a partir del día 9 después de la inoculación, durante la toma de datos no hubo formación ni desarrollo de lesión alguna. Sólo hubo emisión de brotes a partir del día 15 después de la inoculación, en promedio se registraron 3 brotes en la parte superior de la copa y dos más inmediatamente abajo del área inoculada; al final del período de evaluación, un árbol presentó contaminación por hongos, que no fueron identificados debido a su temprana manifestación de síntomas, pero que puede atribuirse a uno de los inoculados ya que para esta fecha varios presentaban esporulación y los separaban unos metros de los testigo en el invernadero.

c) Por método de Inserción en la parte Alta

Los árboles inoculados con este tratamiento mostraron en el área de inoculación la corteza levantada únicamente en este punto, el cual fue producto de la herida realizada en la corteza para la inserción del disco de Papa-Dextrosa-Agar. La corteza no se adhirió, pero cicatrizó en los márgenes de la herida a los 12 días. Durante el período de evaluación no hubo formación ni desarrollo de lesión alguna en el área inoculada. Sólo se registró la emisión de brotes a partir del día 12 después de ser inoculadas las plantas, en promedio hubo 7 brotes emitidos en la parte superior de la copa, arriba del área de inoculación. Al final del período de evaluación, las hojas, tallos y brotes emitidos permanecieron sanos.

d) Por método de Inserción en la parte Baja

Las plantas inoculadas con este tratamiento, presentaron un levantamiento de la corteza únicamente en el área inoculada, la cual fue producto de la herida realizada para realizar la inserción, la corteza removida inicialmente no se adhirió al tallo, pero cicatrizó en los márgenes de la lesión. Sólo hubo emisión de brotes a partir del día 18 después de ser inoculadas las plantas, en promedio se registraron 5 brotes en la parte superior de la copa y 2 más inmediatamente abajo del área inoculada, mismos que permanecieron hasta el final del período de evaluación. Al final de la evaluación, se registró la contaminación de dos árboles por hongos no identificados, pero las plantas se observaron sanas en sus hojas y brotes.

2) Plantas inoculadas con el cancro *Botryodiplodia*.

a) Por método de Punción en la parte Alta

Las plantas inoculadas con este tratamiento mostraron los siguientes signos y síntomas: A los 6 días después de haberse realizado la inoculación, los árboles presentaron en el área de inoculación el desarrollo de una lesión de color café rojiza de forma elipsoidal alargada, las punciones realizadas quedaron inmersas en el área lesionada. A los 12 días, se inició la emisión de brotes en la copa del árbol, y formación de escasos picnidios oscuros subcorticales de forma esférica. A los 15 días, las hojas de la copa presentaron marchitamiento, siguió la

formación de picnidios oscuros y algunos de ellos ya presentaban esporulación de masas de conidios hialinos y unicelulares, en forma de cirros blanco aperlados. A los 18 días, el desarrollo de la lesión había cubierto el perímetro del tallo, la lesión se había tornado café rojiza oscura con picnidios inmersos en ella, la punta del tallo presentaba marchitamiento. A los 21 días, la lesión se había tornado oscura casi negra, la punta del tallo había muerto y en la base del tallo se registró la emisión de un brote. A los 24 días, las hojas inmersas en le área lesionada habían muerto. A 1 mes, las hojas en el área lesionada estaban secas y dobladas hacia abajo, algunas comenzaron a caer; los brotes emitidos en la copa fueron en promedio tres, formados inmediatamente abajo del área lesionada, algunos comenzaron a marchitarse y morir; las hojas de la copa que estaban inmediatamente abajo del área de avance de la lesión comenzaron a marchitarse. A 36 días, se habían formado tres brotes en la base del tallo. A 42 días, habían muerto tanto hojas como brotes emitidos en la copa, las hojas colgaban y eran de color verde olivo. A los 48 días, los brotes emitidos en la base del tallo presentaron marchitamiento. A los 2 meses la lesión había cubierto la longitud total de la planta y el tallo se observó oscuro casi negro que contrastaba con la fuerte esporulación de los picnidios en forma de cirros blanco aperlados; todos los brotes y hojas habían muerto.

b) Por método de Punción en la parte Baja

Las plantas inoculadas con este tratamiento mostraron los siguientes signos y síntomas: A los 6 días después de haberse realizado la inoculación, las

punciones realizadas habían quedado inmersas dentro de una lesión de color marrón más oscuro que la corteza circundante, de forma elipsoidal alargada, el área lesionada se observó hundida en la corteza del tallo, en la cual se habían formado escasos picnidios oscuros, las hojas de la base de la copa presentaron marchitamiento. A los 12 días, se inició la emisión de brotes en la copa; en el área lesionada los picnidios oscuros comenzaron a esporular masas de conidios unicelulares en forma de cirros blanco aperlados. A los 15 días, se registraron en promedio tres brotes emitidos en la copa y tres más abajo del área inoculada, en la lesión formada había gran cantidad de picnidios esporulando masas de conidios blanco aperlados. A 1 mes, la punta del árbol presenta necrosamiento descendente de color café oscuro. A 45 días, se registró la muerte de hojas y brotes en la punta del árbol necrosado; las hojas y brotes emitidos abajo del área inoculada presentan marchitamiento y muerte. A 51 días, el avance de la lesión ha cubierto el perímetro del tallo, el crecimiento de la lesión es más rápido hacia arriba que alrededor del tallo; hay muerte de la parte superior del área inoculada, en la cual se formaron picnidios oscuros. A 2 meses, hay muerte de la copa, junto con brotes y hojas de esa área, los brotes formados abajo del área lesionada también murieron. A todo lo largo y ancho del árbol hubo picnidios oscuros subcorticales esporulando masas de conidios unicelulares en forma de cirros blanco aperlados; se observó la unión de la lesión de la parte de abajo y la muerte descendente, las hojas de la copa estaban muertas. La unión de la lesión ascendente y la muerte descendente indican la sistemicidad del cancro, ya que en ambas partes hubo formación de picnidios antes de que ambas lesiones se unieran.

c) Por método de Inserción en la parte Alta

Las plantas inoculadas con este tratamiento mostraron los siguientes signos y síntomas: A los 6 días después de haberse realizado la inoculación, hubo formación de una lesión de color café rojiza, de forma elipsoidal alargada, en la cual se observó la formación de escasos picnidios oscuros subcorticales. A los 12 días, en el área lesionada hubo algunos picnidios con esporulación de masas de conidios unicelulares en forma de cirros blanco aperlados; hubo emisión de brotes en la copa. A los 15 días, el avance de la lesión había cubierto el perímetro del tallo, las hojas inmersas en el área inoculada y lesionada habían muerto y se observaron secas, de color verde olivo. A los 18 días, se registró la formación de 6 brotes en promedio emitidos inmediatamente abajo del avance lesionado. A los 21 días, hubo en la copa hojas marchitas. A 1 mes la parte superior de la copa estaba muerta y se inició un necrosamiento descendente. A los 45 días, las hojas de los brotes emitidos se encontraron marchitos. A 2 meses, la planta se observó muerta en la parte superior; tanto las hojas y brotes inmersos en ella están muertos y de color verde olivo.

d) Por método de Inserción en la parte Baja

Las plantas inoculadas con este tratamiento mostraron los siguientes signos y síntomas: A los 6 días después de haberse realizado la inoculación, hubo formación de una lesión de color café rojiza, de forma elipsoidal alargada, en la cual se observó la formación de escasos picnidios oscuros subcorticales. A los

12 días, había algunos picnidios oscuros subcorticales con esporulación de masas de conidios unicelulares en forma de cirros blanco aperlados, las hojas de la base de la copa presentaban marchitamiento. A los 15 días, se registró en promedio la emisión de tres brotes en la copa y cuatro más formados inmediatamente abajo del área de inoculación. A los 25 días, la punta de la planta presenta necrosamiento descendente y muerte de hojas y brotes inmersos en esa área; la lesión había cubierto el perímetro del tallo. A 1 mes, las hojas y brotes restantes presentan marchitamiento. A 36 días, las hojas y brotes restantes de la copa han muerto, se observan secas y de color verde olivo, algunas comienzan a caer. A los 39 días, los brotes emitidos en la base del tallo presentan marchitamiento. A los 45 días, los brotes emitidos en la base del tallo han muerto. A 2 meses, la planta presenta el tallo ennegrecido con una profusa esporulación de los picnidios a todo lo largo y ancho del tallo, la planta está totalmente muerta.

3) Plantas inoculadas con el cancro *Fusicoccum*.

a) Por método de Inserción en la parte Alta

Las plantas inoculadas con este tratamiento mostraron los siguientes signos y síntomas: A los 6 días después de haberse realizado la inoculación, hubo formación de una lesión oscura casi negra, de forma elipsoidal alargada, en la cual se observó la corteza levantada producto de la herida realizada para la inserción. A los 12 días, la lesión se observó ligeramente hundida en la corteza;

hubo emisión de brotes en la copa, formados inmediatamente arriba del área inoculada. A los 18 días, hubo en promedio 5 brotes formados en la copa y se registró una ligera exfoliación superficial en la punta del árbol. A 30 días, se presentó en la punta del árbol un necrosamiento descendente, el brote principal presentó marchitamiento. A 35 días, se registró la muerte de dos brotes en copa y uno más con marchitamiento; también se observó la formación de escasos picnidios en la corteza. A 40 días, hubo formación de dos brotes adelante del área de avance de la lesión. A 45 días, hubo marchitamiento de brotes en la copa y de hojas en la parte baja de la copa, el avance de la lesión había cubierto el perímetro del tallo. A 50 días, el área lesionada se tornó de un color café grisáceo por la presencia de diminutos picnidios oscuros, subcorticales, en la parte superior de la copa hay muerte de hojas y exfoliación blanca grisácea. A 55 días, la exfoliación blanca grisácea, presenta superficialmente abultamientos grumosos que corresponden a diminutos picnidios oscuros subcorticales. A 2 meses, había picnidios formados, el área lesionada se observó primero oscura, luego cambio a un color blanco grisáceo, debido a la exfoliación. La parte superior del árbol se encontró muerta, junto con brotes y hojas de esa área. A 63 días, se registró la unión del avance de la lesión con el necrosamiento descendente; con picnidios esporulando masas de conidios hialinos, unicelulares en forma de cirros blanco aperlados, las hojas se encontraron secas y de color verde olivo.

b) Por método de Inserción en la parte Baja

Las plantas inoculadas con este tratamiento mostraron los siguientes signos y síntomas: A los 6 días después de haberse realizado la inoculación, hubo formación de una lesión café rojiza oscura, de forma elipsoidal alargada, en la cual se observó la corteza levantada producto de la herida realizada para la inserción, la lesión se observó ligeramente hundida en la corteza. A 15 días, se registró la emisión de un brote principal. A 25 días, la base de la copa presentó marchitamiento. A 1 mes, se registró la emisión de un brote formado inmediatamente abajo del área lesionada y tres más en la copa. A 36 días, la punta del árbol presentó un necrosamiento descendente y muerte de brotes en la copa. A 42 días, el avance de la lesión cubrió el perímetro del tallo. A 45 días se registró la muerte de hojas en la parte superior de la copa necrosada. A 48 días, hubo marchitamiento de hojas y brotes emitidos en la copa. A 51 días, se presentó abultamientos en forma de grumos diminutos, agrietando la corteza para exhibir diminutos picnidios oscuros en la parte superior de la copa. A 2 meses, las hojas de la copa se observaron secas y de color verde olivo, al igual que la muerte del brote principal y de los brotes en la base del tallo; algunos picnidios iniciaron la esporulación de masas de conidios hialinos, unicelulares en forma de cirros blanco aperlados.

c) Por método de Punción en la parte Alta

Las plantas inoculadas con este tratamiento mostraron los siguientes signos y síntomas: A los 6 días después de haberse realizado la inoculación, hubo formación de una lesión elipsoidal oscura casi negra, las punciones realizadas quedaron inmersas en la lesión formada. A 12 días, se registró la emisión de brotes en la copa del árbol. A 18 días, hubo en promedio 5 brotes en la copa del árbol y uno más en la base del tallo. A 1 mes, la punta del árbol presentó necrosamiento descendente, y muerte del brote líder emitido; las hojas y brotes de la copa se observaron con marchitamiento. A 45 días, se registró la muerte de brotes y otros con marchitamiento, algunas hojas de la base de la copa se observaron con marchitamiento. A 55 días, en el área lesionada se observó una exfoliación superficial blanquecina y escasa formación de picnidios oscuros subcorticales. A 2 meses, iniciaron algunos picnidios formados en la parte superior de la copa la esporulación de masas de conidios hialinos, unicelulares en forma de cirros blanco aperlados. La corteza se observó de un color blanca grisácea, por la presencia de los picnidios oscuros rompiendo la corteza superficial y exfoliándola.

d) Por método de Punción en la parte Baja

Las plantas inoculadas con este tratamiento mostraron los siguientes signos y síntomas: A los 6 días después de haberse realizado la inoculación, hubo formación de una lesión elipsoidal de color marrón, hundida en la corteza del

tallo. A los 12 días, se registró la emisión de brotes en la copa, la lesión presentó un oscurecimiento a café rojizo. A 21 días, hubo en promedio tres brotes formados inmediatamente abajo del área lesionada. A 1 mes, algunas hojas y brotes de la copa presentaron marchitamiento, al igual que se observó necrosamiento descendente en la parte superior de del árbol. A 45 días, se registró avances en el necrosamiento descendente y marchitamiento de brotes. A 51 días, las hojas de la base de la copa presentaron marchitamiento; y hubo formación de escasos picnidios oscuros subcorticales. A 2 meses, se registró la muerte de brotes y hojas en la punta del árbol, también se observaron algunos picnidios con esporulación de masas de conidios unicelulares, hialinos en forma de cirros blanco aperlados y la formación de nuevos brotes inmediatamente abajo del área de avance de la lesión.

4) Plantas inoculadas con el cancro *Cryphonectria*.

a) Por método de Inserción en la parte Alta

Las plantas inoculadas con este tratamiento mostraron los siguientes signos y síntomas: A los 6 días después de haberse realizado la inoculación, hubo formación de una lesión elipsoidal de color café clara, con bordes cafés oscuros. A los 9 días, se registró la emisión de brotes tanto en la parte superior de la copa como abajo del área de inoculación, en la cual se observó la formación de picnidios creciendo sobre el micelio insertado. A 15 días, hubo en promedio 3 brotes formados en la copa y 2 en la base del árbol. A 24 días, la

punta del árbol presentó un necrosamiento descendente y muerte de hojas inmersas en el área lesionada. A 1 mes, se presentó la muerte del brote líder; el avance de la lesión había cubierto el perímetro del tallo. A 33 días, el avance de la lesión y el necrosamiento descendente habían formado una sola lesión, en la cual se encontraron escasos picnidios formados, algunas hojas y brotes de la copa estaban muertos en el área lesionada, mientras que otras hojas y brotes presentaron marchitamiento. A 42 días, la parte superior de la copa había muerto, junto con hojas y brotes inmersos en esa área, también se observaron a picnidios formados. A 45 días, había picnidios cafés oscuros subcorticales en la corteza que tenía una coloración café anaranjada. A 51 días, el tallo estaba completamente lesionado, en el cual estaban inmersos picnidios cafés oscuros subcorticales, la corteza lesionada tenía una coloración café anaranjada. A 57 días, había picnidios con esporulación de masas de conidios en forma de cirros amarillo naranja, el tallo se observó café rojizo, la planta estaba muerta junto con brotes y hojas emitidas. A 2 meses, se registró gran cantidad de picnidios esporulando masas de conidios en forma de cirros color naranja, las hojas estaban secas y de color verde olivo.

b) Por método de Inserción en la parte Baja

Las plantas inoculadas con este tratamiento mostraron los siguientes signos y síntomas: A los 6 días después de haberse realizado la inoculación, hubo formación de una lesión marrón, de forma elipsoidal, alargada y hundida en la corteza del tallo. A 9 días, se registró la emisión de brotes en la base de la

copa. A 12 días, había en promedio 3 brotes, formados inmediatamente abajo del área de inoculación. A 15 días, el área lesionada se torno de un color café rojizo. A 1 mes, la planta presentaba necrosamiento descendente, el avance de la lesión había cubierto el perímetro del tallo, y las hojas de la copa presentaban marchitamiento. A 39 días, las hojas de la copa estaban secas; al igual que se registro la muerte de un brote emitido en el área lesionada de la copa. A 45 días, la parte superior de la copa estaba muerta y los brotes restantes presentaban marchitamiento. A 56 días, se registro una nueva emisión de brotes, en promedio fueron 5 y se formaron inmediatamente abajo del avance de la lesión inferior. A 2 meses, había marchitamiento de los brotes emitidos en la base del tallo, las hojas secas en la copa se empezaban a caer. El avance de la lesión se unió con el necrosamiento descendente y formaron una sola lesión en la cual se observaron picnidios oscuros subcorticales.

c) Por método de Punción en la parte Alta

Las plantas inoculadas con este tratamiento mostraron los siguientes signos y síntomas: A los 6 días después de haberse realizado la inoculación, hubo formación de una lesión de color café rojiza y de forma elipsoidal, las punciones realizadas quedaron inmersas en ella, la planta presentó en la parte superior una exfoliación superficial granulosa. A 12 días, se registró la emisión de 3 brotes en promedio formados en la copa, el área de inoculación presentó la formación de picnidios cafés creciendo en el micelio inoculado. A 15 días, en el área de avance de la lesión se observó un cambio de coloración en el tallo de

verde a verde alimonado; en l parte superior se registró una exfoliación superficial blanquecina. A 18 días, las hojas de la base de la copa presentaron marchitamiento. A 24 días, las hojas inmersas en el área lesionada presentaban marchitamiento. A 1 mes, se presentó la muerte de un brote formado inmediatamente abajo del área lesionada. A 33 días, la planta presentaba necrosamiento descendente. A 39 días, la punta de la planta estaba muerta, junto con los brotes y hojas inmersas en esa área, la lesión café oscura había cubierto el perímetro del tallo. A 45 días, se registró la formación de escasos picnidios cafés oscuros en el área lesionada. A 50 días, la corteza que presentaba picnidios se tornó de una coloración café naranja. Hubo una nueva formación de 4 brotes en promedio en la base de la copa. A 56 días, los picnidios cafés oscuros presentaban esporulación de masas de conidios en forma de cirros color naranja. A 2 meses, las hojas de la copa estaban secas y de color verde olivo, la planta estaba totalmente muerta.

d) Por método de Punción en la parte Baja

Las plantas inoculadas con este tratamiento mostraron los siguientes signos y síntomas: A los 6 días después de haberse realizado la inoculación, hubo formación de una lesión marrón, ligeramente hundida en la corteza del tallo. A 9 días, se registró la emisión de brotes en la copa. A 15 días, se formaron en promedio 3 brotes en la copa, la lesión marrón tenía forma elipsoidal y hundida en la corteza del tallo. A 1 mes, hubo formación de brotes arriba y abajo del área lesionada: 1 arriba y 3 abajo. A 39 días, se registró la emisión de brotes en

la base del tallo. A 42 días, la punta de la copa del árbol presentó necrosamiento descendente. A 45 días, las hojas de la copa presentaron marchitamiento. A 51 días, hubo muerte de la punta de la copa del árbol, junto con hojas y brotes emitidos en esa área, la lesión había cubierto el perímetro del tallo. A 56 días, se registró una nueva emisión de 4 brotes en promedio, formados inmediatamente abajo del avance de la lesión, en la copa las hojas y brotes restantes se estaban marchitando. A 2 meses, los brotes emitidos en la base del tallo presentaban marchitamiento, y otros estaban muertos. El avance de la lesión y la muerte descendente se han unido y han formado una sola lesión, no se observaron signos de la enfermedad y varios brotes permanecen con marchitamiento.

En la figura 1, se muestra la cronología de cada uno de los eventos observados durante el período de evaluación para cada uno de los tratamientos, realizados en las plantas de *Eucalyptus camaldulensis*.

Mientras que en las figuras 2, 3, 4, 5, 6 y 7 se ilustran los signos y síntomas de los canchros *Botryodiplodia*, *Cryphonectria* y *Fusicoccum* inoculados en plantas de *Eucalyptus camaldulensis* en condiciones de invernadero y los encontrados en campo.

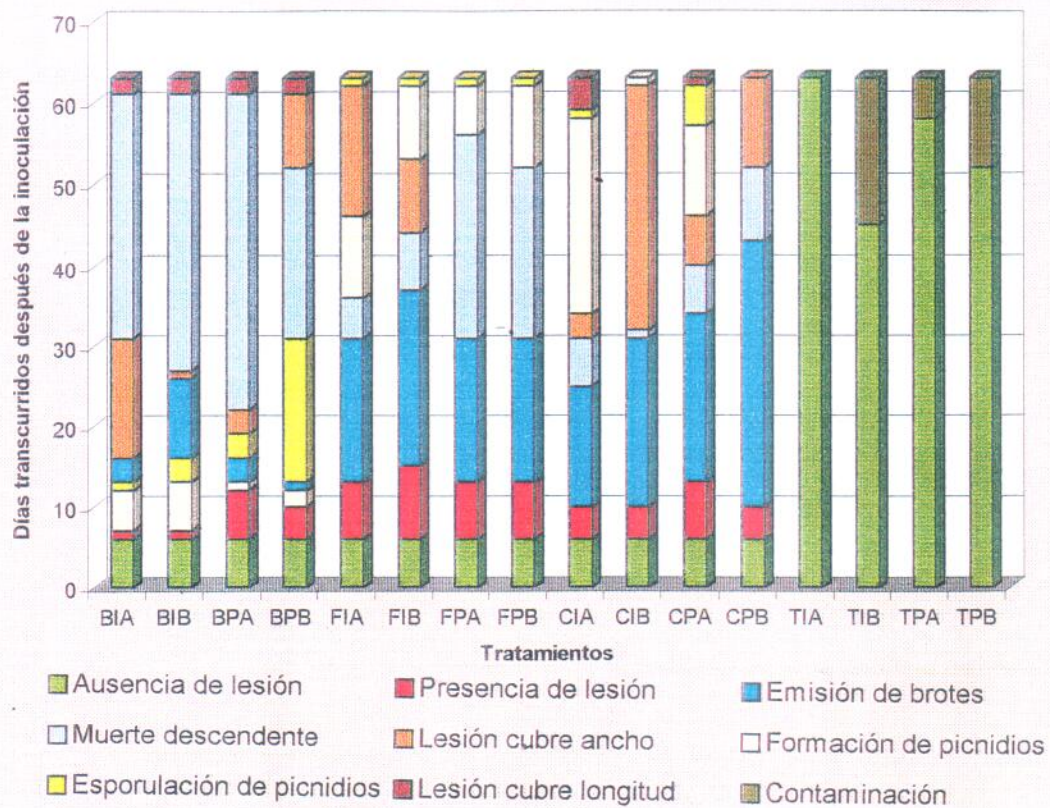


Figura 1. Aparición de signos y síntomas promedio registrados en los árboles de *Eucalyptus camaldulensis* inoculados con dos métodos, dos alturas, tres canchros y un testigo; y tres repeticiones. Chapingo, México; 1999.

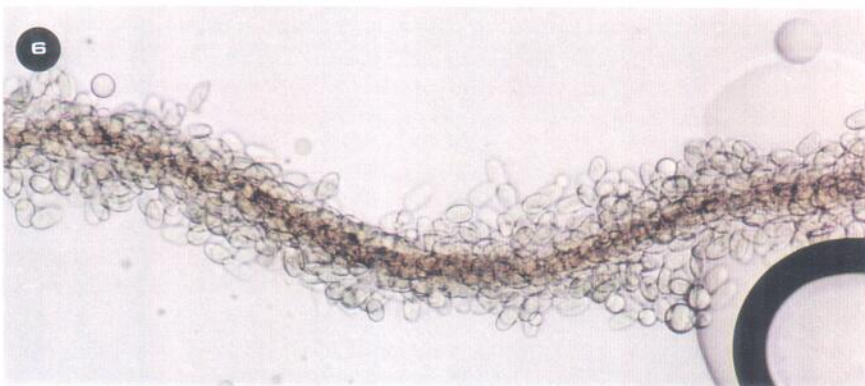


Figura 2. Signos y síntomas del cancro *Botryodiplodia* inoculado en plantas en condiciones de invernadero.

1. Planta con lesión oscura formada antes de quitar la cinta parafilm. 2. Muerte descendente y marchitamiento de brotes. 3. Tallo completamente atacado y lleno de cirros blanco aperlados. 4. Plantas inoculadas con el cancro *Botryodiplodia*. 5. Corte longitudinal de un picnidio en él se pueden ver las paredes gruesas. 6. Acercamiento y estructura de un cirro blanco aperlado, lleno de conidios hialinos, ovales.

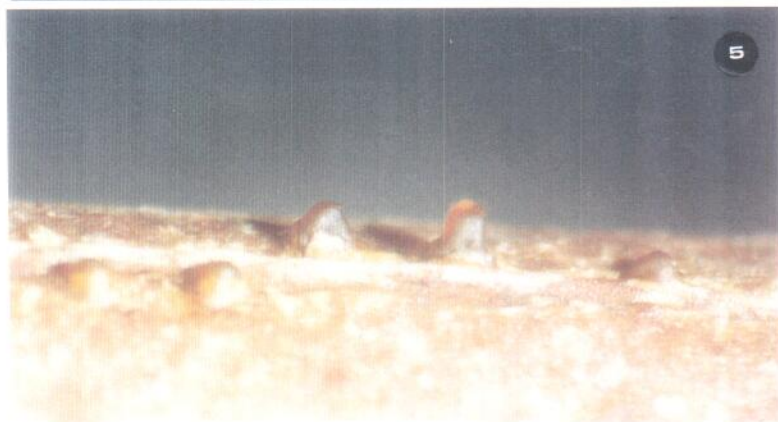
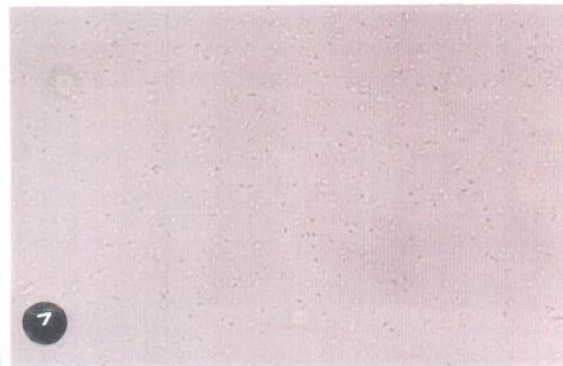
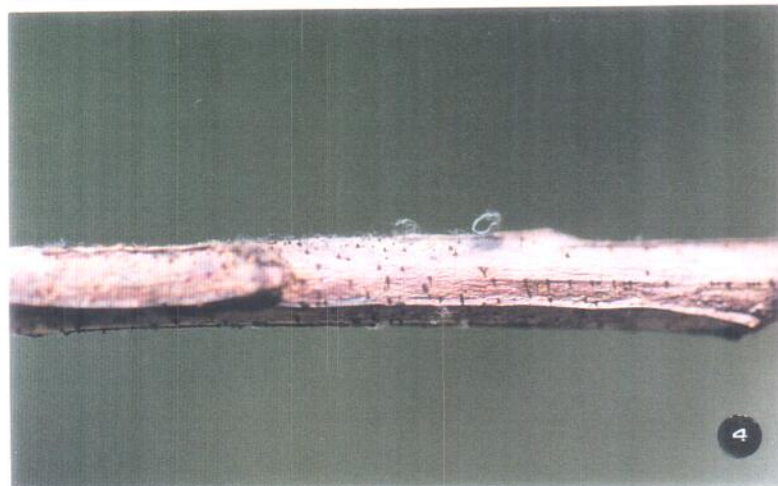


Figura 4. Signos y síntomas del cancro *Cryphonectria* inoculado en plantas en condiciones de invernadero.

1. Plantas sanas, inoculadas con el cancro *Cryphonectria*. 2. Planta inoculada con lesión café rojiza formada antes de quitar la cinta parafilm. 3. Muerte descendente y marchitamiento de brotes. 4. Tallo completamente infectado y con picnidios café oscuros. 5. Acercamiento de la esporulación naranja de los picnidios. 6. Corte longitudinal de un picnidio en el se puede ver las paredes gruesas y la profusa esporulación de conidios amarillo naranjas. 7. Acercamiento de conidios hialinos, ovales.

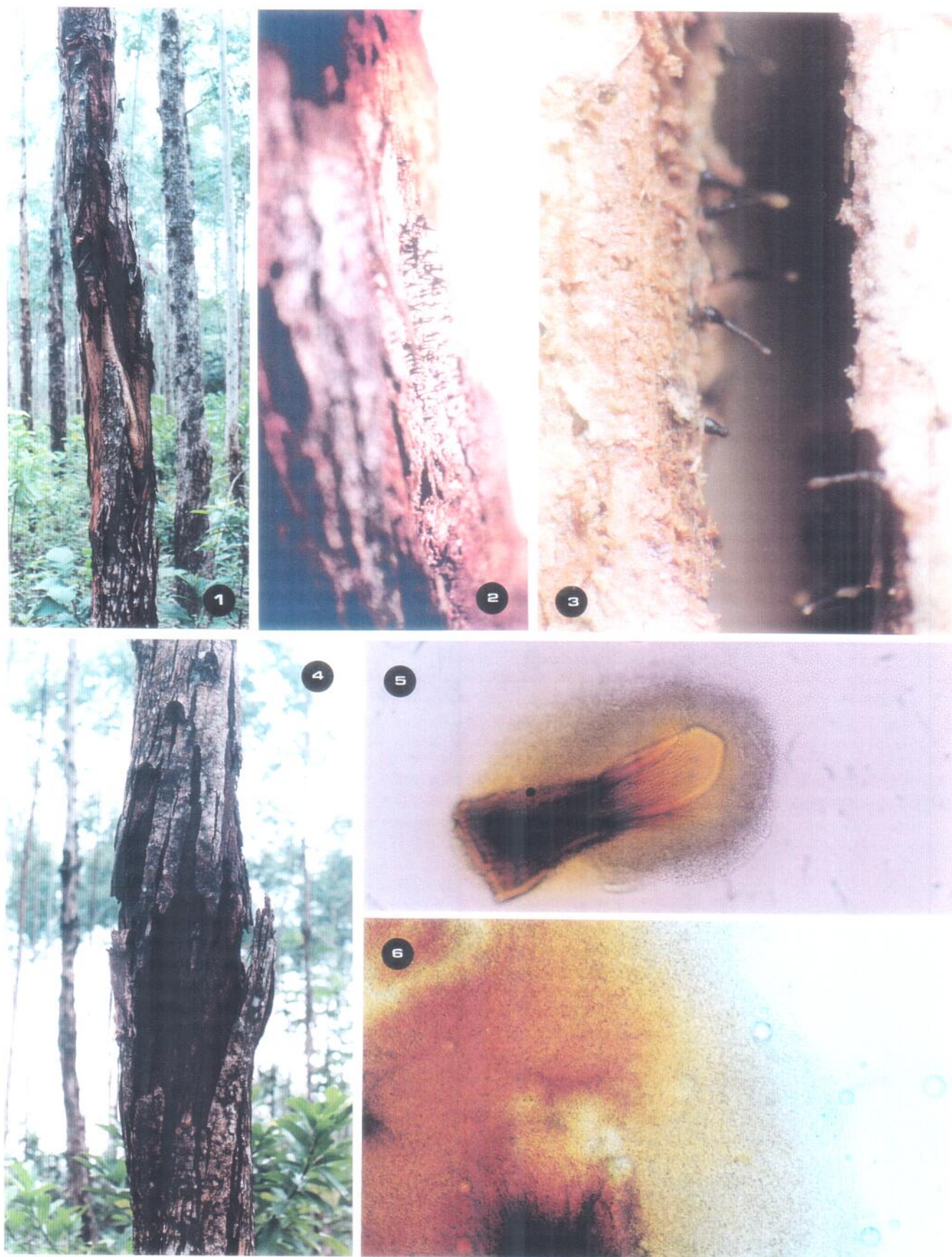


Figura 3. Signos y síntomas del cancro *Cryphonectria* de campo.

en condiciones

1 y 4. Árboles con canchros de tamaños variables y exfoliación en forma de tiras longitudinales. 2. Corteza con picnidios de cuello largo. 3. Acercamiento de picnidios cafés oscuros y de forma de botella. 5 y 6. Cabeza de un picnidio, con forma de cerillo y profusa esporulación de conidios diminutos, hialinos y de forma oval.

