

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**COMPORTAMIENTO DE LA DESCARGA DE ASCOSPORAS DE *VENTURIA INAEQUALIS*
EN LAS CONDICIONES DE PRODUCCIÓN DE URUGUAY**

por

Erica MARTÍNEZ FRÍAS

TESIS presentada como uno de los
requisitos para obtener el título de Magíster
en Ciencias Agrarias,
Opción Ciencias Vegetales

MONTEVIDEO
URUGUAY
diciembre 2019

Tesis aprobada por el tribunal integrado por el Ing. Agr. (MSc.) Vivienne Gepp, el Ing. Agr. (PhD) Marciel Stadnik y la Ing. Agr. (PhD) Carolina Leoni, el 3 de diciembre de 2019. Autora: Ing. Agr. Erica Martínez Frías. Director Dr. Ing. Agr. Pedro Mondino, Co-directora Dra. Ing. Agr. Sandra Alaniz.

AGRADECIMIENTOS

Principalmente a los directores del presente trabajo, el Dr. Ing. Agr. Pedro Mondino y la Dra. Ing. Agr. Sandra Alaniz, por su gran ayuda, paciencia y dedicación.

A las compañeras y compañeros del laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agronomía, por los buenos momentos compartidos y por toda la ayuda brindada.

A los integrantes del tribunal por sus importantes aportes a este trabajo.

A mi familia y amigos por todo el apoyo.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN.....	VI
SUMMARY.....	VII
1. Introducción General.....	1
2. Efecto de la luz y eventos sucesivos de lluvias sobre la descarga de ascosporas de <i>Venturia Inaequalis</i>.....	10
Resumen.....	11
Summary.....	12
Introducción.....	13
Materiales y Métodos.....	16
Resultados	18
Discusión.....	22
Bibliografía.....	24
3. Caracterización de la descarga de ascosporas de <i>Venturia inaequalis</i> en las condiciones de producción de Uruguay.....	29
Resumen.....	30
Summary.....	31
Introducción.....	32
Materiales y Métodos.....	34
Resultados.....	36
Discusión	44
Bibliografía.....	48
4. Discusión general.....	53
5. Bibliografía general.....	55
6. Anexos	59

Anexo 1: Eventos de descargas de ascoporas en los años 2013 y 2014.....	59
Anexo 2: Primer y último aviso del sistema de alarma Servicio de Protección Agrícola del MGAP en los años 2013 y 2014.....	62
Anexo 3: Índice de cuadros y figuras.....	64

RESUMEN

La sarna del manzano ocasionada por *Venturia inaequalis* es la enfermedad de mayor importancia en Uruguay y en la mayoría de las regiones productoras de manzana con clima húmedo. Su control se basa en el uso de fungicidas preventivos anticipándose a los periodos de infección, realizándose aplicaciones curativas cuando no fue posible prever la infección. Las ascosporas se producen en pseudotecios en las hojas caídas al suelo en la temporada anterior, madurando escalonadamente desde el inicio de la brotación de los manzanos hasta mediados de diciembre, liberándose cada vez que las hojas se mojan. No se conocen trabajos que indiquen que tiempo debe transcurrir entre eventos de liberación para que la acumulación de ascosporas maduras sea significativa. Es sabido que la luz influye favoreciendo la liberación, sin embargo, existe información contradictoria en referencia a la existencia o ausencia de liberación nocturna. Debido a esta falta de información se realizan aplicaciones cuando ocurren eventos consecutivos de lluvias y cuando ocurren eventos nocturnos, las que podrían evitarse en caso de constatarse la ausencia de liberación en esas situaciones. Los objetivos de este trabajo fueron conocer el comportamiento de descargas de ascosporas de *V. inaequalis* en días sucesivos y en horas nocturnas mediante liberaciones forzadas y determinar el comportamiento de la liberación natural de ascosporas en el campo. La liberación de ascosporas presentó un pico máximo en la primera lluvia forzada y fue disminuyendo en los días siguientes. Se verificó que existe liberación en horas de la noche. En relación a las liberaciones naturales, en ambos años estudiados el inicio de la descarga coincidió con la brotación de los manzanos, mientras que el final ocurrió a inicios de noviembre, un mes antes de lo indicado por el sistema de alarma en Uruguay. Estos resultados permiten especular con la posibilidad de adelantar el final de las aplicaciones de fungicidas en cada temporada disponiendo de datos reales de la concentración de ascosporas en el aire.

Palabras clave: *Venturia inaequalis*, ascosporas, manzanos, sarna, descarga.

Ascospore discharge behavior of *Venturia inaequalis*, causal agent of apple scabies, under Uruguay's production conditions

SUMMARY

Apple scab caused by *Venturia inaequalis* is the most important disease in Uruguay and in most apple-producing regions with a humid climate. Its control is based on the use of preventive fungicides anticipating periods of infection, curative applications being made when it was not possible to foresee the infection. Ascospores are produced in pseudotecia on the leaves fallen to the ground in the previous season, maturing stepwise from the beginning of the sprouting of apple trees until mid-December, releasing each time the leaves get wet. There are no known works that indicate that time must pass between release events for the accumulation of mature ascospores to be significant. It is known that light influences favoring liberation, however, there is contradictory information regarding the existence or absence of nocturnal liberation. Due to this lack of information, farmers spray when consecutive rain events occur and when night events occur, which could be avoided if the absence of release in those situations is confirmed. The objectives of this work were to study the behavior of ascospore discharges of *V. inaequalis* on successive days and at night by forced releases and determine the behavior of the natural release of ascospores in the field. The release of ascospores showed a maximum with the first wetting and decreased on the following days. It was verified that ascospores are released at night. In relation to natural releases, in both years studied the beginning of the discharge coincided with the sprouting of apple trees, while the end occurred at the beginning of November, one month earlier than indicated by the alarm system in Uruguay. These results allow speculation with the possibility of advancing the end of fungicide applications in each season with real data on the concentration of ascospores in the air.

Keywords: *Venturia inaequalis*, ascospores, apple trees, scab, discharg

CAPITULO 1

INTRODUCCIÓN GENERAL

El cultivo del manzano es el más importante dentro de los frutales de hoja caduca en Uruguay, ocupando el 50% del área dedicada a la producción, seguido de durazneros y perales (Uruguay. MGAP. DIEA, 2016). En nuestro país, como en la mayoría de las regiones templado - húmedas en las que se producen manzanas, la enfermedad más importante que afecta al cultivo es la sarna. Esta enfermedad es ocasionada por el hongo *Venturia inaequalis* (Cooke) G. Winter, y afecta todas las partes verdes de la planta desde la brotación a cosecha (Mondino y Alaniz 2009, Agrios 2005, MacHardy 1996).

Su importancia radica en que afecta directamente la fruta, objetivo de la producción, generando manchas y costras que desmerecen su calidad comercial provocando importantes pérdidas económicas. Por otro lado, las manchas foliares producen mermas en los rendimientos y el debilitamiento de la planta, comprometiendo las futuras cosechas. Cada primavera, la epidemia se inicia con infecciones producidas por ascosporas, que son liberadas al aire en cada evento de lluvia, provenientes de hojas infectadas caídas en el suelo en el otoño anterior. Estas infecciones primarias ocurren durante un período que va desde el inicio de la descarga de ascosporas que coincide con la brotación de los manzanos (primeros días de setiembre), hasta finalizar la primavera. Durante todo este periodo y hasta la caída de hojas pueden ocurrir infecciones secundarias (MacHardy, 1996).

En nuestro país existen condiciones climáticas muy favorables al desarrollo de esta enfermedad. La ocurrencia de temperaturas frescas y lluvias durante la primavera, determinan la ocurrencia de numerosos periodos de infección. Esto lleva a que productores y técnicos deban mantener un estado de atención continua respecto de las condiciones climáticas que puedan favorecer brotes epidémicos (García y Moscardi, 1981).

Históricamente esta enfermedad ha sido controlada mediante la aplicación de fungicidas y en la producción de manzanos en Uruguay, el control químico de la sarna siguió la misma evolución que en el resto del mundo. En base a la información generada por Mills y Laplante (1951), en 1975 se validó y puso en funcionamiento un Sistema de Alarma con el fin de servir de ayuda a productores de manzana y a técnicos asesores de las principales zonas

productoras, Melilla y Juanicó. El servicio del Sistema de Alarma fue desarrollado y brindado a los productores, por el Centro de Investigaciones Agrícolas Alberto Boerger (CIAAB) y en la actualidad por la Dirección General de Servicios Agrícolas del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP). El mismo informa a los agricultores de la ocurrencia de períodos de infección, en función de los registros de las precipitaciones, de las horas de hoja mojada en tiempo real y de la presencia de ascosporas maduras de *V. inaequalis* (García 1998, García y Moscardi 1981, Mills y Laplante 1951).

Con la implementación del Sistema de Alarma se pretendió cambiar la estrategia de manejo de esta enfermedad utilizada hasta ese momento. Los agricultores ahora, contarían con la información precisa de la ocurrencia de cada período de infección y podrían cambiar el manejo preventivo a una estrategia exclusivamente curativa. Este cambio significaba que, en lugar de realizar aplicaciones semanales con fungicidas de contacto, se realizarían aplicaciones con fungicidas penetrantes inmediatamente después de cada periodo de infección. Los momentos en que debían realizarse las aplicaciones serían indicados por la información del Sistema de Alarma. Al limitarse las aplicaciones de fungicidas exclusivamente a aquellos momentos en que realmente habían ocurrido infecciones se podría reducir el número de aplicaciones por temporada. En el año 1981, se difunden resultados de investigación que muestran una reducción considerable en el número de pulverizaciones al implementar esta estrategia de aplicaciones curativas en base a la información del Sistema de Alarma. Los fungicidas con actividad postinfección recomendados para esa estrategia eran dodine (guanidina) benomyl (benzimidazol), metil tiofanato (benzimidazol) y mezcla sulfocálcica (García y Moscardi, 1981).

En las primaveras de Uruguay son frecuentes los eventos de varios días consecutivos de lluvia. En este contexto y sin la protección dada por la aplicación de algún fungicida de contacto, podrían ocurrir infecciones que no siempre lograrían ser controladas totalmente por las aplicaciones curativas. Debido a esto, el uso de la información brindada por el sistema de alarma no tuvo los resultados esperados (García, 1998). En la práctica no se abandonó la estrategia preventiva de aplicaciones periódicas de fungicidas de contacto, sino que se mantuvo, y además fue reforzada con la incorporación de aplicaciones curativas de fungicidas penetrantes. De todos modos, el Sistema de Alarma resultó útil en brindar

información precisa permitiendo optimizar el uso de fungicidas con actividad post infección. La aplicación de estos fungicidas se debería restringir a aquellos momentos en que, estando los montes desprotegidos por una aplicación previa de un fungicida de contacto, se confirmase la ocurrencia de un período de infección. Sin embargo, en la práctica esto tampoco ocurrió, ya que los productores optaron por aplicar fungicidas cada vez que el Sistema de Alarma comunicaba la ocurrencia de un período de infección, sin considerar si sus montes estaban o no protegidos por aplicaciones preventivas. Esto condujo a un uso excesivo de fungicidas para el control de la enfermedad, con un sistema preventivo en base a fungicidas de contacto, reforzado con aplicaciones curativas de fungicidas penetrantes cuando la alarma informaba de la ocurrencia de condiciones para la infección (Alaniz et al., 2003). Esto se realizaba desde el inicio de la brotación de los manzanos hasta mediados de diciembre, fecha en que el Servicio de Alarma informa el fin de las descargas de ascosporas de cada temporada. De ahí en más y hasta la cosecha, se continuaba con aplicaciones periódicas (unas 5 en promedio) de fungicidas de contacto. Estas aplicaciones se realizaban cada vez que era necesario aplicar insecticidas para el control de las principales plagas.

Este uso intensivo de los fungicidas, genera efectos secundarios negativos sobre el medio ambiente, la salud de aplicadores y consumidores, además de incrementar el riesgo de generar resistencia en las poblaciones del hongo (Alaniz et al., 2003). Es así que los problemas asociados al uso de fungicidas, obligaron a racionalizar su uso y reducir el número de aplicaciones, especialmente de aquellos con alto riesgo de generar resistencia, como los pertenecientes al grupo de los inhibidores de la biosíntesis del ergosterol (IBE). Actualmente, los mercados exigen producir minimizando el uso de plaguicidas con el fin de reducir la contaminación del producto final y del ambiente, así como minimizar los riesgos en la salud de aplicadores y consumidores.

Por esta razón, en los últimos años se han abordado diferentes estrategias tendientes a reducir el uso de fungicidas en la producción de manzanas en Uruguay. En este sentido, una de las mayores contribuciones se logró al demostrar que es viable la eliminación de fungicidas durante el verano (Alaniz et al., 2014). Esta reducción, sin embargo, no alcanza a los fungicidas del grupo de los IBE, que son utilizados durante la primavera cuando es necesario recurrir a aplicaciones curativas para controlar a *V. inaequalis*.

La aparición de resistencia práctica de *V. inaequalis* a difenoconazole (IBE) y su posterior confirmación en algunos montes de manzana, constituyó un llamado de atención acerca de la necesidad de minimizar el uso de estos fungicidas (Mondino et al., 2015, Mondino et al., 2014). A partir de que se confirma la aparición de resistencia a los principales fungicidas utilizados para curar infecciones ya establecidas, es que se comienza a implementar una estrategia preventiva en base a la información de los pronósticos meteorológicos. Esta estrategia, plantea realizar las aplicaciones de fungicidas de contacto en las 48 hs previas a cada evento de lluvia, en contraposición de las aplicaciones semanales realizadas hasta el momento. Esta estrategia permitió hacer un uso más eficiente de los fungicidas de contacto, reduciendo el uso de los fungicidas de alto riesgo de generar resistencia (IBE) (Mondino y Alaniz, 2009).

La estrategia actual basada en los pronósticos meteorológicos no elimina completamente la necesidad de realizar aplicaciones curativas. En ocasiones no es posible adelantarse al pronóstico de lluvias por no disponer de personal (domingos o feriados), o por fallas en el pronóstico (ocurrencias de lluvias no pronosticadas) o periodos lluviosos muy prolongados. En estas situaciones los agricultores utilizan la información del Sistema de Alarma para *V. inaequalis* para confirmar si es necesario o no aplicar fungicidas. Disponiendo de esta información, las aplicaciones curativas deberían realizarse exclusivamente cuando el sistema confirma que ha ocurrido un periodo de infección y el monte esta descubierto, evitándose aplicaciones innecesarias.

Sin embargo, el sistema de alarma presenta algunas carencias debidas a la falta de información nacional acerca del comportamiento de la descarga de ascosporas de *V. inaequalis* en nuestras condiciones de producción. Estas carencias podrían estar sobreestimando el número de períodos de infección y como consecuencia induciendo al uso excesivo de fungicidas con fines curativos. En primer lugar, actualmente el sistema de alarma no utiliza mecanismos de detección y/o cuantificación de la presencia de ascosporas en el aire, sino que asume que la presencia de ascosporas maduras en los pseudotecios presentes en las hojas en el suelo, es un indicador de que ha comenzado el período de liberación.

A través de esta técnica las ascosporas son clasificadas en diferentes categorías, como inmaduras, maduras o descargadas en base a su morfología. Los criterios utilizados

para juzgar la etapa de desarrollo de las ascosporas incluyen la delimitación de las ascosporas, su forma y color y la extrusión del endoascus en el asca descargada.

Aunque esta metodología se ha utilizado en programas de asesoramiento para el manejo de la sarna de manzana durante muchos años, nunca se ha demostrado que los criterios morfológicos utilizados para identificar las ascosporas maduras sean indicadores precisos de la capacidad de un asca para liberar ascosporas bajo condiciones adecuadas. La falta de esta información es motivo de preocupación en el desarrollo o validación de modelos de madurez y liberación de ascosporas, la mayoría de los cuales se han desarrollado a partir de evaluaciones morfológicas de la madurez de las ascosporas (Gadoury et al., 1992a).

Conocer con exactitud los momentos de inicio y final del periodo de descargas de ascosporas, ha sido siempre una fuerte demanda de productores y técnicos asesores en todas partes del mundo donde se cultiva el manzano y el clima es favorable al desarrollo de la enfermedad. Es durante ese periodo que se realizan aplicaciones de fungicidas con el fin de proteger o curar a los árboles afectados. Una vez que se agotan las ascosporas, cesan las descargas y cesan las aplicaciones de fungicidas con el fin de controlar la ocurrencia de infecciones primarias de *V. inaequalis*.

Un método utilizado para determinar el inicio del periodo de descargas de ascosporas es tomar el momento de inicio de la brotación de los árboles como bioindicador del comienzo de las descargas. En la producción comercial de manzanas, las aplicaciones de fungicidas para el control de la sarna, generalmente se inician cuando emergen los primeros tejidos susceptibles del manzano en la primavera (punta verde), ya que se asume que la madurez de las ascosporas acompaña el ciclo de la planta de modo que la presencia de ascosporas maduras de *V. inaequalis* en los pseudotecios y el inicio de la brotación comúnmente coinciden en el tiempo, pero esto no siempre es así (Gadoury et al., 1992b).

Otro método utilizado para determinar el inicio del periodo de descargas de ascosporas es considerar la presencia de las primeras ascosporas maduras en los pseudotecios presentes en las hojas caídas en el suelo del otoño anterior como indicador del inicio de la temporada de liberación. Para ello, durante la primavera, cuando se acerca el momento de brotación de los manzanos se recogen hojas del suelo, se llevan al laboratorio donde son sometidas a cocción en agua o en agua y soda. Con este proceso los tejidos se

ablandan y es posible extraer los pseudotecios presentes en ellas. La extracción de estos pseudotecios se realiza bajo la lupa y se colocan en portaobjetos donde, ejerciendo leve presión sobre el cubre objeto, son aplastados para romperlos. Estos pseudotecios rotos son examinados microscópicamente con el fin de observar el estado de madurez de las ascosporas (Meszka et al., 2008, Aylor 1998, Gadoury et al., 1992a, Gadoury et al., 1992b, Gadoury y MacHardy, 1982b). Sobre el final de la temporada, con este método, se observa que proporción de las ascas ha liberado las ascosporas. Cuando el 98% de las ascas están vacías (han liberado sus ascosporas) se considera que se ha alcanzado el final del periodo de liberación. Esta técnica no es sencilla y requiere destreza en la interpretación de los resultados (Aylor, 1998).

Este método de observación de la presencia de ascosporas maduras ha sido usado durante 43 años en Uruguay (García y Moscardi 1981, García y Moscardi 1975), a pesar de que se ha demostrado que la determinación del inicio y final del periodo de descarga por esta técnica presenta varios errores. Algunos autores mencionan que las ascosporas alcanzan la madurez morfológica varios días antes que la madurez fisiológica (Gadoury et al., 1992a). Debido a esto, la presencia de ascosporas maduras en los pseudotecios no significa que estas hayan alcanzado la madurez fisiológica por lo que, en ocasiones, la liberación de esas ascosporas sucede varios días después de lo anunciado. Un segundo tipo de error consiste en la sub-estimación del porcentaje de ascas con ascosporas maduras sobre el final de la temporada. Esto ocurre debido a que, durante la primavera, parte de las ascas que ya han liberado sus ascosporas se desintegran, y no son consideradas al calcular el porcentaje. Debido a esto, el final de la liberación de ascosporas calculado por este método, suele ser de 23 a 30 días posterior al real (Gadoury et al., 2004, Gadoury y MacHardy 1982a).

Los métodos descritos para evaluar la madurez de ascosporas y la descarga se han basado en la suposición tácita de que las ascas examinadas en varias ocasiones durante la infección primaria en la temporada representan la producción total de ascas; es decir, la totalidad de las ascas en un pseudotecio. Se ha demostrado que el número de ascas por pseudotecios se incrementa en la primavera temprana y luego disminuye a medida que las ascas vacías comienzan a desintegrarse. Por lo tanto, esta técnica proporciona una estimación de la madurez de ascosporas y su descarga, sólo en la parte de la población que

está presente en el momento de la evaluación. Evaluaciones tempranas de primavera de la madurez y la descarga de ascosporas están sesgadas por la exclusión de ascas invisibles. Mientras que, las evaluaciones a finales de la primavera están afectadas por la exclusión de las ascas vacías desintegradas (Gadoury y MacHardy 1982a). Con este método, las recomendaciones de aplicaciones de fungicidas para el control de la sarna comienzan cuando se detectan ascosporas maduras en los pseudotecios.