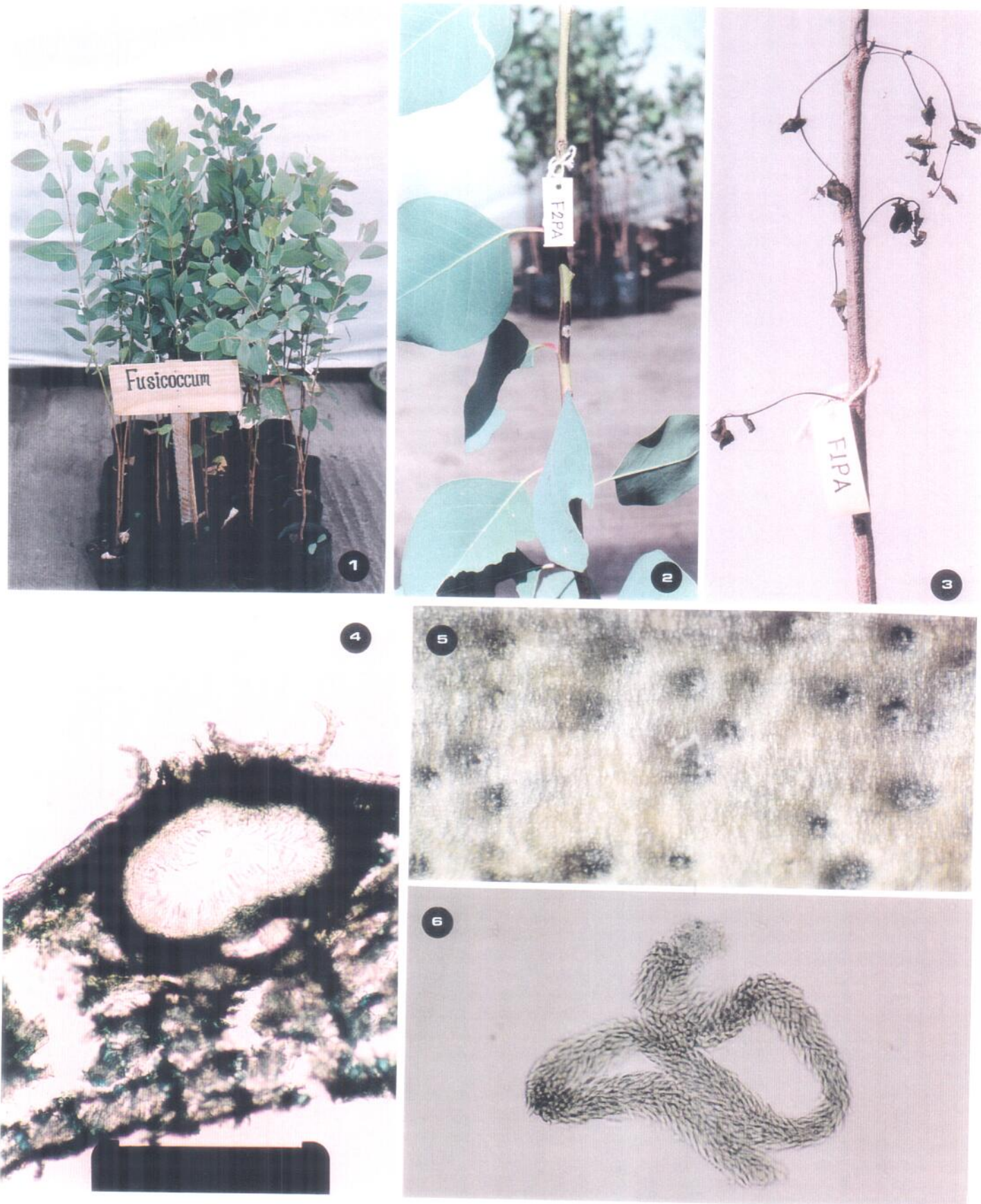


Figura 6. Signos y síntomas del cancro *Fusicoccum* inoculado en plantas en condiciones de invernadero

1. Plantas inoculadas con el cancro *Fusicoccum*. 2. Planta con lesión de color oscuro, casi negro, de forma elipsoidal y alargada. 3 y 5. Planta con muerte descendente y presencia de picnidios oscuros subcorticales. 4. Corte longitudinal de un picnidio con estroma oscuro, en ellos se observa la pared celular gruesa y conidióforos cortos. 6. Cirro blanco aperlado con conidios hialinos, unicelulares y de forma oval.

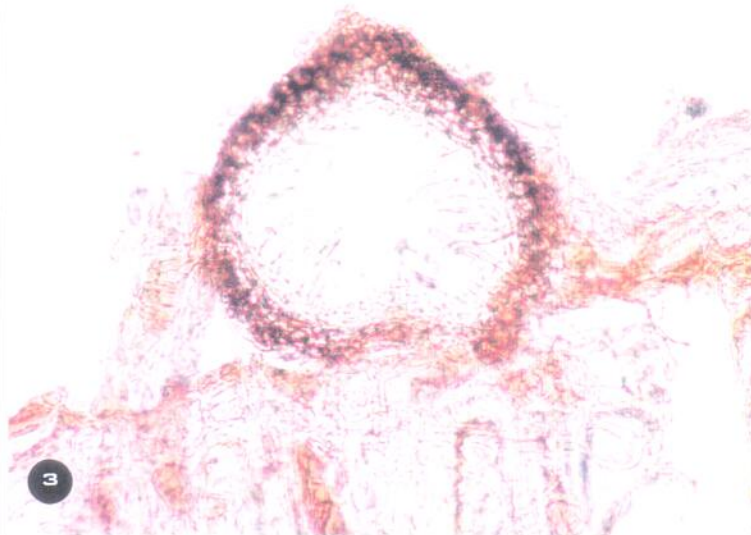
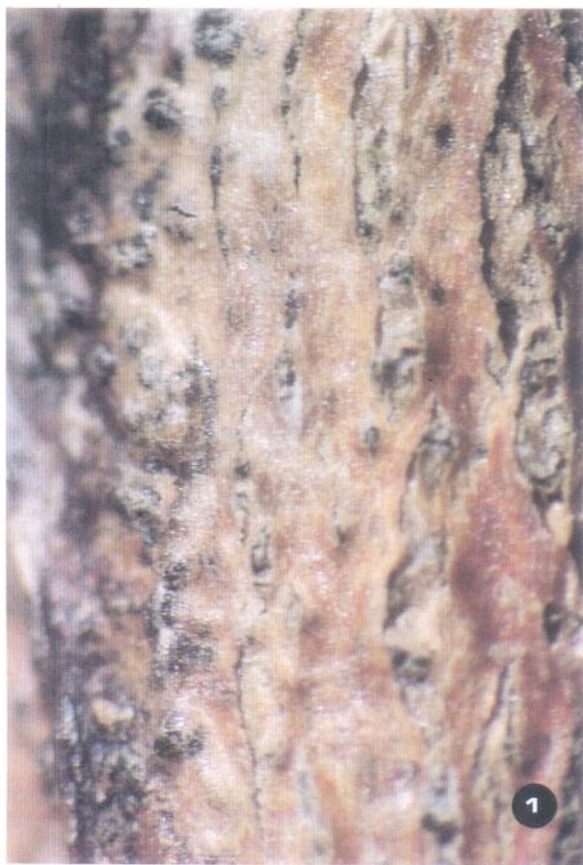


Figura 5. Signos y síntomas del cancro *Fusicoccum* en condiciones de campo.

2 y 5. Árboles con canchros de tamaños variables y caída de ramas infectadas por los vientos.
1. Placa de corteza con picnidios oscuros subcorticales. 3. Corte longitudinal de un picnidio con estroma oscuro, en ellos se observa la pared celular gruesa y conidióforos cortos. 4. 111a Conidios hialinos, unicelulares y de forma oval.

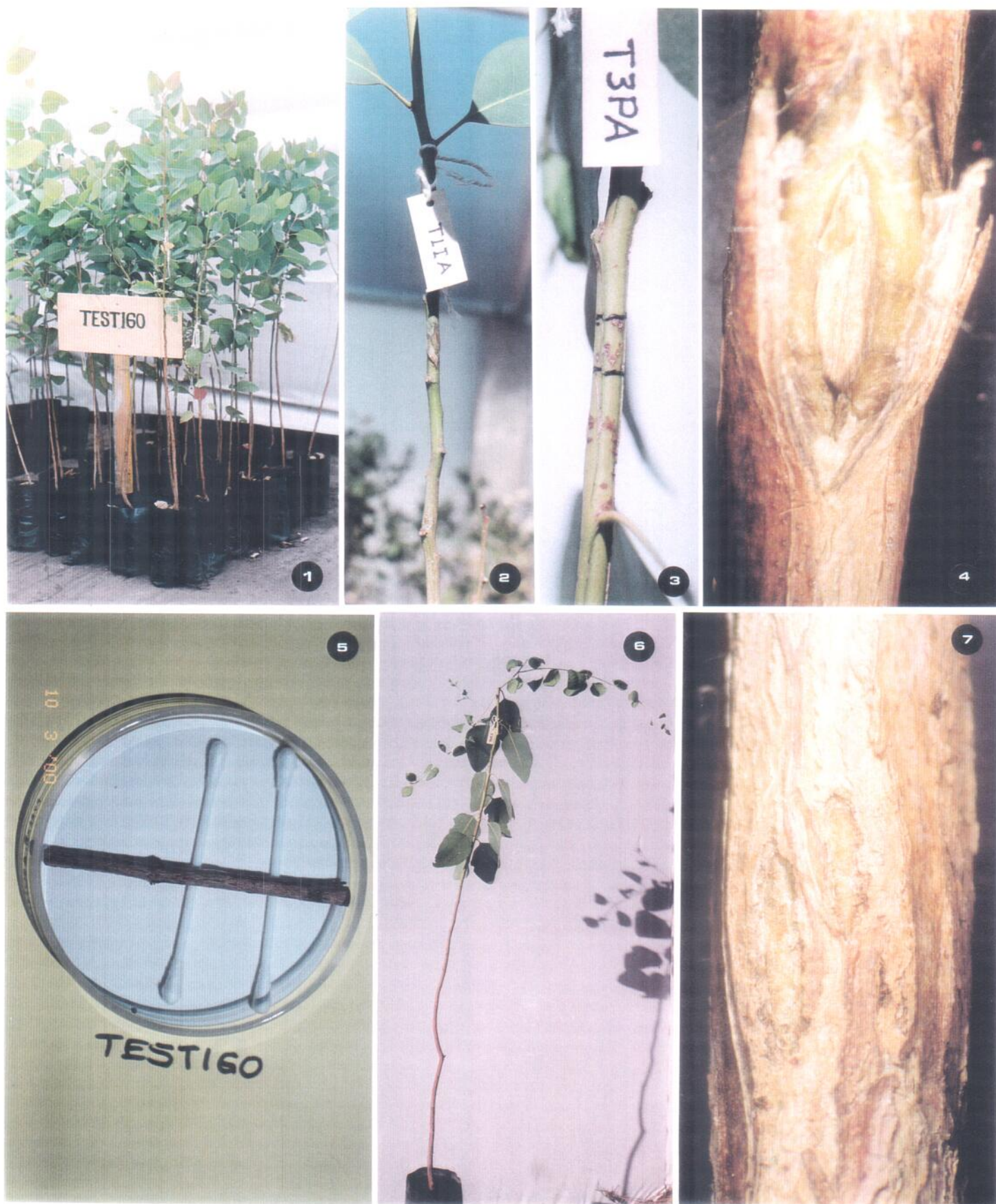


Figura 7. Plantas testigo, inoculadas con medio de cultivo PDA en condiciones de invernadero.

1. Plantas inoculadas con PDA. 2. Lesión por inserción. 3. Lesión por punción. 4. Cicatrización de la herida realizada para la inserción del medio PDA. 5. Varetas testigo, sin presencia de lesión. 6. Planta sana, conservada hasta el final de la evaluación. 7. Lesión por punción cicatrizó a los nueve días.

5.3.1.2. Descripción de signos y síntomas en varetas de *E. camaldulensis* inoculadas.

1) Varetas Testigo inoculadas con medio de cultivo PDA.

a) Por el método de Inserción

Las varetas inoculadas con este tratamiento mostraron los siguientes signos y síntomas: A los 3 días después de haberse realizado la inoculación se quitó la cinta parafilm y sólo se observó en el área de inoculación la corteza levantada, producto de la herida realizada para la inserción del medio de cultivo PDA. A los 6 días, se desarrollo en el margen de la herida un tejido calloso de cicatrización. Durante el período de la toma de datos no se presentó lesión visible alguna, ni emisión de signos, al final del período se presentó una vareta contaminada con un hongo de color verde grisáceo, no correspondiente a alguno de los inoculados.

b) Por el método de Punción

Las varetas inoculadas con este tratamiento mostraron los siguientes signos y síntomas: A los 3 días después de haberse realizado la inoculación se quitó la cinta parafilm y sólo se observó en el área de inoculación las punciones realizadas ya cicatrizadas. Durante el período de toma de datos, no se registró lesión alguna, el medio de cultivo inoculado PDA, no presentó cambios de coloración; al finalizar la toma de datos, sólo se presentó la contaminación de

una vareta por un hongo de color verde grisáceo, lo anterior, se atribuyó al manejo de las unidades experimentales y es un riesgo común en laboratorio.

2) Varetas inoculadas con el cancro *Botryodiplodia*.

a) Por el método de Inserción

El día 1° se realizó la inoculación de las varetas de *E. camaldulensis* con el cancro *Botryodiplodia*, luego fueron guardadas en cajas de petrí de manera individual y colocadas dentro de una estufa especial a una temperatura de 29°C. A 3 días, se les quitó a las varetas la cinta parafilm y se observó en el área de inoculación la formación y desarrollo de una lesión elipsoidal alargada, de color café rojiza. A los 6 días, la lesión se tornó a un color café rojizo oscuro y ya había cubierto $\frac{3}{4}$ partes del perímetro de la vareta. A 9 días, la lesión ya había cubierto el perímetro de la vareta, al centro de la lesión se observaba más oscura. A 12 días, la lesión ya había cubierto la longitud de la vareta y en la parte central de la longitud de la lesión se observó la formación de escasos picnidios oscuros subcorticales. A 15 días, la vareta se observó completamente ennegrecida con diminutos picnidios oscuros subcorticales a todo lo largo y ancho del tallo. De los 18-24 días, algunos picnidios desarrollados estaban cubiertos por micelio blanco grisáceo y otros presentaban esporulación de masas de conidios unicelulares, en forma de cirros blanco aperlados.

b) Por el método de Punción

El día 1° se realizó la inoculación de las varetas de *E. camaldulensis* con el cancro *Botryodiplodia*, luego fueron guardadas en cajas de petrí de manera individual y colocadas dentro de una estufa especial a una temperatura de 29°C. A 3 días, se les quitó a las varetas la cinta parafilm que sirvió para cubrir la herida realizada y se observó en el área de inoculación la formación y desarrollo de una lesión elipsoidal alargada, de color café clara, las punciones realizadas habían quedado inmersas en el área lesionada. A los 6 días, la lesión se había tornado café rojiza y había cubierto la mitad del perímetro del tallo. A 9 días, la lesión café rojiza estaba más oscura al centro, en donde había formación de escasos picnidios. A 12 días, la lesión ya había cubierto el perímetro de la vareta y al centro del largo de la lesión ya se observaban picnidios oscuros subcorticales. A 15 días, la lesión había cubierto $\frac{3}{4}$ partes de la longitud de la vareta. A 24 días, la lesión ya había cubierto la longitud de la vareta y la lesión se observaba casi negra, con picnidios oscuros subcorticales formados a todo lo largo y ancho de la vareta, algunos estaban cubiertos por micelio blanco grisáceo. A 27 días, la vareta estaba ennegrecida con algunos picnidios que presentaban esporulación de masas de conidios unicelulares en forma de cirros blanco aperlados.

3) Varetas inoculadas con el cancro *Fusicoccum*.

a) Por el método de Inserción

El día 1° se realizó la inoculación de las varetas de *E. camaldulensis* con el cancro *Fusicoccum*, posteriormente fueron guardadas en cajas de petrí de manera individual y colocadas dentro de una estufa especial a una temperatura de 29°C. A los 3 días, se les quitó a las varetas la cinta parafilm que había sido utilizada para cubrir la herida realizada. A los 9 días, se observó en el área de inoculación la formación y desarrollo de una lesión elipsoidal, de color café oscura. A los 12 días, la lesión se había tomado oscura casi negra. A los 15 días, la lesión había cubierto $\frac{3}{4}$ partes del perímetro de la vareta. A los 21 días, la lesión había cubierto el perímetro de la vareta, la lesión ennegrecida presentaba formación de escasos picnidios subcorticales. A los 24 días, la lesión había cubierto la longitud de la vareta. A 30 días, había picnidios oscuros subcorticales a lo largo y ancho de la lesión. A 36 días, algunos picnidios presentaban esporulación de masas de conidios unicelulares, en forma de cirros blanco aperlados, otros estaban cubiertos por micelio superficial blanquecino.

b) Por el método de Punción

El día 1° se realizó la inoculación de las varetas de *E. camaldulensis* con el cancro *Fusicoccum*, posteriormente fueron guardadas en cajas de petrí de

manera individual y colocadas dentro de una estufa especial a una temperatura de 29°C. A los 3 días, se les quitó a las varetas la cinta parafilm que había sido utilizada para cubrir la herida realizada. A los 9 días, se observaron las punciones realizadas inmersas en una lesión café oscura, que se había formado. A los 15 días, la lesión café oscura elipsoidal, alargada. A los 21 días, los avances de la lesión eran de color cafés rojizos, la lesión había cubierto $\frac{3}{4}$ partes del perímetro del tallo. A los 24 días, la lesión había cubierto el perímetro de la vareta, el centro de la longitud de la lesión se había tornado más oscura casi negra. A los 27 días, había al centro del área lesionada, formación de escasos picnidios oscuros subcorticales. A 30 días, la lesión había cubierto la longitud de la vareta, había picnidios oscuros subcorticales en más de la mitad de la longitud del tallo. A 33 días, había a todo lo largo y ancho de la vareta, picnidios oscuros subcorticales, algunos presentaban esporulación de masas de conidios unicelulares, en forma de cirros blanco aperlados y otros cubiertos por micelio blanco grisáceo. A 36 días, el tallo estaba ennegrecido, el cual contrastaba con la esporulación de masas de conidios unicelulares a todo lo largo de la vareta.

4) Varetas inoculadas con el cancro *Cryphonectria*.

a) Por el método de Inserción

El día 1° se realizó la inoculación de las varetas de *E. camaldulensis* con el cancro *Cryphonectria*, posteriormente fueron guardadas en cajas de petrí de

manera individual y colocadas dentro de una estufa especial a una temperatura de 29°C. A los 3 días, se les quitó a las varetas la cinta parafilm que había sido utilizada para cubrir la herida realizada. A los 6 días, en el área de inoculación se había formado una lesión de color café rojiza, el micelio insertado presentaba crecimiento de diminutos picnidios de color naranja. A los 9 días, los picnidios que estaban creciendo sobre el medio de cultivo insertado, presentaron gotas traslúcidas de color naranja. A 12 días, en el área inoculada y lesionada, habían emergido escasos picnidios de color café, algunos cubiertos por micelio blanco algodonoso, la lesión fue café rojiza, elipsoidal. A 18 días, en el área de avance de la lesión café rojiza oscura, se formaron escasos picnidios, la lesión había cubierto el perímetro de la vareta, algunos picnidios estaban cubiertos por micelio blanco amelonado, algodonoso; en el área de inoculación hubo gran cantidad de picnidios esporulando masas de conidios amarillo naranja, dando apariencia de cabezas de cerillos. A 21 días, algunos picnidios aislados del área de inoculación, estaban cubiertos por micelio blanco amelonado y otros esporulando masas de conidios de color naranja. A 24 días, la lesión café rojiza oscura había cubierto la longitud del de la vareta y había a todo lo largo y ancho picnidios cafés subcorticales. A 27 días, la vareta estaba oscura, con algunos picnidios cubiertos por micelio blanco amelonado, otros con esporulación de masas de conidios de color naranja. A 30 días, había picnidios esporulando a todo lo largo y ancho de la vareta, otros se encontraron cubiertos por micelio blanco anaranjado.

b) Por el método de Punción

El día 1° se realizó la inoculación de las varetas de *E. camaldulensis* con el cancro *Cryphonectria*, posteriormente fueron guardadas en cajas de petrí de manera individual y colocadas dentro de una estufa especial a una temperatura de 29°C. A los 3 días, se les quitó a las varetas la cinta parafilm que había sido utilizada para cubrir la herida realizada. A los 6 días, se observó crecimiento micelial blanco algodonoso en el margen de la herida realizada, y una lesión de color café clara. A los 9 días, la lesión se tornó de un color café rojizo, en el margen del área inoculada, se formaron escasos picnidios esporulando gotas traslúcidas de color naranja. A los 12 días, en el área de inoculación se formaron escasos picnidios de color café oscuro, algunos con esporulación de masas de conidios amarillo naranja, la lesión se ha oscurecido. A 18 días, los avances de la lesión se observaron cafés claros y había formación de picnidios cafés oscuros. A 21 días había formación de picnidios de manera aislada, algunos cubiertos por micelio blanco amelonado. A 24 días, la lesión ennegrecida presentó picnidios cafés oscuros, algunos de ellos cubiertos por micelio blanco amelonado y otros esporulando masas de conidios de color naranja, el avance de la lesión había cubierto el perímetro de la vareta. A 30 días, la lesión había cubierto la longitud de la vareta, con picnidios formados a todo lo largo y ancho de la vareta, la mayoría estaban cubiertos por micelio naranja que contrastaba con la lesión ennegrecida. A 36 días, la mayoría de los picnidios estaban esporulando masas de conidios de color naranja dando

aparición de cabezas de cerillos por la gran cantidad de conidios que esporularon.

En la figura 5, se muestra la cronología de cada uno de los eventos observados durante el período de evaluación para cada uno de los tratamientos, realizados en el laboratorio con las varetas de *Eucalyptus camaldulensis*.

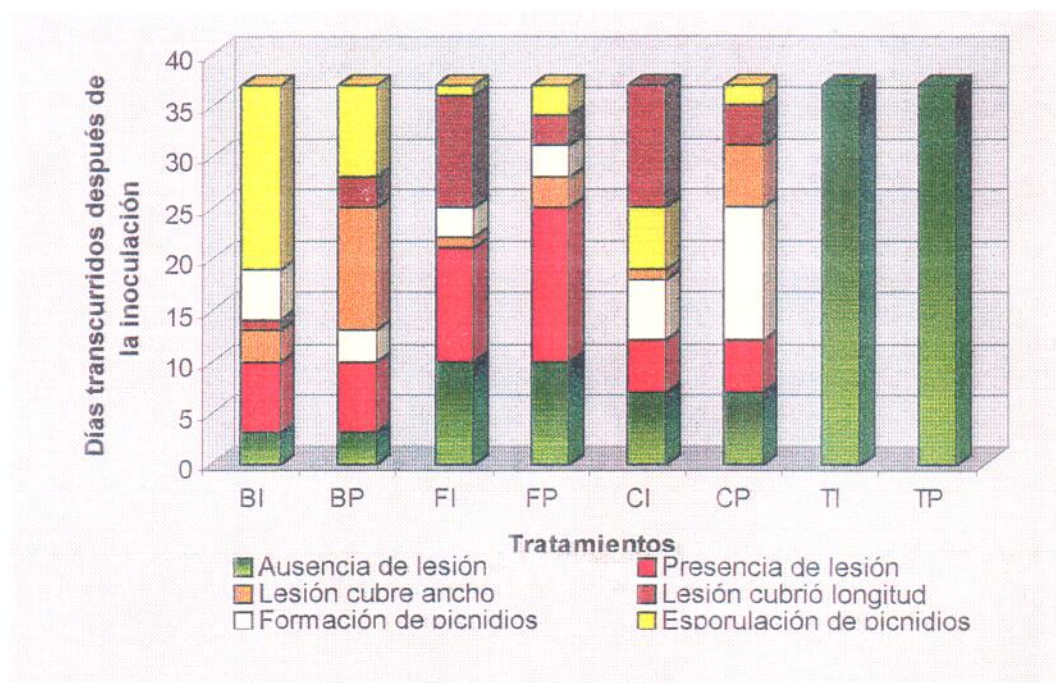


Figura 5. Aparición de signos y síntomas promedio registrados en las varetas de *Eucalyptus camaldulensis* inoculados con dos métodos, tres canchros y un testigo; con cinco repeticiones. Chapingo, México; 1999.

En las figuras 8, 9 y 10 se ilustran los signos y síntomas de los canchros *Botryodiplodia*, *Cryphonectria* y *Fusicoccum* inoculados en varetas de *Eucalyptus camaldulensis* en condiciones de laboratorio.

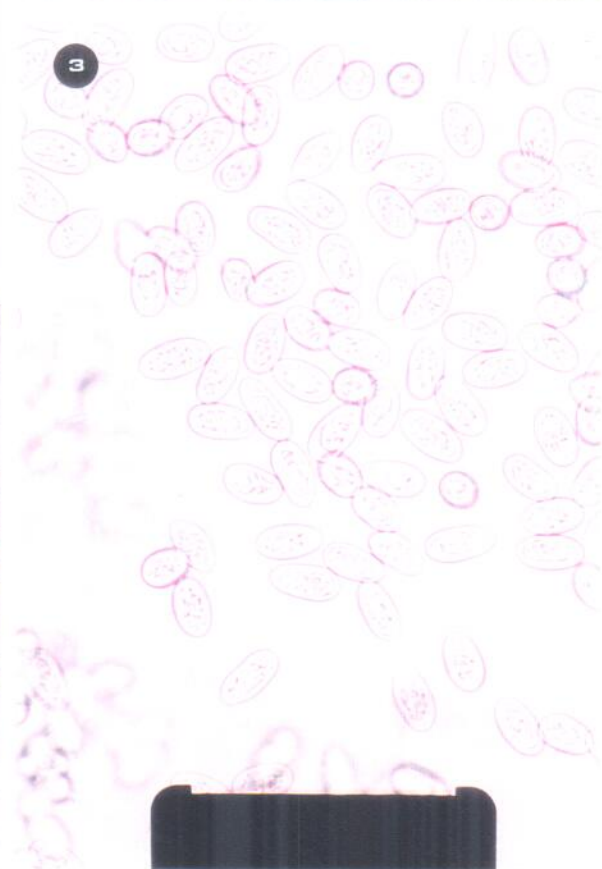
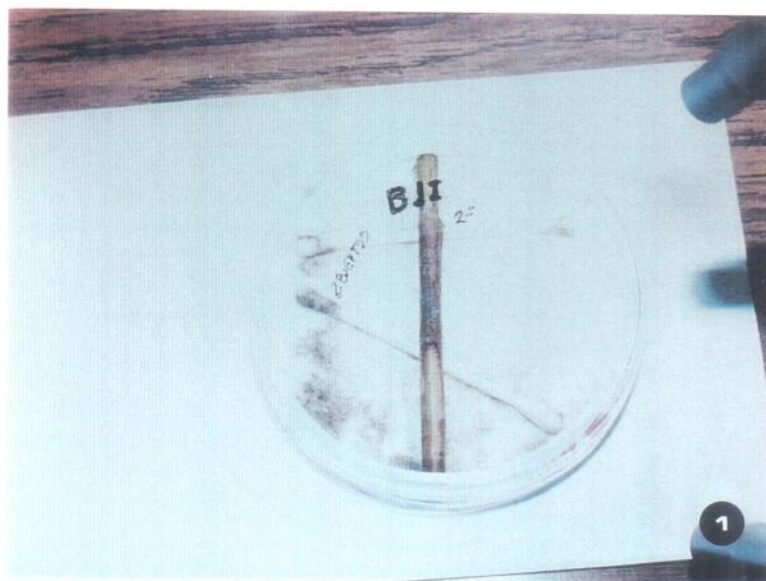


Figura 8. Signos y síntomas del cancro *Botryodiplodia* inoculado en vareta en condiciones de laboratorio.

1. Lesión café rojiza oscura, de forma elipsoidal a los 6 días después de ser inoculada. 4. A los doce días la vareta esta completamente ennegrecida. 2. A los quince días la vareta presenta pycnidios oscuros subcorticales. 3. Liberación de esporas hialinas de forma oval, a partir del día 18 después de la inoculación. 5. Corte longitudinal de un pycnidio, en él se observa la pared celular gruesa.

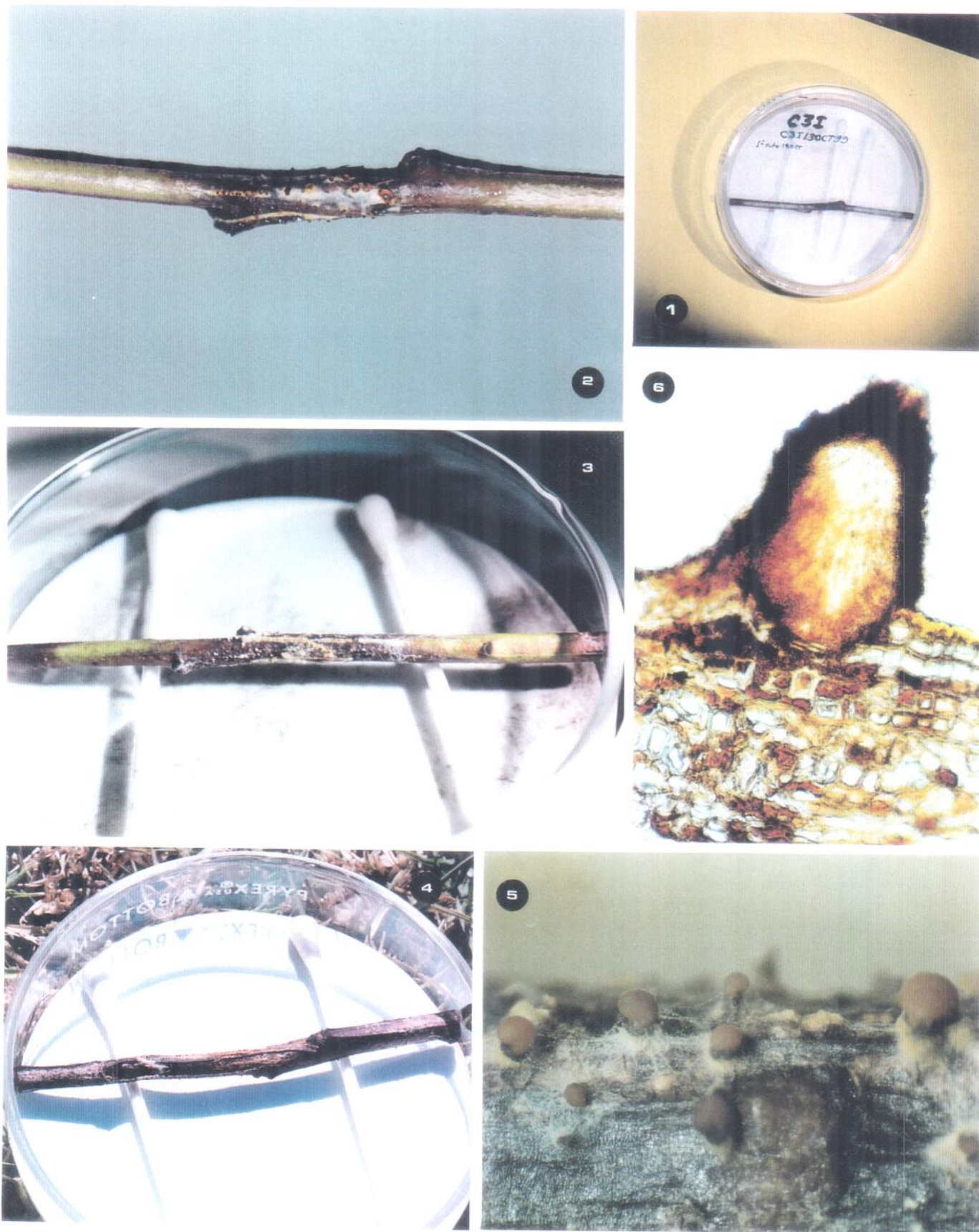


Figura 9 Signos y síntomas del cancro *Cryphonectria* inoculado en varetas en condiciones de laboratorio.

1. Lesión café rojiza oscura, de forma elipsoidal alargada. 2. Pícnidios creciendo en el medio de cultivo inoculado, con esporulación de gotas traslúcidas naranja a los 9 días después de la inoculación. 3. Pícnidios cubiertos por micelio blanco algodonoso. 4. A los dieciocho días la vareta está completamente lesionada. 5. Pícnidios con esporulación de conidios amarillo naranja. 6. Corte longitudinal de un pícnidio, en él se observa la pared celular gruesa.