La viabilidad estadística de estas evaluaciones no se ha abordado adecuadamente y no se han desarrollado métodos de muestreo para minimizar esta varianza (Gadoury et al., 1992b). Por esta razón, dichos autores, a partir de estudios de varianza de estos datos, no recomiendan la estimación de ascosporas maduras a través del análisis de pseudotecios.

Una mejora al método de observación de los pseudotecios consiste en recoger las hojas del monte y mojarlas en el laboratorio para provocar artificialmente la liberación de ascosporas. Las esporas liberadas son atrapadas en agua o en una superficie pegajosa en una torre de liberación de esporas y se cuentan bajo un microscopio. Cuando se detectan ascosporas liberadas por este método, se anuncia el comienzo de la temporada de liberación (Aylor, 1998).

La manera más segura de evitar los errores inherentes a los métodos utilizados para estimar el inicio y fin del periodo de descarga de ascosporas es cuantificar la presencia real de ascosporas en el aire en los montes de manzana. Esto es posible mediante el uso de trampas caza-esporas volumétricas automáticas tipo Hirst (Brook 1966, Hirst 1952). Las más utilizadas han sido las trampas Burkard y Lanzoni (Holb et al., 2004, Rossi et al., 2000, Aylor 1993, Aylor y Sutton 1992, Gadoury y MacHardy 1983). En este tipo de trampa cazaesporas, volúmenes constantes de aire impactan sobre una superficie de captura móvil, exponiendo diferentes sectores de la misma al impacto de las esporas a medida que pasa el tiempo. Esto constituye una ventaja considerable respecto a las trampas de tipo Rotorod, que al capturar en una única superficie, impiden asociar las capturas con el tiempo a menos que se realicen numerosos cambios manuales (cada hora) de la superficie de captura (Aylor, 1993).

La Trampa caza esporas Buckard, ha sido utilizada para la captura de ascosporas de *V. inaequalis* y de estructuras de diversos hongos por numerosos investigadores (Carisse et al., 2008, Madariaga et al., 2006, Aylor 1998, Stensvand et al., 1998, Martínez et al., 1996).

Esta trampa permite registrar el número de ascosporas hora a hora por unidad de volumen de aire, la misma, toma automáticamente muestras durante siete días continuos. Para succionar el aire y poder capturar las esporas cuenta con un orificio de 2 mm por 14 mm por el cual ingresa aire.

El funcionamiento de la trampa volumétrica caza-esporas, consiste en registrar hora a hora la liberación de ascosporas y para ello, succiona una cantidad de aire conocida por unidad de tiempo, 10 litros/minuto. Este aire succionado entra en contacto, una vez ingresado a la trampa, con una cinta cubierta de pegamento en donde se adhieren los elementos contenidos en el volumen de aire (esporas, polvo, restos de tejidos vegetales, restos de insectos, etc.). De esta forma las ascosporas presentes en el aire son capturadas por la cinta y es posible contarlas determinando hora a hora el número de ascosporas por m³ de aire. La cinta avanza a una velocidad de 2 mm/h, demorando siete días en realizar el giro completo, momento en el que la cinta debe ser reemplazada. El avance de la cinta de 2 mm/h, permite conocer el número de ascosporas atrapadas en una hora determinada del día (Madariaga et al., 2006).

Otra posible deficiencia del sistema de alarma radica en el error que se estaría cometiendo al no tener en cuenta la ausencia de liberación de ascosporas durante la noche. Algunas investigaciones realizadas, indican que no existiría liberación de ascosporas en ausencia de luz (Gadoury et al., 1998, MacHardy 1996, Brook 1969). Al no considerarse la ausencia de liberación nocturna, no se desestiman los periodos de infección nocturna y se estarían realizando aplicaciones innecesarias.

Finalmente, el sistema tampoco ha considerado el posible agotamiento de la dotación de ascosporas maduras cuando ocurren eventos sucesivos de liberación. Cuando ocurren lluvias en días consecutivos se liberan sucesivas alarmas cada día sin considerar, si el plazo entre el primer evento y el siguiente, ha sido suficiente para acumular una cantidad relevante de ascosporas maduras. Existe la posibilidad de que ocurra un agotamiento de la dotación de ascosporas maduras cuando ocurren eventos consecutivos de liberación.

Todo esto lleva a pensar que, probablemente, se estén emitiendo alarmas en momentos en que no existe una liberación real de ascosporas, lo que estaría induciendo a los agricultores a utilizar en exceso aplicaciones curativas de fungicidas. Para poder minimizar el

uso de fungicidas, especialmente de los IBE, es necesario que agricultores y técnicos reciban una información certera acerca de los momentos en que ocurren las condiciones necesarias para la infección.

El objetivo del presente trabajo fue conocer el comportamiento de la liberación de ascosporas de *V. inaequalis* en las condiciones de producción de manzanas en Uruguay. Para ello, durante dos años consecutivos, se cuantificó la presencia real de ascosporas por metro cúbico de aire presente en un monte comercial de manzanas, hora a hora durante la primavera, mediante una trampa volumétrica cazaesporas Burkard, registrándose las precipitaciones ocurridas durante ese período y las temperaturas máximas y mínimas. En paralelo se realizaron en ambos años ensayos de liberación forzada mediante riegos simulando el efecto de las lluvias nocturnas y el efecto de lluvias durante días o noches consecutivas.

En el capítulo 2 se presentan los resultados de experimentos de liberación forzada de ascosporas mediante riegos que simularon precipitaciones diurnas, nocturnas y en días consecutivos. En el capítulo 3 los estudios a campo en montes comerciales de manzana realizados durante los años 2013 y 2014. En el mismo se analiza el comportamiento general de las descargas, inicio, final, números de eventos ocurridos, influencia de las lluvias y de la temperatura. Finalmente en el capítulo 4 se presentan las conclusiones generales de la tesis.

CAPITULO 2

EFFECTO DE LA LUZ Y EVENTOS SUCESIVOS DE LLUVIAS SOBRE LA DESCARGA DE ASCOSPORAS DE *VENTURIA INAEQUALIS*

Artículo a presentar en la revista Agrociencia Uruguay

Martínez Érica ^{1*}, Alaniz Sandra ¹, Mondino Pedro ¹

¹*Departamento de Protección Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Garzón 780, 12900, Montevideo, Uruguay. *Correo electrónico: erikamartinezf@hotmail.com*

RESUMEN

La sarna del manzano ocasionada por *Venturia inaequalis* es la principal enfermedad que afecta el cultivo en las condiciones de producción de Uruguay. Este hongo sobrevive de una temporada a la siguiente en hojas caídas al suelo, sus ascosporas maduran escalonadamente durante la primavera, liberándose cada vez que las hojas se mojan. La mayoría de los trabajos indican que la liberación ocurre solamente en presencia de luz, lo que permitiría desestimar periodos de infección nocturnos evitando aplicaciones innecesarias. Sin embargo, algunos autores informan haber capturado ascosporas a partir de lluvias nocturnas. Por otra parte, cuando ocurren eventos de lluvias en días consecutivos, se considera que ocurrirá una nueva liberación en cada evento, sin embargo, es posible que la dotación de ascosporas maduras se vaya agotando, pudiéndose desestimar eventos de liberación. Este trabajo tuvo como objetivos estudiar el efecto de la ausencia de luz y de la sucesión de eventos de lluvia consecutivos sobre la magnitud de la descarga de ascosporas de *V. inaequalis*. Para eso se forzó la liberación mediante riegos nocturnos y diurnos en días consecutivos. Se registraron liberaciones nocturnas, lo que impide desestimar eventos de infección nocturna al momento de decidir aplicaciones curativas de fungicidas. Se constató también, la ocurrencia de liberación en días sucesivos, aunque con agotamiento de ascosporas con el paso de los días. Esto ultimó permite especular con la posibilidad de utilizar riegos estratégicos días previos a un pronóstico de lluvias como método de control de esta enfermedad al reducir la dotación de ascosporas disponible.

Palabras clave: *Venturia*, descarga nocturna, descargas consecutivas

Effect of light and successive events of rains on the discharge of ascospores of *Venturia inaequalis*

SUMMARY

Apple scab caused by *Venturia inaequalis* is the main disease that affects the crop in the conditions of production in Uruguay. This fungus survives from one season to the next in leaves fallen to the ground; its ascospores mature gradually during the spring, and are released each time the leaves get wet. Most studies indicate that the release occurs only in the presence of light, which means nocturnal infection periods could be dismissed, avoiding unnecessary sprays. However, some authors report nocturnal release of a ascospores. When rain events occur on consecutive days, it is considered that a new release will occur in each event; however, it is possible that the stock of mature ascospores will be depleted, and release events may be dismissed. The objective of this work was to study the effect of the absence of light and the succession of consecutive rain events on the magnitude of the ascopora discharge of *V. inaequalis*. Spore liberation was induced by watering on consecutive days, either at night or in the daytime. Nocturnal releases were recorded, so nocturnal infection events cannot be dismissed when deciding curative applications of fungicides. The occurrence of release on successive days was also confirmed, although with the depletion of ascospores over the days. This result allows speculation on the possibility of using strategic irrigation prior to a rain forecast as a method of control of this disease by reducing the available ascospores.

Keywords: *Venturia*, night discharge, consecutive downloads

INTRODUCCIÓN

La sarna del manzano (*Malus x domestica* Borkh), ocasionada por *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint., es la enfermedad fúngica más importante que afecta este cultivo en las zonas de producción con primaveras frescas y lluviosas como las de Uruguay ^{(1), (2)}. *V. inaequalis* afecta las hojas y frutos produciendo manchas sobre las que se producen abundantes conidios. En el invierno, el hongo sobrevive en las hojas afectadas caídas al suelo. En esas hojas, *V. inaequalis* coloniza el mesófilo y cuando se encuentran dos micelios compatibles, se reproduce sexualmente produciendo pseudotecios con ascas y ascosporas. Durante la primavera siguiente, estas ascosporas maduran progresivamente y son liberadas en cada evento de lluvia. Una vez liberadas, las corrientes de aire las transportan hasta las hojas y frutos susceptibles donde, en presencia de agua libre germinan y producen infecciones ^{(3), (4)}.