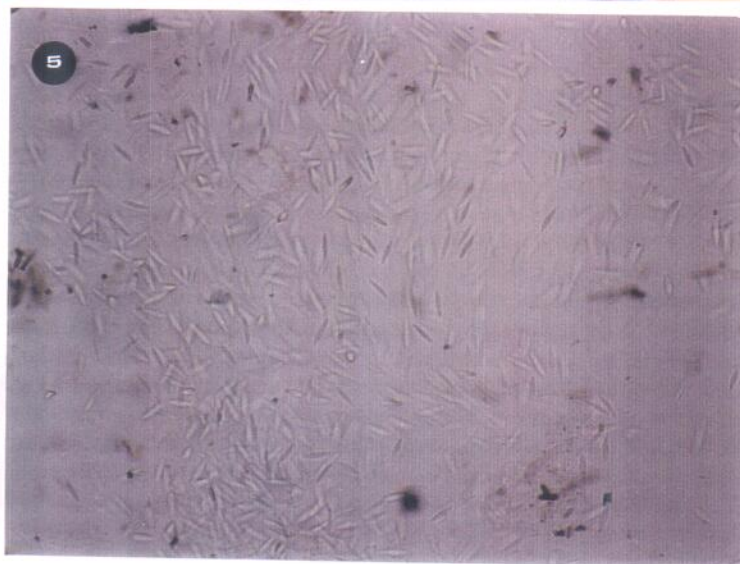
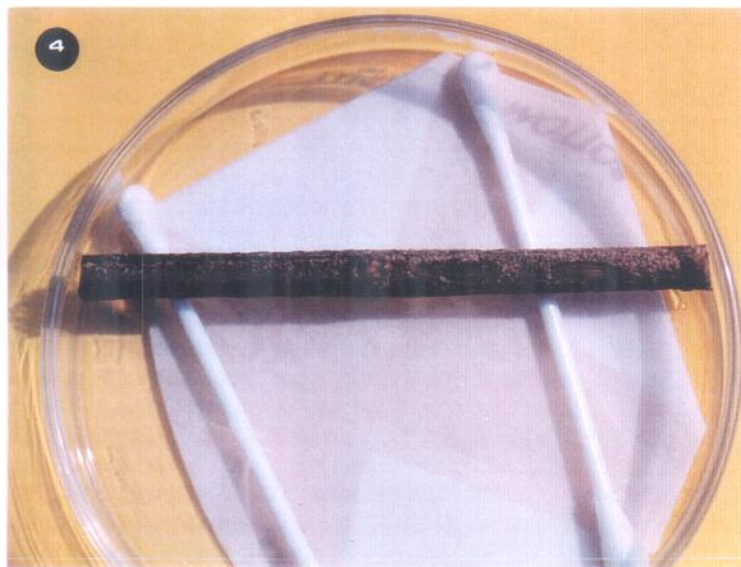
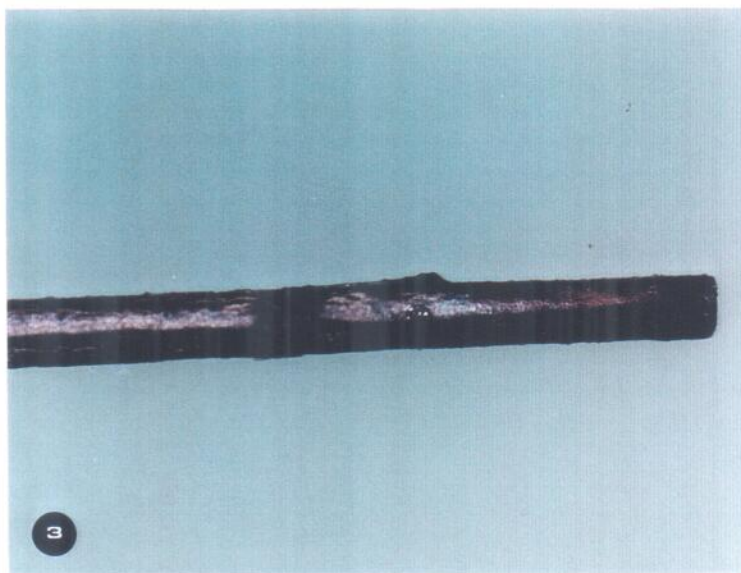
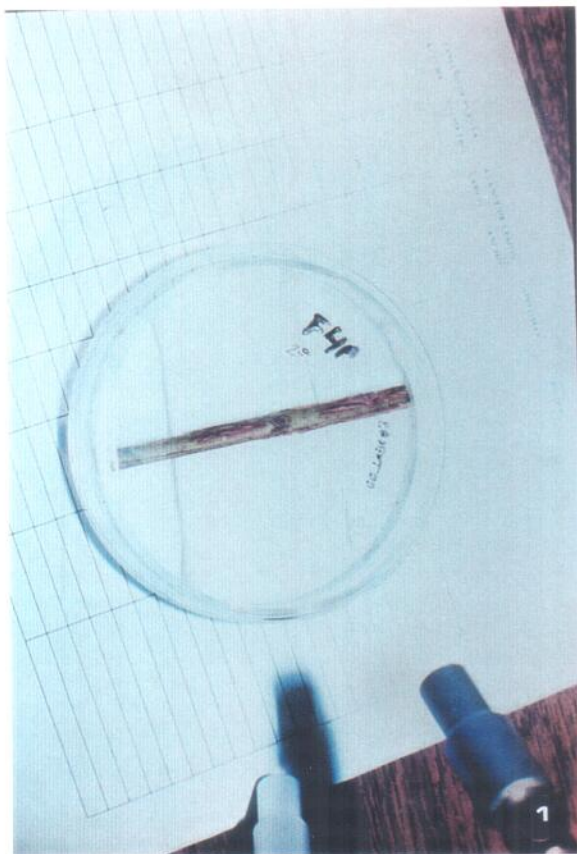


Figura 10. Signos y síntomas del cancro *Fusicoccum* inoculado en vareta en condiciones de laboratorio.

1. Lesión café oscura, de forma elipsoidal alargada. 3. A los veintiún días la vareta esta ba completamente lesionada, de color oscuro. 4. A treinta días, picnidios oscuros, y subcorticales a todo lo largo de la vareta. 2. Corte longitudinal de un picnidio, en él se observa la pared celular gruesa y conidióforos simples y cortos. 5. Conidios hialinos, de forma oval.

5.4. Determinación de cada uno de los agentes causales de enfermedad.

5.4.1. Reaislamientos.

De cada uno de los canchros contemplados en este estudio, se realizaron los respectivos reaislamientos, siguiendo la metodología descrita para tal fin en el apartado 4.8, tanto de vareτας como en plantas inoculadas artificialmente. Basándose en lo anterior, fue posible obtener cada uno de los hongos patógenos utilizados como fuente de inóculo, con las características morfológicas respectivas a cada uno de ellos, que se resumen en las descripciones siguientes. En el cuadro 3, se muestran las características morfológicas obtenidas de los reaislamientos para el canchro *Botryodiplodia*.

Cuadro: 3. Características morfológicas del reaislamiento obtenido de tejidos infectados con el canchro *Botryodiplodia* provenientes de vareτας y plantas de eucalipto inoculadas artificialmente.

Características Morfológicas	Características de los reaislamientos	
	Vareτας	Plantas
Color inicial de la colonia	Blanco lanosa	Blanco lanosa
Tiempo en cubrir el crecimiento micelial del hongo, la superficie del diámetro de la caja petrí	A los 3 días	A los 3 días
Aspecto de la colonia	Primero blanco lanosas, a los 6 días la periferia fue grisácea y centro oscuro, después de 8 días se tomaron oscuras.	Primero blanco lanosas, después a los 7 días ya se habían pigmentado de color negro oscuro.
Coloración del medio de cultivo	Primero cremoso, después a los 15 días se tomaron negros.	Primero cremoso después a los 15 días se tomaron negros.
Presencia de picnidios	A los 32	A los 34
Esporulación de picnidios	A los 61	A los 62

Las características de cada una de las colonias obtenidas en los reaislamientos de cada uno de los hongos, inoculados tanto en varetas como en plantas de eucalipto, mostraron apariencias similares a las características de los aislamientos y purificaciones obtenidos inicialmente en las muestras de campo. En base a lo anterior, podemos decir, que después de realizadas las pruebas de patogenicidad, los hongos fueron recuperados exitosamente.

En el cuadro 4, se muestran las características morfológicas obtenidas de los reaislamientos para el cancro *Fusicoccum*.

Cuadro: 4. Características morfológicas del reaislamiento obtenido de tejidos infectados con el cancro *Fusicoccum* provenientes de varetas y plantas de eucalipto inoculadas artificialmente.

Características Morfológicas	Características de los reaislamientos	
	Varetas	Plantas
Color inicial de la colonia	Blanco algodónosa y filamentosa	Blanco algodónosa y filamentosa
Tiempo en cubrir el crecimiento micelial del hongo, la superficie del diámetro de la caja petrí	A los 4 días	A los 5 días
Aspecto de la colonia	Primero blanco algodónosa después a los 6 días las colonias fueron grises en la periferia y oscuras al centro	Primero blanco lanoso, después a los 6 días las colonias fueron grises en la periferia y oscuras al centro
Coloración del medio de cultivo	Primero cremosos, luego de los 12 a 21 días las colonias se tornaron negras.	Primero cremosos, luego de los 12 a 21 días las colonias se tornaron negras.
Presencia de picnidios	A los 24 días	A los 26 días
Esporulación de picnidios	A los 55	A los 58

En el cuadro 5, se muestran las características morfológicas obtenidas de los reaislamientos para el cancro *Cryphonectria*.

Cuadro: 5. Características morfológicas del reaislamiento obtenido de tejidos infectados con el cancro *Cryphonectria* provenientes de varetas y plantas de eucalipto inoculadas artificialmente.

Características Morfológicas	Características de los reaislamientos	
	Varetas	Plantas
Color inicial de la colonia	Blanco cremosas	Blanco cremosas
Tiempo en cubrir el crecimiento micelial del hongo, la superficie del diámetro de la caja petrí	A los 6 días	A los 5 días
Aspecto de la colonia	Primero blanco cremosas de forma lanosa, a los 8 días hubo cambios de pigmentación de un color amarillento a uno naranja pálido y finalmente naranja amelonado.	Primero blanco cremosas, de forma algodonosa, a los 8 días hubo cambios de pigmentación de un color amarillento a uno naranja pálido y finalmente naranja amelonado.
Coloración del medio de cultivo	Primero blanco cremosos y de los 11 días en adelante se tomaron naranja rojizos.	Primero blanco cremosos y de los 12 días en adelante se tomaron naranja rojizos.
Presencia de picnidios	A los 8 días	A los 7 días
Esporulación de picnidios	A los 21 días	A los 20 días

5.4.2. Elaboración de preparaciones.

De cada una de las diferentes colonias obtenidas, correspondientes a cada uno de los tratamientos, se realizaron cortes finos del medio que contenía estructuras de reproducción, los cuales fueron colocados en portaobjetos que presentaban un anillo de cera con lactofenol, después de colocar encima el cubreobjetos, se pasó la preparación por fuego lento, con la finalidad de sellar los cortes obtenidos, y facilitar de esta forma su manejo al observarlos en el

microscopio compuesto a 10, 20 y 40X, obteniendo de esta forma preparaciones fijas semipermanentes; las cuales presentaron las mismas características tanto en varetas como en plantas, a las observadas en las preparaciones obtenidas de las muestras colectadas en forma original. En las figuras 11, 12 y 13, se ilustra el aislamiento y estructuras microscópicas típicas de cada uno de los canchros. Las posibles diferencias, se pueden restringir en cuanto a tamaño de las estructuras de reproducción emitidas tanto en varetas, medios de cultivo, plantas inoculadas y muestras colectadas en campo, y que son analizadas en el siguiente punto.

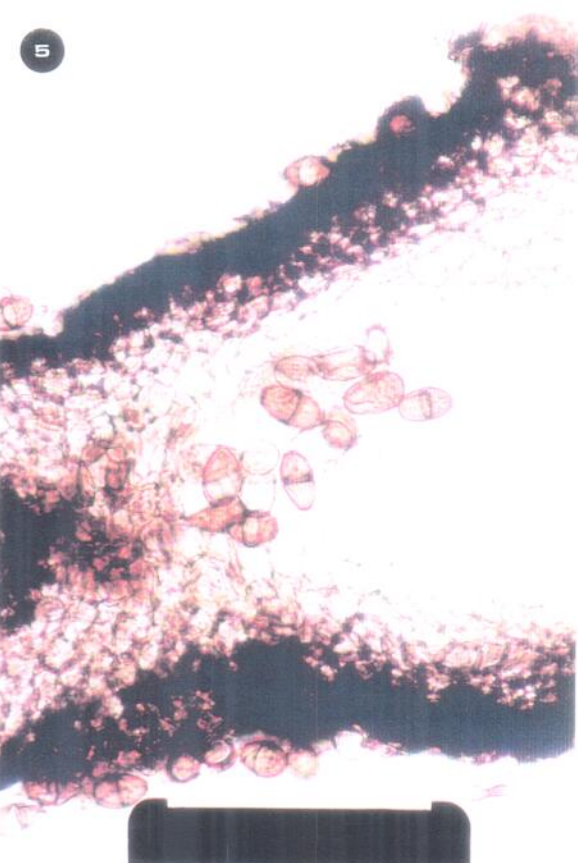
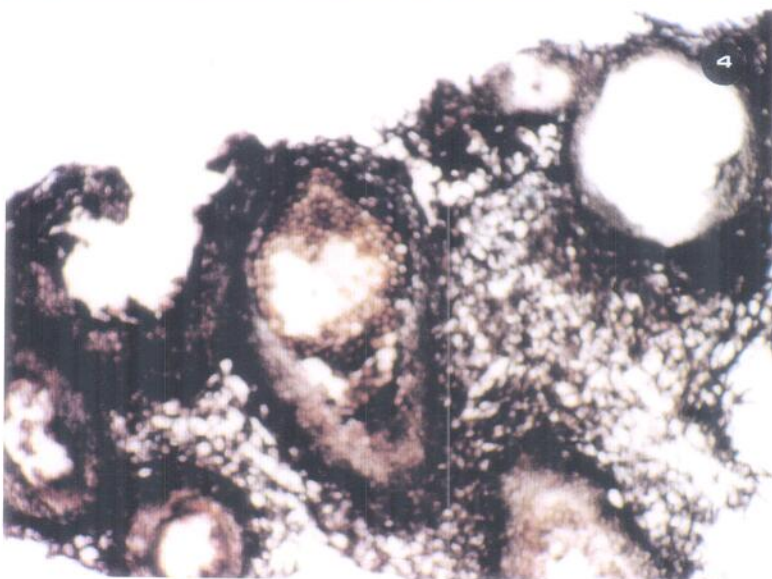
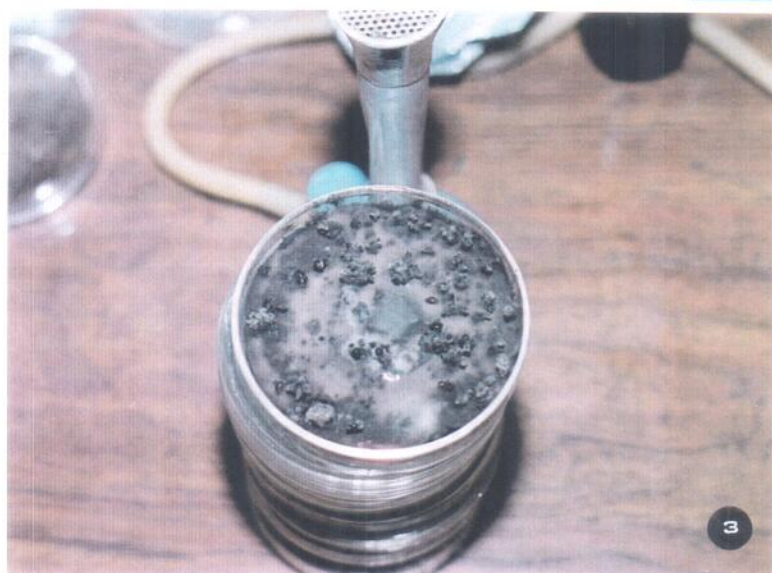


Figura 11. Aislamiento y estructuras microscópicas típicas del cancro *Botryodiplodia*.
 1. Color inicial de la colonia. 2. A los ocho días hay cambio de coloración de la colonia a oscuro. 3. Presencia de picnidios oscuros subcorticales. 4. Corte longitudinal de un picnidio maduro, se observa la pared celular gruesa. 5. Conidios maduros, estriados, septados (bicelulares), color marrón oscuro y de forma oval.

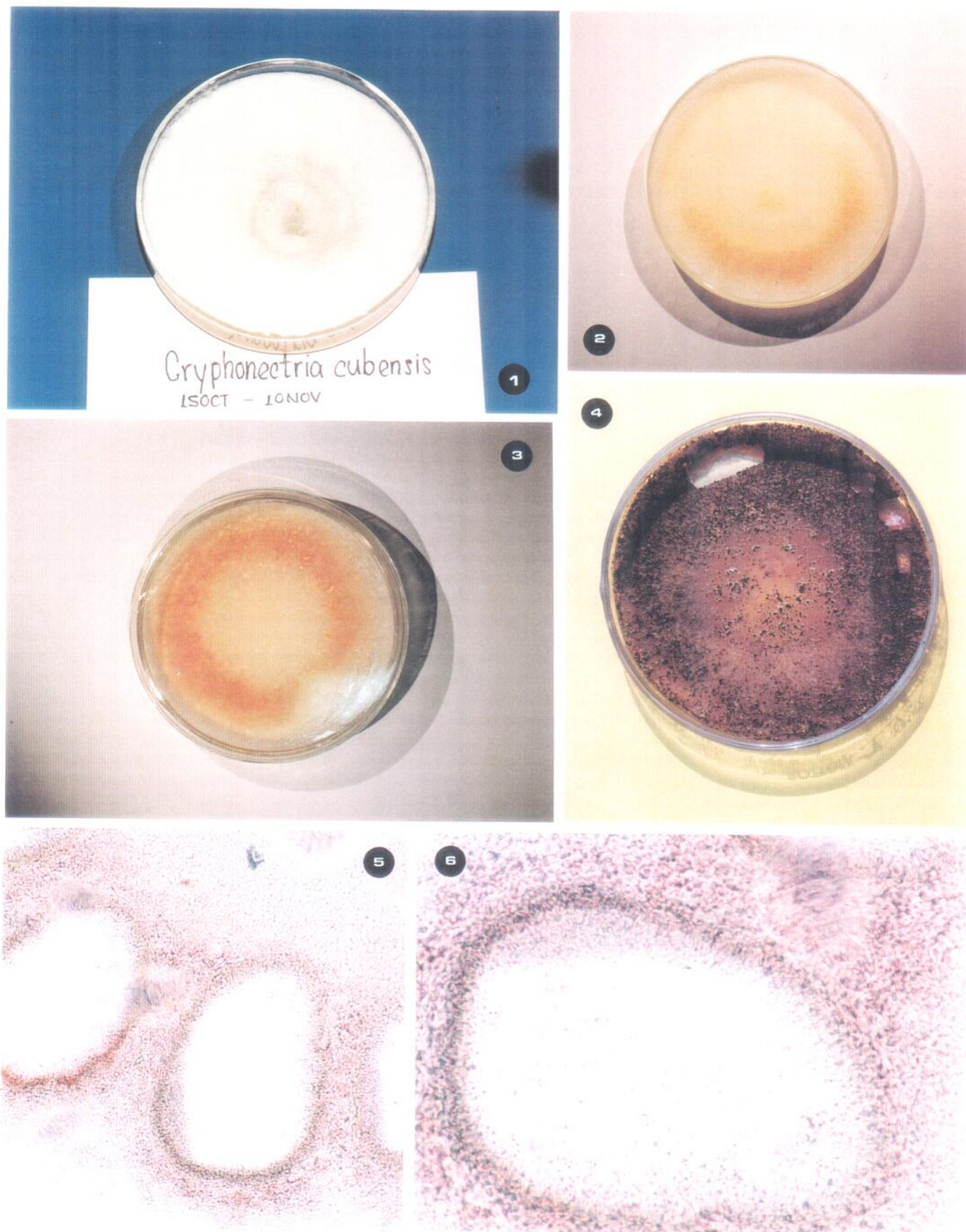


Figura 12. Aislamiento y estructuras microscópicas típicas del cancro *Cryphonectria*. 1. Color inicial blanco crema de la colonia. 2. A los ocho días hay cambio de coloración de la colonia a uno amarillo naranja. 3. Presencia de escasos picnidios cubiertos por micelio blanco amelonado. 4. Aspecto final naranja rojizo de la colonia de *Cryphonectria*. 5 y 6. Corte longitudinal de un picnidio maduro, se observan los diminutos conidios hialinos, de forma oval.

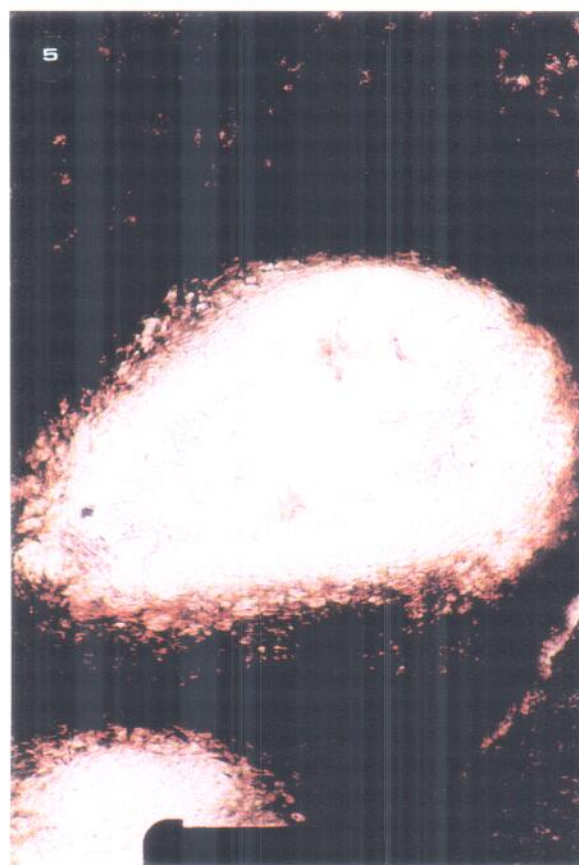
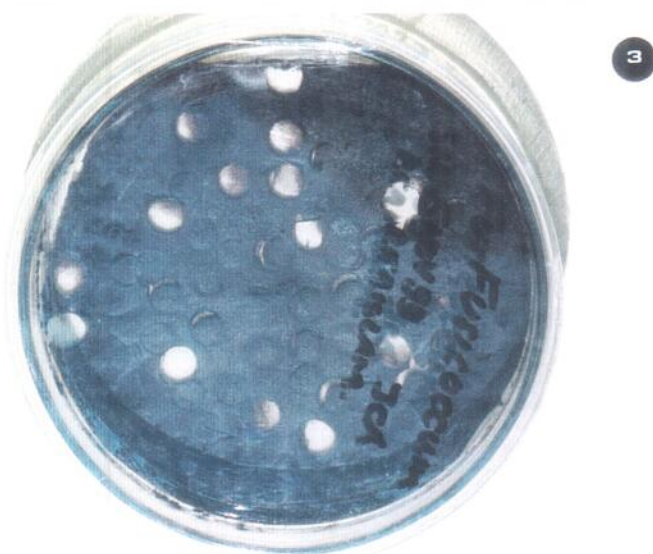


Figura 13. Aislamiento y estructuras microscópicas típicas del cancro *Fusicoccum*. 1. Color inicial de la colonia. 2. A los seis días la colonia se tornó algodonosa. 3. Colonia completamente negra a partir de los doce días. 4. Corte longitudinal de picnidios con estroma. 5. Conidios hialinos, elipsoidales, unicelulares.

5.4.3. Medición de estructuras de reproducción.

5.4.3.1. Medición de picnidios.

Para realizar las mediciones de los picnidios correspondientes a cada uno de los canchros obtenidos en forma original, así como los obtenidos de los medios de cultivo, y los inoculados en varetas y plantas de eucalipto; se realizaron cortes de tejido vegetal del material que presentó las diferentes estructuras de reproducción y montadas en preparaciones fijas semipermanentes. Con el apoyo de una computadora con un software especial, y un microscopio estereoscópico con un circuito cerrado.

Para la calibración del equipo, se utilizó una plantilla graduada de 1 mm en milimicras y un ocular graduado de 50 rayitas, con ello se pudo conocer el coeficiente micrométrico de cada uno de los objetivos, realizando una regla de tres para la conversión de líneas contadas en el ocular a unidades milimétricas. Para emprender las mediciones, se realizaron previamente 15 lecturas oculares de picnidios en el microscopio de cada uno de los canchros con los diferentes objetivos, y éstas se compararon con las lecturas arrojadas de los mismos picnidios por la computadora calibrada; resultando ser similares. Optándose por utilizar el circuito cerrado debido a una mayor rapidez en las lecturas.

En el Cuadro 6, se muestran las mediciones obtenidas de 50 picnidios del cancro *Botryodiplodia*, colectado en las plantaciones industriales de Acaponeta,

Nayarit. En este caso podemos decir que los valores promedios fueron: 225.33 x 249.83 μm en largo y ancho respectivamente y un grosor promedio de la pared de 25.63 μm . La amplitud de los rangos fue: 179.71-284.23 μm en largo x 151.16-367.09 μm en ancho y un grosor de pared entre 19.03-40.57 μm (Ver ANEXO 17).

Cuadro 6. Medición de picnidios obtenidos del material colectado en campo e infectado con el cancro *Botryodiplodia*, en la especie de *Eucalyptus camaldulensis*.

HOSPEDANTE	FUNCIÓN	PICNIDIOS (μm)		
		LARGO	ANCHO	GROSOR DE PARED
<i>E. camaldulensis</i>	PROMEDIO	225.33	249.83	25.63
	MÁXIMO	284.23	367.09	40.57
	MÍNIMO	179.71	151.16	19.03

En el Cuadro 7, se muestran las mediciones realizadas a 22 picnidios del cancro *Botryodiplodia*, obtenidos de medios de cultivo PDA en el laboratorio de Patología Forestal de la División de Ciencias Forestales (DiCiFo). Aquí podemos decir que los valores promedios fueron: 724.70 x 339.13 μm en largo y ancho respectivamente y un grosor promedio de la pared de 65.72 μm . La amplitud de los rangos fue: 482.42-899.54 μm en largo x 237.28-397.17 μm en ancho y un grosor de pared entre 34.92-98.76 μm (Ver ANEXO 18).

Mientras que en el Cuadro 8, se muestran las mediciones realizadas a 24 picnidios del cancro *Botryodiplodia*, obtenidos de las varetas de eucalipto inoculadas artificialmente en el laboratorio de Patología Forestal de la División

de Ciencias Forestales. Donde los valores promedios fueron: 310.95 x 322.12 mμ en largo y ancho respectivamente, y un grosor promedio de pared de 37.29 mμ. La amplitud de los rangos fue: 236.50-382.80 mμ en largo x 218.90-435.60 mμ en ancho y un grosor de pared entre 20.90-53.80 mμ (Ver ANEXO 19).

Cuadro 7. Medición de picnidios obtenidos del crecimiento del hongo sembrado en el medio de cultivo PDA y que sirvió para la inoculación artificial con el cancro *Botryodiplodia*.

HOSPEDANTE	FUNCIÓN	PICNIDIOS (mμ)		
		LARGO	ANCHO	GROSOR DE PARED
Medio de cultivo (PDA)	PROMEDIO	724.70	339.13	65.72
	MÁXIMO	899.54	397.17	98.76
	MÍNIMO	482.42	237.28	34.92

Cuadro 8. Medición de picnidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro *Botryodiplodia*, en varetas inoculadas artificialmente de *Eucalyptus camaldulensis*.

HOSPEDANTE	FUNCIÓN	PICNIDIOS (mμ)		
		LARGO	ANCHO	GROSOR DE PARED
<i>E. camaldulensis</i>	PROMEDIO	310.95	322.12	37.29
	MÁXIMO	382.80	435.60	53.80
	MÍNIMO	236.50	218.90	20.90

En el Cuadro 9, se muestran las mediciones realizadas a 30 picnidios del cancro *Botryodiplodia*, obtenidos de las plantas de eucalipto inoculadas artificialmente en el laboratorio de Patología Forestal de la División de Ciencias Forestales. Obteniendo los valores promedio de: 193.52 x 263.96 mμ de largo y ancho respectivamente y un grosor de pared de 23.22 mμ. La amplitud de los rangos de las mediciones estuvo entre: 140.80-277.20 mμ en largo x 173.80-343.20 mμ en ancho y un grosor de pared de 14.85-37.95 mμ (Ver ANEXO 20).

Cuadro 9. Medición de picnidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro *Botryodiplodia*, en plantas inoculadas artificialmente de *Eucalyptus camaldulensis*.

HOSPEDANTE	FUNCIÓN	PICNIDIOS (mμ)		
		LARGO	ANCHO	GROSOR DE PARED
<i>E. camaldulensis</i>	PROMEDIO	193.52	263.96	23.22
	MÁXIMO	277.20	343.20	37.95
	MÍNIMO	140.80	173.80	14.85

En el Cuadro 10, se muestran las mediciones realizadas a 20 picnidios del cancro *Cryphonectria*, obtenidos de las muestras colectadas en las plantaciones forestales comerciales de PLANFOSUR, Las Choapas Veracruz. Aquí podemos decir que los valores promedio fueron: 825.49 x 246.62 mμ de largo y ancho respectivamente, y un grosor de pared de 42.22 mμ. La amplitud de los rangos fue: 409.59-13584.69 mμ en largo x 138.20-366.61 mμ en ancho y un grosor de pared entre 25.40-56.70 mμ (Ver ANEXO 4).

Cuadro 10. Medición de picnidios obtenidos del material colectado en forma original e infectado con el cancro *Cryphonectria*, en la especie de *Eucalyptus grandis*.

HOSPEDANTE	FUNCIÓN	PERITECIOS (mμ)		
		LARGO	ANCHO	GROSOR DE PARED
<i>E. grandis</i>	PROMEDIO	825.49	246.62	42.22
	MÁXIMO	1358.69	366.61	56.70
	MÍNIMO	409.59	138.20	25.40

En el Cuadro 11, se muestran las mediciones realizadas a 30 picnidios del cancro *Cryphonectria*, obtenidos de medios de cultivo PDA en el laboratorio de Patología Forestal de la División de Ciencias Forestales. Aquí se obtuvieron los valores promedio de: 279.37 x 228.69 mμ en largo y ancho respectivamente, y

un grosor de pared de: 32.65 mμ. La amplitud de los rangos fue: 183.01–431.14 mμ en largo x 155.82–312.61 mμ en ancho y un grosor de pared entre 24.47–48.70 mμ (Ver ANEXO 2).

Cuadro 11. Medición de picnidios obtenidos del crecimiento del hongo sembrado en el medio de cultivo PDA y que sirvió para la inoculación artificial con el cancro *Cryphonectria*.

HOSPEDANTE	FUNCIÓN	PERITECIOS (mμ)		
		LARGO	ANCHO	GROSOR DE PARED
Medio de Cultivo (PDA)	PROMEDIO	279.37	228.69	32.65
	MÁXIMO	431.14	312.61	48.70
	MÍNIMO	183.01	155.82	24.47

En el Cuadro 12, se muestran las mediciones realizadas a 35 picnidios del cancro *Cryphonectria*, obtenidos de las varetas de eucalipto inoculadas artificialmente en el laboratorio de Patología Forestal de la División de Ciencias Forestales. Donde los valores promedio obtenidos fueron: 301.39 x 190.00 mμ en largo y ancho respectivamente, y un grosor de pared de: 25.03 mμ. La amplitud de los rangos fue: 203.23–435.16 mμ en largo x 111.82–249.96 mμ en ancho y un grosor de pared entre 14.92–32.85 mμ (Ver ANEXO 1).

Cuadro 12. Medición de picnidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro *Cryphonectria*, en varetas inoculadas artificialmente de *Eucalyptus camaldulensis*.

HOSPEDANTE	FUNCIÓN	PERITECIOS (mμ)		
		LARGO	ANCHO	GROSOR DE PARED
<i>E. camaldulensis</i>	PROMEDIO	301.39	190.00	25.03
	MÁXIMO	435.16	249.96	32.85
	MÍNIMO	203.23	111.82	14.92

En el Cuadro 13, se muestran las mediciones de 46 picnidios del cancro *Cryphonectria*, obtenidos de las plantas de eucalipto inoculadas artificialmente en el laboratorio de Patología Forestal de la División de Ciencias Forestales. En donde los valores promedio fueron: 273.10 x 334.54 mμ de largo y ancho respectivamente, y un grosor de pared de: 30.63 mμ. El rango de las mediciones estuvo entre 155.78-504.09 mμ en largo x 210.80-461.93 mμ en ancho y un grosor de pared entre 14.46-52.96 mμ (Ver ANEXO 3).

Cuadro 13. Medición de picnidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro *Cryphonectria*, en plantas inoculadas artificialmente de *Eucalyptus camaldulensis*.

HOSPEDANTE	FUNCIÓN	PERITECIOS (mμ)		
		LARGO	ANCHO	GROSOR DE PARED
<i>E. camaldulensis</i>	PROMEDIO	273.10	334.54	30.63
	MÁXIMO	504.09	461.93	52.96
	MÍNIMO	155.78	210.80	14.46

En el Cuadro 14, se muestran las mediciones realizadas a 41 picnidios del cancro *Fusicoccum*, obtenidos de las muestras colectadas en la Reserva Natural Xochitla, Estado de México. Donde los valores promedio obtenidos fueron: 157.40 x 213.35 mμ de largo y ancho respectivamente, y un grosor de pared de 19.96 mμ. La amplitud del rango fue: 100.07-208.54 mμ en largo x 116.50-381.20 mμ en ancho y un grosor de pared entre 11.86-38.21 mμ (Ver ANEXO 9).

Cuadro 14. Medición de picnidios obtenidos del material colectado en forma original e infectado con el cancro *Fusicoccum*, en la especie de *Eucalyptus camaldulensis*.