En Uruguay, la estrategia usada para el manejo de esta enfermedad, consiste en prevenir la ocurrencia de las infecciones causadas por las ascosporas mediante la aplicación de fungicidas de contacto previo a cada lluvia ⁽²⁾. Cuando por alguna razón no es posible realizar dichas aplicaciones, los agricultores se ven en la necesidad de realizar aplicaciones curativas, luego de que ocurrió la infección ⁽²⁾. Los fungicidas más utilizados para el control pos infección de *V. inaequalis* son los inhibidores de la biosíntesis del ergosterol (IBE) y el dodine. Los IBE son los fungicidas más eficientes para el control pos infección de *V. inaequalis*, dado que poseen hasta 96 horas de efecto retroactivo. Sin embargo, debido a que los IBE actúan en un sitio de acción específico, en diversas regiones del mundo se ha desarrollado resistencia en las poblaciones de *V. inaequalis* expuestas ^{(5), (6), (7), (8), (9)} y recientemente también en Uruguay ⁽²⁾. El dodine es un fungicida de contacto y con acción translaminar que actúa a nivel de la membrana celular ⁽¹⁰⁾. Posee excelente actividad protectora, efecto retroactivo de 48 horas y acción antiesporulante en aplicaciones pos síntomas ⁽¹¹⁾. En Uruguay también recientemente se constató la presencia de poblaciones de *V. inaequalis* resistentes a dodine ⁽¹²⁾.

Para reducir el riesgo de generación de resistencia a estos fungicidas, es necesario minimizar su uso utilizándolos solamente cuando es estrictamente indispensable. Conocer con exactitud cuáles son los momentos en que efectivamente ocurre liberación de

ascosporas, permite racionalizar su uso. Un punto controversial es el referente a la influencia de la luz sobre la descarga de ascosporas. Muchos trabajos señalan que las ascosporas son liberadas durante las horas de luz solar, mientras que en oscuridad la descarga es nula y/o insignificante ^{(4), (13), (14), (15)}, estos autores observaron que cuando los eventos de lluvia ocurrían en horas diurnas, la descarga de ascosporas comenzaba inmediatamente iniciada la lluvia, mientras que, en eventos de lluvias nocturnas se producía un retraso, y las ascosporas se descargaron recién durante las primeras 2 horas después del amanecer. Sin embargo, estos mismos autores indican que este retraso no siempre ocurrió y que, en ocasiones la captura de ascosporas comenzó durante la noche. Ciecierski et al ⁽¹⁷⁾, capturaron ascosporas tanto durante el día como en la noche. Estos autores encontraron que del total de descargas de ascosporas liberadas durante la primavera que analizaron, el 49,4% se liberaron en ausencia de luz en eventos de lluvia que se iniciaron durante la noche.

Si la ausencia de luz impidiese la liberación de ascosporas, las horas nocturnas de hoja mojada no deberían considerarse para determinar los periodos de infección. En esos casos las horas de hoja mojada deberían contabilizarse a partir del amanecer. Para conocer los eventos de infección por *V. inaequalis*, los agricultores cuentan con un Servicio de Alarma brindado por el Servicio de Protección Agrícola del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP). Sin embargo, para estimar si ocurrieron o no periodos de infección, este Servicio contabiliza las horas totales de hoja mojada independientemente del horario de inicio. Al no considerar el posible retraso en la liberación de ascosporas cuando las lluvias ocurren o inician durante la noche, se estaría sobreestimando el número de eventos de infección durante la temporada. Para conocer con exactitud si es posible descartar las horas de hoja mojada nocturna en la determinación de los periodos de infección de *V. inaequalis*, es necesario determinar si existen o no descargas nocturna en las condiciones de producción de Uruguay.

En relación al comportamiento de la liberación de ascosporas, también es importante determinar con certeza si durante eventos sucesivos de lluvias ocurre liberación. Rossi et al. ⁽¹⁶⁾, mencionan que no se capturaron ascosporas en el aire en un evento de lluvia diurna cuando éste ocurrió dentro de las 4 a 5 horas posteriores al primer evento, pero si registraron una nueva captura cuando el segundo evento de lluvia ocurrió luego de 6 a 7 horas. Un

resultado similar obtuvieron Hirst y Stedman ⁽¹⁵⁾, quienes encontraron que los pseudotecios necesitaban menos de 7,5 horas para liberar nuevas ascosporas maduras. Si bien estos resultados indican que apenas 5 a 6 horas son suficientes para acumular una nueva dotación de ascosporas maduras, esta información no tiene aplicación práctica en el manejo. En la jornada siguiente, se realizará la aplicación de fungicida que será capaz de curar las infecciones ocurridas en ambos eventos.

Hasta el momento, no se conocen estudios que analicen que ocurre con las descargas de ascosporas cuando ocurren eventos de lluvia en jornadas consecutivas y como podría impactar esto tanto en el comportamiento de la liberación de ascosporas como en la toma de decisiones. No se ha considerado el posible agotamiento de la dotación de ascosporas maduras cuando ocurren eventos de liberación en días consecutivos. En la práctica, si ocurren eventos de lluvia en días consecutivos y las horas de hoja mojada son suficientes, el Servicio emite alarmas consecutivas. Sin embargo, la sucesión de eventos de lluvias podría provocar un agotamiento del stock de ascosporas maduras lo que permitiría desestimar la ocurrencia de sucesivos periodos de infección.

Para poder monitorizar hora a hora las cantidades reales de ascosporas de *V. inaequalis* presentes en el aire, se utilizan las trampas caza-esporas volumétricas automáticas tipo Hirst ⁽¹⁸⁾, ⁽¹⁹⁾. Las más utilizadas han sido las trampas Burkard y Lanzoni ⁽²⁰⁾, ⁽²¹⁾, ⁽²²⁾, ⁽²³⁾, ⁽²⁴⁾. En este tipo de trampa cazaesporas, la superficie de captura es móvil exponiendo diferentes sectores de la misma al impacto de las esporas a medida que pasa el tiempo.

Este trabajo tuvo por objetivo determinar el comportamiento de la liberación de ascosporas de *V. inaequalis* en eventos de liberación nocturna y en eventos de liberación en días continuos. Para ello, durante dos temporadas consecutivas se realizaron experimentos de liberación forzada de ascosporas simulando lluvias mediante riegos sobre hojas caídas al suelo. En estos experimentos se simularon lluvias consecutivas tanto diurnas como nocturnas y las capturas se registraron utilizando una trampa Burkard.

MATERIALES Y MÉTODOS

Liberación forzada de ascosporas

Los ensayos de liberación forzada de ascosporas se efectuaron durante dos temporadas seguidas, en los años 2013 y 2014. En ambas temporadas, se recogieron en el estado de punta plateada 5 bolsas de nylon de 1,0 x 0,75 m de hojas del suelo en un monte comercial de manzana Red Delicious con antecedentes de sarna el año anterior. Inmediatamente las hojas fueron esparcidas en un sector de 25 m² cercado con un nylon de 2 m de alto. En el centro de este sector, se colocó una trampa cazaesporas Burkard (Burkard Manufacturing Co. Ltd., Rickmansworth, Hertfordshire, UK) conectada a una fuente de 12-V de corriente continua (Figura 2.1). La trampa fue ajustada para capturar 10 litros de aire por minuto y programada para trabajar durante 7 días consecutivos.



Figura 2.1. (A) Hojas de manzano recolectadas del suelo de un monte comercial en estado punta plateada con antecedentes de sarna el año anterior, (B) Trampa cazaesporas Burkard colocada sobre las hojas de manzano para los ensayos de lluvia simulada.

Para forzar la liberación de ascosporas desde los pseudotecios presentes en las hojas esparcidas en el suelo, se simularon lluvias mediante riegos controlados. Para ello se utilizó un aspersor de pistola para riego previamente calibrado para realizar un riego equivalente a una lluvia de 20 mm/h. En cada riego se procuró esparcir uniformemente el

agua sobre toda el área cubierta con las hojas con una duración de 30 minutos, lo que equivale a una lluvia de 10 mm. Antes de iniciar cada riego se colocó la cinta de captura en el tambor de la trampa Burkard, se puso en marcha y simultáneamente se procedió al inicio del riego correspondiente.

En cada temporada y durante el transcurso de la misma, se realizaron series de riegos durante 3 o 4 días cada 24 horas en horas de la noche y en horas del día. Transcurridas 24 horas desde el momento de inicio del último riego de la serie, se procedió al retiro de la cinta para su posterior evaluación en el laboratorio.

Una vez en el laboratorio, la cinta fue cortada en segmentos de 48 mm que equivalen a una duración de 24 horas. Cada segmento fue colocado sobre un portaobjeto de acrílico con líneas paralelas talladas cada 2 mm. Utilizando microscopio óptico, se contaron las ascosporas de *V. inaequalis* presentes entre dos líneas talladas consecutivas, que corresponden a 1 hora de exposición. La concentración de ascosporas presentes en el aire, se expresó como número de ascosporas por metro cúbico de aire ⁽²⁰⁾.

RESULTADOS

Liberación forzada de ascosporas en ausencia de luz y días sucesivos

Se realizaron 2 ensayos de liberación nocturna forzada, uno en la temporada 2013 con un solo riego y el otro la temporada 2014 con 4 riegos en días sucesivos (Figura 2.2).