HOSPEDANTE	FUNCIÓN	PICNIDIOS (mμ)		
		LARGO	ANCHO	GROSOR DE PARED
<i>E. camaldulensis</i>	PROMEDIO	157.40	213.35	19.96
	MÁXIMO	208.54	381.20	38.21
	MÍNIMO	100.07	116.50	11.86

En el Cuadro 15, se muestran los resultados de las mediciones realizadas a 62 picnidios del cancro *Fusicoccum*, obtenidos de medios de cultivo PDA en el laboratorio de Patología Forestal de la División de Ciencias Forestales. Aquí podemos decir que los valores promedio fueron: 531.92 x 312.61 mμ de largo y ancho respectivamente, y un grosor de pared de: 56.18 mμ. La amplitud del rango fue: 316.55-777.26 mμ en largo x 200.61-444.05 mμ en ancho y un grosor de pared entre 29.54-85.86 mμ (Ver ANEXO 10).

Cuadro 15. Medición de picnidios obtenidos de los aislamientos y purificaciones del cancro *Fusicoccum* sembrado en el medio de cultivo PDA y que sirvió para la inoculación artificial.

HOSPEDANTE	FUNCIÓN	PICNIDIOS (mμ)		
		LARGO	ANCHO	GROSOR DE PARED
Medio de cultivo (PDA)	PROMEDIO	531.92	312.61	56.18
	MÁXIMO	777.26	444.05	85.86
	MÍNIMO	316.55	200.61	29.54

En el Cuadro 16, se presentan los resultados de las mediciones realizadas a 50 picnidios del cancro *Fusicoccum*, obtenidos de las varetas de eucalipto inoculadas artificialmente en el laboratorio de Patología Forestal de la División de Ciencias Forestales. Donde los valores promedio obtenidos fueron: 218.54 x

315.78 mμ en largo y ancho respectivamente, y un grosor de pared de: 23.20 mμ. La amplitud del rango fue: 154.04-300.08 mμ en largo x 154.80-439.85 mμ en ancho y un grosor de pared entre 15.18-35.04 mμ (Ver ANEXO 12).

Cuadro 16. Medición de picnidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro *Fusicoccum*, en varetas inoculadas artificialmente de *Eucalyptus camaldulensis*.

HOSPEDANTE	FUNCIÓN	PICNIDIOS (mμ)		
		LARGO	ANCHO	GROSOR DE PARED
<i>E. camaldulensis</i>	PROMEDIO	218.54	315.78	23.20
	MÁXIMO	300.08	439.85	35.04
	MÍNIMO	154.04	154.80	15.18

En el Cuadro 17, se muestran las mediciones realizadas a 65 picnidios del cancro *Fusicoccum*, obtenidos de las plantas de eucalipto inoculadas artificialmente en el laboratorio de Patología Forestal de la División de Ciencias Forestales. En donde se obtuvieron los valores promedio de: 188.95 x 262.37 mμ y un grosor de pared de: 21.84 mμ. La amplitud de los rangos de las mediciones estuvo entre 125.05-264.96 mμ en largo x 185.08-353.77 mμ en ancho y un grosor de pared entre 13.06-29.07 mμ (Ver ANEXO 11).

Cuadro 17. Medición de picnidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro *Fusicoccum*, en plantas inoculadas artificialmente de *Eucalyptus camaldulensis*.

HOSPEDANTE	FUNCIÓN	PICNIDIOS (mμ)		
		LARGO	ANCHO	GROSOR DE PARED
<i>E. camaldulensis</i>	PROMEDIO	188.95	262.37	21.84
	MÁXIMO	264.96	353.77	29.07
	MÍNIMO	125.05	185.08	13.06

5.4.3.2. Medición de conidios.

Para realizar las mediciones de los conidios correspondientes a cada uno de los canchros obtenidos en forma original, así como los obtenidos de los inoculados en varetas y plantas de eucalipto; se realizaron transferencias de manera directa de los cirros y masas de conidios esporulados en los picnidios, mientras que en los medios de cultivo se realizaron maceración de picnidios y cintazos, para montarlos en los cubreobjetos y obtener las preparaciones fijas semipermanentes y temporales. Por el tamaño de los conidios, hubo necesidad de apoyarse de una computadora con un software especial, y un microscopio estereoscópico con un circuito cerrado. Para la calibración del equipo, se utilizó una plantilla graduada de 1 mm en milimicras y un ocular graduado de 50 rayitas, con ello se pudo conocer el coeficiente micrométrico de cada uno de los objetivos, realizando una regla de tres para la conversión de líneas contadas en el ocular a unidades micrométricas. Para emprender las mediciones, se realizaron previamente 10 lecturas oculares de conidios en el microscopio de cada uno de los canchros con los diferentes objetivos, y éstas se compararon con las lecturas arrojadas de los mismos conidios por la computadora calibrada; resultando ser similares. Optándose por utilizar el circuito cerrado debido a una mayor rapidez en las lecturas.

En la Figura 12, se muestra la distribución de las mediciones a 100 conidios obtenidos del material colectado en campo e infectado con el cancro *Botryodiplodia*, Acaponeta Nayarit. A los cuales se les midió el largo y el ancho.

Los valores promedio fueron: 24.47 μm x 12.96 μm en largo y ancho respectivamente. La amplitud del rango estuvo entre: 20.58-27.68 μm en largo y 11.16-14.97 μm en ancho (Ver ANEXO 21).

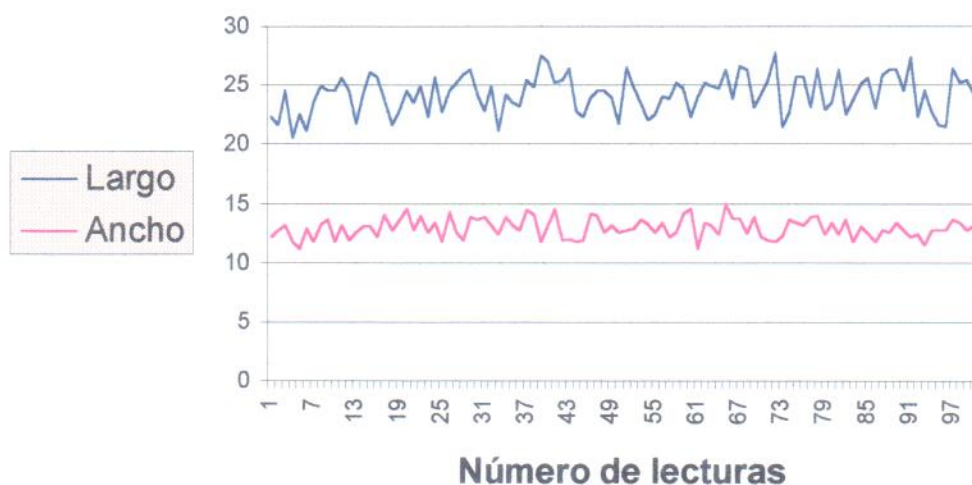


Figura 12. Distribución de las mediciones realizadas a conidios obtenidos del material colectado en campo e infectado con el cancro *Botryodiplodia*, en la especie de *Eucalyptus camaldulensis*.

En la Figura 13, se muestra la distribución de las mediciones realizadas a 75 conidios del cancro *Botryodiplodia*, obtenidos de los medios de cultivo PDA en el laboratorio de Patología Forestal de la División de Ciencias Forestales. Los valores promedio fueron: 22.98 μm x 13.46 μm en largo y ancho respectivamente. La amplitud del rango fue: 20.53-27.33 μm en largo x 11.37-15.69 μm en ancho (Ver ANEXO 22).

Mientras que en la Figura 14, se muestra la distribución de las mediciones realizadas a 100 conidios del cancro *Botryodiplodia*, obtenidos de las varetas de

eucalipto inoculadas artificialmente en el laboratorio de Patología Forestal de la División de Ciencias Forestales. Los valores promedio fueron: 23.83 mμ x 13.49 mμ en largo y ancho respectivamente. La amplitud del rango fue de 19.54-29.13 mμ en largo x 11.16-17.42 mμ en ancho (Ver ANEXO 23).

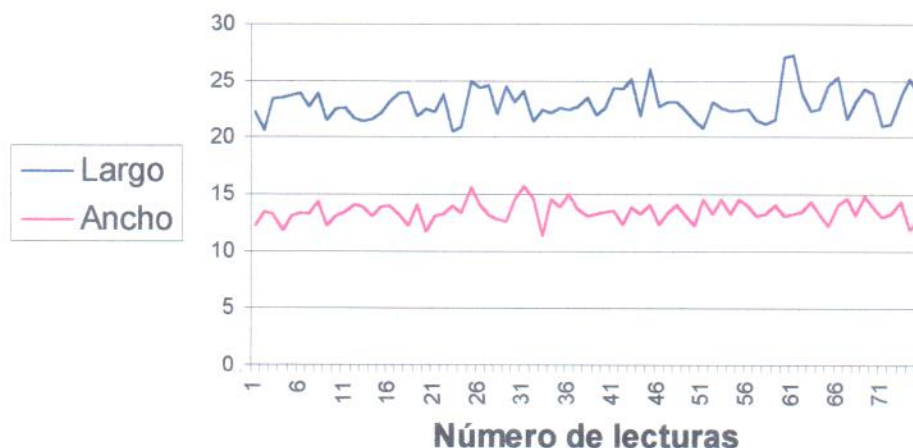


Figura 13. Distribución de las mediciones a conidios obtenidos del crecimiento del hongo sembrado en el medio de cultivo PDA y que sirvió para la inoculación artificial con el cancro *Botryodiplodia*.

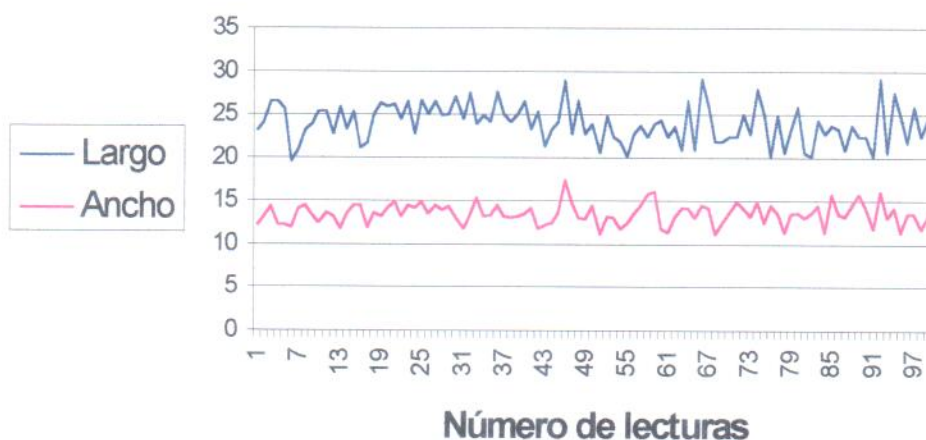


Figura 14. Distribución de las mediciones realizadas a conidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro *Botryodiplodia*, en varetas inoculadas artificialmente de *Eucalyptus camaldulensis*.

En la Figura 15, se ilustra la distribución de las mediciones realizadas a 101 conidios del cancro *Botryodiplodia*, obtenidos de las plantas de eucalipto inoculadas artificialmente en el laboratorio de Patología Forestal de la División de Ciencias Forestales. Obteniendo los valores promedio de 22.94 μm x 13.25 μm en largo y ancho respectivamente. El rango de las mediciones estuvo entre 19.47-26.12 μm en largo x 11.15-14.98 μm en ancho (Ver ANEXO 24).

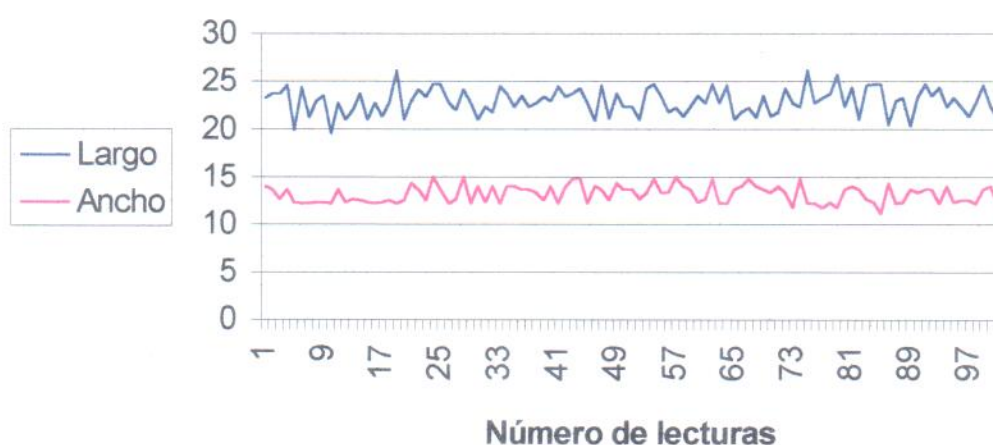


Figura 15. Distribución de las mediciones realizadas a conidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro *Botryodiplodia*, en plantas inoculadas artificialmente de *Eucalyptus camaldulensis*.

En la Figura 16, se muestra la distribución de las mediciones realizadas a 100 conidios del cancro *Cryphonectria*, obtenidos de las muestras colectadas en las plantaciones forestales comerciales de PLANFOSUR, Las Choapas Veracruz. En este caso podemos se obtuvieron los valores promedio de: 3.04 μm x 1.66 μm en largo y ancho respectivamente. La amplitud del rango fue: 2.70-3.71 μm en largo x 1.29-1.88 μm en ancho (Ver ANEXO 5).

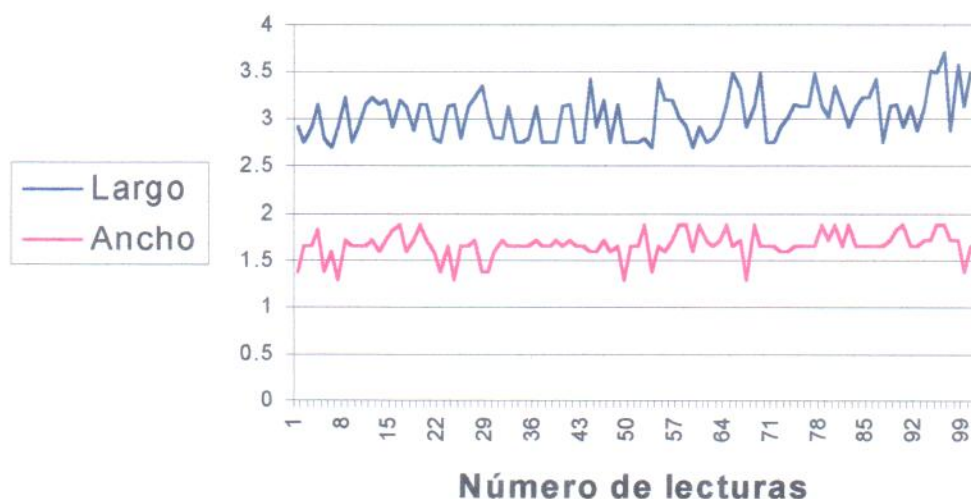


Figura 16. Distribución de las mediciones realizadas a conidios obtenidos del material colectado en campo e infectado con el cancro *Cryphonectria*, en la especie de *Eucalyptus grandis*.

En la Figura 17, se muestra la distribución de las mediciones realizadas a 100 conidios del cancro *Cryphonectria*, obtenidos de medios de cultivo PDA en el laboratorio de Patología Forestal de la División de Ciencias Forestales. Los valores promedios fueron: 3.66 mμ x 1.75 mμ en largo y ancho respectivamente. La amplitud del rango fue: 3.15-4.02 mμ en largo x 1.60-1.93 mμ en ancho (Ver ANEXO 6).

En la Figura 18, se muestra la distribución de las mediciones realizadas a 100 conidios del cancro *Cryphonectria*, obtenidos de las varetas de eucalipto inoculadas artificialmente en el laboratorio de Patología Forestal de la División de Ciencias Forestales. Donde los valores promedios fueron: 3.40 mμ x 1.65 mμ en largo y ancho respectivamente. La amplitud del rango fue de 3.01-3.94 mμ en largo x 1.29-1.93 mμ en ancho (Ver ANEXO 8).

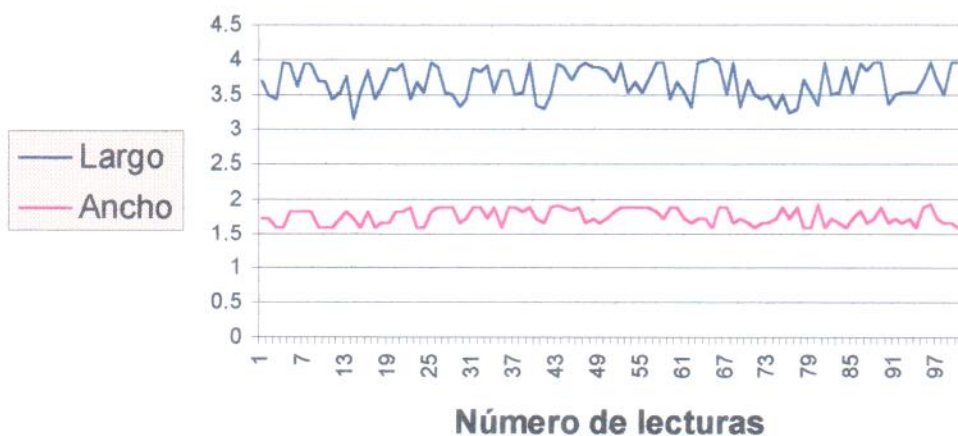


Figura 17. Distribución de las mediciones realizadas a conidios obtenidos del crecimiento del hongo sembrado en el medio de cultivo PDA y que sirvió para la inoculación artificial con el cancro *Cryphonectria*.

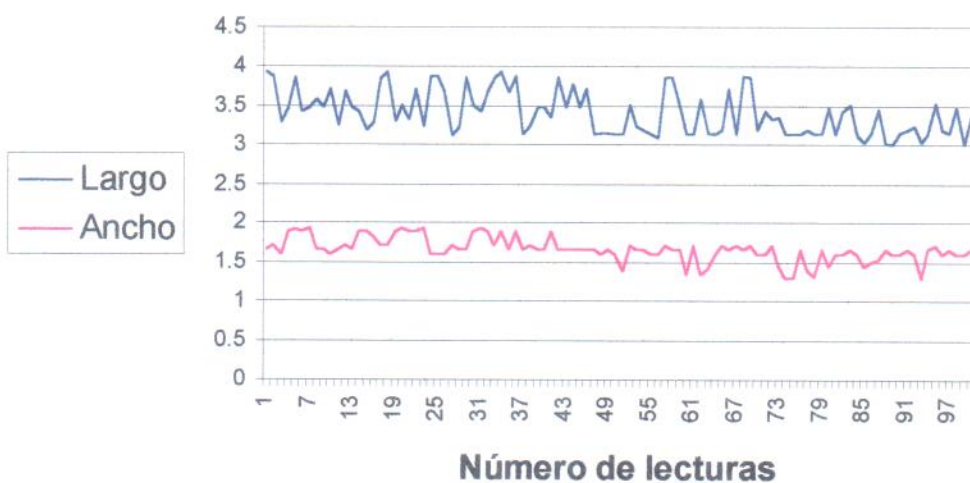


Figura 18. Distribución de las mediciones realizadas a conidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro *Cryphonectria*, en varetas inoculadas artificialmente de *Eucalyptus camaldulensis*.

En la Figura 19, se muestra la distribución de las mediciones realizadas a 100 conidios del cancro *Cryphonectria*, obtenidos de las plantas de eucalipto

inoculadas artificialmente en el laboratorio de Patología Forestal de la División de Ciencias Forestales. Los valores promedio fueron: 3.44 mμ x 1.60 mμ en largo y ancho respectivamente. La amplitud del rango de las mediciones estuvo entre 3.01-3.88 mμ en largo x 1.29-1.88 mμ en ancho (Ver ANEXO 7).

Mientras que en la Figura 20, se ilustra la distribución de las mediciones realizadas a 78 conidios del cancro *Fusicoccum*, obtenidos de las muestras colectadas en la Reserva Natural Xochitla, Estado de México. Obteniendo los promedios de: 20.83 mμ x 4.95 mμ en largo y ancho respectivamente. La amplitud del rango fue de 14.78-24.84 mμ en largo x 4.01-7.26 mμ en ancho (Ver ANEXO 13).

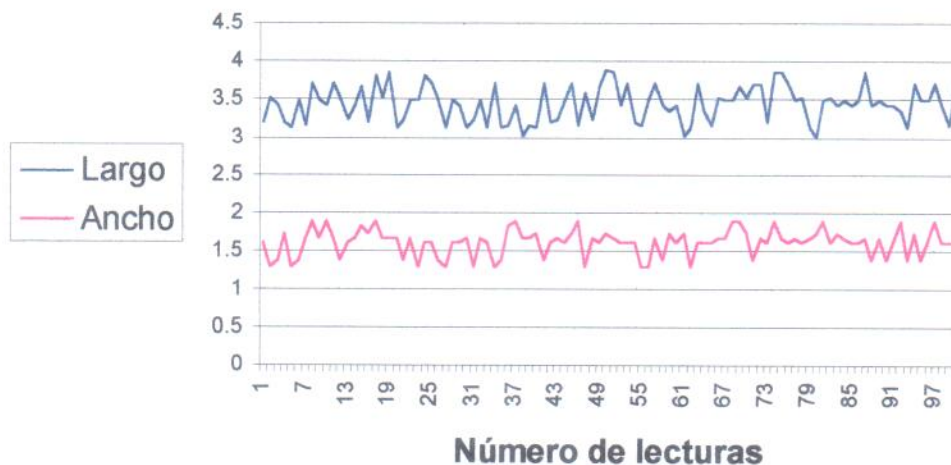


Figura 19. Distribución de las mediciones realizadas a conidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro *Cryphonectria*, en plantas inoculadas artificialmente de *Eucalyptus camaldulensis*.

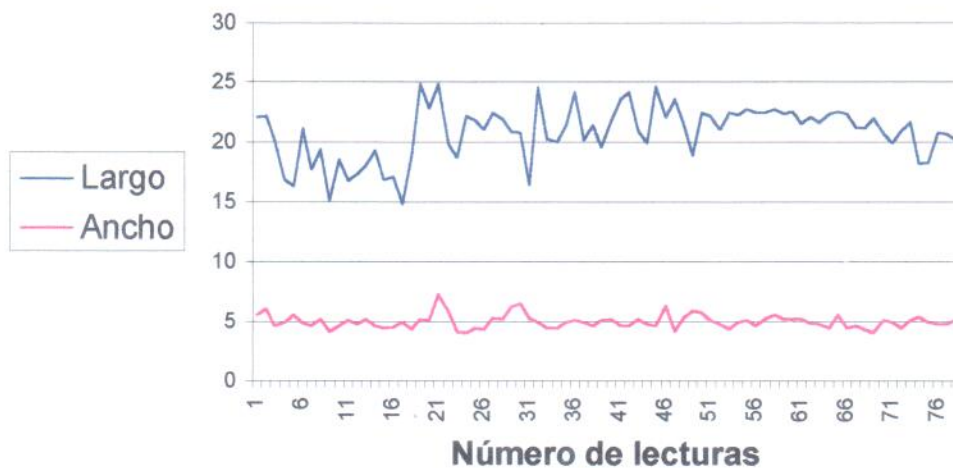


Figura 20. Distribución de las mediciones realizadas a conidios obtenidos del material colectado en campo e infectado con el cancro *Fusicoccum*, en la especie de *Eucalyptus camaldulensis*.

En la Figura 21, se ilustra la distribución de las mediciones realizadas a 96 conidios del cancro *Fusicoccum*, obtenidos de medios de cultivo PDA en el laboratorio de Patología Forestal de la División de Ciencias Forestales. Los valores promedio fueron: 22.81 μm x 6.21 μm en largo y ancho respectivamente. La amplitud del rango fue: 17.66-26.86 μm en largo x 4.37-7.83 μm en ancho (Ver ANEXO 14).

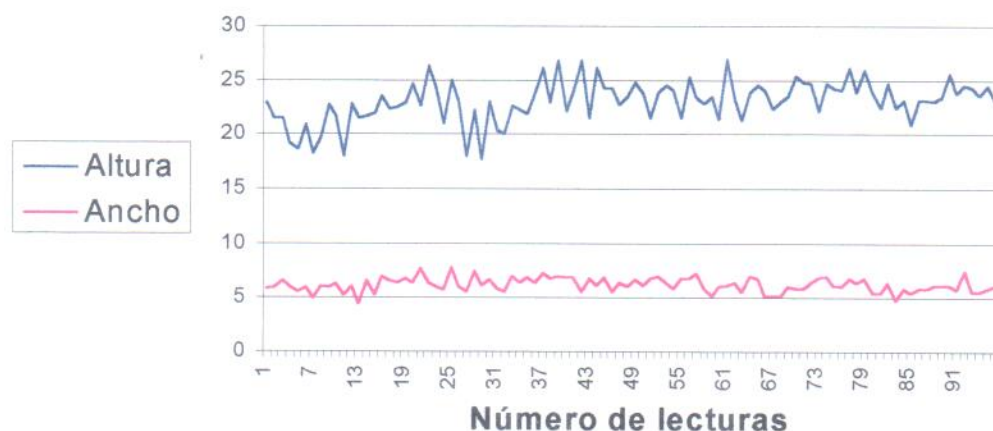


Figura 21. Distribución de las mediciones realizadas a conidios obtenidos del crecimiento del hongo sembrado en el medio de cultivo PDA y que sirvió para la inoculación artificial con el cancro *Fusicoccum*.

En la Figura 22, se muestra la distribución de las mediciones realizadas a 100 conidios del cancro *Fusicoccum*, obtenidos de las varetas de eucalipto inoculadas artificialmente en el laboratorio de Patología Forestal de la División de Ciencias Forestales. Los valores promedios fueron: 19.68 mμ x 6.48 mμ en largo y ancho respectivamente. La amplitud del rango fue: 16.41-24.42 mμ en largo x 5.09-7.41 mμ en ancho (Ver ANEXO 16).

Mientras que en la Figura 23, se ilustra la distribución de las mediciones realizadas a 100 conidios del cancro *Fusicoccum*, obtenidos de las plantas de eucalipto inoculadas artificialmente en el laboratorio de Patología Forestal de la División de Ciencias Forestales. Los valores promedio fueron: 22.45 mμ x 6.58 mμ en largo y ancho respectivamente. El rango de las mediciones estuvo entre 19.58-24.51 mμ en largo x 5.48-7.35 mμ en ancho (Ver ANEXO 15).

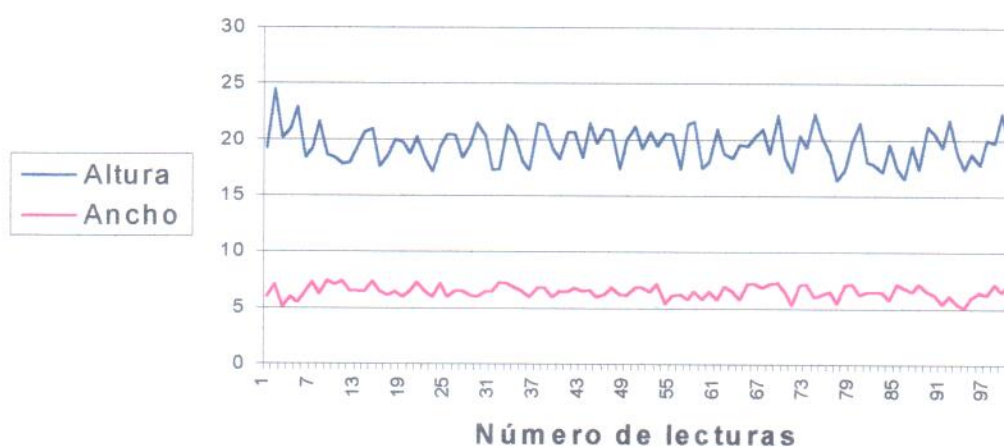


Figura 22. Distribución de las mediciones realizadas a conidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro *Fusicoccum*, en varetas inoculadas artificialmente de *Eucalyptus camaldulensis*.

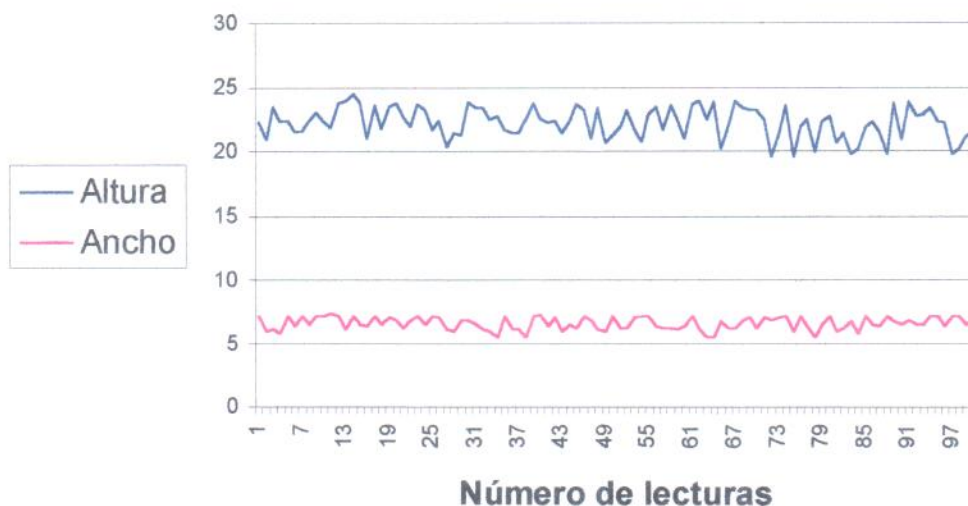


Figura 23. Distribución de las mediciones realizadas a conidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro *Fusicoccum*, en plantas inoculadas artificialmente de *Eucalyptus camaldulensis*.

5.4.3.3. Análisis de varianza realizado a los tamaños de picnidios obtenidos en los tres canchros de estudio.

En virtud de los rangos tan estrechos en tamaño de los picnidios que se desarrollaron en los diferentes hospedantes: campo (C), medio de cultivo (M), varetas inoculadas (V) y árboles inoculados; se procedió a realizar un análisis de varianza de las variables: altura, ancho y grosor de pared, con la finalidad de observar si existen o no diferencias significativas entre los tamaños de picnidios que se presentaron en los diferentes hospedantes; además se realizó una prueba de Tukey para saber que hospedantes mostraban dichas diferencias significativas para cada uno de los canchros en estudio, para ello se utilizó un programa SAS (Ver ANEXO 26).

a) Tamaños de picnidios del cancro *Botryodiplodia*

De acuerdo al análisis de varianza realizado a la variable "altura" de picnidios, se observó que a un nivel de confiabilidad del 95%, existen diferencias significativas entre los diferentes hospedantes: campo (C), medio de cultivo (M), varetas inoculadas (V) y árboles inoculados (P). Al realizar la prueba de Tukey, se observó que el hospedante "medio de cultivo" es el que presentó los mayores promedios de altura de picnidios y los más bajos fueron obtenidos en "plantas inoculadas" (Cuadro 18).

Cuadro 18. Medias de "altura" de picnidios obtenidos para el cancro *Botryodiplodia* en los diferentes hospedantes y su agrupamiento de acuerdo a la prueba de Tukey al 95% de confiabilidad.

Hospedante	Altura Media	Grupo
M	724.70	A
V	311.22	B
C	225.08	C
P	187.60	C

Las medias con la misma letra para grupo no presentan diferencias estadísticamente significativas, a un nivel de confiabilidad del 95%. Cada media representa el valor de 22 lecturas realizadas a cada uno de los cuatro hospedantes.

Mientras que para la variable "ancho" de picnidios, el análisis de varianza realizado mostró a un nivel de confiabilidad del 95%, que existen diferencias significativas entre los diferentes hospedantes: campo (C), medio de cultivo (M), varetas inoculadas (V) y árboles inoculados (P). Al realizar la prueba de Tukey, se obtuvo que los mejores promedios se dieron en el hospedante "medio de cultivo" y los más bajos fueron los registrados en el hospedante "campo" (Cuadro 19).

Cuadro 19. Medias de "ancho" de picnidos obtenidos para el cancro *Botryodiplodia* en los diferentes hospedantes y su agrupamiento de acuerdo a la prueba de Tukey al 95% de confiabilidad.

Hospedante	Ancho Medio	Grupo
M	339.13	A
V	313.90	A
P	258.25	B
C	250.60	B

Las medias con la misma letra para grupo no presentan diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confiabilidad del 95%. Es decir, no existen diferencias significativas entre los hospedantes: M-V y P-C. Cada media representa el valor de 22 lecturas realizadas a cada uno de los cuatro hospedantes.

Finalmente, se realizó un análisis de varianza para la variable "grosor de pared" del cancro *Botryodiplodia*. A un nivel de confiabilidad del 95%, se observó que existen diferencias significativas entre los diferentes hospedantes. De acuerdo a la prueba de Tukey, los promedios más grandes de grosor de pared se dieron en el hospedante "medio de cultivo" y los más bajos se obtuvieron en el hospedante "planta inoculada" (Cuadro 20).