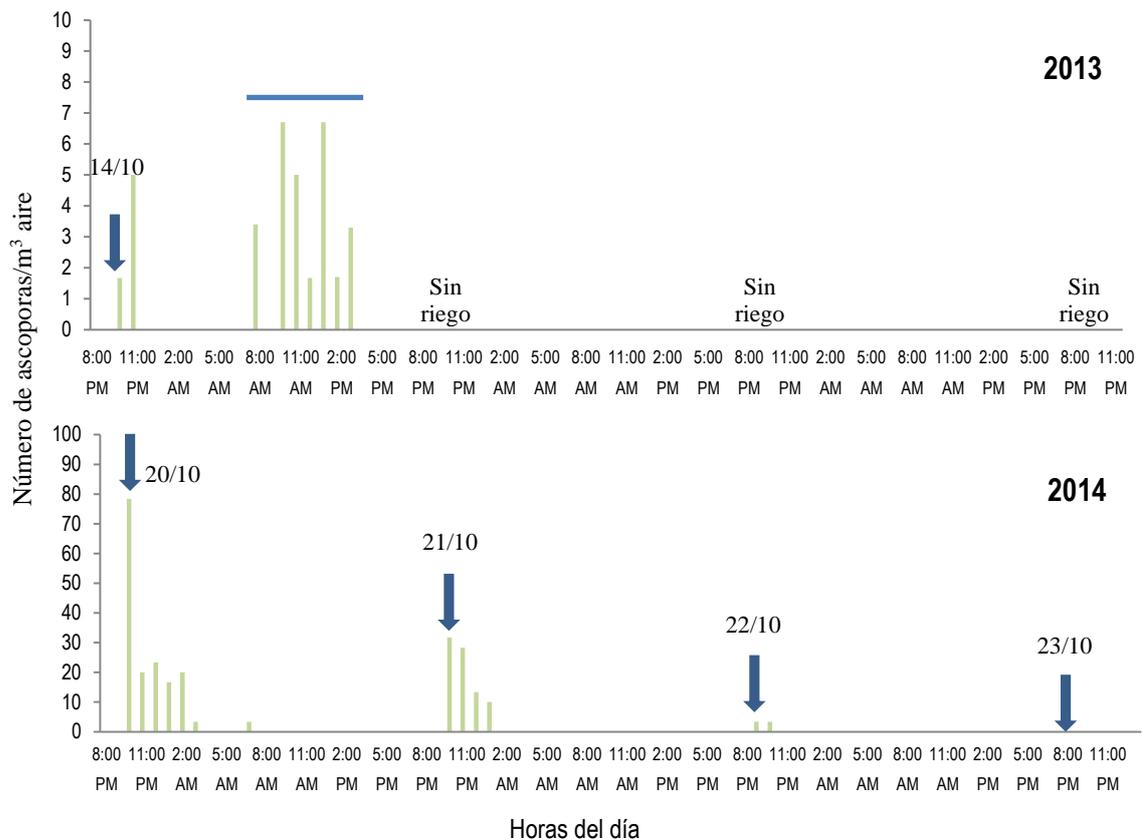


Figura 2.2. Eventos nocturnos de liberación forzada de ascoporas durante las temporadas 2013 y 2014. Las flechas indican el momento en el que se simuló la lluvia mediante riego. La barra indica un periodo de lluvia natural.

En todos los riegos se registraron capturas de ascoporas en horas de la noche, con excepción del cuarto riego del ensayo efectuado en la temporada 2014. Así mismo, en todos los casos el comienzo del registro de ascoporas en el aire fue inmediatamente de iniciado el

riego artificial y este, en general, fue máximo en la primera hora en la que fue realizado el riego, disminuyendo en las siguientes.

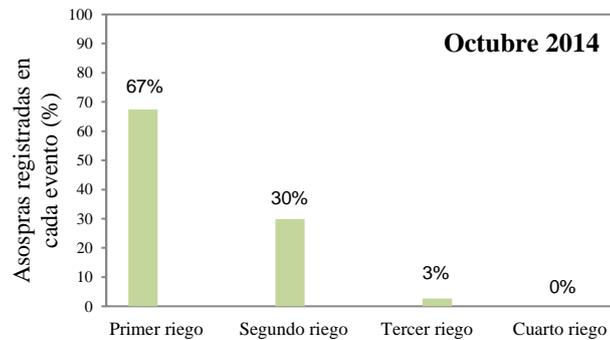


Figura 2.3. Porcentaje del total de ascosporas liberados en cada evento de riego efectuado en los ensayos nocturnos de liberación forzada en noches sucesivas.

En todos los eventos en que ocurrió liberación nocturna de ascosporas, la liberación total acumulada en cada riego fue máxima en la primera noche y fue decreciendo hacia la tercera. No se registraron capturas en la cuarta noche (Figura 2.3).

Liberación forzada de ascosporas en presencia de luz y días sucesivos

En el año 2013 se realizaron 2 ensayos de liberación forzada diurna con días sucesivos de riego, el primero fue en el mes de octubre y duro 3 días, mientras que el segundo en el mes de diciembre y tuvo una duración de 4 días. En el año 2014 se llevaron a cabo 2 ensayos de liberación forzada diurna con días sucesivos de riego, en este caso ambos tuvieron una duración de 4 días consecutivos de lluvias simuladas; el primero en setiembre y el segundo en noviembre (Figura 2.4).

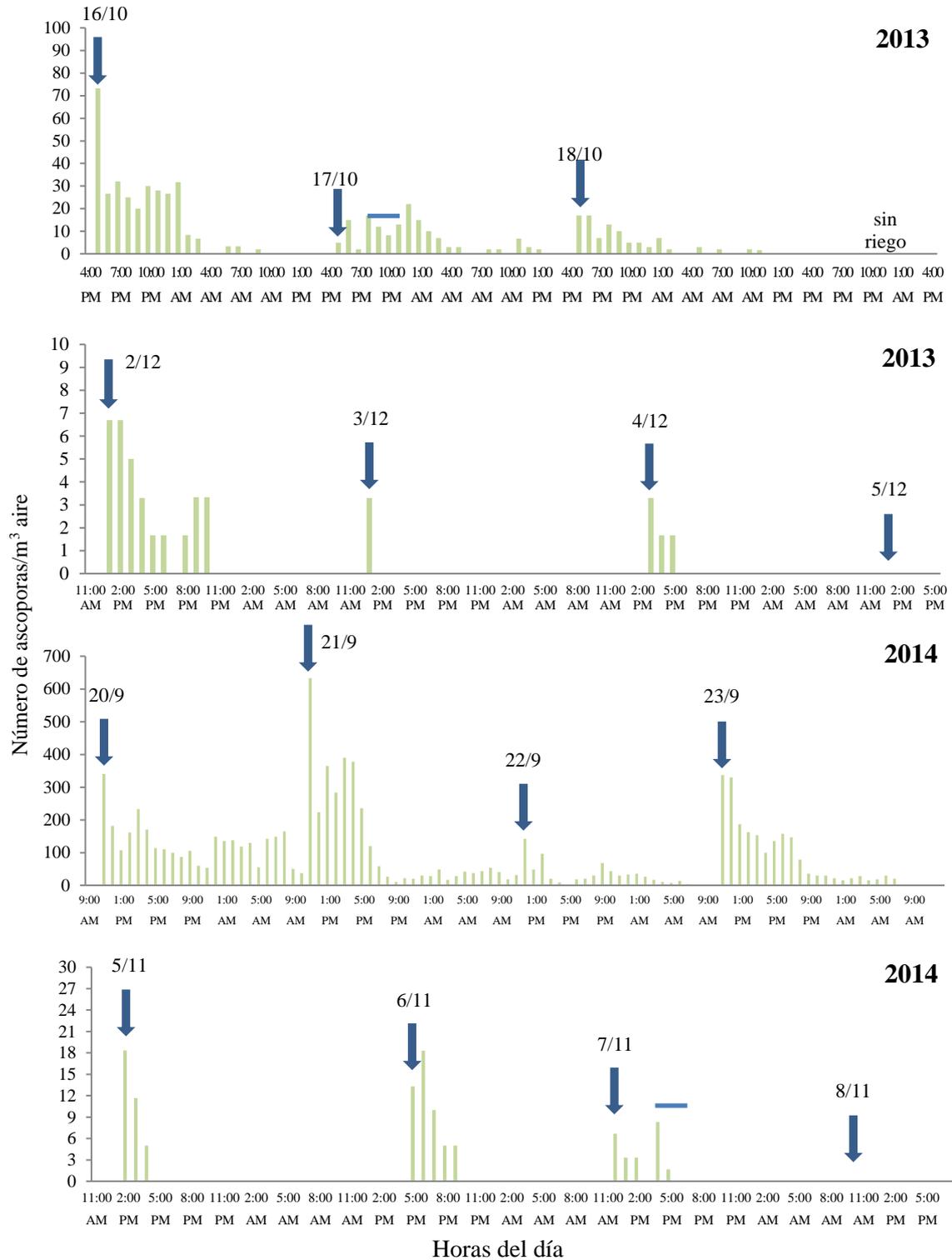


Figura 2.4. Eventos diurnos de liberación forzada de ascoporas en días sucesivos durante las temporadas 2013 y 2014. Las flechas indican el momento en el que se simularon las lluvias mediante riego. Las barras indican periodos de lluvia natural.

En los dos ensayos de ambas temporadas, se registraron capturas de ascosporas durante los tres primeros días de lluvias forzadas. En el ensayo realizado en setiembre de 2014 también se registraron capturas de ascosporas en el cuarto día de lluvia forzada, mientras que en los restantes ensayos no. Independientemente del año o ensayo y al igual que lo ocurrido en los riegos nocturnos, cuando ocurrió registro de liberación de ascosporas, éste siempre comenzó inmediatamente de iniciada la lluvia forzada siendo, en general, máximo en esta primera hora disminuyendo en las siguientes.

Respecto a la cantidad de ascosporas totales liberadas en cada evento, el registro de ascosporas siempre fue entre 10 y 20 veces mayor en el primer ensayo de la temporada (octubre en 2013 y setiembre en 2014) que en el segundo (diciembre en 2013 y noviembre en 2014) (Figura 2.4).

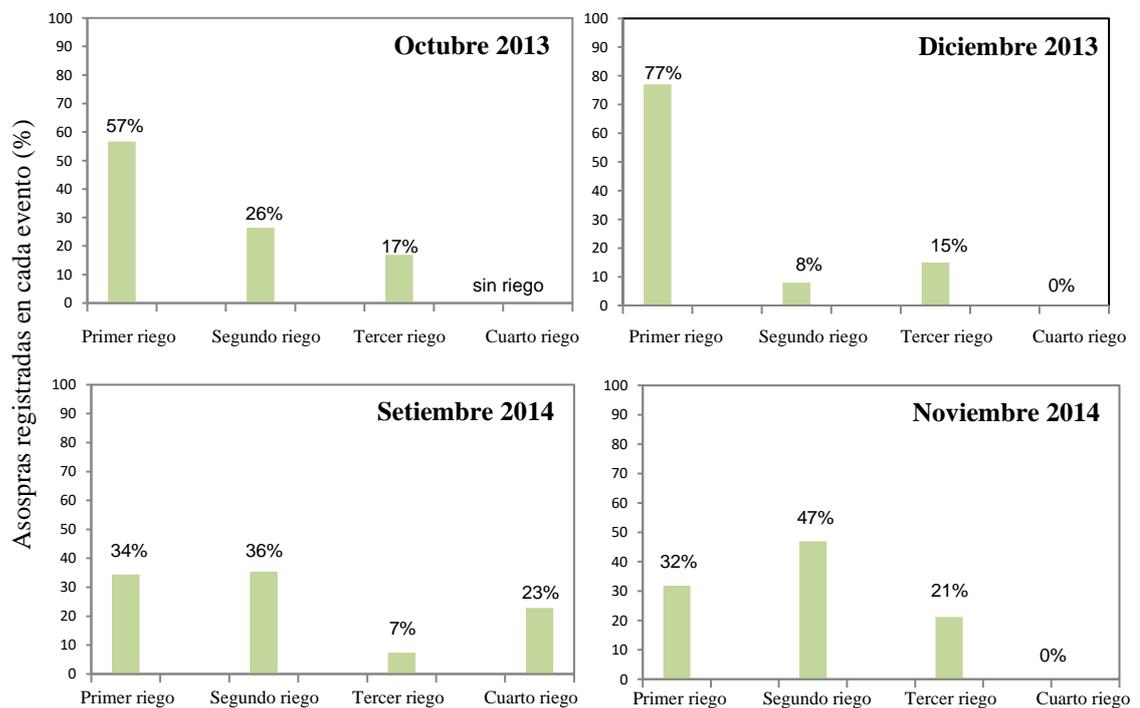


Figura 2.5. Porcentaje del total de ascosporas liberados en cada evento de riego efectuado en los ensayos nocturnos de liberación forzada en días sucesivos.

La liberación total acumulada de ascosporas en cada riego tendió a ser máxima en el primero y segundo día de riego forzado decreciendo hacia el tercero o cuarto día. (Figura 2.5).

DISCUSIÓN

El método de liberación forzada de ascosporas simulando lluvias mediante riegos sobre hojas obtenidas del campo de montes de manzanos, resultó ser una metodología apropiada para el estudio de los factores que inciden sobre la descarga de ascosporas. En todos los casos la liberación de ascosporas ocurrió inmediatamente de ocurrido el mojado de las hojas en el suelo, registrándose capturas durante la primera hora posterior al mojado. Estos resultados coinciden con los encontrados por varios autores, quienes mencionan que la mayor parte de las ascosporas son liberadas en los primeros minutos de humectación de las hojas ^{(25), (26), (14)}.

En todos los experimentos de simulación de lluvias nocturnas se registraron capturas, lo que comprueba que las ascosporas de *V. inaequalis* se liberan en ausencia de luz bajo las condiciones de producción de Uruguay. Si bien algunos autores han notificado la ausencia de descarga de ascosporas durante la noche ^{(4), (13), (14), (15), (26), (27), (28)}, los resultados muestran en forma contundente que existe liberación nocturna. Esto coincide con lo publicado por Warner y Braun ⁽²⁹⁾, quienes lograron detectar la liberación nocturna de ascosporas en montes de manzano en Ontario y en Nova Scotia, Canadá. También Aylor y Sutton ⁽²³⁾, expresaban preocupación por haber detectado un evento nocturno en el que ocurrió una importante liberación de ascosporas.

De igual modo, Rossi y colaboradores ⁽¹⁶⁾, en el norte de Italia capturaron ascosporas durante la noche sobre el final de la época de liberación (más del 80% de las ascosporas liberadas) o en épocas más tempranas cuando se habían acumulado más de un tercio de las ascosporas maduras en los pseudotecios. La descarga nocturna también fue verificada por Ciecierski et al ⁽¹⁷⁾, quienes encontraron que el 49,4% de las ascosporas se liberó durante la noche en un estudio realizado en Polonia. Por su parte, Gadoury et al. ⁽³⁰⁾ expresaban su preocupación al revisar distintas investigaciones y concluir que al menos 10% de las

ascosporas de *V. inaequalis* son liberadas durante la noche. Contrariando nuestras expectativas, estos resultados indican que no es posible desestimar periodos de infección originados en eventos nocturnos de lluvias. Además, en ningún caso se observó un desfase entre el momento de inicio de la lluvia hasta la salida del sol como se mencionan en algunas investigaciones ⁽¹⁶⁾. Por lo tanto, en la determinación de los periodos de infección debidos a eventos de liberación nocturna, al igual que en los eventos diurnos, el conteo de las horas de hoja mojada debe iniciarse en el mismo momento que se inicia la lluvia.

Si bien es conocido que solo 5 horas de intervalo entre lluvias son suficientes para acumular ascosporas maduras y provocar un nuevo proceso de liberación ^{(21), (16), (15), (14)}, este trabajo puso el foco en la ocurrencia de descargas en días consecutivos en el entendido de que el agricultor toma decisiones para planificar el trabajo correspondiente a cada jornada. En cuanto al efecto de la sucesión de eventos de liberación de ascosporas en días consecutivos se observó que, si bien ocurren liberaciones consecutivas, la cantidad de ascosporas disminuye con la sucesión de lluvias. En los experimentos donde se simularon lluvias en días consecutivos se observó una tendencia clara hacia la disminución de los volúmenes de descargas con cada evento. Exceptuando el experimento de setiembre de 2014, en el cual un 23% de las ascosporas se liberó en el cuarto riego, en todos los demás casos la liberación fue nula en el cuarto día de liberación forzada. Esto estaría demostrando que con la sucesión de eventos de liberación ocurre un agotamiento de la dotación de ascosporas maduras, lo que hace que al tercer o cuarto evento solo una pequeña dotación o ninguna puedan ser liberadas.

El resultado obtenido en el experimento mencionado anteriormente realizado en setiembre de 2014, puede deberse a que en esa fecha se correspondía con la etapa exponencial de maduración de ascosporas en el estadio de floración de los manzanos, esto indica que en esta etapa fenológica del cultivo se debe tener mayor precaución ya que el inóculo se produce a mayor velocidad.

Estos resultados permiten especular con la posibilidad de utilizar riegos estratégicos anticipándose a los eventos de lluvias pronosticados para de ese modo provocar la liberación anticipada de las ascosporas las que no podrán causar infecciones por no encontrar hojas mojadas. El uso estratégico del riego como método de control de la sarna del manzano fue

explorado por Korsgaard ^(31, 32), durante varios años en Dinamarca. Sus resultados, si bien mostraron que es posible disminuir la incidencia de la enfermedad en algunos años y en algunas variedades, no fueron suficientemente buenos. En sus experimentos Korsgaard realizó un único riego y según nuestros resultados, esto no sería suficiente para agotar completamente la dotación de ascosporas. Según nuestro trabajo, se deberían realizar al menos 3 riegos consecutivos para asegurar una ausencia o muy baja liberación en un cuarto evento, cuando ocurra la lluvia.

En resumen, en este trabajo se demostró que existe liberación de ascosporas en horas de la noche, por lo que no debe desestimarse la ocurrencia de lluvias durante las horas nocturnas al momento de definir las estrategias de manejo de *V. inaequalis*. También se demostró que efectivamente existe liberación de ascosporas hasta al menos tres días sucesivos y eventualmente hasta el día cuatro, aunque la liberación tiende a disminuir con el paso de los días. Este resultado implica que debe prestarse mucha atención a los eventos de lluvias naturales consecutivos ya que siempre hay disponibilidad de ascosporas en el aire durante estos períodos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alaniz S, Leoni C, Bentancour O, Mondino P. Suppression of summer fungicide sprays for apple scab (*Venturia inaequalis*) management in Uruguay. *Scientia horticultrae*. 2014. 165:331-335.
2. Mondino P, Casanova L, Celio A, Bentancur O, Leoni C, Alaniz S. Sensitivity of *Venturia inaequalis* to difenoconazole and trifloxystrobin in Uruguay. *Journal of Phytopathology*. 2015. 163:1-10.
3. Mills W D, Laplante A A. Diseases and insects in the orchard. *Cornell Extension Bulletin*. 1951. 711: 21-27.

4. MacHardy W E. Apple scab: biology, epidemiology, and management. St. Paul, Minnesota USA: American Phytopathological Society (APS Press). 1996. 545 pp.
5. Köller W, Wilcox W F, Barnard J, Jones A L, Braun P G. Detection and quantification of resistance of *Venturia inaequalis* populations to sterol demethylation inhibitors. *Phytopathology*. 1997. 87:184-190.
6. Jobin T, Carisse O. Incidence of Myclobutanil- and Kresoxim-Methyl- Insensitive Isolates of *Venturia inaequalis* in Quebec Orchards. *Plant Disease*. 2007. 91(10): 1 351:1- 358.
7. Stevic M, Vuksa P, Elezovic I. Resistance of *Venturia inaequalis* to demethyltion inhibiting (DMI) fungicides. *Zimberbiste*. 2010. 97 (4): 65-72.
8. Chapman K S, Sundin G W, Beckerman J L. Identification of resistance to multiple fungicides in field populations of *Venturia inaequalis*. *Plant Disease*. 2011. 95: 921-926.
9. Pfeufer E E, Ngugi H K. Orchard factors associated with resistance and cross resistance to sterol demethylation inhibitor fungicides in populations of *Venturia inaequalis* from Pennsylvania. *Phytopathology*. 2012. 102 (3): 272-282.
10. FRAC (Fungicide Resistance Action Committee, CH). s.f. Resistance overview. Mechanisms of fungicide resistance. (en línea). Basel. s.p. Consultado mar. 2017. Disponible em <http://www.frac.info/resistance-overview/mechanisms-of-fungicide-resistance>.
11. Rosenberger D A. Understanding the limitations of newer apple fungicides. In: New England Vegetables and Fruit Conference. Manchester. 2011 Proceedings. Manchester, s.e. pp. 113-115.
12. Carbone M. Evaluación de la sensibilidad in vitro a Dodine en poblaciones de *Venturia Inaequalis*. Tesis de grado, Facultad de Agronomía, UDELAR. 2017. 44 pág.