Cuadro 20. Medias de "grosor de pared" de picnidos obtenidos para el cancro *Botryodiplodia* en los diferentes hospedantes y su agrupamiento de acuerdo a la prueba de Tukey al 95% de confiabilidad.

Hospedante	Grosor Medio	Grupo
M	65.722	A
V	36.511	B
C	23.270	C
P	22.050	C

Las medias con las mismas letras no presentan diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confiabilidad del 95%. Es decir, no existen diferencias significativas sólo entre los hospedantes: C-P. Cada media representa el valor de 22 lecturas realizadas a cada uno de los cuatro hospedantes.

En resumen, podemos decir que para el cancro *Botryodiplodia*, los mayores promedios en altura, ancho y grosor de pared de los picnidos, se dieron en el

hospedante medio de cultivo (M) y los menores promedios fueron los registrados en plantas inoculadas (P) y los obtenidos en campo (C). Lo anterior fue atribuido a las condiciones óptimas de crecimiento de una manera constante y de la disponibilidad de alimento que presento el hospedante medio de cultivo.

b) Tamaños de picnidios del cancro *Fusicoccum*

Para la variable "altura" de picnidios de *Fusicoccum*, el análisis de varianza mostró a un nivel de confiabilidad del 95% que existen diferencias significativas entre los diferentes hospedantes. En la prueba de Tukey se observó que el hospedante "medio de cultivo" mostró los mayores promedios de altura y los más bajos fueron los obtenidos en el hospedante de "campo" (Cuadro 21).

Cuadro 21. Medias de "altura" de picnidios obtenidos para el cancro *Fusicoccum* en los diferentes hospedantes y su agrupamiento de acuerdo a la prueba de Tukey al 95% de confiabilidad.

Hospedante	Altura Media	Grupo	
M	541.03		A
V	220.29		B
P	185.67	C	B
C	157.41	C	

Las medias con la misma letra para grupo no presentan diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confiabilidad del 95%. Es decir, no existen diferencias significativas entre los hospedantes: V-P y P-C, Cada media representa el valor de 41 lecturas realizadas a cada uno de los cuatro hospedantes.

Sin embargo, para la variable "ancho" de picnidios, el análisis de varianza realizado mostró a un nivel de confiabilidad del 95%, que existen diferencias significativas entre los diferentes hospedantes. Al realizar la prueba de Tukey,

los promedios mas grandes en ancho de picnidios se dieron en el hospedante "varetas" y los más bajos en el hospedante "campo" (Cuadro 22).

Cuadro 22. Medias de "ancho" de picnidios obtenidos para el cancro *Fusicoccum* en los diferentes hospedantes y su agrupamiento de acuerdo a la prueba de Tukey al 95% de confiabilidad.

Hospedante	Ancho Medio	Grupo
V	324.25	A
M	315.98	A
P	263.31	B
C	213.35	C

Las medias con las misma letra para grupo no presentan diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confiabilidad del 95%. Es decir, no existen diferencias significativas entre los hospedantes: V-M. Cada media representa el valor de 41 lecturas realizadas a cada uno de los cuatro hospedantes.

Finalmente, para la variable "grosor de pared" de picnidios de *Fusicoccum*, el análisis mostró a un nivel de confiabilidad del 95%, que existen diferencias significativas entre los diferentes hospedantes: campo, medio de cultivo, varetas y plantas inoculadas. Con la prueba de Tukey, los mayores promedios de grosor de pared se registraron en el hospedante "medio de cultivo" y los más bajos en el hospedante de "campo" (Cuadro 23).

Cuadro 23. Medias de "grosor de pared" de picnidios obtenidos para el cancro *Fusicoccum* en los diferentes hospedantes y su agrupamiento de acuerdo a la prueba de Tukey al 95% de confiabilidad.

Hospedante	Grosor Medio	Grupo
M	53.951	A
V	24.118	B
P	21.550	B
C	19.962	B

Las medias con la misma letra para grupo no presentan diferencias significativas a un nivel de confiabilidad del 95%.

En resumen, podemos decir que para el cancro *Fusicoccum*, los mayores promedios en altura y grosor de pared de los picnidios, se dieron en el hospedante medio de cultivo (M), y los menores promedios fueron los registrados en el hospedante de campo (C). Mientras que para la variable ancho de picnidios los mayores promedios fueron los registrados en el hospedante "varetas inoculadas" (V) y los menores promedios se dieron en el hospedante obtenido en campo (C). Esto fue logrado fundamentalmente a las condiciones óptimas y controladas de temperatura y humedad, necesarias para el laboratorio y desarrollo del hongo.

c) Tamaños de picnidios del cancro *Cryphonectria*

El análisis de varianza realizado a la variable "altura" de picnidios del cancro *Cryphonectria*, mostró a un nivel de confiabilidad del 95%, que existen diferencias significativas entre los diferentes hospedantes: campo (C), medio de cultivo (M), varetas inoculadas (V) y árboles inoculados (P). Al realizar la prueba de Tukey, se observó que las comparaciones entre hospedantes mostraron diferencias significativas, los cuales se resumen en el Cuadro 24. Sin embargo, para la variable "ancho" de picnidios, el análisis de varianza realizado mostró a un nivel de confiabilidad del 95%, diferencias significativas en los diferentes hospedantes: campo (C), medio de cultivo (M), varetas inoculadas (V) y árboles inoculados (P). Al realizar la prueba de Tukey, se observó que las comparaciones entre hospedantes mostraron diferencias significativas, las cuales se resumen en el Cuadro 25.

Cuadro 24. Comparaciones entre hospedantes para la variable "altura" de picnidios obtenidos para el cancro *Cryphonectria*.

Comparación entre hospedantes	Diferencia entre medias	
C-V	524.10	***
C-M	546.12	***
C-P	551.53	***
V-C	-524.10	***
V-M	22.02	
V-P	27.42	
M-C	-546.12	***
M-V	-22.02	
M-P	5.40	
P-C	-551.53	***
P-V	-27.42	
P-M	-5.40	

Las comparaciones entre hospedantes que muestran diferencias a un nivel de confiabilidad del 95% son indicadas por: ***. Es decir las únicas comparaciones entre hospedantes que no presentan diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confiabilidad del 95% son: V-M, V-P, M-V, M-P, P-V y P-M.

Cuadro 25. Comparaciones entre hospedantes para la variable "ancho" de picnidios obtenidos para el cancro *Cryphonectria*.

Comparación entre hospedantes	Diferencia entre medias	
P-C	86.85	***
P-M	104.78	***
P-V	143.47	***
C-P	-86.85	***
C-M	17.93	
C-V	56.62	***
M-P	-104.78	***
M-C	-17.93	
M-V	38.69	***
V-P	-143.47	***
V-C	-56.62	***
V-M	-38.69	***

Las comparaciones entre hospedantes que muestran diferencias significativas a un nivel de confiabilidad del 95% son indicadas por: ***. Es decir las únicas comparaciones entre hospedantes que no presentan diferencias significativas en ancho de picnidios a un nivel de confiabilidad del 95% son: C-M, M-C.

Finalmente, para "grosor de pared" de picnidios, el análisis de varianza mostró a un nivel de confiabilidad del 95%, que existen diferencias significativas entre los hospedantes: campo, medio de cultivo, varetas y plantas inoculadas. Con la prueba de Tukey, se encontraron diferencias significativas entre los hospedantes, las cuales se resumen en el Cuadro 26.

Cuadro 26. Comparaciones entre hospedantes para la variable "grosor de pared" de picnidios obtenidos para el cancro *Cryphonectria*.

Comparación entre hospedantes	Diferencia entre medias	
C-M	9.573	***
C-P	11.519	***
C-V	17.194	***
M-C	-9.573	***
M-P	1.946	
M-V	7.621	***
P-C	-11.519	***
P-M	-1.946	
P-V	5.675	***
V-C	-17.194	***
V-M	-7.621	***
V-P	-5.675	***

Las comparaciones entre hospedantes que muestran diferencias significativas a un nivel de confiabilidad del 95% son indicadas por: ***. Es decir las únicas comparaciones entre hospedantes que no presentan diferencias estadísticamente significativas en grosor de pared de picnidios a un nivel de confiabilidad del 95% son: M-P y P-M.

5.4.3.4. Análisis de varianza realizado a los tamaños de conidios obtenidos en los tres canchros de estudio.

Dados los rangos tan estrechos, obtenidos en las mediciones realizadas a los conidios desarrollados en cada uno de los canchros inoculados, en los diferentes hospedantes: campo, medio de cultivo, varetas y árboles, se procedió a realizar un análisis de varianza de las variables largo y ancho de conidios y una prueba

de Tukey para ver si existen o no diferencias significativas en los tamaños de conidios obtenidos en los diferentes hospedantes para cada uno de los cancros, para ello se utilizó un programa SAS (Ver ANEXO 25).

a) Tamaños de conidios del cancro *Botryodiplodia*

Para el cancro *Botryodiplodia* en la variable "largo" de conidios, el análisis de varianza realizado muestra a un nivel de confiabilidad del 95%, que existen diferencias significativas entre los tamaños de la variable "largo" en los diferentes hospedantes: campo (C), medio de cultivo (M), varetas inoculadas (V) y árboles inoculados (P); al realizar la prueba de Tukey para la variable "largo" de conidios, éstos fueron más grandes en el hospedante "campo" y los más bajos en "plantas inoculadas" (Cuadro 27).

Cuadro 27. Largo de conidios de *Botryodiplodia* en los diferentes hospedantes y su agrupamiento de acuerdo a la prueba de Tukey al 95% de confiabilidad.

Hospedante	Medias de largos	Grupo
C	24.4723	A
V	23.8361	A
M	22.9875	B
P	22.9415	B

Las medias con la misma letra para grupo no presentan diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confiabilidad del 95%. Cada media representa el valor de 75 lecturas realizadas a cada uno de los cuatro hospedantes.

Mientras que para la variable "ancho" de conidios, el análisis de varianza realizado muestra a un nivel de confiabilidad del 95%, mostró diferencias

significativas entre los diferentes hospedantes: campo, medio de cultivo, varetas inoculadas y árboles inoculados. Al realizar la prueba de Tukey, éstos fueron más grandes en el hospedante "varetas inoculadas" y los más bajos en "campo" (Cuadro 28).

Cuadro 28. Ancho de conidios de *Botryodiplodia* en los diferentes hospedantes y su agrupamiento de acuerdo a la prueba de Tukey al 95% de confiabilidad.

Hospedante	Medias de Ancho	Grupo	
V	13.4979		A
M	13.4629		A
P	13.2575	B	A
C	12.9671	B	

Las medias con la misma letra para grupo no presentan diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confiabilidad del 95%. Únicamente existen diferencias significativas entre los hospedantes: V-C y M-C. Cada media representa el valor de 75 lecturas realizadas a cada uno de los cuatro hospedantes.

En resumen, podemos decir que para el cancro *Botryodiplodia*, los mayores promedios en largo de conidios se dieron en el hospedante obtenido en campo (C). Mientras que para la variable ancho de conidios, los mejores promedios se registraron en el hospedante "varetas inoculadas" (V).

b) Tamaños de conidios para el cancro *Cryphonectria*

El análisis de varianza realizado a la variable "largo" de conidios del cancro *Cryphonectria*, mostró que existen diferencias significativas a un nivel de confiabilidad del 95%, entre los diferentes hospedantes: campo (C), medio de cultivo (M), varetas inoculadas (V) y árboles inoculados (P). Con la prueba de

Tukey, se obtuvo que éstos fueron más grandes en el hospedante "medio de cultivo" y los más bajos en el hospedante "campo" (Cuadro 29).

Cuadro 29. Largo de conidios de *Cryphonectria* en los diferentes hospedantes y su agrupamiento de acuerdo a la prueba de Tukey al 95% de confiabilidad.

Hospedante	Medias de largos	Grupo
M	3.66730	A
P	3.44140	B
V	3.40960	B
C	3.04080	C

Las medias con la misma letra para grupo no presentan diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confiabilidad del 95%. Cada media representa el valor de 100 lecturas realizadas a cada uno de los cuatro hospedantes.

Sin embargo, para la variable "ancho" de conidios, el análisis de varianza realizado muestra a un nivel de confiabilidad del 95%, que existen diferencias significativas entre los diferentes hospedantes: campo (C), medio de cultivo (M), varetas inoculadas (V) y árboles inoculados (P). La prueba de Tukey, mostró que los mayores promedios en "ancho" de conidios, se obtuvieron en el hospedante "medio de cultivo" y los más bajos en el hospedante "plantas inoculadas" (Cuadro 30).

En resumen, podemos decir que para el cancro *Cryphonectria*, los mayores promedios para las variables "largo y ancho" de conidios fueron los registrados en el hospedante medio de cultivo (C). lo anterior fue logrado por las características óptimas de temperatura y humedad constante, que ayudaron al establecimiento y desarrollo de estructuras en laboratorio.

Cuadro 30. Medias de "ancho" de conidios obtenidos para el cancro *Cryphonectria* en los diferentes hospedantes y su agrupamiento de acuerdo a la prueba de Tukey al 95% de confiabilidad.

Hospedante	Medias de Ancho	Grupo
M	1.75020	A
C	1.66700	B
V	1.65920	B
P	1.60460	C

Las medias con la misma letra para grupo no presentan diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confiabilidad del 95%. Existen diferencias significativas entre los hospedantes: M-C, M-V, M-P, C-P y V-P. Cada media representa el valor de 100 lecturas realizadas a cada uno de los cuatro hospedantes.

c) Tamaños de conidios para el cancro *Fusicoccum*

El análisis de varianza realizado a la variable "largo" de conidios, mostró que existen diferencias significativas a un nivel de confiabilidad del 95%, entre los diferentes hospedantes: campo (C), medio de cultivo (M), varetas inoculadas (V) y árboles inoculados (P). Con la prueba de Tukey, se obtuvo que éstos fueron más grandes en el hospedante "medio de cultivo" y los más bajos en el hospedante "vareta" (Cuadro 31).

Cuadro 31. Largo de conidios obtenidos para el cancro *Fusicoccum* en los diferentes hospedantes y su agrupamiento de acuerdo a la prueba de Tukey al 95% de confiabilidad.

Hospedante	Medias de largos	Grupo
M	22.8108	A
P	22.4521	A
C	20.8303	B
V	19.6832	C

Las medias con la misma letra para grupo no presentan diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confiabilidad del 95%. Cada media representa el valor de 75 lecturas realizadas a cada uno de los cuatro hospedantes.

Mientras la variable "ancho" de conidios, el análisis de varianza realizado mostró a un nivel de confiabilidad del 95%, que existen diferencias significativas entre los diferentes hospedantes: campo (C), medio de cultivo (M), varetas inoculadas (V) y árboles inoculados (P). Al realizar la prueba de Tukey, ésta mostró que los mayores promedios en "ancho" de conidios, se obtuvieron en el hospedante "plantas inoculadas" y los más bajos en el hospedante de "Campo" (Cuadro 32).

Cuadro 32. Ancho de conidios obtenidos para el cancro *Fusicoccum* en los diferentes hospedantes y su agrupamiento de acuerdo a la prueba de Tukey al 95% de confiabilidad.

Hospedante	Medias	Cuadro
P	6.58720	A
V	6.48253	A
M	6.21813	B
C	6.95880	C

Las medias con la misma letra para grupo no presentan diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confiabilidad del 95%. Existen diferencias significativas entre los hospedantes. Cada media representa el valor de 75 lecturas realizadas a cada uno de los cuatro hospedantes.

En resumen, podemos decir que para el cancro *Fusicoccum*, los mayores promedios en largo de conidios fueron los registrados en el hospedante medio de cultivo (M). Mientras que para la variable ancho de conidios, los mayores promedios se registraron en el hospedante "plantas inoculadas" (P).

5.4.4. Determinación del agente causal

Una vez cumplidos los postulados de Koch, las pruebas de patogenicidad realizadas tanto en varetas como en plantas de eucalipto inoculadas, y las pruebas de aislamiento, purificación y reaislamiento, se procedió a la identificación de cada uno de los agentes causales, la cual se realizó a nivel microscópico y macroscópico, para ello se recurrió a la ayuda de las claves para su identificación, así como la comparación de las estructuras típicas reportadas de cada uno de los hongos inoculados.

a) Identificación del cancro *Botryodiplodia*

Según el sistema Saccardo de Clasificación, el hongo pertenece al Orden *Sphaeropsidales*, ya que las estructuras encontradas en los cortes de tejido vegetal realizados, tenían conidios producidos en picnidios.

Sphaeropsidales

1a Conidios globosos a oblongos o elipsoidales, no filiformes.....	2
2b Conidios con 2 células.....	49
49b Conidios oscuros o morenos.....	56
56b Picnidios agrupados, en un estroma.....	<i>Botryodiplodia</i>

Las características morfológicas del cancro *Botryodiplodia* son: Picnidios negros, globosos, ostiolados, erumpentes, estromáticos, confluyente; conidióforos cortos y simples; conidios oscuros, morenos y bicelulares a la madurez, ovales a elongados; parasíticos o saprófitos en ramas. Este género

es más parecido a *Macrophoma* o *Dothiorella*, si únicamente están presentes conidios inmaduros.

Por lo anterior, el hongo inoculado y el reaislado en este estudio, fue ubicado dentro del género *Botryodiplodia* como el agente causal responsable de ocasionar la enfermedad; la identificación se basó en las características morfológicas de los signos que presento. Una de ellas consistió en los contenidos blancos con paredes negras de los picnidios, esta característica es típica de las especies de *Botryosphaeria* y hongos relacionados (Glenn, 1976; Lewis, 1978; Wayne *et al.* 1987).

La identificación a nivel de especie estuvo definida principalmente por los tamaños de los picnidios y conidios. Los picnidios obtenidos en campo, fueron subcorticales, de forma semiesférica, con un promedio de 225.3 μm X 249.8 μm , de largo y ancho respectivamente, y un grosor promedio de pared de 25.63 μm , considerada gruesa y de color negro; además los picnidios presentaron un orificio prominente denominado ostiolo y conidióforos cortos y simples. Mientras que los conidios fueron de color moreno oscuro, generalmente con dos septos, pero se pueden encontrar hasta tres septos cuando son maduros y no están comprimidos en el área del septo. Al momento de la esporulación ellos son hialinos y sin septo. El tamaño promedio de los conidios encontrados en campo fue 24.47 μm X 12.96 μm . La superficie de los conidios maduros presenta estrías longitudinales, característica típica que define a la especie de *Botryodiplodia*. La forma y tamaños de los picnidios y conidios fue la determinante para ubicar al

hongo dentro de la especie: *theobromae* especie que se caracteriza por presentar conidios "estriados", usualmente hialinos, no septados al momento de la expulsión de los picnidios, convirtiéndose en moreno oscuro y septados después de la expulsión, estas características son las reportadas por Glenn (1976); Lewis (1978) y Cedeño *et al.* (1992). Finalmente podemos decir que el hongo inoculado y reaislado correspondió al cancro *Botryodiplodia theobromae* Patouillard, como el agente causal de la enfermedad.

b) Identificación del cancro *Fusicoccum*

Según el sistema Saccardo de Clasificación, el hongo encontrado pertenece al Orden *Sphaeropsidales*, ya que las estructuras encontradas en los cortes de tejido vegetal realizados, tienen conidios producidos en picnidios.

Sphaeropsidales

1a Conidios globosos a oblongos o elipsoidales, no filiformes.....	2
2a Conidios unicelulares.....	3
3a Conidios hialinos.....	4
4a Picnidios completos, o con base bien desarrollada.....	5
5b Picnidios en estroma, frecuentemente evidente sólo por cavidades picnidiales.....	30
30b Conidios sin apéndices.....	32
32b Estroma subepidermal o subcortical.....	34
34b Conidio fusoide, finales bastante puntiagudos.....	<i>Fusicoccum</i>

Las características morfológicas del cancro *Fusicoccum* Corda son: Picnidios esféricos o achatados, subepidermales, erumpentes, estroma oscuro o moreno, uno o varios por estroma; orificio separado o con un poro común; conidióforos

simples, cortos; conidios hialinos, unicelulares, fusoides; parasíticos o saprófitos sobre madera.

La identificación del cancro inoculado se realizó únicamente a nivel de género, debido a controversias que han surgido para la identificación del hongo a nivel de especie por expertos en enfermedades del eucalipto. En función de las características morfológicas que presentó el cancro en este estudio, destacan la presencia de picnidios subcorticales, oscuros, ostiolados y de tamaños variables que se ubican dentro del rango: 157.4-218.5 mμ X 213.3-334.5 mμ de largo y ancho respectivamente, y un grosor de pared promedio de 21.6 mμ. Los conidios fueron unicelulares, hialinos, de forma oval a fusoides, alargados y de tamaños grandes dentro del rango 19.6-22.8 μm X 4.9-6.5 mμ de largo y ancho respectivamente. Además de que los cortes de picnidios exhibieron contenidos blancos y paredes negras muy gruesas, estas características son típicas de las especies *Botryosphaeria* y hongos relacionados. Por los tamaños de picnidios y conidios se relaciona con las formas asexuales llamadas *Macrophoma* y *Dothiorella* de las cuales es sinónimo. Por lo anterior, únicamente podemos decir que el hongo corresponde a una especie de *Fusicoccum*.

c) Identificación del cancro *Cryphonectria*

La identificación del cancro *Cryphonectria*, se realizó en base a las características morfológicas similares que presentaron los medios de cultivo, tales como colonias blanco cremosas al inicio con posterior cambio de

coloración a amarillo naranja pálido y finalmente naranja amelonado por la presencia de picnidios de paredes blandas, cubiertos por micelio de color crema anaranjado, los tiempos de aparición de síntomas y signos en las colonias no difieren de las reportadas en los estudios hechos por el CATIE (1991). En el presente estudio sólo se encontró la forma asexual: picnidios; los cuales en medios de cultivo y los reislados de plantas y varetas inoculadas midieron 273.1-301.3 μ X 190-334.5 μ en largo y ancho respectivamente, sin embargo, los encontrados en campo miden más por el tamaño más grande del cuello que desarrollan. Los tamaños de conidios de forma oval, se comportaron en el rango 2.7-4.0 μ X 1.6-1.9 μ de largo y ancho; medidas que entran dentro de los rangos reportados por Ferreira *et al.* (1977) quienes mencionan los tamaños de conidios entre 2.5-4.0 X 1.8-2.2 μ y Barnard *et al.* (1987), reportan las dimensiones de los conidios 3.6 X 1.6 μ . Por las características morfológicas descritas anteriormente, se concluye que el hongo inoculado y reislado pertenece al cancro *Cryphonectria cubensis* Bruner.

5.5. Descripción de avances de lesión desarrollados en varetas de eucalipto inoculadas.

Con la finalidad de observar el comportamiento de los avances de las lesiones desarrolladas en cada uno de los cancros inoculados por cada uno de los métodos de inoculación: inserción y punción realizados en las varetas de eucalipto de 8.5 cm de longitud y de un rango de perímetros de 14.81-19.32 mm, se procedió con los 15 registros de información a describir los tiempos que tardaron las lesiones en cubrir la longitud y perímetro de las varetas, los cuales se resumen en el Cuadro 33.

Cuadro 33: Tiempos que tardaron los cancros en cubrir la longitud y perímetro de las varetas de eucalipto inoculadas por el método de inserción y punción.

AVANCES DE LESIÓN	CANCROS INOCULADOS EN VARETAS							
	<i>Botryodiplodia</i>		<i>Fusicoccum</i>		<i>Cryphonectria</i>		<i>Testigo</i>	
	I	P	I	P	I	P	I	P
Días en cubrir el perímetro de la vareta	17-20	17-20	20-26	23-32	20-29	26-35	-	-
Días en cubrir la longitud de la vareta	20-23	26-29	23-32	32-38	38-44	44-47	-	-

En resumen, podemos decir que en laboratorio, el cancro *Botryodiplodia* con ambos métodos de inoculación: inserción y punción fueron los más rápidos en cubrir la longitud y perímetro de las varetas, después le siguió el cancro *Fusicoccum* con ambos métodos de inoculación y por último el cancro

Cryphonectria fue el que más tardo con ambos métodos de inoculación en cubrir la longitud y perímetro de las varetas, lo cual se resume en la figura 24; en los tres canchros inoculados, el método de inoculación por inserción fue en promedio, el que menos tiempo tardo en cubrir el perímetro y longitud de las varetas. En cada uno de los canchros y con ambos métodos de inoculación, se registraron los signos y síntomas típicos de la enfermedad. Sin embargo, los tratamientos *Testigo* no presentaron registro de desarrollo de infección alguna durante el período de evaluación. Además, podemos decir que se obtuvo una infección del 100% con ambos métodos de inoculación en los tres canchros inoculados.

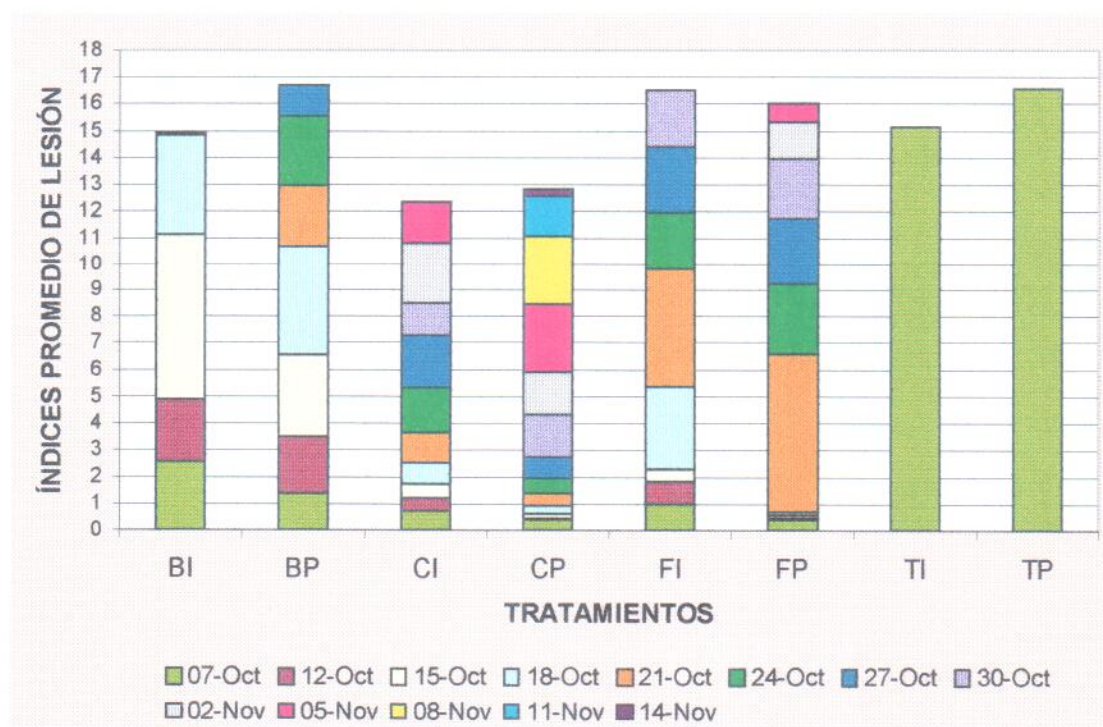


Figura 24. Índices promedio de lesión desarrollados por cada uno de los canchros inoculados en las varetas de eucalipto.

5.6. Porcentajes de infección desarrollados en las plantas, con dos métodos y dos partes de inoculación.

Los porcentajes de infección desarrollados en condiciones de invernadero en las plantas de 110 cm de altura y perímetros dentro del rango de 22.80-26.72 mm, y que fueron inoculadas con tres diferentes canchros más un testigo, dos métodos y dos partes de inoculación, se resumen en la figura 25. En ella se puede observar que los mayores porcentajes de infección se registraron en los tratamientos: *Cryphonectria* por método de inserción en la parte alta (CIA), *Botryodiplodia* por el método de punción en la parte alta (BPA) y parte baja (BPB), en todos los tratamientos se presentaron de los síntomas típicos de la enfermedad.

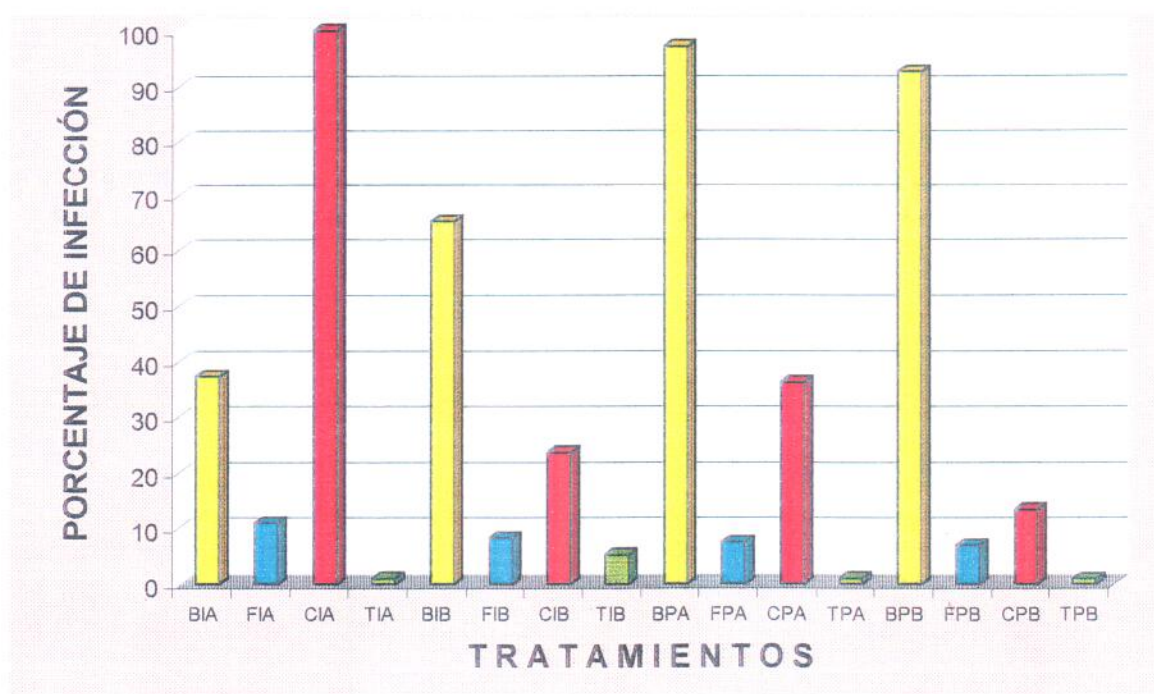


Figura 25. Porcentaje de infección desarrollados en las plantas de eucalipto inoculadas con tres canchros más un testigo, dos métodos y dos partes de inoculación.

5.7. Análisis de varianza realizado a los índices de lesión obtenidos para cada uno de los cancros, inoculados con dos métodos en las varetas de eucalipto.

Para analizar los índices de lesión desarrollados por cada uno de los cancros inoculados en las varetas de eucalipto con ambos métodos de inoculación: inserción y punción, se utilizó un programa SAS (Ver ANEXO 29), para que realizará un análisis de varianza de los índices de lesión desarrollados por el factor cancro inoculado.

a) Cancro *Botryodiplodia*

El análisis de varianza (ANOVA) desglosado se resume en el Cuadro 34.

Cuadro 34. Análisis de varianza para índices de lesión desarrollados en varetas con el cancro *Botryodiplodia*.

FUENTE DE VARIACIÓN	GL	SUMA DE CUADRADOS	VALOR F	PR>F
MÉTODO	1	13.17977440	4.15	0.0468
ERROR	53	168.49596247		

En este caso, se encontraron diferencias significativas a un nivel de confiabilidad del 95% entre los métodos de inoculación realizados al cancro *Botryodiplodia*. Al realizar la prueba de Tukey para las medias de índices de lesión desarrollados por el cancro *Botryodiplodia*, se observó que el método de inserción fue el que presentó los mayores promedios de índices de lesión con 3.55 cm², los resultados se resumen en el Cuadro 35.

Cuadro 35. Índices de lesión desarrollados en varetas inoculadas con el cancro *Botryodiplodia*.

MÉTODO	NÚMERO	MEDIAS	DESV. ESTÁNDAR
Inserción	21	3.55301905	2.17546805
Punción	34	2.54542353	1.49588059

b) Cancro *Cryphonectria*

Mientras que para el cancro *Cryphonectria*, el análisis de varianza realizado se resume en el Cuadro 36.

Cuadro 36. Análisis de varianza para índices de lesión desarrollados en varetas con el cancro *Cryphonectria*.

FUENTE DE VARIACIÓN	GL	SUMA DE CUADRADOS	VALOR F	PR>F
MÉTODO	1	0.30635378	0.34	0.5588
ERROR	105	93.50839528		

En este caso, a un nivel de confiabilidad del 95%, no se encontraron diferencias significativas entre los métodos de inoculación realizados en el cancro *Cryphonectria*. Con la prueba de Tukey resumida en el Cuadro 37, únicamente podemos decir que el método de inserción fue el que presentó ligeramente un mayor índice de lesión de 1.28 cm².