13. Stensvand A, Amundsen T, Semb L. Apple scab (*Venturia inaequalis*) - patterns of ascospore release in Norway. *Nor. J. Agric. Sci. Supplement*. 1994. 17:49-54. P
14. MacHardy W E, Gadoury D M. Patterns of ascospore discharge by *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*. 1986. 76:985-990.
15. Hirst J M, Stedman O J. The epidemiology of apple scab (*Venturia inaequalis* (Cke.) Wint.) II. Observations on the liberation of ascospores. *Annals. Applied Biology*. 1962. 50:525-550.
16. Rossi V, Ponti I, Marinelli M, Giosueá S, Bugiani, R. Environmental Factors Influencing the Dispersal of *Venturia inaequalis* Ascospores in the Orchard Air. *Journal of Phytopathology*. 2001.149: 11-19
17. Ciecierski W, Cimanowski J, Bielenin A. Discharge of ascospores of *Venturia inaequalis*. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*. 1995. 3(2): 61-70.
18. Hirst J M. An automatic volumetric spore trap. *Annals of Applied Biology*. 1952. 39:2:257–265.
19. Brook P J. The ascospore production season of *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint., the apple black spot fungus, *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 1966. 9:4:1064-1069.
20. Holb I J, Heijne B, Withagen J C M, Jeger M J. Dispersal of *Venturia inaequalis* Ascospores and Disease Gradients from a Defined Inoculum Source. Article in *Journal of Phytopathology*. 2004.152:639 – 646
21. Rossi V, Ponti I, Marinelli M, Giosue S, Bugiani R. A new model estimating the seasonal pattern of air-borne ascospores of *Venturia inaequalis* (Cooke) Wint. in relation to weather conditions. *Journal of Plant Pathology*. 2000. 82: 111–8.

22. Aylor D E. Relative collection efficiency of Rotorod and Burkard spore samplers for airborne *Venturia inaequalis* ascospores. *Phytopathology*. 1993. 83:1116–1119.
23. Aylor D E, Sutton TB. Release of *Venturia inaequalis* ascospores during unsteady rain: Relationship to spore transport and deposition. *Phytopathology*. 1992. 82:532-540.
24. Gadoury DM, MacHardy WE. A 7-day recording volumetric spore trap. *Phytopathology*. 1983. 73:1526-1531.
25. Gadoury D M, Seem R C, Rosenberger D A, Wilcox W F, MacHardy W E, Berkett L P. Disparity between morphological maturity of ascospores and physiological maturity of asci in *Venturia inaequalis*. *Plant Disease*. 1992. 76:277-282.
26. Brook PJ. Effects of light, temperature, and moisture on release of ascospores by *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint., *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 1969. 12:1:214-227.
27. Gonzalo MA, Paredes M M, Muñoz AF, Tormo F, Silva I, Martínez JF. Estudio aeromicológico de la ciudad de Badajoz: Periodos de mayo a agosto de 1993 y 1994. *Rev. Esp. Alergol Immunol Clin*. 1996.11, 188-194.
28. Rocha Estrada A, Alvarado M, Gutierrez R, Salcedo S, Moreno S. Variación temporal de esporas de *Alternaria*, *Cladosporium*, *Coprinus*, *Curvularia* y *Venturia* en el aire del área Metropolitana de Monterrey, Nuevo León, México. *Rev. Int. Contam. Ambie*. 2013. 29 (2) 155-165.
29. Warner J, Braun PG. Discharge of *Venturia inaequalis* ascospores during daytime and nighttime wetting periods in Ontario and Nova Scotia, *Canadian Journal of Plant Pathology*. 1992. 14:4:315-321

30. Gadoury D M, Seem R C, Machardy W E. A Comparison of methods used to estimate the maturity and release of ascospores of *Venturia inaequalis*. Plant Disease. 2004. 88, 869–874.
31. Korsgaard M. Strategic irrigation against apple scab (*Venturia inaequalis*). Proceedings of the 15th International Conference on Organic Fruit-Growing. Eco-Fruit. 2012. p 245-248
32. Korsgaard M. Effect of Strategic Irrigation on infection of Apple scab (*Venturia inaequalis*). Proceedings of the 17th International Conference on Organic Fruit-Growing. Eco-Fruit. 2016. p 45-52

CAPÍTULO 3

CARACTERIZACIÓN DE LA DESCARGA DE ASCOSPORAS DE *VENTURIA INAEQUALIS* EN LAS CONDICIONES DE PRODUCCIÓN DE URUGUAY

Artículo a presentar en la revista Agrociencia Uruguay

Érica Martínez^{1*}, Sandra Alaniz¹, Pedro Mondino¹

*¹Departamento de Protección Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República,
Garzón 780, 12900, Montevideo, Uruguay. *Correo electrónico: erikamartinezf@hotmail.com*

RESUMEN

El control de la sarna del manzano causada por *Venturia inaequalis*, en Uruguay se realiza mediante la aplicación preventiva de fungicidas de contacto para evitar infecciones primarias. Cuando esto no es posible se recurre a aplicaciones curativas con fungicidas penetrantes. Como ayuda a la toma de decisiones los productores cuentan con un servicio de alarma que informa, inicio y final del periodo de descarga de ascosporas y cuando ocurren condiciones para la infección. El periodo de riesgo comienza cuando aparecen las primeras ascosporas maduras en los pseudotecios y finaliza cuando el 98% han sido liberadas. Como no se considera el posible desfasaje entre madurez morfológica y fisiológica de las ascosporas, ni se ha tenido en cuenta que durante la primavera, parte de las ascas que ya han liberado sus ascosporas se desintegran, es posible que se esté sobreestimando dicho periodo. Este trabajo tuvo por objetivo determinar el comportamiento de la liberación de ascosporas de *V. inaequalis* analizando la influencia de las precipitaciones y temperaturas acumuladas. Para ello se registró la concentración de ascosporas en el aire en montes de manzanos, durante dos temporadas consecutivas mediante una trampa Burkard. En ambos años el inicio de la descarga coincidió con la brotación de los manzanos mientras que el último evento de liberación ocurrió, más de 30 días antes de lo indicado por el Sistema de Alarma. Los resultados permiten especular con la posibilidad de adelantar el final de las aplicaciones de fungicidas en cada temporada disponiendo de datos reales de la concentración de ascosporas en el aire.

Palabras clave: *Venturia inaequalis*, ascosporas, manzanos, sarna, descarga.

SUMMARY

Characterization of *Venturia inaequalis* ascospores discharge in the conditions of production in Uruguay

The control of apple scab caused by *Venturia inaequalis* in Uruguay is carried out through the preventive application of contact fungicides to prevent primary infections. When this is not possible, curative applications with penetrating fungicides are used. As an aid to decision-making, producers have an alarm service that informs, the beginning and the end of the ascospore discharge period and when conditions for infection occur. The risk period is considered to start when the first mature ascospores appear in the pseudotecia and end when 98% have been released. As the possible lag between morphological and physiological maturity of the ascospores is not considered, nor is the possibility that part of the pseudotecia that have already released their ascospores during the spring disintegrate, it is possible that this period is being overestimated. This work aimed to determine the behavior of the *V. inaequalis* ascospore release by analyzing the influence of accumulated rainfall and temperature. For this, the concentration of ascospores in the orchard air in apple-tree orchards was recorded during two consecutive seasons by means of a Burkard trap. In both years the first discharge coincided with apple bud break, while the last release event occurred, more than 30 days earlier than indicated by the Alarm System. The results allow speculation about the possibility of ending of fungicide sprays earlier in the season with real data on the concentration of ascospores in the air.

Keywords: *Venturia inaequalis*, ascospores, apple trees, scab, dischar

INTRODUCCIÓN

La sarna del manzano (*Malus x domestica* Borkh), ocasionada por *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint., es la enfermedad fúngica más importante que afecta este cultivo en las zonas de producción con primaveras frescas y lluviosas como las de Uruguay. En el otoño, cuando las hojas afectadas caen al suelo, el hongo coloniza el mesófilo y cuando se encuentran dos micelios compatibles se produce la reproducción sexual formándose pseudotecios que contienen ascas con ascosporas. Durante la primavera, las ascosporas van madurando escalonadamente y son liberadas en cada evento de lluvia e infectan hojas y frutos jóvenes. El proceso de maduración de las ascosporas es influenciado por la temperatura y una vez que estas alcanzan la madurez necesitan de la ocurrencia de un evento de lluvia para ser liberadas ⁽¹⁾.

Debido a que el daño que provoca a la fruta es causa de descarte, su control mediante aplicaciones periódicas de fungicidas durante la primavera, apunta a evitar las infecciones primarias. Cuando por alguna razón no es posible aplicar fungicidas de acción preventiva, se aplican fungicidas con efecto retroactivo (estrategia curativa) ⁽²⁾. Los fungicidas con mayor efecto retroactivo pertenecen al grupo de los inhibidores de la biosíntesis de ergosterol (IBE). Estos fungicidas tienen alto riesgo de generar resistencia por lo que, su uso, debe minimizarse ⁽³⁾.

Para determinar el inicio y fin de las aplicaciones preventivas y los momentos de realizar aplicaciones curativas, productores y técnicos cuentan con la ayuda del servicio de alarma para *V. inaequalis*, disponible desde el año 1973 ⁽²⁾ y que es brindado por el Servicio de Protección Agrícola del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP). Este servicio informa el inicio y fin del periodo de descargas de ascosporas mediante la observación de la presencia de ascosporas maduras en los pseudotecios. El método utilizado consiste en coleccionar hojas del suelo durante la primavera, remover los pseudotecios allí presentes y observar su contenido bajo microscopio. Una vez comprobada la presencia de las primeras ascosporas morfológicamente maduras, se emite un comunicado dando por iniciado el periodo de control de la sarna para ese año. De ahí en más en cada periodo de lluvia, estaciones meteorológicas ubicadas en las principales zonas de producción registran el volumen de lluvia, el tiempo de hoja mojada (en horas) y la temperatura. Con esos datos y en

base a las tablas de Mills ⁽⁴⁾ se evalúa si las condiciones ambientales fueron suficientes para la ocurrencia de infecciones. Cuando esto ocurre, se emite el comunicado de alarma avisando a los agricultores de la ocurrencia de un periodo de infección (anexo 2). Sobre el fin de la temporada, cuando en los pseudotecios se alcanza un 98% de ascas vacías (que ya han descargado sus ascosporas) se da por finalizado el servicio para esa temporada.