Cuadro 37. Índices de lesión desarrollados en varetas con el cancro *Cryphonectria*.

MÉTODO	NÚMERO	MEDIAS	DESV. ESTÁNDAR
Inserción	49	1.28017959	0.85306617
Punción	58	1.17278276	1.01374540

c) Cancro *Fusicoccum*

Para el cancro *Fusicoccum*, el análisis de varianza realizado, y que se resume en el Cuadro 38, no presentó a un nivel de confiabilidad del 95%, diferencias significativas en los índices de lesión desarrollados por los métodos de inoculación.

Cuadro 38. Análisis de varianza para índices de lesión desarrollados en varetas con el cancro *Fusicoccum*.

FUENTE DE VARIACIÓN	GL	SUMA DE CUADRADOS	VALOR F	PR>F
MÉTODO	1	4.86971394	1.12	0.2940
ERROR	78	340.32995466		

Al realizar la prueba Tukey, resumida en el Cuadro 39, sólo podemos decir que el cancro *Fusicoccum* alcanzó con el método de inserción los mayores promedios de índices de lesión con 2.41 cm².

Cuadro 39. Índices de lesión desarrollados en varetas con el cancro *Fusicoccum*.

MÉTODO	NÚMERO	MEDIAS	DESV. ESTÁNDAR
Inserción	35	2.41584571	2.15106730
Punción	45	1.91850222	2.03943439

5.8. Análisis de varianza realizado a los índices de lesión desarrollados por los tres cancros, inoculados con dos métodos en las varetas de eucalipto.

Para el análisis de los índices de lesión desarrollados entre los tres cancros, se utilizó un programa SAS (Ver ANEXO 30), para que realizará un análisis de

varianza a cada uno de los niveles del factor método de inoculación, el cual se resume en el Cuadro 40, en el se observa que a un nivel de confiabilidad del 95%, existen diferencias significativas para el factor método de inoculación con el nivel de inserción entre los tres cancros.

Cuadro 40. Análisis de varianza para el factor método de inoculación con el nivel de inserción de los tres cancros inoculados en varetas de eucalipto.

FUENTE DE VARIACIÓN	DE	GL	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	VALOR F	PR>F
CANCRO		2	86.48523705	43.24261852	14.61	0.0001
ERROR		90	266.38856900	2.95987299		

Además se realizó una prueba de Tukey, para los índices de lesión obtenidos en las varetas de eucalipto inoculadas con los tres cancros por el método de inserción, la cual se resume en el Cuadro 41, la cual mostró que a un nivel de confiabilidad del 95%, existen diferencias significativas de índices de lesión para los diferentes cancros inoculados.

Cuadro 41. Prueba de Tukey realizada a los índices de lesión obtenidos por el método de inserción para los tres cancros inoculados en varetas de eucalipto.

COMPARACIÓN ENTRE CANCROS	LÍMITE INFERIOR SIMULTÁNEO	DIFERENCIA ENTRE MEDIAS	LÍMITE SUPERIOR SIMULTÁNEO	
B-F	-0.0278	1.1872	2.4021	
B-C	1.3470	2.4941	3.6413	***
F-B	-2.4021	-1.1872	0.0278	
F-C	0.3456	1.3070	2.2684	***
C-B	-3.6413	-2.4941	-1.3470	***
C-F	-2.2684	-1.3070	-0.3456	***
AVANCES				
MÉTODO	NÚMERO	MEDIA	DESV. ESTÁNDAR	
I	93	2.21968710	1.95846492	

Las comparaciones significativas a un nivel de confiabilidad del 95%, son indicadas por ***. Los mayores promedios de índices de lesión desarrollados por el método de inserción entre los tres cancros fue del orden de 2.21 cm².

Mientras el análisis de varianza realizado al factor método de inoculación con el nivel de punción, el cual se resume en el Cuadro 42, se observa que a un nivel de confiabilidad del 95%, existen diferencias significativas entre los tres cancros.

Cuadro 42. Análisis de varianza para el factor método de inoculación con el nivel de punción de los tres cancros inoculados en varetas de eucalipto.

FUENTE DE VARIACIÓN	DE	GL	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	VÁLOR F	PR>F
CANCRO		2	36.47973910	18.23986955	7.42	0.0009
ERROR		120	295.01060866	2.45842174		

Para los índices de lesión obtenidos en las varetas de eucalipto inoculadas con los tres cancros por el método de punción, se aplicó la prueba Tukey, que se resume en el Cuadro 43, la cual mostró que a un nivel de confiabilidad del 95%, existen diferencias significativas de índices de lesión para los diferentes cancros inoculados.

Cuadro 43. Prueba de Tukey realizada a los índices de lesión obtenidos por el método de punción para los tres cancros inoculados en varetas de eucalipto.

COMPARACIÓN ENTRE CANCROS	LÍMITE INFERIOR SIMULTÁNEO	DIFERENCIA ENTRE MEDIAS	LÍMITE SUPERIOR SIMULTÁNEO	
B-F	-0.3990	0.4835	1.3660	
B-C	0.4700	1.3092	2.1483	***
F-B	-1.3660	-0.4835	0.3990	
F-C	0.0398	0.8257	1.6116	***
C-B	-2.1483	-1.3092	-0.4700	***
C-F	-1.6116	-0.8257	-0.0398	***
MÉTODO	AVANCES			
	NÚMERO	MEDIA	DESV. ESTÁNDAR	
P	123	1.89224634	1.64837314	

Las comparaciones significativas a un nivel de confiabilidad del 95%, son indicadas por ***. Los mayores promedios de índices de lesión desarrollados por el método de punción entre los tres cancros fue del orden de 1.64 cm².

En resumen, podemos decir que a un nivel de confiabilidad del 95%, existen diferencias significativas para el factor método de inoculación con ambos niveles: inserción y punción para los diferentes cancros. Con la prueba de Tukey realizada, se observó que a un nivel de confiabilidad del 95%, existen diferencias significativas de índices de lesión entre los cancros *Botryodiplodia-Cryphonectria*, *Fusicoccum-Cryphonectria*, *Cryphonectria-Botryodiplodia* y *Cryphonectria-Fusicoccum*.

5.9. Análisis de varianza realizado a los índices de lesión obtenidos para cada uno de los cancros, inoculados con dos métodos y dos partes de inoculación en los árboles de eucalipto.

Para analizar los índices de lesión desarrollados por cada uno de los cancros inoculados en los árboles de eucalipto, se utilizó un programa SAS (Ver ANEXO 27), para que realizará un análisis de varianza de los índices de lesión desarrollados por el factor cancro inoculado y observar los comportamientos de los métodos de inoculación: Inserción (I) y punción (P), al igual que las partes inoculadas: alta (A) y baja (B).

a) Cancro *Botryodiplodia*

Así, para el cancro *Botryodiplodia*, el análisis de varianza realizado, a un nivel de confiabilidad del 95%, no mostró diferencias significativas tanto para el factor

método de inoculación como para el factor parte inoculada, lo anterior se resume en el Cuadro 44.

Cuadro 44. Análisis de varianza de los índices de lesión obtenidos por los factores método y parte así como sus interacciones del cancro *Botryodiplodia* en los árboles de eucalipto.

FUENTE VARIACIÓN	DE	GL	SUMA DE CUADRADOS	VALOR F	Pr>F
Método		1	1.48400693	0.02	0.8901
Parte		1	283.91008468	3.66	0.0571
Método * parte		1	230.45658883	2.97	0.0862
Error		193	14957.04488426		

Al realizar la prueba de Tukey para las medias de índices de lesión desarrollados por el cancro *Botryodiplodia*, se observó que el cancro *Botryodiplodia* presentó un índice de lesión promedio de 7.27 cm², los resultados se resumen en el Cuadro 45.

Cuadro 45. Prueba de Tukey realizada a los índices de lesión desarrollados en el cancro *Botryodiplodia* con los dos métodos de inoculación y dos partes inoculadas en árboles de eucalipto.

MÉTODO	ÍNDICES DE LESIÓN		
	NÚMERO	MEDIAS	DESV. ESTÁNDAR
Inserción	92	7.18264141	7.0109099
Punción	105	7.35660667	10.2837164
PARTE	ÍNDICES DE LESIÓN		
	NÚMERO	MEDIAS	DESV. ESTÁNDAR
Alta	92	5.99286207	7.74669868
Baja	105	8.39908000	9.67150528

b) Cancro *Fusicoccum*

Mientras que para el cancro *Fusicoccum*, el análisis de varianza realizado, a un nivel de confiabilidad del 95%, mostró diferencias significativas para el factor

método de inoculación no así para el factor parte inoculada, lo anterior se resume en el Cuadro 46.

Cuadro 46. Análisis de varianza de los índices de lesión obtenidos por los factores método y parte inoculados así como sus interacciones del cancro *Fusicoccum* inoculado en árboles de eucalipto.

FUENTE DE VARIACIÓN	GL	SUMA DE CUADRADOS	VALOR F	Pr>F
Método	1	389.98131131	5.46	0.0216
Parte	1	35.41914569	0.50	0.4832
Método * parte	1	108.28207440	1.52	0.2214
Error	95	6789.86231278		

Con la prueba de Tukey, se observó que a un nivel de confiabilidad del 95%, existen diferencias significativas para el factor métodos de inoculación, siendo el método de inoculación por punción el que presentó los mayores promedios con 6.34 cm², los resultados se resumen en el Cuadro 47.

Cuadro 47. Prueba de Tukey realizada a los índices de lesión desarrollados en el cancro *Fusicoccum* con los dos métodos de inoculación y dos partes inoculadas en árboles de eucalipto.

MÉTODO	ÍNDICES DE LESIÓN		
	NÚMERO	MEDIA	DESV. ESTÁNDAR
Inserción	41	2.31074976	2.3336523
Punción	58	6.34008655	10.8544810
PARTE	ÍNDICES DE LESIÓN		
	NÚMERO	MEDIA	DESV. ESTÁNDAR
Alta	53	4.11413113	10.3243021
Baja	46	5.31340891	6.2278632

c) Cancro *Cryphonectria*

Para el cancro *Cryphonectria*, el análisis de varianza realizado, mostró que a un nivel de confiabilidad del 95%, existen diferencias significativas tanto para el factor método de inoculación como para el factor parte inoculada, lo anterior se resume en el Cuadro 48.

Cuadro 48. Análisis de varianza de los índices de lesión obtenidos por los factores método y parte inoculados así como sus interacciones del cancro *Cryphonectria* inoculado en árboles de eucalipto.

FUENTE VARIACIÓN	DE	GL	SUMA DE CUADRADOS	VALOR F	Pr>F
Método		1	793.98561988	9.83	0.0021
Parte		1	905.25829090	11.21	0.0010
Método * parte		1	329.46859541	4.08	0.0453
Error		141	11383.52345786		

Al realizar la prueba de Tukey para las medias de índices de lesión desarrollados por el cancro *Cryphonectria* con los dos métodos y dos partes inoculadas, se observó que el cancro *Cryphonectria* presentó por el método de inserción los mayores índices de lesión promedio con 8.00893728 cm, también la parte inoculada alta presentó los mayores índices de lesión con 8.14991235 cm, los resultados se resumen en el Cuadro 49.

Cuadro 49. Prueba de Tukey realizada a los índices de lesión desarrollados en el cancro *Cryphonectria* con los dos métodos de inoculación y dos partes inoculadas árboles de eucalipto.

MÉTODO	ÍNDICES DE LESIÓN		
	NÚMERO	MEDIAS	DESV. ESTÁNDAR
Inserción	81	8.00893728	12.0147801
Punción	64	3.29636719	4.1209013
PARTE	ÍNDICES DE LESIÓN		
	NÚMERO	MEDIAS	DESV. ESTÁNDAR
Alta	81	8.14991235	11.8731148
Baja	64	3.11794562	4.4173345

d) Testigo

Mientras que para el *Testigo*, el análisis de varianza realizado, a un nivel de confiabilidad del 95%, no mostró diferencias significativas tanto para el factor

método de inoculación como para el factor parte inoculada, lo anterior se resume en el Cuadro 50.

Cuadro 50. Análisis de varianza de los índices de lesión obtenidos por los factores método y parte inoculados así como sus interacciones del *Testigo* inoculado con PDA en árboles de eucalipto.

FUENTE VARIACIÓN	DE GL	SUMA DE CUADRADOS	VALOR F	Pr>F
Método	1	0.01361496	0.19	0.6660
Parte	1	0.04436380	0.62	0.4377
Método * parte	1	0.08410115	1.18	0.2877
Error	26	1.85640915		

Al realizar la prueba de Tukey para las medias de índices de lesión desarrollados por el *Testigo*, se observó que a un nivel de confiabilidad del 95%, no existen diferencias significativas para el factor métodos de inoculación y parte inoculada, los resultados se resumen en el Cuadro 51.

Cuadro 51. Prueba de Tukey realizada a los índices de lesión desarrollados en el *Testigo* con los dos métodos de inoculación y dos partes inoculadas en árboles de eucalipto.

MÉTODO	ÍNDICES DE LESIÓN		
	NÚMERO	MEDIAS	DESV. ESTÁNDAR
Inserción	15	0.53973333	0.30600934
Punción	15	0.58234000	0.21939691
PARTE	ÍNDICES DE LESIÓN		
	NÚMERO	MEDIAS	DESV. ESTÁNDAR
Alta	9	0.61977778	0.24277808
Baja	21	0.53586190	0.27226786

5.10. Análisis de varianza realizado a los índices de lesión desarrollados por los tres cancros y un testigo, con dos métodos y dos partes de inoculación en los árboles de eucalipto.

El análisis de varianza realizado a los índices de lesión obtenidos por los factores: cancro, método y parte inoculados en los árboles de eucalipto en condiciones de invernadero (Ver ANEXO 28), se resumen en el Cuadro 52.

Cuadro 52. Análisis de varianza de los índices de lesión obtenidos por los factores cancro, método y parte inoculados en árboles de eucalipto.

FUENTE VARIACIÓN	DE	GL	SUMA DE CUADRADOS	VALOR F	Pr>F	
Cancro		3	1377.25639806	6.30	0.0003	***
Método		1	35.36274575	0.49	0.4862	
Parte		1	22.90980256	0.31	0.5751	
Cancro * método		3	1150.10180733	5.26	0.0014	***
Cancro * parte		3	1201.72208252	5.50	0.0010	***
Método * parte		1	100.84213987	1.38	0.2399	
Cancro*método*parte		3	567.44921993	2.60	0.0518	
Error		455	33132.28706405			

A un nivel de confiabilidad del 95%, existen diferencias significativas para el factor cancro y de las interacciones de los factores cancro* método, y cancro * parte, las cuales son indicadas por ***.

Al realizar la prueba de Tukey para las medias de índices de lesión del factor cancro inoculado, se observó que a un nivel de confiabilidad del 95%, existen diferencias significativas, las cuales se resumen en el Cuadro 53.

Cuadro 53. Prueba de Tukey realizada a los índices de lesión obtenidos por los factores: cancro, método y parte inoculados en los árboles de eucalipto en condiciones de invernadero.

Comparación de cancos	Limite inferior simultáneo	Diferencia entre medias	Limite superior simultáneo	
B-C	-1.0612	1.3465	3.7541	
B-F	-0.1068	2.6040	5.3148	
B-T	2.4019	6.7143	11.0268	***
C-B	-3.7549	-1.3465	1.0612	
C-F	-1.6112	1.2575	4.1263	
C-T	0.9544	5.3679	9.7813	***
F-B	-5.3148	-2.6040	0.1068	
F-C	-4.1263	-1.2575	1.6112	
F-T	-0.4755	4.1103	8.6962	
T-B	-11.0268	-6.7143	-2.4019	***
T-C	-9.7813	-5.3679	-0.9544	***
T-F	-8.6962	-4.1103	0.4755	

A un nivel de confiabilidad del 95%, se observan diferencias significativas de los cancos *Botryodiplodia* y *Cryphonectria* con el *Testigo* y la comparación del cancro *Fusicoccum* con *Testigo* no mostró diferencias significativas.

La prueba de Tukey realizada a los índices de lesión desarrollados por cada método de inoculación: inserción y punción, no mostró a un nivel de confiabilidad del 95% diferencias significativas. Condiciones similares fueron encontradas en la prueba de Tukey en las medias de índices de lesión desarrolladas en cada parte inoculada: alta o baja, es decir, a un nivel de confiabilidad del 95%, no existen diferencias significativas, dichas pruebas se resume en el Cuadro 54.

Cuadro 54. Prueba de Tukey realizada a las medias de índices de lesión de los factores método y parte inoculados en árboles de eucalipto.

MÉTODO	MEDIAS	NÚMERO	GRUPO
I	6.1675	229	A
P	5.6193	242	A
PARTE	MEDIAS	NÚMERO	GRUPO
A	6.1069	235	A
B	5.6658	236	A

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

. Los aislamientos y purificaciones de cada uno de los canchros, se realizaron exitosamente en el medio de cultivo de papa-dextrosa-agar (PDA). Logrando el establecimiento y desarrollo de cada uno de ellos en forma rápida, fácil y económica.

. El uso de varetas colocadas en cámara húmeda, permitió desarrollar de una forma controlada y acelerada el desarrollo y establecimiento de los hongos inoculados, ya que se tiene un estricto control de la temperatura de incubación para el desarrollo de los agentes patógenos con la mínima defensa del hospedante. Además dicha metodología permite realizar una estimación de días que requieren cada uno de los hongos para esporular en tejido vegetal.

. Los canchros de los géneros *Botryodiplodia*, *Cryphonectria* y *Fusicoccum* aislados de tejido vegetal enfermo en campo, fueron patogénicos en varetas y plantas de *Eucalyptus camaldulensis*.

. En función de las características morfológicas de los canchros *Botryodiplodia* y *Cryphonectria* desarrollados en condiciones de laboratorio e invernadero, así como de los signos y síntomas evaluados, y las observaciones microscópicas hechas de cada uno de ellos, condujeron a la identificación a nivel de especie de los agentes causales de los canchros como: *Botryodiplodia theobromae* y *Cryphonectria cubensis* respectivamente. Mientras que el cancro *Fusicoccum* únicamente se identificó a nivel de género y relacionó con las formas asexuales llamadas *Macrophoma* y *Dothiorella*.

. Para el cancro *Botryodiplodia*, los mayores promedios en altura, ancho y grosor de pared de los picnidios, se dieron en el hospedante medio de cultivo (M) y los menores promedios fueron los registrados en plantas inoculadas (P) y los obtenidos en campo (C).

. Para el cancro *Fusicoccum*, los mayores promedios en altura y grosor de pared de los picnidios, se dieron en el hospedante medio de cultivo (M), y los menores promedios fueron los registrados en el hospedante obtenido en campo (C). Mientras que para la variable ancho de picnidios los mayores promedios fueron los registrados en el hospedante "varetas inoculadas" (V) y los menores promedios se dieron en el hospedante obtenido en campo (C).

. Para el cancro *Cryphonectria*, los mayores promedios en altura y grosor de pared de los picnidios, se dieron en el hospedante obtenido en campo,

mientras que los mayores anchos de picnidios se dieron en el hospedante: planta inoculada.

. En laboratorio, el cancro *Botryodiplodia* con ambos métodos de inoculación: inserción y punción fue más rápido en cubrir la longitud y perímetro de las varetas, después siguió el cancro *Fusicoccum* con ambos métodos de inoculación y por último el cancro *Cryphonectria* fue el que más tardó con ambos métodos de inoculación en cubrir la longitud y perímetro de las varetas.

. En los tres cancos inoculados en varetas de eucalipto en condiciones de laboratorio, el método de inoculación por inserción fue en promedio, el que menos tiempo tardó en cubrir el perímetro y longitud de las varetas. En cada uno de los cancos y con ambos métodos de inoculación, se registraron los signos y síntomas típicos de la enfermedad. Además, se registró una infección del 100% con ambos métodos de inoculación en los tres cancos inoculados.

. Los porcentajes de infección desarrollados en las plantas de 110 cm de altura y perímetros dentro del rango de 22.80-26.72 mm en condiciones de invernadero, y que fueron inoculadas con tres diferentes cancos más un testigo, dos métodos y dos partes de inoculación, se concluye que los mayores porcentajes de infección se registraron en los tratamientos: *Cryphonectria* por método de inserción en la parte alta (CIA), *Botryodiplodia* por el método de punción en la parte alta (BPA) y parte baja (BPB), en todos los tratamientos se presentaron de los síntomas típicos de la enfermedad.

7. LITERATURA CITADA

- Agrios N. G. 1998. Fitopatología. 2ª Edición. Ed. Limusa. Grupo Noriega Editores UTEHA. México, D. F. 838 p.
- Alfenas A. C., R. S. Jeng, and M. Hubbes, M. 1983. Virulence of *Cryphonectria cubensis* on *Eucalyptus* species differing in resistance. European J. Forest Pathology 13: 197-205.
- Barnard E. L., Geary T., English J. T. and Gilly P. 1987. Basal Cankers and Coppice Failure of *Eucalyptus grandis* in Florida, USA. Plant Disease 71:358-361.
- Barnett H. L. y Barry B. H. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. Ed. Burgess Publishing Company. Third Edition. United States of America. 241 p.
- Biggs A. R. 1989. Pruning technique affects Leucostoma infection and wound closure in peach trees. Plant Dis 73:771-773
- Boerboom, J. H. A. and P. W. Th. Maas. 1970. Canker of *Eucalyptus grandis* and *E. saligna* in Suriname caused by *Endothia havanensis*. Turrialba 20:94-99.
- CATIE. 1991. Plagas y Enfermedades Forestales en América Central: Guía de Campo/Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. (Serie Técnica. Manual Técnico/CATIE: No 4). Turrialba, Costa Rica.
- Cedeño, L. y Palacios-Prü, E. 1992. Identificación de *Botryodiplodia theobromae* como la causa de lesiones y gomosis en cítricos. Fitopatol. Venez. 5: 10 - 13.
- Cibrián T. D. 1998. Diagnóstico Fitosanitario y Propuestas de manejo de plagas y enfermedades en la Reserva Natural Xochitla. Estado de México. 72 p.
- Cibrián T. D., Méndez M. T., y Campos B. R. 1999a. Como Identificar las plagas y enfermedades en las plantaciones de eucalipto y gmelina. Guía de Campo. 77 p.

- Cibrián T. D., Méndez. M. T., Campos B. R., y García D. S. 1999b. Diagnóstico Fitosanitario de las Plantaciones de Eucalipto y Melina en Nayarit y Sur de Sinaloa. Universidad Autónoma Chapingo. División de Ciencias Forestales. Plantaciones Industriales Mexicanas S.A. de C.V. 135 p.
- Ciesla, W. M., Diekmann and C. A. J. Putter. 1996. FAO/IPGRI Technical Guidelines for the Safe Movement of Germplasm. No 17. *Eucalyptus spp.* Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome/International Plant Genetic Resources Institute, Rome.
- Conradie, E., W.J. Swart and M.J. Wingfield. 1992. Semiselective Medium for Isolation of *Cryphonectria cubensis*. Phytopathology 82:1440-1442.
- Conradie, E., W.J. Swart and M.J. Wingfield. 1990. *Cryphonectria* Canker of *Eucalyptus*, an Important Disease in Plantation Forestry in South Africa. Departments of Plant Pathology and Microbiology. University of the Orange Free State, Bloemfontein.
- Colegio de Posgraduados en Ciencias Agrícolas. Instituto de Recursos Naturales. Laboratorio de Física de Suelos. 1997. Estudio de suelo y agua de la Reserva Natural Xochitla. Reporte Técnico. Montecillo estado de México.
- FAO. 1990. El Dilema del Eucalipto. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. 26 p.
- FAO. 1993.
- Ferreira, F. A.; Reis, M. S.; Alfenas, A. C.; Hodges, C. S. 1977. Avaliacao da Resistencia de *Eucalyptus spp.* as cancro causado por *Diaporthe cubensis* Bruner. Fitopatología Brasileira 2: 225-241.
- Ferreira, F. A. 1989. Patología forestal: Principias doencas florestais no Brasil. Sociedade. de Investigacoes Florestais, Vicosa MG, Brazil. 570 p.
- Ferreira, F. A. 1997. Enfermidades Do Eucalipto no Brasil. EPAMIG (A Tecnologia Da Agropecuária Mineira). Inf. Agropec., Belo Horizonte. v.18, n.186. 19 p.
- Florence, E. J. M.; Sharma, J. K. And Mohanan, C.. 1986. A stem canker disease of *Eucalyptus* caused by *Cryphonectria cubensis* in Kerala. Kerala Forest Research Institute Scientific Paper. 66:384-387.
- Foster, R. E. y G. W. Wallis. 1974. Common tree diseases of British Columbia. 2ª Edición. Department of the Enviroment. Canadian Forestry Service. Ottawa, Canadá. 116 p.

- French, D. W. 1988. Forest and Shade Tree Pathology. Department of Plant Pathology, University of Minnesota. USA. 271 P.
- Fierros Glz. Aurelio Manuel. 1978. Ensayo de introducción del género *Eucalyptus* en algunas regiones de México. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Bosques. Tesis de Licenciatura. Chapingo, Méx. 280 p.
- Gibson, I. A. S. 1981. A canker disease of *Eucalyptus* new to África. FAO For. Genet. Res. Inf. 10:23-24.
- Hall, Norman, R.D. Johnston y G.M. Chippendale. 1970. Forest trees of Australia, 3d. Ed. Illus. Australian Department of Agriculture, forestry and Timber Bureau. Government Publishing Service, Canberra, Australia. 333 p.
- Hepting, H. George. 1971. Diseases of Forest and Shade trees of the United States. U.S. Department of Agriculture Forest Service. Agriculture Handbook. Number 386. 386 p.
- Hernández M. F. 1985. Fitopatología Forestal. Facultad Forestal. Centro Universitario de Pinar del Río. Ed. Ediciones. Ministerio de Educación Superior. La habana, Cuba. 184 p.
- Hodges C. S. 1998. Consulting visit to Plantaciones Forestales del Sureste, S.A. de C.V. PLANFOSUR. Temple-Inland Forest Products Corporation. Zobel Forestry Associates, Inc.
- Hodges C. S., A. C. Alfenas y F. A. Ferreira 1986. The conspecificity of *Cryphonectria cubensis* and *Endothia eugeniae*. Micología 78: 343-350.
- Hodges C. S., Geary T. F. And Cordell, C. E.. 1979. The occurrence of *Diaporthe cubensis* on *Eucalyptus* in Florida, Hawaii, and Puerto Rico. Plant Disease Reporter 63:216-220.
- Lewis, R., Jr. 1978. Influence of infection court, host vigor, and culture filtrates on canker production by *Botryodiplodia theobromae* conidia in sycamore. Plant Disease Reporter 35:29-30.
- Manion, Paul D. 1991. Tree disease concepts. 2ª Edición. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, N. J. 402 p.
- Martínez G. L. y Chacalo H. A. 1994. Los árboles de la ciudad de México. Grupo Ed. Eón. Universidad autónoma Metropolitana, Unidad Azcapotzalco. México, D. F. 351 p.

- Medina B. M. et al. 1997. Estudio Agroclimático de la Reserva Natural Xochitla. Reporte Técnico. México, D.F.
- Michau, E. A. 1987. La poda de los árboles ornamentales. Editorial Mundi Prensa. Madrid, 316 p.
- Montoya O. M. 1995. El Eucalipto. Ed. Mundi-Prensa. México, D. F. 125 p.
- N.A.S. 1980. Firewood crops. Shrub and tree species for energy production. National Academy of Sciences, Washington, DC.
- Partridge A. D.; Canfield R. E. y J. R. Chacko. 1980. Forest Pathology Outline. University of Idaho, College of Forest, Wildlife and Range Experiment Station Contribution No 49. 237 p.
- Penfold A. R., y J. L. Willis. 1961. The eucalyptus; botany, cultivation, chemistry and utilization. World Crop Books, Leonard Hill Ltd., London. Illus. 551 pp.
- Peterson, Glenn W. 1976. Disease of Russian-olive caused by *Botryodiplodia theobromae*. Plant Disease Reporter. 60:490-494.
- Ramírez Correa L. A. 1997. Guía de Enfermedades en Plantaciones Forestales. Programa de Protección Forestal. CONIF-MINAMBIENTE. Santa Fe de Bogotá. D. C. 44 p.
- Rivas T, D. 1996. Poda de árboles urbanos. Universidad Autónoma Chapingo. Dirección de Difusión Cultural. Departamento de Publicaciones. 59 p.
- Romero Cova, Sebastian. 1993. Hongos fitopatógenos. Primera reimpresión. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 347 p.
- Shigo A, L. 1997. A New Tree Biology. Facts, photos, and philosophies on trees and their problems and proper care. Eighth Printing. New Hampshire USA, 618 p.
- Smith, H., G. H. J. Kemp and M. J. Wingfield. 1994. Canker and die-back of *Eucalyptus* in South Africa caused by *Botryosphaeria dothidea*. Department of Microbiology and Biochemistry, University of Orange Free State. Plant Pathology: 43: 1031-1034.
- Stack R. W. and Lamey H. A. 1995. Deciduous Tree Diseases. North Dakota State University. Extension Service. PP-697.
- Tattar, A. Terry. 1978. Diseases of shade trees. 2nd. Edition. Academic Press Inc. London, England. 361 p.

- Tainter, F. H. and Baker, F. A.. 1996. Principles of Forest Pathology. John Wiley & Sons, Inc. New York, USA. 805 p.
- Torres L. A., Díaz M., Franco W., y Ramírez A. H. 1994. Mortalidad en plantaciones de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* en el oriente de Venezuela. Instituto de Investigaciones para el Desarrollo Forestal, Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales, Universidad de Los Andes. Vía Los Chorros de Milla. Mérida. Venezuela.
- Uribe E. J. y Rodas A. C. 1996. Evaluación de métodos de inoculación e indicativos de resistencia de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden a dos patógenos fungosos. Informe de Investigación Forestal No 176. Smurfit Cartón de Colombia. 11p.
- Ulloa Miguel y Teófilo Herrera. 1994. Etimología e iconografía de géneros de hongos. Universidad Nacional Autónoma de México. Cuadernos del Instituto de Biología Núm. 21. México, D.F. 300 p.
- Wilcox D, Brent D. Doss Mc D., Greer D. 1995-97. UTHSCSA Image Tool for Windows V. 1.28. The University of Texas Health Science Center in San Antonio.
- Wayne A. Sinclair, Howard H. Lyon, and Warrent T. Johnson. 1987. Diseases of trees and shrubs. Department of Plant Pathology, Cornell University. Ithaca, New York. 575 p.
- Wingfield, M. J. 1998. *Cryphonectria* canker of *Eucalyptus*. The Forestry and Agricultural Biotechnology Institute FABI and Tree Pathology Cooperative Programme TPCP. Faculty of Biological and Agricultural Sciences. University of Pretoria. Republic of South Africa.

8. ANEXOS

ANEXO 1. Medición de picnidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro *Cryphonectria cubensis* en varetas de *Eucalyptus camaldulensis* inoculadas artificialmente. Chapingo, México. 1999.

ALTURA EXTERIOR	ANCHO EXTERIOR	ALTURA INTERIOR	ANCHO INTERIOR	GROSOR DE PARED	DIÁMETRO DEL CUELLO
311.22	167.22	283.39	111.48	23.69	46.45
315.9	162.58	297.28	116.13	18.58	41.81
342.92	232.81	311.77	193.2	27.09	66.51
345.27	236.53	313.71	185.45	27.54	56.13
237.08	222.96	204.44	153.29	27.09	55.74
245.27	223.67	206.27	156.34	27.87	53.25
278.7	181.16	241.54	125.77	28.25	35.52
284.2	183.42	238.27	130.06	27.87	37.16
332.02	222.04	276.41	155.8	26.28	63.18
320.88	218.12	274.22	159.97	28.25	58.83
337.05	209.85	293.38	141.27	23.23	64.71
340.71	176.88	399.49	149.82	18.58	66.28
259.87	201.68	192.48	124.64	27.09	43.57
256.2	199.95	177.79	126.87	26.28	53.48
241.54	164.16	220.24	101.87	20.77	51.93
243.77	145.78	218.37	101.98	20.58	47.82
318.85	185.1	299.89	164.62	27.87	39.58
330.09	177.79	296.78	162.28	20.77	41.52
435.16	222.04	404.55	141.05	32.85	50.03
424.51	210.06	407.21	145.49	23.23	58.2
293.75	170.97	239.8	119.65	22.21	52.39
203.23	171.88	167.49	125.36	24.14	43.22
253.72	184.42	203.88	128.48	30.13	64.76
317.9	248.81	284.65	202.49	27.83	66.87
314.17	249.96	293.19	197.69	23.19	64.79
226.05	152.17	208.99	134.03	14.92	43.18
233.06	164.01	214.25	141.09	18.23	49.29
319.4	192.92	301.02	153.38	24.07	64.47
327.24	201.2	296.38	150.95	27.52	61.54
321.02	164.79	297.02	107.77	22.52	64.79
325.86	165.13	301.01	99.96	22.29	64.82
335.08	132.48	288.79	76.26	30.75	66.87
303.19	111.82	279.68	78.1	25.92	66.64
288.19	200.48	259.6	123.82	30.48	62.97
285.73	195.49	260.81	121.28	28.18	48.13

Nota: Todas las mediciones fueron realizadas en milimicras (μm), mediante el apoyo de un circuito cerrado, asistido por un microscopio compuesto y una computadora personal con un Software especial: UTHSCSA Image Tool para Windows versión 1.28; el cual fue calibrado para medir en milimicras, teniendo como medida de referencia a una distancia conocida de 1 micrometro.

ANEXO 2. Medición de picnidios obtenidos de los aislamientos y purificaciones del cancro *Cryphonectria cubensis*, crecidos artificialmente en el medio de cultivo PDA (Papa-Dextrosa-Agar). Chapingo, México. 1999.

ALTURA EXTERIOR	ANCHO EXTERIOR	ALTURA INTERIOR	ANCHO INTERIOR	GROSOR DE PARED
310.65	257.53	271.57	206.05	34.3
321.78	257.93	265.39	202.3	31.33
284.97	246.3	186.22	145.52	45.44
262.12	241.7	182.13	145.03	37.63
366.93	267.86	263.74	193.25	38.72
353.81	268.81	253.4	186.57	41.82
277.16	209.71	233.27	150.73	29.13
266.62	221.07	204.33	156.85	28.34
275.4	214.18	223.5	158.11	30.8
268.81	214.47	201.27	163.49	26.32
379.09	308.94	288.04	178.67	44.81
222.61	259.15	140.79	135.58	48.7
254.6	178.67	166.64	113.92	33.13
289.77	214.8	235.91	167.28	29.89
245.76	165.65	164.87	126.55	29.42
284.43	220.35	241.9	168.96	30.29
275.6	222.05	215.93	161.97	27.91
289.43	216.05	238.54	134.09	31.69
284.8	222.84	213.31	157.89	28.74
431.14	312.61	329.99	232.6	37.22
270.02	245.88	195.77	191.29	25.31
222.45	183.73	155.1	130.06	29.13
183.01	155.82	93.5	123.93	26.64
279.91	272.02	218.34	206.58	32.01
229.66	206.61	148.83	129.37	36.65
217.36	192.35	141.22	105.69	33.55
264.96	223.68	190.57	168.96	30.06
230.41	190.58	184.34	137.31	24.47
278.94	279.15	224.44	236.91	27.09
259.03	190.39	203.03	133.41	29.07

Nota: Todas las mediciones fueron realizadas en milimicras (μm), mediante el apoyo de un circuito cerrado, asistido por un microscopio compuesto y una computadora personal con un Software especial: UTHSCSA Image Tool para Windows versión 1.28; el cual fue calibrado para medir en milimicras, teniendo como medida de referencia a una distancia conocida de 1 micrometro.

ANEXO 3. Medición de picnidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro *Cryphonectria cubensis* en plantas de *Eucalyptus camaldulensis* inoculadas artificialmente. Chapingo, México. 1999.

ALTURA EXTERIOR	ANCHO EXTERIOR	ALTURA INTERIOR	ANCHO INTERIOR	GROSOR DE PARED
340.71	409.72	278.78	314.01	36.28
349.25	420.63	273.78	299.6	46.45
278.28	275.16	264.81	197.62	37.16
286.79	261.78	255.52	207.73	52.96
253.44	296.3	217.48	224.75	32.52
249.28	284.72	193.37	236.53	35.38
212.25	289.82	158.89	245.66	32.85
228.51	288.44	173.93	240.56	36.28
301.93	358.75	222.96	255.65	37.45
297.32	343.74	228.37	250.83	26.28
475.93	410.27	395.27	297.9	43.82
504.09	432.39	451.36	299.06	44.07
304.49	336.41	257.16	230.67	39.96
303.64	334.96	232.67	227.8	43.75
297.86	269.77	274.22	227.66	26.28
289.86	284.99	270.41	228.03	26.28
241.54	243.15	181.16	191.35	37.16
236.94	250.88	153.29	149.29	46.45
184.05	349.15	124.81	250.02	23.23
189.67	326.15	128.14	273.23	32.85
254.99	454.01	220.34	365.99	32.85
284.87	456.85	234.89	383.86	23.69
341.4	325.15	260.12	306.57	23.23
325.45	315.86	268.81	274.06	18.58
315.86	329.8	264.77	278.7	18.58
301.93	385.54	237.08	288.03	37.16
292.64	371.61	209.03	301.93	31.16
297.32	437.16	228.37	334.48	38.3
302.61	419.19	227.61	325.19	39.69
262.85	312.27	152.56	278.13	33.25
157.08	220.79	125.45	199.83	14.46
306.3	373.5	245.86	306.76	33.11
200.78	265.05	150.86	234.1	15.71
267.08	432.92	205.61	368.61	31.42
293.33	448.12	241.38	408.82	26.31
155.78	228.09	118.43	157.51	20.94
219.54	210.8	177.44	190.59	16.56
222.26	238.43	173.12	195.67	18.51
195.39	224.9	136.13	165.62	19.06
230.91	226.73	206.97	177.04	21.59
315.25	395.55	245.88	369.21	33.37

335.65	322.04	289.78	289.18	24.07
ALTURA EXTERIOR	ANCHO EXTERIOR	ALTURA INTERIOR	ANCHO INTERIOR	GROSOR DE PARED
167.63	250.1	123.74	231.33	25.18
242.36	461.93	166.99	430.81	26.5
213.61	432.91	150.17	387.76	21.11
234.13	382.51	181.42	356.18	27.52

Nota: Todas las mediciones fueron realizadas en milimicras (μm), mediante el apoyo de un circuito cerrado, asistido por un microscopio compuesto y una computadora personal con un Software especial: UTHSCSA Image Tool para Windows versión 1.28; el cual fue calibrado para medir en milimicras, teniendo como medida de referencia a una distancia conocida de 1 micrometro.

ANEXO 4. Medición de peritecios obtenidos de material colectado en forma original e infectado con el cancro *Cryphonectria cubensis* en *Eucalyptus grandis* de las plantaciones forestales de PLANFOSUR en las Choapas, Veracruz. 1999.

ALTURA EXTERIOR	ANCHO EXTERIOR	ALTURA INTERIOR	ANCHO INTERIOR	GROSOR DE PARED	DIÁMETRO DEL CUELLO
1358.69	261.22	1241.56	208.89	49.63	104.67
1339.6	242.19	1239.42	211.24	52.14	108.31
543.65	211.85	506.85	180.92	32.82	79.51
1346.47	326.15	1256.07	239.8	47.82	98.76
826.99	340.31	90.19	252.42	55.93	91.26
612.67	233.27	558.95	215.93	35.38	110.12
775.89	301.21	737.06	261.61	28.25	102.19
409.19	205.23	367.23	140.05	46.45	111.54
618.82	349.15	501.19	218.37	56.7	104.38
1345.56	302.61	1246.31	204.12	55.93	116.13
630.45	172.12	545.45	102.19	46.45	74.9
947.47	366.61	849.49	287.28	39.41	123.95
822.23	328.46	710.94	249.71	46.68	93.48
633.15	141.24	571.29	62.01	43.11	97.06
692.74	154.51	637.54	86.21	50.29	86.51
686.29	188.24	661.13	162.65	28.74	86.36
761.43	263.48	717.94	228.33	25.4	79.52
679.15	193.11	643.44	147.33	35.92	93.4
685.82	213.37	665.32	172.73	35.36	111.76
793.71	138.2	692.49	72.74	32.13	80.32

Nota: Todas las mediciones fueron realizadas en milimicras (μm), mediante el apoyo de un circuito cerrado, asistido por un microscopio compuesto y una computadora personal con un Software especial: UTHSCSA Image Tool para Windows versión 1.28; el cual fue calibrado para medir en milimicras, teniendo como medida de referencia a una distancia conocida de 1 micrometro.

ANEXO 5. Medición de conidios obtenidos de material colectado en forma original e infectado con el cancro *Cryphonectria cubensis* en *Eucalyptus grandis* de las plantaciones forestales de PLANFOSUR en las Choapas, Veracruz. 1999.

LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO
2.91	1.38	2.76	1.66	2.91	1.29
2.76	1.66	2.79	1.66	3.13	1.88
2.91	1.66	3.13	1.72	3.49	1.66
3.15	1.84	2.76	1.66	2.76	1.66
2.79	1.38	2.76	1.66	2.76	1.66
2.7	1.6	2.76	1.72	2.91	1.6
2.91	1.29	3.13	1.66	3.02	1.6
3.23	1.72	3.15	1.72	3.15	1.66
2.76	1.66	2.76	1.66	3.13	1.66
2.91	1.66	2.76	1.66	3.13	1.66
3.15	1.66	3.42	1.6	3.49	1.66
3.23	1.72	2.91	1.6	3.13	1.88
3.15	1.6	3.2	1.72	3.02	1.72
3.2	1.72	2.76	1.6	3.35	1.88
2.91	1.82	3.15	1.66	3.13	1.66
3.2	1.88	2.76	1.29	2.91	1.88
3.13	1.6	2.76	1.66	3.13	1.66
2.88	1.72	2.76	1.66	3.23	1.66
3.15	1.88	2.79	1.88	3.23	1.66
3.15	1.72	2.7	1.38	3.42	1.66
2.79	1.6	3.42	1.66	2.76	1.66
2.76	1.38	3.2	1.6	3.13	1.72
3.13	1.66	3.2	1.72	3.15	1.84
3.15	1.29	3.02	1.88	2.91	1.88
2.79	1.66	2.91	1.88	3.13	1.66
3.13	1.66	2.7	1.6	2.88	1.66
3.23	1.72	2.91	1.88	3.13	1.72
3.35	1.38	2.76	1.72	3.52	1.72
3.02	1.38	2.79	1.66	3.49	1.88
2.8	1.6	2.91	1.72	3.71	1.88
2.79	1.72	3.15	1.88	2.88	1.72
3.13	1.66	3.49	1.66	3.58	1.72
2.76	1.66	3.32	1.72	3.13	1.38
				3.49	1.66

Nota: Todas las mediciones fueron realizadas en milimicras (μm), mediante el apoyo de un circuito cerrado, asistido por un microscopio compuesto y una computadora personal con un Software especial: UTHSCSA Image Tool para Windows versión 1.28; el cual fue calibrado para medir en milimicras, teniendo como medida de referencia a una distancia conocida de 1 micrometro.

ANEXO 6. Medición de conidios obtenidos de los aislamientos y purificaciones del cancro *Cryphonectria cubensis*, crecidos artificialmente en el medio de cultivo PDA (Papa-Dextrosa-Agar). Chapingo, México. 1999.

LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO
3.69	1.72	3.52	1.88	3.49	1.88
3.49	1.72	3.84	1.6	3.94	1.66
3.42	1.6	3.84	1.88	3.32	1.72
3.94	1.6	3.49	1.88	3.71	1.66
3.93	1.82	3.52	1.82	3.49	1.6
3.61	1.82	3.94	1.88	3.42	1.66
3.93	1.82	3.34	1.72	3.49	1.66
3.93	1.82	3.3	1.66	3.3	1.72
3.69	1.6	3.49	1.88	3.49	1.88
3.67	1.6	3.93	1.91	3.24	1.72
3.42	1.6	3.88	1.88	3.3	1.88
3.52	1.72	3.71	1.83	3.71	1.6
3.75	1.82	3.88	1.88	3.52	1.6
3.15	1.72	3.94	1.66	3.35	1.93
3.52	1.6	3.88	1.72	3.94	1.6
3.83	1.82	3.88	1.66	3.49	1.72
3.42	1.6	3.84	1.72	3.52	1.66
3.58	1.66	3.67	1.82	3.88	1.6
3.86	1.66	3.94	1.88	3.52	1.72
3.84	1.82	3.52	1.88	3.93	1.83
3.93	1.82	3.67	1.88	3.84	1.66
3.42	1.88	3.52	1.88	3.94	1.72
3.67	1.6	3.71	1.88	3.94	1.88
3.52	1.6	3.94	1.82	3.37	1.66
3.94	1.82	3.94	1.72	3.49	1.72
3.88	1.88	3.42	1.88	3.52	1.66
3.52	1.88	3.67	1.88	3.52	1.72
3.49	1.88	3.52	1.72	3.52	1.6
3.33	1.66	3.32	1.66	3.69	1.88
3.42	1.72	3.94	1.72	3.94	1.93
3.86	1.88	3.98	1.72	3.69	1.72
3.82	1.88	4.02	1.6	3.49	1.66
3.92	1.72	3.94	1.89	3.94	1.66
				3.94	1.6

Nota: Todas las mediciones fueron realizadas en milimicras (μm), mediante el apoyo de un circuito cerrado, asistido por un microscopio compuesto y una computadora personal con un Software especial: UTHSCSA Image Tool para Windows versión 1.28; el cual fue calibrado para medir en milimicras, teniendo como medida de referencia a una distancia conocida de 1 micrometro.

ANEXO 7. Medición de conidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro *Cryphonectria cubensis* en plantas de *Eucalyptus camaldulensis* inoculadas artificialmente. Chapingo, México. 1999.

LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO
3.2	1.6	3.71	1.29	3.49	1.66
3.52	1.29	3.13	1.38	3.49	1.88
3.42	1.38	3.15	1.82	3.67	1.88
3.2	1.72	3.42	1.88	3.52	1.74
3.13	1.29	3.02	1.66	3.69	1.38
3.49	1.38	3.15	1.66	3.69	1.66
3.15	1.66	3.13	1.72	3.2	1.6
3.71	1.88	3.71	1.38	3.86	1.88
3.49	1.66	3.2	1.6	3.86	1.66
3.42	1.88	3.23	1.66	3.69	1.6
3.71	1.66	3.49	1.6	3.49	1.66
3.52	1.38	3.71	1.72	3.52	1.6
3.23	1.6	3.15	1.88	3.13	1.66
3.42	1.66	3.58	1.29	3.01	1.72
3.67	1.82	3.23	1.66	3.49	1.88
3.2	1.72	3.67	1.6	3.52	1.6
3.82	1.88	3.88	1.72	3.42	1.72
3.52	1.66	3.86	1.66	3.49	1.66
3.86	1.66	3.42	1.6	3.42	1.6
3.13	1.66	3.71	1.6	3.49	1.6
3.23	1.38	3.2	1.6	3.86	1.66
3.49	1.66	3.15	1.29	3.42	1.38
3.49	1.29	3.49	1.29	3.49	1.66
3.82	1.6	3.71	1.66	3.42	1.38
3.71	1.6	3.42	1.38	3.42	1.6
3.49	1.38	3.35	1.72	3.35	1.88
3.13	1.29	3.42	1.6	3.13	1.38
3.49	1.6	3.02	1.72	3.71	1.72
3.42	1.6	3.13	1.29	3.49	1.38
3.13	1.66	3.71	1.6	3.49	1.66
3.23	1.29	3.35	1.6	3.71	1.88
3.49	1.66	3.15	1.6	3.42	1.6
3.13	1.6	3.52	1.66	3.15	1.6
				3.71	1.6

Nota: Todas las mediciones fueron realizadas en milimicras (μm), mediante el apoyo de un circuito cerrado, asistido por un microscopio compuesto y una computadora personal con un Software especial: UTHSCSA Image Tool para Windows versión 1.28; el cual fue calibrado para medir en milimicras, teniendo como medida de referencia a una distancia conocida de 1 micrometro.

ANEXO 8. Medición de conidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro *Cryphonectria cubensis* en varetas de *Eucalyptus camaldulensis* inoculadas artificialmente. Chapingo, México. 1999.

LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO
3.94	1.66	3.94	1.88	3.13	1.72
3.88	1.72	3.67	1.66	3.88	1.66
3.3	1.6	3.88	1.88	3.86	1.72
3.49	1.88	3.13	1.66	3.2	1.6
3.86	1.92	3.23	1.72	3.42	1.6
3.42	1.88	3.49	1.66	3.32	1.72
3.49	1.93	3.49	1.66	3.35	1.44
3.58	1.66	3.35	1.88	3.13	1.29
3.49	1.66	3.86	1.66	3.13	1.29
3.71	1.6	3.49	1.66	3.13	1.66
3.25	1.66	3.78	1.66	3.2	1.4
3.69	1.72	3.49	1.66	3.13	1.31
3.49	1.66	3.71	1.66	3.15	1.66
3.42	1.88	3.13	1.66	3.49	1.44
3.2	1.88	3.15	1.6	3.13	1.6
3.3	1.82	3.15	1.66	3.42	1.6
3.84	1.72	3.13	1.6	3.52	1.66
3.94	1.72	3.13	1.38	3.12	1.6
3.31	1.88	3.52	1.72	3.04	1.44
3.52	1.93	3.23	1.66	3.15	1.5
3.32	1.88	3.19	1.65	3.45	1.52
3.71	1.88	3.14	1.6	3.02	1.66
3.23	1.93	3.09	1.6	3.01	1.6
3.88	1.6	3.86	1.72	3.15	1.6
3.88	1.6	3.86	1.66	3.2	1.66
3.69	1.6	3.49	1.66	3.23	1.6
3.12	1.72	3.13	1.34	3.03	1.29
3.22	1.66	3.13	1.72	3.13	1.66
3.86	1.66	3.58	1.34	3.53	1.72
3.52	1.88	3.15	1.41	3.2	1.6
3.42	1.93	3.13	1.6	3.15	1.66
3.69	1.88	3.2	1.72	3.49	1.6
3.84	1.72	3.71	1.66	3.01	1.6
				3.35	1.66

Nota: Todas las mediciones fueron realizadas en milimicras (μm), mediante el apoyo de un circuito cerrado, asistido por un microscopio compuesto y una computadora personal con un Software especial: UTHSCSA Image Tool para Windows versión 1.28; el cual fue calibrado para medir en milimicras, teniendo como medida de referencia a una distancia conocida de 1 micrometro.

ANEXO 9. Medición de picnidos obtenidos de material colectado en forma original e infectado con el cancro *Fusicoccum spp* en *Eucalyptus camaldulensis* en la Reserva Natural Xochitla. Tepotzotlán, Edo. de México. 1999.

ALTURA EXTERIOR	ANCHO EXTERIOR	ALTURA INTERIOR	ANCHO INTERIOR	GROSOR DE PARED
129.79	148.18	108.08	121.53	12.3
147.91	150.19	112.6	122.52	17.93
148.48	154.5	120.57	113.35	20.26
123.59	142.92	88.91	99.45	16.47
130.74	137.5	104.82	116.41	13.42
129.47	135.28	101.83	116.07	13.7
142.21	116.5	121.01	91.99	12.65
140.83	137.54	110.14	113.89	15.68
135.82	118.18	112.05	103.54	13.34
121.67	149.57	101.2	124.01	14.65
119.72	160.24	101.42	121.49	17.35
135.77	163.08	113.19	133.98	12.74
135.71	149.4	105.75	129.47	14.65
100.07	119.79	79.27	93.97	12.34
103.28	122.59	81.28	95.55	11.86
183.79	215.87	127.4	144.07	38.21
168.04	205.25	122.05	136.07	29.6
173.93	217.91	123.22	166.66	34.43
169.27	220.22	125.27	164.59	22.15
152.09	246.7	95.36	176.4	26.19
143.61	237.72	95.38	177.24	22.37
208.54	364.55	179.11	339.43	20.48
205.36	360.82	185.25	338.28	13.34
180.95	244.78	136.45	215.16	19.59
157.28	192.07	130.02	156.34	15.34
179.86	249.83	137.37	213.42	19.89
185.62	249.89	143.84	220.72	17.55
164.96	197.6	133.14	156.24	21.74
180.4	243.81	152.31	209.37	19.89
177.42	245.09	146.76	208.85	18.01
194.09	243.64	146.51	202.55	19.89
196.15	314.85	149.53	261.3	26.16
198.63	314.55	150.12	250.41	26.89
161.12	200.93	117.42	155.16	19.59
153.36	198.9	119.36	153.15	23.87
193.1	381.2	148.22	312.24	25.32
184.25	376.79	146.39	304.06	29.57
169.11	254.87	131.65	193.19	29.84
167.13	247.44	133.51	194.92	27.85
132.01	209.6	105.72	190.19	16.99
128.61	207.14	114.14	170.33	14.34

Nota: Todas las mediciones fueron realizadas en milimicras (µm).

ANEXO 10. Medición de picnidos obtenidos de los aislamientos y purificaciones del cancro *Fusicoccum* spp, crecidos artificialmente en el medio de cultivo PDA (Papa-Dextrosa-Agar). Chapingo, México. 1999.

ALTURA EXTERIOR	ANCHO EXTERIOR	ALTURA INTERIOR	ANCHO INTERIOR	GROSOR DE PARED
597.82	350.56	468.36	285.24	38.51
557.48	375.75	443.19	338.14	53.25
587.15	365.51	505.65	329.62	58.52
406.75	306.15	288.09	119.71	80.62
507.01	308.24	440.23	246.47	38.51
713.36	370.4	611.67	315.83	69.43
555.95	259.07	439.24	209.91	29.54
692.25	316.66	553.25	244.74	52.84
756.96	395.33	676.06	313.47	66.38
718.96	315.41	628.71	217.26	65.29
498.68	350.49	392.75	252.76	54.67
777.26	361.79	641.52	269.14	62.66
598.26	399.36	458.86	319.77	59.81
692.87	428.17	551.42	363.72	80.35
348.15	323.1	261.58	238.19	48.76
323.74	267.35	261.41	220.89	46.7
316.55	292.6	256.49	219.56	56.67
590.83	339.4	552.83	295.38	65.38
760.38	309.58	647.56	275.71	56.04
622.19	329.05	496.47	289.9	65.55
607.09	301.84	495.54	254.31	42.03
620.74	293.3	539.06	228.04	47.63
478.23	266.86	378.27	199.52	52.22
639.89	276.34	458.22	225.39	46.7
364.44	232.68	297.18	179.43	48.76
490.36	284.09	386.4	231.26	58.52
438.14	254.09	340.68	199.52	60.71
603.85	396.98	461.63	273.68	82.76
600.15	418.9	491.99	290.69	68.09
399.06	389.44	305.4	317.48	43.06
403.52	244.51	305.72	217.31	46.23
450.88	317.89	331.59	265.87	32.69
463.21	327.09	401.65	281.52	59.81
423.23	242.5	361.43	213.48	49.65
499.62	243.8	378.1	214.28	66.87
669.69	278.66	586.58	231.08	32.02
440.72	301.52	360.22	241.28	44.31
404.92	232.68	321	175.87	43.58
543.63	347.62	406.21	243.04	60.71
660.17	340.01	553.31	271.52	38.51
358.16	200.61	283.2	154.05	37.65

ALTURA EXTERIOR	ANCHO EXTERIOR	ALTURA INTERIOR	ANCHO INTERIOR	GROSOR DE PARED
621.88	444.05	426.92	310.53	75.45
553.34	299.56	330.8	221.48	85.86
340.17	247.31	252.8	127.48	47.63
439.24	326.92	331.59	270.88	46.7
327.09	246.47	256.02	126.1	48.76
698.72	298.46	562.71	226.55	82.76
671.77	281.06	580.03	231.08	49.65
463.75	243.82	360.37	196.88	71.29
428.68	243.85	364.29	211.61	59.08
412.32	254.31	317.89	178.45	49.65
634.91	362.07	530.55	266.21	77.31
483.22	282.28	336.78	213.41	69.43
345.51	235.79	245.72	130.77	66.05
447.67	338.33	298.46	205.18	74.73
396.4	281.19	268.21	226.98	49.65
751.98	365.51	626.68	284.43	65.38
601.52	325.25	478.04	243.05	56.24
732.75	397.67	589.3	322.83	79.53
501.49	321.41	377.26	261.71	37.65
524.41	312.91	429.77	261.54	40.18
420.15	318.3	361.91	251.51	38.51

Nota: Todas las mediciones fueron realizadas en milimicras (μm), mediante el apoyo de un circuito cerrado, asistido por un microscopio compuesto y una computadora personal con un Software especial: UTHSCSA Image Tool para Windows versión 1.28; el cual fue calibrado para medir en milimicras, teniendo como medida de referencia a una distancia conocida de 1 micrometro.

ANEXO 11. Medición de picnidos obtenidos de tejidos infectados con el cancro *Fusicoccum spp* en plantas de *Eucalyptus camaldulensis* inoculadas artificialmente. Chapingo, México. 1999.

ALTURA EXTERIOR	ANCHO EXTERIOR	ALTURA INTERIOR	ANCHO INTERIOR	GROSOR DE PARED
233.5	343.16	179.76	306.54	27.26
228.57	332.78	184.64	293.79	13.06
198.61	321.28	169.4	288.18	21.42
206.41	325.17	173.39	282.34	15.58
191.66	310.76	161.89	273.53	20.47
189.95	215.88	156.53	187.01	21.22
187.42	217.84	154.89	189.56	18.42
232.53	248.79	192.53	201.52	18.33
223.68	247.6	190.2	212.65	18.42
218.48	291.03	179.89	231.59	21.22
221.61	277.78	170.15	246.22	29.07
178.96	200.59	131.38	149.46	23.68
158.34	241.65	129.59	214.8	17.16
163.62	239.47	127.85	211.48	14.17
232.78	193.96	170.84	198.22	14.53
229.63	204.42	180.03	189.49	20.13
181.42	205.55	133.07	175.37	19.78
171.44	209.24	136.6	173.12	20.13
181.27	260.68	135.73	234.85	21.22
176.8	263.9	141.43	236.33	21.22
125.46	196.27	83.64	172.37	25.03
125.05	200.43	86.02	173.86	18.42
202.04	283.77	148.69	221.07	26.32
200.62	280.44	151.32	221.19	22.41
183.24	320.14	137.07	243.62	25.31
175.59	310.09	146.53	238.55	22.41
186.67	305.81	120.02	235.27	27.09
171.32	293.35	115.74	228.3	27.66
168.42	218.99	125.93	152.83	27.95
169.82	214.57	123.95	151.59	23.83
147.75	347.22	109.45	292.33	22.48
152.6	346.95	109.45	285.09	24.19
187.01	261.17	149.7	188.68	15.79
168.93	299.96	123.93	258.23	18.61
164.48	294.73	129.19	254.11	23.83
176.77	241.9	132.12	204.69	18.61
182.23	236.32	139.56	200.96	26.05
173.33	323.59	105.8	240.74	27.91
175.59	290.48	100.91	242.23	27.52
184.25	185.94	144.82	154.01	16.64
184.52	192.12	147.48	157.51	18.98
150.37	228.5	100.03	175.27	15.34

ALTURA EXTERIOR	ANCHO EXTERIOR	ALTURA INTERIOR	ANCHO INTERIOR	GROSOR DE PARED
152.58	212.33	96.71	182.37	15.08
195.15	250.67	142.46	211.92	24.26
188.89	241.88	142.02	209.08	26.12
171.28	211.92	131.7	160.07	21.22
160.64	204.56	127.65	157.11	24.19
213.27	315.13	160.56	258.19	24.19
203.06	312.1	153.5	262.17	25.85
159.85	216.7	110.79	183.27	21.7
163.12	217.3	99.75	183.93	18.98
151.19	216.57	106.52	167.93	23.83
143.14	199.94	104.62	140.09	19.16
141.97	185.08	101.12	138.15	18.98
225.01	241.53	171.23	173.06	24.19
215.82	353.77	162.26	301.66	20.55
218.91	312.37	171.77	261.36	26.64
173.14	323.64	121.31	282.04	24.19
161.8	248.33	100.64	202.37	21.78
235.08	240.22	168.96	181.42	27.66
264.96	255.52	185.94	201.28	26.32
262.4	325.91	198.4	280.76	27.91
250.52	329.13	201.41	272.44	18.98
211.26	284.85	155.35	227.63	24.47
256.55	330.83	194.27	290.24	14.89

Nota: Todas las mediciones fueron realizadas en milimicras (μm), mediante el apoyo de un circuito cerrado, asistido por un microscopio compuesto y una computadora personal con un Software especial: UTHSCSA Image Tool para Windows versión 1.28; el cual fue calibrado para medir en milimicras, teniendo como medida de referencia a una distancia conocida de 1 micrometro.

BIBLIOTECA DIVISION DE CIENCIAS FORESTALES

ANEXO 12. Medición de picnidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro *Fusicoccum spp* en varetas de *Eucalyptus camaldulensis* inoculadas artificialmente. Chapingo, México. 1999.

ALTURA EXTERIOR	ANCHO EXTERIOR	ALTURA INTERIOR	ANCHO INTERIOR	GROSOR DE PARED
201.38	300.65	170.64	257.75	22.75
251.74	352.44	176.09	310.39	24.58
237.91	398.44	174.7	346.14	27.07
240.43	385.3	176.35	344.04	25.56
172.05	360.22	107.19	318.83	24.74
240.4	327.18	162.89	279.77	20.29
264.96	351.54	192.98	300.06	27.83
231.28	307.6	190.46	272.45	19.43
185.53	317.48	138.97	266.33	24.89
207.96	301.24	143.82	239.69	32.98
237.62	276.89	197.79	210.91	31.34
198.45	303.19	162.01	233.36	26.43
256.92	361.75	185.3	315.86	27.28
192.1	292.04	158.27	235.56	24.35
186.51	364.65	141.14	318.09	26.07
243.71	317.31	194.68	269.67	17.6
243.34	338.17	188.88	288.6	30.23
237.73	270.59	174.11	240.43	20.29
224.24	353.36	136.61	307.5	21.99
274.81	321.92	193.66	272.55	24.04
221.13	359.05	167.87	312.52	26.07
188.52	314.94	139.35	252.77	28.89
169.8	306.81	138.22	256.56	17.38
210.8	354.36	157.44	311.7	19.24
172.28	288.06	137.99	251.49	20.01
213.9	352.25	159.66	290.52	27.83
293.28	332.43	243.43	289.76	17.38
249.2	323.8	215.51	278.27	23.4
223.22	281.18	164.65	246.61	35.04
214.11	279.25	170.24	248.11	32.25
194.82	290.55	156.36	252.84	19.82
185.13	286.82	154.71	246.1	20.66
218.41	290.38	165.01	255.55	17.49
188.28	276.41	141.28	254.72	16.72
201.87	244.64	163.55	212.06	24.35
214.71	439.85	162.33	408.68	21.38
205.43	248.34	153.13	209.05	19.14
201.35	279.22	165.48	248.07	15.18
240.43	381.64	192.18	340.67	25.93
225.65	355.64	180.07	334.38	32.05

270.54	406.57	215.61	353.19	28.89
ALTURA EXTERIOR	ANCHO EXTERIOR	ALTURA INTERIOR	ANCHO INTERIOR	GROSOR DE PARED
198.4	244.33	147.76	192.18	24.89
183.99	335.08	149.35	314.64	15.67
283.11	291.25	228.14	245.81	15.58
154.04	313.02	112.99	273.82	16.49
233.22	346.8	174.11	310.65	22.16
154.32	308.58	115.19	272.98	17.92
300.08	154.8	263.93	126.75	19.43
176.52	205.72	132.84	158.58	18.44
211.84	295.41	178.8	246.82	20.93

Nota: Todas las mediciones fueron realizadas en milimicras (μm), mediante el apoyo de un circuito cerrado, asistido por un microscopio compuesto y una computadora personal con un Software especial: UTHSCSA Image Tool para Windows versión 1.28; el cual fue calibrado para medir en milimicras, teniendo como medida de referencia a una distancia conocida de 1 micrometro.

ANEXO 13. Medición de conidios obtenidos de material colectado en forma original e infectado con el cancro *Fusicoccum spp* en *Eucalyptus camaldulensis* en la Reserva Natural Xochitla. Tepotzotlán, Edo. de México. 1999.

ALTURA	ANCHO	ALTURA	ANCHO	ALTURA	ANCHO
22.08	5.53	20.02	4.39	21.25	4.63
22.24	6.01	21.45	4.87	21.15	4.36
20.18	4.62	24.21	5.06	21.97	4.01
16.82	4.87	20.22	4.87	20.67	5.06
16.23	5.55	21.44	4.65	19.97	4.87
21.14	4.84	19.52	5.08	20.95	4.39
17.7	4.59	21.79	5.13	21.66	5.06
19.41	5.13	23.65	4.59	18.19	5.39
15.03	4.11	24.15	4.62	18.25	4.87
18.51	4.59	20.94	5.16	20.79	4.73
16.78	5.06	19.97	4.73	20.65	4.73
17.32	4.73	24.66	4.62	20.23	5.08
18.08	5.13	22.08	6.27		
19.3	4.59	23.65	4.14		
16.84	4.42	21.5	5.27		
16.99	4.52	18.93	5.85		
14.78	4.87	22.5	5.74		
18.88	4.36	22.15	5.08		
24.84	5.16	21.07	4.73		
22.87	5.08	22.45	4.36		
24.81	7.26	22.27	4.91		
19.82	5.85	22.74	5.06		
18.67	4.14	22.5	4.59		
22.17	4.01	22.5	5.13		
21.83	4.42	22.74	5.55		
21.1	4.35	22.35	5.13		
22.45	5.24	22.59	5.13		
21.95	5.16	21.57	5.15		
20.85	6.18	22.1	4.84		
20.77	6.53	21.59	4.73		
16.38	5.29	22.36	4.42		
24.52	4.87	22.54	5.55		
20.31	4.39	22.36	4.42		

Nota: Todas las mediciones fueron realizadas en milimicras (μm), mediante el apoyo de un circuito cerrado, asistido por un microscopio compuesto y una computadora personal con un Software especial: UTHSCSA Image Tool para Windows versión 1.28; el cual fue calibrado para medir en milimicras, teniendo como medida de referencia a una distancia conocida de 1 micrometro.

ANEXO 14. Medición de conidios obtenidos de los aislamientos y purificaciones del cancro *Fusicoccum* spp, crecidos artificialmente en el medio de cultivo PDA (Papa-Dextrosa-Agar). Chapingo, México. 1999.

ALTURA	ANCHO	ALTURA	ANCHO	ALTURA	ANCHO
22.87	5.81	22.23	6.37	22.35	5.11
21.48	5.86	21.86	6.85	22.97	5.11
21.41	6.55	23.82	6.37	23.49	6.01
19.18	5.94	26.13	7.23	25.34	5.78
18.65	5.52	22.87	6.71	24.76	5.78
20.87	5.86	26.74	6.91	24.69	6.37
18.24	4.98	22.15	6.85	22.09	6.85
19.75	5.94	23.8	6.85	24.65	6.91
22.65	5.86	26.74	5.54	24.21	6.08
21.68	6.25	21.49	6.71	24.02	6.01
17.95	5.26	26.08	6.08	26.08	6.71
22.79	5.94	24.21	6.85	23.82	6.37
21.44	4.37	24.21	5.54	25.92	6.71
21.61	6.55	22.65	6.37	23.74	5.37
21.94	5.26	23.49	6.01	22.41	5.37
23.51	6.9	24.76	6.65	24.69	6.37
22.29	6.55	23.74	6.08	22.41	4.75
22.54	6.37	21.49	6.71	23.11	5.78
22.87	6.71	23.82	6.91	20.91	5.37
24.64	6.37	24.51	6.37	23.11	5.78
22.57	7.66	24.02	5.78	23.11	5.78
26.33	6.37	21.42	6.71	22.99	6.08
24.41	6.01	25.29	6.71	23.36	6.08
20.98	5.7	23.36	7.23	25.57	6.11
24.98	7.83	22.83	5.78	23.74	5.7
22.95	6.01	23.45	5.11	24.51	7.42
17.92	5.54	21.34	6.01	24.21	5.54
22.17	7.42	26.86	6.08	23.51	5.54
17.66	6.08	23.12	6.37	24.41	5.78
22.97	6.65	21.23	5.54	22.99	6.08
20.3	5.78	23.82	6.91		
20.03	5.54	24.51	6.71		
22.57	6.91	24.02	5.11		

Nota: Todas las mediciones fueron realizadas en milimicras (μm), mediante el apoyo de un circuito cerrado, asistido por un microscopio compuesto y una computadora personal con un Software especial: UTHSCSA Image Tool para Windows versión 1.28; el cual fue calibrado para medir en milimicras, teniendo como medida de referencia a una distancia conocida de 1 micrometro.

ANEXO 15. Medición de conidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro *Fusicoccum spp* en plantas de *Eucalyptus camaldulensis* inoculadas artificialmente. Chapingo, México. 1999.

ALTURA	ANCHO	ALTURA	ANCHO	ALTURA	ANCHO
22.32	7.2	22.76	5.48	23.95	6.19
20.96	5.93	21.76	7.2	23.41	6.83
23.5	6.11	21.47	6.11	23.25	7.12
22.32	5.76	21.43	6.11	23.25	6.19
22.41	7.2	22.53	5.48	22.48	7.12
21.56	6.44	23.76	7.2	19.58	6.83
21.59	7.2	22.6	7.34	21.47	7.12
22.41	6.52	22.23	6.44	23.61	7.2
23.07	7.2	22.41	7.12	19.58	5.93
22.32	7.2	21.47	5.98	21.97	7.2
21.92	7.35	22.33	6.52	22.53	6.44
23.76	7.2	23.72	6.19	19.91	5.48
23.95	6.11	23.21	7.2	22.32	6.52
24.51	7.2	20.98	6.83	22.76	7.2
23.85	6.52	23.43	6.11	20.61	5.93
20.98	6.44	20.61	5.98	21.47	6.19
23.61	7.2	21.25	7.2	19.76	6.75
21.78	6.52	21.97	6.19	20.2	5.76
23.51	7.12	23.21	6.19	21.92	7.2
23.78	6.83	21.76	7.12	22.32	6.52
22.76	6.19	20.76	7.2	21.56	6.44
22.02	6.83	22.87	7.18	19.76	7.2
23.71	7.2	23.5	6.44	23.78	6.75
23.21	6.52	21.76	6.19	20.88	6.52
21.76	7.2	23.61	6.19	23.85	6.83
22.41	7.12	22.48	6.11	22.76	6.53
20.38	6.11	20.99	6.44	22.87	6.52
21.47	5.93	23.71	7.2	23.43	7.2
21.25	6.83	23.95	6.11	22.32	7.2
23.82	6.83	22.53	5.48	22.23	6.44
23.43	6.52	23.82	5.48	19.76	7.2
23.43	6.11	20.2	6.74	20.2	7.2
22.53	5.93	21.97	6.19	21.18	6.52
				21.56	6.83

Nota: Todas las mediciones fueron realizadas en milimicras (μm), mediante el apoyo de un circuito cerrado, asistido por un microscopio compuesto y una computadora personal con un Software especial: UTHSCSA Image Tool para Windows versión 1.28; el cual fue calibrado para medir en milimicras, teniendo como medida de referencia a una distancia conocida de 1 micrometro.

ANEXO 16. Medición de conidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro *Fusicoccum spp* en varetas de *Eucalyptus camaldulensis* inoculadas artificialmente. Chapingo, México. 1999.

ALTURA	ANCHO	ALTURA	ANCHO	ALTURA	ANCHO
19.12	5.93	20.48	6.83	20.98	6.83
24.42	7.12	18.12	6.52	18.77	7.21
20.15	5.09	17.3	5.93	22.14	7.22
20.98	5.93	21.4	6.75	18.35	6.52
22.87	5.48	21.25	6.75	17.09	5.29
18.35	6.44	19.12	5.98	20.38	7.12
19.12	7.24	18.3	6.52	19.36	7.2
21.59	6.19	20.61	6.44	22.32	5.93
18.57	7.41	20.61	6.75	20.28	6.19
18.31	7.12	18.35	6.52	18.71	6.52
17.8	7.34	21.47	6.58	16.41	5.48
17.94	6.52	19.66	5.93	17.33	7.12
19.44	6.52	20.98	6.19	19.76	7.2
20.61	6.44	20.76	6.82	21.56	6.19
20.96	7.34	17.38	6.19	18.03	6.44
17.58	6.52	19.99	6.11	17.77	6.44
18.57	6.11	21.23	6.83	17.09	6.44
19.99	6.44	19.12	6.83	19.58	5.76
19.76	5.93	20.61	6.44	17.39	7.2
18.71	6.52	19.44	7.2	16.57	6.83
20.2	7.25	20.58	5.38	19.44	6.52
18.35	6.52	20.46	6.11	17.33	7.2
17.09	5.93	17.39	6.19	21.18	6.52
19.44	7.2	21.32	5.76	20.58	6.19
20.48	5.93	21.64	6.52	19.36	5.39
20.35	6.52	17.44	5.76	21.76	6.11
18.35	6.52	18.12	6.52	18.71	5.39
19.58	6.11	20.98	5.76	17.39	5.09
21.4	5.93	18.71	6.95	18.77	5.93
20.28	6.44	18.35	6.52	17.77	6.44
17.27	6.52	19.55	5.76	19.99	6.19
17.33	7.24	19.44	7.2	19.76	7.2
21.25	7.2	20.2	7.2	22.32	6.52
				19.76	7.2

Nota: Todas las mediciones fueron realizadas en milimicras (μm), mediante el apoyo de un circuito cerrado, asistido por un microscopio compuesto y una computadora personal con un Software especial: UTHSCSA Image Tool para Windows versión 1.28; el cual fue calibrado para medir en milimicras, teniendo como medida de referencia a una distancia conocida de 1 micrometro.

ANEXO 17. Medición de picnidios obtenidos de material colectado en forma original e infectado con el cancro *Botryodiplodia theobromae* en *Eucalyptus camaldulensis* en las plantaciones industriales mexicanas de Acajoneta, Nayarit. 1999.

EXTERIOR		INTERIOR		GROSOR DE PARED
ALTURA (um)	ANCHO (um)	ALTURA (um)	ANCHO (um)	
203.55	153.31	178.96	142.31	38.25
207.72	151.16	177.61	143.44	38.64
233.26	215.22	187.38	193.19	32.15
249.01	250.86	198.76	203.36	21.25
216.05	273.57	149.51	234.27	27.66
203.08	290.59	152.18	240.87	21.25
231.14	184.43	180.25	153.35	21.25
229.25	191.65	183.21	150.89	23.9
231.55	285.36	182.68	211.85	34.99
235.86	279.83	180.11	212.73	36.3
247.29	227.97	173.88	158.42	40.57
237.66	216.41	172.04	162.33	32.84
187.99	255.9	154.52	201.05	24.21
190.12	254.81	153.61	199.85	19.13
234.27	231.4	180.46	182.72	27.66
219.77	225.78	187.67	177.79	27.05
249.49	324.59	210.59	258.88	25.78
241.61	330.36	206.72	255.77	26.84
245.63	268.64	181.76	226.03	27.32
243.43	270.48	185.47	224.44	23.9
231.55	203.84	189.3	170.58	27.32
223.18	209.31	182.31	171.17	21.6
221.37	281.03	178.99	227.97	27.32
220.79	296.69	180.04	232.35	23.18
199.47	232.63	144.95	181.97	29.55
220.51	252.64	186.8	216.04	23.58
220.79	252.93	184.54	211.44	26.91
239.56	367.09	202.86	304.35	19.32
226.03	359.86	206.72	305.98	19.13
214.48	189.54	170.05	164.21	19.7
207.9	234.91	175.56	194.04	19.13
236.37	240.75	189.23	205.77	24.59
249.17	287.91	200.48	237.75	23.26
228.2	291.18	190.49	238.91	23.58
268.54	338.09	227.97	276.43	26.28
180.04	310.12	154.55	260.41	24.44

EXTERIOR		INTERIOR		
ALTURA (μm)	ANCHO (μm)	ALTURA (μm)	ANCHO (μm)	GROSOR DE PARED
184.33	306.57	155.38	255.81	19.42
225.41	231.55	175.2	185.81	23.58
221.32	206.28	184.67	132.67	20.54
284.23	258.81	246.14	206.85	29.49
183.38	179.68	146.62	145.45	19.32
191.06	183.38	146.94	152.34	26.84
195.93	177.12	162.95	156.01	19.13
202.48	169.42	155.18	134.63	20.81
179.71	217.72	124.61	173.66	32.79
273.88	241.8	213.96	195.47	29.43
259.23	240.75	213.68	181.64	25.11
262.41	277.72	224.1	228.63	19.03
261.21	260.95	214.06	226.17	24.74
216.55	309.04	172.8	258.22	21.6

Nota: Todas las mediciones fueron realizadas en milimicras (μm), mediante el apoyo de un circuito cerrado, asistido por un microscopio compuesto y una computadora personal con un Software especial: UTHSCSA Image Tool para Windows versión 1.28; el cual fue calibrado para medir en milimicras, teniendo como medida de referencia a una distancia conocida de 1 micrometro.

ANEXO 18. Medición de picnidios obtenidos de los aislamientos y purificaciones del cancro *Botryodiplodia theobromae*, crecidos artificialmente en el medio de cultivo PDA (Papa-Dextrosa-Agar). Chapingo, México. 1999.

EXTERIOR		INTERIOR		GROSOR DE PARED
ALTURA (um)	ANCHO (um)	ALTURA (um)	ANCHO (um)	
763.28	342.36	569.01	232.55	60.19
719.9	351.3	368.28	203.83	59.58
773.01	335.5	625.44	207.46	78.09
802.95	391.07	597.93	299.31	49.63
641.28	375.58	523.95	278.29	60.28
817.1	397.17	598.59	266.99	79.76
721.51	293.63	592.28	194.85	59.46
711.22	293.72	627.19	219.17	46.63
835.01	256.4	658.76	187.39	65.13
712.86	282.81	523.76	121.06	74.07
817.07	367.05	583.63	205.81	92.78
641.95	373.53	514.55	257.77	60.28
848.46	326.25	686.55	171.99	70.18
553.86	380.74	415.38	231.46	64.19
779.43	356.09	605.61	219.29	88.89
779.04	370.72	600.62	199.06	79.16
715.61	376.88	483.48	192.84	98.76
899.54	314.99	658.56	185.88	59.67
830.49	375.88	665.69	207.4	67.16
521.19	282.55	440.01	222.21	37.61
482.42	237.28	333.53	143.97	34.92
576.32	379.46	377.91	246.9	59.46

Nota: Todas las mediciones fueron realizadas en milimicras (μm), mediante el apoyo de un circuito cerrado, asistido por un microscopio compuesto y una computadora personal con un Software especial: UTHSCSA Image Tool para Windows versión 1.28; el cual fue calibrado para medir en milimicras, teniendo como medida de referencia a una distancia conocida de 1 micrometro.

ANEXO 19. Medición de picnidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro *Botryodiplodia theobromae* en varetas de *Eucalyptus camaldulensis* inoculadas artificialmente. Chapingo, México. 1999.

EXTERIOR		INTERIOR		GROSOR DE PARED
ALTURA (um)	ANCHO (um)	ALTURA (um)	ANCHO (um)	
314.6	414.7	246.4	286	52.8
245.8	315.7	176.3	249.7	34.7
240.9	313.5	182.6	259.6	23.1
360.8	389.4	262.9	284.9	41.8
382.8	320.1	277.2	233.2	45.65
365.2	344.3	234.3	246.4	47.85
293.7	332.2	215.6	248.6	33.55
303.6	343.2	202.4	247.5	32.45
367.4	397.1	260.7	302.5	33.55
295.9	226.6	233.2	152.9	39.05
343.2	339.9	245.3	243.1	36.3
382.8	348.7	282.7	266.2	50.05
347.6	282.7	267.3	237.6	29.15
240.9	324.5	163.9	268.4	20.9
270.6	218.9	176	123.2	39.05
254.1	279.4	185.9	202.4	33
371.8	393.8	270.6	289.3	44.55
314.6	312.4	213.4	228.8	43.45
323.4	245.3	271.7	207.9	24.2
236.5	223.3	181.5	181.5	31.55
267.3	287.1	188.1	201.3	33.55
323.4	253.1	284.6	224.3	33
260.7	389.4	202.4	325.6	37.95
355.3	435.6	248.6	298.1	53.8

Nota: Todas las mediciones fueron realizadas en milimicras (μm), mediante el apoyo de un circuito cerrado, asistido por un microscopio compuesto y una computadora personal con un Software especial: UTHSCSA Image Tool para Windows versión 1.28; el cual fue calibrado para medir en milimicras, teniendo como medida de referencia a una distancia conocida de 1 micrometro.

ANEXO 20. Medición de picnidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro *Botryodiplodia theobromae* en plantas de *Eucalyptus camaldulensis* inoculadas artificialmente. Chapingo, México. 1999.

EXTERIOR		INTERIOR		GROSOR DE PARED
ALTURA (um)	ANCHO (um)	ALTURA (um)	ANCHO (um)	
193.6	267.3	144.1	245.3	16.5
169.4	299.2	133.1	266.2	17.05
200.2	294.8	133.1	266.2	17.05
277.2	304.7	211.2	233.2	22
159.5	238.7	130.9	202.4	15.95
140.8	184.8	118.8	147.4	14.85
169.4	278.3	141.9	245.3	18.15
157.3	227.7	124.3	195.8	17.6
146.3	217.8	85.8	181.5	22.55
167.2	302.5	134.2	260.7	19.8
203.5	295.9	162.8	246.4	28.05
150.7	245.3	103.4	210.1	26.4
196.9	243.1	143	188.1	25.3
240.9	295.9	174.9	257.4	31.35
160.6	223.3	105.6	185.9	28.05
201.3	320.1	151.8	248.6	33
180.4	236.5	129.8	189.2	23.1
237.6	243.1	198	210.1	24.75
212.3	226.6	174.9	199.1	18.7
182.6	224.4	146.3	184.8	20.9
177.1	245.3	119.9	199.1	26.4
202.4	266.2	168.3	237.6	17.6
167.2	173.8	136.4	138.6	21.45
201.3	240.9	161.7	204.6	16.5
183.7	206.8	146.3	161.7	22
238.7	283.8	199.1	213.4	32.45
247.5	331.1	170.5	266.2	30.8
258.5	336.6	179.3	269.5	37.95
168.3	321.2	119.9	277.2	29.15
213.4	343.2	160.9	303.6	21.45

Nota: Todas las mediciones fueron realizadas en milimicras (μm), mediante el apoyo de un circuito cerrado, asistido por un microscopio compuesto y una computadora personal con un Software especial: UTHSCSA Image Tool para Windows versión 1.28; el cual fue calibrado para medir en milimicras, teniendo como medida de referencia a una distancia conocida de 1 micrometro.

ANEXO 21. Medición de conidios obtenidos de material colectado en forma original e infectado con el cancro *Botryodiplodia theobromae* en *Eucalyptus camaldulensis* en las plantaciones industriales mexicanas de Acaponeta, Nayarit. 1999.

LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO
22.32	12.11	24.21	13.84	26.59	13.74
21.62	12.72	23.53	13.17	26.34	12.46
24.47	13.17	23.27	12.76	23.1	13.84
20.58	11.75	25.45	14.45	24.21	12.11
22.53	11.16	24.78	14.01	25.41	11.91
21.13	12.87	27.48	11.75	27.68	11.79
23.49	11.75	27.01	13.17	21.47	12.26
24.92	13.25	25.26	14.55	22.7	13.7
24.55	13.7	25.39	11.83	25.69	13.31
24.55	11.75	26.45	11.95	25.69	13.17
25.62	13.17	22.83	11.75	23.1	13.84
24.53	11.83	22.32	11.91	26.45	13.91
21.73	12.53	23.9	14.12	22.91	12.38
24.21	13.06	24.47	13.91	23.57	13.31
26.12	13.06	24.47	12.53	26.35	12.38
25.75	12.11	23.9	13.13	22.51	13.7
23.82	14.01	21.73	12.53	23.69	11.79
21.67	12.72	26.53	12.72	25.09	13.06
22.91	13.63	24.78	12.87	25.62	12.46
24.53	14.55	23.46	13.7	23.04	11.79
23.51	12.72	22	13.21	25.86	12.76
24.95	13.91	22.53	12.53	26.35	12.53
22.32	12.53	24	13.31	26.35	13.31
25.69	13.31	23.82	12.11	24.47	12.72
22.7	11.75	25.26	12.53	27.3	12.11
24.47	14.25	24.7	14.12	22.32	12.38
25.26	12.53	22.34	14.55	24.55	11.46
25.92	11.91	24	11.16	22.7	12.76
26.35	13.84	25.26	13.31	21.62	12.72
24.08	13.63	24.95	13.13	21.38	12.72
22.85	13.84	24.76	12.38	26.43	13.7
24.92	13.17	26.35	14.97	25.26	13.31
21.08	12.38	23.82	13.74	25.45	12.72
				24.23	13.17

Nota: Todas las mediciones fueron realizadas en milimicras (μm), mediante el apoyo de un circuito cerrado, asistido por un microscopio compuesto y una computadora personal con un Software especial: UTHSCSA Image Tool para Windows versión 1.28; el cual fue calibrado para medir en milimicras, teniendo como medida de referencia a una distancia conocida de 1 micrometro.

ANEXO 22. Medición de conidios obtenidos de los aislamientos y purificaciones del cancro *Botryodiplodia theobromae*, crecidos artificialmente en el medio de cultivo PDA (Papa-Dextrosa-Agar). Chapingo, México. 1999.

LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO
22.3	12.19	22.15	14.56	21.55	14.62
20.62	13.46	22.62	13.82	23.15	13.14
23.4	13.3	22.46	14.97	24.33	14.8
23.47	11.84	22.79	13.63	23.86	13.82
23.68	13.04	23.47	13.04	21.03	13
23.86	13.4	21.93	13.3	21.18	13.24
22.77	13.24	22.64	13.49	23.62	14.29
23.92	14.29	24.4	13.51	25.15	11.91
21.53	12.2	24.33	12.31	23.86	12.56
22.54	13.1	25.2	13.82		
22.62	13.5	21.85	13.29		
21.71	14.07	26.02	14.04		
21.36	13.82	22.77	12.27		
21.55	13.1	23.15	13.4		
22.19	13.82	23.17	14.04		
23.17	13.91	22.46	13.19		
23.86	13.3	21.53	12.17		
23.99	12.17	20.78	14.53		
21.84	14.04	23.17	13.24		
22.54	11.73	22.66	14.56		
22.25	13.04	22.32	13.3		
23.82	13.24	22.5	14.53		
20.53	13.91	22.55	13.91		
20.93	13.4	21.53	13.1		
24.92	15.58	21.2	13.24		
24.4	14.04	21.55	14.04		
24.62	13.14	27.14	13.1		
22.03	12.73	27.33	13.3		
24.49	12.59	23.92	13.5		
23.11	14.53	22.32	14.29		
24.06	15.69	22.54	13.24		
21.34	14.62	24.62	12.17		
22.5	11.37	25.34	14.04		

Nota: Todas las mediciones fueron realizadas en milimicras (μm), mediante el apoyo de un circuito cerrado, asistido por un microscopio compuesto y una computadora personal con un Software especial: UTHSCSA Image Tool para Windows versión 1.28; el cual fue calibrado para medir en milimicras, teniendo como medida de referencia a una distancia conocida de 1 micrometro.

ANEXO 23. Medición de conidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro *Botryodiplodia theobromae* en varetas de *Eucalyptus camaldulensis* inoculadas artificialmente. Chapingo, México. 1999.

LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO
23.1	12.1	24.83	13.16	25.92	14.17
24.2	13.2	24.19	13.25	21.78	11.16
26.4	14.3	27.66	14.53	21.78	12.48
26.4	12.1	25.03	13.16	22.48	13.55
25.54	12.2	24.19	13.03	22.48	14.89
19.54	11.84	24.97	13.16	24.97	14.17
20.78	14.04	26.45	13.42	22.64	13.16
23.15	14.53	23.32	14.17	27.91	14.89
23.86	13.3	25.31	11.77	24.97	12.48
25.31	12.48	21.22	12.17	20.13	14.53
25.31	13.55	23.32	12.48	24.83	13.55
22.64	13.16	24.19	13.55	20.47	11.32
25.92	11.77	28.99	17.42	23.32	13.42
23.32	13.42	22.71	14.72	25.92	13.55
25.31	14.53	26.64	13.03	20.55	13.03
21.05	14.53	22.64	12.87	20.13	13.55
21.7	11.92	23.83	14.53	24.26	14.53
24.97	13.55	20.55	11.16	22.64	11.32
26.32	13.16	24.83	13.16	23.68	15.79
25.85	14.17	22.41	13.03	23.32	13.42
26.12	14.89	21.78	11.77	20.8	13.16
24.48	13.16	20.13	12.48	23.68	14.53
26.45	14.53	22.71	13.42	22.41	15.79
22.71	14.17	23.68	14.53	22.48	14.17
26.64	14.84	22.41	15.79	20.04	11.77
25.03	13.42	23.83	16.01	29.13	16.01
26.45	14.53	24.26	11.77	20.55	13.03
24.83	13.85	22.41	11.32	27.47	14.17
25.05	14.39	23.54	13.16	24.83	11.32
27.05	13.03	20.8	14.17	21.7	13.42
24.48	11.77	26.64	14.17	25.92	13.42
27.47	13.42	20.8	13.03	22.48	11.77
23.83	15.29	29.13	14.53	24.26	13.03
				24.19	14.17

Nota: Todas las mediciones fueron realizadas en milimicras (μm), mediante el apoyo de un circuito cerrado, asistido por un microscopio compuesto y una computadora personal con un Software especial: UTHSCSA Image Tool para Windows versión 1.28; el cual fue calibrado para medir en milimicras, teniendo como medida de referencia a una distancia conocida de 1 micrometro.

ANEXO 24. Medición de conidios obtenidos de tejidos infectados con el cancro *Botryodiplodia theobromae* en plantas de *Eucalyptus camaldulensis* inoculadas artificialmente. Chapingo, México. 1999.

LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO	LARGO	ANCHO
23.23	13.93	23.69	14.04	22.17	14.78
23.69	13.6	22.3	14.04	21.19	14.04
23.69	12.68	23.43	13.6	23.43	13.6
24.63	13.6	22.3	13.6	21.26	13.26
19.86	12.31	22.71	13.26	21.82	14.04
24.38	12.19	23.36	12.56	24.26	13.26
21.19	12.19	22.91	14.04	22.64	11.68
22.91	12.31	24.44	12.19	22.3	14.78
23.43	12.31	23.36	14.04	26.12	12.19
19.47	12.19	23.69	14.78	22.71	12.19
22.71	13.6	24.26	14.88	23.23	11.68
20.97	12.31	22.64	12.19	23.69	12.31
22.03	12.68	20.9	13.93	25.71	11.68
23.69	12.56	24.63	13.6	22.3	13.6
20.97	12.31	21.04	12.56	24.38	13.93
22.64	12.19	23.69	14.36	20.97	13.6
21.26	12.31	22.3	13.6	24.63	12.68
22.71	12.56	22.3	13.6	24.75	12.31
26.12	12.19	20.97	12.68	24.75	11.15
20.97	12.56	24.26	13.26	20.38	14.36
22.91	14.36	24.75	14.78	22.91	12.19
24.19	13.6	23.36	13.26	23.23	12.31
23.36	12.56	21.82	13.26	20.31	13.6
24.75	14.98	22.17	14.98	23.36	13.26
24.75	13.6	21.26	14.04	24.75	13.6
22.64	12.19	22.3	13.6	23.43	13.6
22.03	12.68	23.43	12.31	24.38	12.19
24.19	14.98	22.64	12.68	22.3	14.04
22.71	12.19	24.75	14.78	23.23	12.31
20.97	14.04	22.71	12.19	22.3	12.56
22.3	12.31	24.63	12.19	21.26	12.56
21.82	14.04	20.97	13.6	22.64	12.19
24.44	12.19	21.82	14.04	24.63	13.6
				22.3	14.04
				21.19	12.19

Nota: Todas las mediciones fueron realizadas en milimicras (μm), mediante el apoyo de un circuito cerrado, asistido por un microscopio compuesto y una computadora personal con un Software especial: UTHSCSA Image Tool para Windows versión 1.28; el cual fue calibrado para medir en milimicras, teniendo como medida de referencia a una distancia conocida de 1 micrometro.

ANEXO 25. Programa SAS utilizado para realizar el análisis de varianza y la prueba de comparaciones múltiples de Tukey a los diferentes tamaños de conidios obtenidos de los diferentes hospedantes: Campo; Medio de cultivo; Varetas y árboles de *Eucalyptus camaldulensis* inoculados en laboratorio e invernadero, con los canchros: *Cryphonectria*, *Botryodiplodia*, *Fusicoccum*. Chapingo, México; 2000.

```

1 8
2 8
3 8

```

```

data conid;
  input HONGO $ HOSPED $ LARGO ANCHO;
datalines;

```

```

B    C    24.47  14.25
B    M    22.3   12.19
B    V    25.03  13.42
B    P    22.64  12.19
C    C    2.91   1.38
C    M    3.69   1.72
C    V    3.94   1.66
C    P    3.2    1.6
.    .    .      .
.    .    .      .
.    .    .      .
.    .    .      .
F    P    22.32  7.2

```

```

proc sort;
by hongo;
run;
proc glm;
by hongo;
classes HOSPED;
model LARGO ANCHO=HOSPED;
means hosped/tukey;
run;

```


ANEXO 26. Programa SAS utilizado para realizar el análisis de varianza y la prueba de comparaciones múltiples de Tukey a los diferentes tamaños de picnidios obtenidos en los diferentes hospedantes: Campo; Medio de cultivo; Varetas y árboles de *Eucalyptus camaldulensis* inoculados en laboratorio e invernadero, con los canchros: *Cryphonectria*, *Botryodiplodia*, *Fusicoccum*. Chapingo, México; 2000.

```

;
;
;
data picnid;
input HONGO $ HOSPED $ ALTURA ANCHO GRPARED;
datalines;

```

B	C	226.03	359.86	19.13
B	M	763.28	342.36	60.19
B	V	314.6	414.7	52.8
B	P	193.6	267.3	16.5
C	C	1358.69	261.22	49.63
C	M	310.65	257.53	34.3
C	V	311.22	167.22	23.69
C	P	340.71	409.72	36.28
.	.	.	.	.
.	.	.	.	.
.	.	.	.	.
F	P	233.5	343.16	27.26

```

proc sort;
by hongo;
proc glm;
by hongo;
classes HOSPED;
model ALTURA ANCHO GRPARED=hosped;
means hosped/tukey;
run;

```

```
data cancro;
input CANCRO $ METODO $ PARTE $ REPET avanles;
datalines;
B      I      A      1      13.862
B      I      A      1      7.1184
B      I      A      1      23.4796
B      I      A      1      2.28
B      I      A      1      1.92
B      I      A      1      1.56
B      I      A      1      1.56
B      I      A      1      1.872
B      I      A      1      1.248
B      I      A      1      0.6242
B      I      A      1      0.936
B      I      A      1      0.781
.      .      .      .      .
.      .      .      .      .
.      .      .      .      .
T      P      B      3
T      P      B      3
T      P      B      3
T      P      B      3
T      P      B      3
T      P      B      3
T      P      B      3
T      P      B      3
T      P      B      3
T      P      B      3
T      P      B      3
proc sort;
by cancro;
run;
proc anova;
by cancro;
classes cancro METODO parte repet;
model Avanles =CANCRO METODO parte cancro*metodo cancro*parte
metodo*parte cancro*metodo*parte;
means cancro metodo parte /tukey; run;
```

ANEXO 28. Programa SAS utilizado para realizar el análisis de varianza a los índices de lesión obtenidos para los tres cancros, dos métodos de inoculación, dos partes inoculadas y tres repeticiones, en los árboles de eucalipto inoculados en condiciones de invernadero. Chapingo, México. 1999.

```
data cancro;
input cancro $ metodo $ parte $ repet avances;
datalines;
B      I      A      1      13.862
B      I      A      1      7.1184
B      I      A      1      23.4796
B      I      A      1      2.28
B      I      A      1      1.92
B      I      A      1      1.56
B      I      A      1      1.56
B      I      A      1      1.872
B      I      A      1      1.248
B      I      A      1      0.6242
B      I      A      1      0.936
B      I      A      1      0.781
.      .      .      .      .
.      .      .      .      .
.      .      .      .      .
T      P      B      3
T      P      B      3
T      P      B      3
T      P      B      3
T      P      B      3
T      P      B      3
T      P      B      3
T      P      B      3
T      P      B      3
proc sort;
by cancro;
run;
proc anova;
/* by cancro; */
classes cancro METODO parte repet;
model Avances =CANCRO METODO parte cancro*metodo cancro*parte
metodo*parte cancro*metodo*parte;
means cancro metodo parte /tukey;
run;
```


ANEXO 29. Programa SAS utilizado para realizar el análisis de varianza por cancro inoculado y la prueba de comparaciones múltiples de Tukey para los índices de lesión obtenidos en las varetas de *Eucalyptus camaldulensis* inoculadas con los cancos: *Cryphonectria*, *Botryodiplodia*, *Fusicoccum* y un testigo. Chapingo, México; 2000.

```
data varetas;
input CANCRO $ METODO $ repet avances;
datalines;
B   I   1   2.184
B   I   1   1.533
B   I   1   7.1714
B   I   1   7.8541
B   I   1   0.3825
.   .   .
.   .   .
.   .   .
T   P   5
T   P   5
T   P   5
T   P   5
T   P   5
T   P   5
proc sort;
by cancro;
run;
proc anova;
by cancro;
classes cancro METODO repet;
model Avances =CANCRO METODO cancro*metodo;
means cancro metodo/tukey;
run;
```

ANEXO 30. Programa SAS utilizado para realizar el análisis de varianza por método de inoculación y la prueba de comparaciones múltiples de Tukey a los índices de lesión obtenidos en las varetas de *Eucalyptus camaldulensis* inoculadas con los cancrios: *Cryphonectria*, *Botryodiplodia*, *Fusicoccum* y un testigo. Chapingo, México; 2000.

```
data varetas;
input CANCRO $ METODO $ repet avances;
datalines;
    B      I      1      2.184
    B      I      1      1.533
    B      I      1      7.1714
    B      I      1      7.8541
    B      I      1      0.3825
    .      .      .      .
    .      .      .      .
    .      .      .      .
    .      .      .      .
    .      .      .      .
    T      P      5
    T      P      5
    T      P      5
    T      P      5
    T      P      5
* proc print;
run;
proc sort;
by metodo;
run;
proc anova;
by metodo;
classes CANCRO METODO repet;
model Avances =CANCRO METODO cancro*metodo;
means cancro metodo/tukey;
run;
```