Históricamente se ha considerado que el inicio de la descarga de ascosporas coincide con el momento en que se inicia la brotación de los manzanos (punta verde) y el final, por mediados de diciembre ^{(2), (5)}. Si bien el método de observación del contenido de pseudotecios rotos ha sido usado desde los años 70' en Uruguay ^{(2), (5)}, es sabido que las ascosporas alcanzan la madurez morfológica varios días antes que la madurez fisiológica ⁽⁶⁾, lo que podría conducir a iniciar los tratamientos antes de tiempo. Un segundo tipo de error consiste en la sobre-estimación del porcentaje de ascas con ascosporas maduras sobre el final de la temporada. Esto ocurre debido a que, durante la primavera, parte de las ascas que ya han liberado sus ascosporas se desintegran, y no son consideradas al calcular el porcentaje. Debido a esto, el final de la liberación de ascosporas calculado por este método, suele ser hasta 30 días posterior al real ^{(7), (8)}. Por lo que los indicadores madurez morfológica de las ascosporas son poco confiables al momento de definir el inicio de periodo de riesgo de la enfermedad ⁽⁶⁾.

La manera más segura de evitar estos errores, es cuantificar la presencia real de ascosporas en el aire en los montes de manzana. Esto es posible mediante el uso de trampas caza-esporas volumétricas automáticas tipo Hirst ^{(9), (10)}, que permiten la estimación exacta del inicio y finalización de la liberación de ascosporas. Las más utilizadas han sido las trampas Burkard y Lanzoni ^{(11), (12), (13), (14), (15)}, permiten cuantificar hora a hora las ascosporas liberadas. En este tipo de trampa cazaesporas, la superficie de captura es móvil exponiendo diferentes sectores de la misma al impacto de las esporas a medida que pasa el tiempo.

En los últimos años se ha incrementado la necesidad de racionalizar el uso de fungicidas, especialmente de aquellos pertenecientes al grupo de las estrobilurinas y de los inhibidores de la biosíntesis del ergosterol (IBE), debido a la constatación de resistencia de las poblaciones de *V. inaequalis* a estos fungicidas ⁽³⁾. El alto riesgo de generar resistencia obliga a minimizar su uso aplicándolos solamente cuando es estrictamente necesario. Para

ello, se debe tener precisión en la determinación de los momentos de inicio y de finalización de la descarga de ascosporas. Dentro de ese período también se requiere tener certeza en la determinación de los periodos de infección. Toda esta información es clave para poder hacer un manejo racional de los fungicidas.

En base a estos antecedentes y para mejorar la racionalidad de las aplicaciones de fungicidas en el control de la sarna del manzano en Uruguay, este trabajo tuvo por objetivo determinar el inicio y finalización de la descarga de ascosporas de *V. inaequalis* en las condiciones de producción de manzanas de Uruguay y analizar la influencia de los eventos de lluvias y de las temperaturas acumuladas en el comportamiento de la descarga.

MATERIALES Y MÉTODOS

La evolución de la concentración de ascosporas presentes en el aire, se registró utilizando una trampa cazaesporas Burkard (Burkard Manufacturing Co. Ltd., Rickmansworth, Hertfordshire, UK) colocada en el interior de dos montes de manzana variedad Scarlet durante dos años consecutivos (2013 y 2014). En la primavera del 2013 se utilizó un monte de 1 ha y 10 años de edad ubicado en Colonia Wilson, San José, (34° 43'48.96" S, 56° 29'36.74" W). El sistema de conducción es líder central y el marco de plantación 4,5 m x 1,5 m. En la primavera del 2014 se utilizó otro monte de 1,4 ha y 16 años de edad situado en la zona de Aguas Corrientes, Canelones (34° 31' 56.48" S, 56° 22'7.16" W). El sistema de conducción también es líder central y el un marco de plantación 4,5 m x 3 m.

En ambos años de evaluación se utilizaron montes de manzano ubicados en diferentes zonas, esto se debió a que en el primer año de evaluación la cantidad de inóculo de *V. Inaequalis* fue muy baja, determinando la decisión de escoger otro monte con mayor incidencia de la enfermedad en la temporada anterior.

En cada temporada la trampa caza-esporas fue instalada en el centro del monte en el estado fenológico punta plateada, en el primer año de estudio el día 06 de setiembre y para el segundo año el día 31 de agosto y fue retirada al menos 50 días después de finalizada la descarga de ascosporas, 20 de diciembre y 19 diciembre para el primer y segundo año de estudio respectivamente. Durante ese periodo, cada 7 días se procedió al recambio de la

cinta y batería. Luego de retirada cada cinta, esta fue cortada en siete segmentos de 48 mm correspondientes a cada día de la semana. Cada segmento fue colocado sobre un portaobjeto de acrílico con líneas paralelas talladas cada 2 mm. Utilizando microscopio óptico a 400 x de amplificación, se contaron las ascosporas de *V. inaequalis* presentes entre dos líneas talladas consecutivas (área correspondiente a 1 hora de exposición). El resultado se expresó como concentración de ascosporas en el aire (número de ascosporas por metro cúbico de aire) ⁽¹¹⁾.

Para registrar la temperatura dentro del monte de manzanos, se utilizó un registrador de datos electrónico (electronic data logger) marca Tinytag, modelo TGP-4500. El registrador de datos electrónico fue colocado en una estación meteorológica ubicada a cinco metros de la trampa caza-esporas. Para el primer año de evaluación, se utilizaron los eventos y volúmenes de lluvias brindados por el Instituto Uruguayo de Meteorología (INUMET) (estaciones de Ciudad del Plata) ubicada a 6 km del ensayo; mientras que para el segundo año, los datos de las precipitaciones fueron los brindados por la planta potabilizadora de OSE, Aguas Corrientes, Canelones, ubicada a 2,5 km del ensayo.

Para el análisis de la relación entre las precipitaciones ocurridas y la liberación de ascosporas, se realizaron gráficos descriptivos detallando los volúmenes de descarga de ascosporas y los volúmenes de precipitaciones ocurridos para cada evento de precipitación ocurrido en cada temporada. También se analizó con detalle la relación entre la hora de comienzo de la lluvia y el comienzo de la descarga de ascosporas desde los pseudotecios.

Para el cálculo de los grados días (GD) acumulados durante el periodo de liberación de ascosporas se utilizó la siguiente fórmula "GD = Temperatura promedio diaria – Temperatura base" a partir de los valores máximos y mínimos de temperatura diarios registrados y utilizando como temperatura base 0°C ^{(7), (16)}. El inicio del conteo de los GD se inició en la fecha en que se detectó la descarga de las primeras ascosporas en cada temporada ⁽¹⁷⁾.

Para el análisis de la influencia de las variables referentes a temperatura y precipitaciones en la liberación de ascosporas, se utilizó un modelo logístico que incorporase un término auto regresivo que fuese capaz de incorporar al análisis la posible dependencia temporal de los datos. En la literatura este modelo corresponde a una familia amplia

denominada Generalize Autorregresive Moving Average (GARMA) ⁽¹⁸⁾. La significación de los parámetros en estos modelos fue llevada a cabo mediante test de cociente de verosimilitud (LRT).

En última instancia se presenta una descripción de los resultados provistos mediante gráficos e interpretación de los coeficientes estimados. En el análisis del modelo correspondiente al primer año, se llegó a un modelo informativo de liberación que utiliza las variables GD acumulados, presencia de precipitaciones y dos coeficientes autorregresivos.

$$\text{logit}(P(Y_t)) = \beta_0 + \beta_1 X_{1,t} + \beta_2 X_{2,t} + \sum_{i=1}^{i=p} \phi_i Y_{t-i}$$

En la ecuación se vincula la probabilidad de liberación en el momento "t" con las variables explicativas "X" en el mismo momento (en este caso, grados día acumulados y precipitaciones). Se agregan además los valores rezagados de la liberación, de esta manera se podría investigar si el hecho de que en un día se haya registrado liberación de ascosporas, se corresponde con una mayor o menor probabilidad de liberación al día siguiente.

RESULTADOS

Durante la primavera 2013 se registraron 10 eventos de liberación de ascosporas, 3 fueron de liberación nocturna y 7 de liberación diurna. En esa temporada 61% de las ascosporas capturadas se liberó en eventos diurnos de lluvia y 39% en eventos nocturnos. El primer evento ocurrió el día 7 de setiembre en estado fenológico punta verde y el último el día 2 de noviembre (Figura 3.1). No se registraron capturas luego del día 2 de noviembre y hasta fines de diciembre cuando fue retirada la trampa, durante este tiempo ocurrieron 7 eventos de lluvias. Los eventos con mayores descargas (pico de descargas) fueron los dos primeros de los que se dispone registro (7 y 28 de setiembre).

Durante la primavera 2014 se registraron 14 eventos de liberación de ascosporas, de los cuales 7 fueron eventos nocturnos y 7 diurnos. En esta temporada la mayoría de las ascosporas capturadas provino de eventos nocturnos de lluvia (61%) mientras que el resto provino de eventos diurnos (39%). El primer evento de capturas ocurrió el día 2 de setiembre

en estado fenológico punta verde y el último el día 2 de noviembre de 2014, igual que el año anterior (Figura 3.1). En este segundo año, tampoco se registraron capturas luego del día 2 de noviembre hasta fines de diciembre cuando fue retirada la trampa, en este caso ocurrieron 8 nuevos eventos de lluvias durante este periodo. Las descargas mayores (pico de descargas) ocurrieron en el cuarto y quinto evento de captura, los días 13 y 23 de setiembre respectivamente, coincidiendo con el estadio de floración de los manzanos.

En relación al análisis de cada uno de los eventos de captura registrados, se observa que el inicio de las capturas de ascosporas coincidió siempre con la hora de comienzo de la lluvia. A modo de ejemplo se presentan las características de dos eventos de descarga correspondientes a cada año de evaluación (Figura 3.2). Cada vez que ocurrió un evento de lluvia, se registraron capturas de ascosporas en el aire durante ese día y, eventualmente, también en el día siguiente, independientemente del volumen de las mismas. Por el contrario no se registraron capturas de ascosporas si no ocurrió un episodio de precipitaciones ese día o el día anterior.

La no asociación entre los volúmenes de lluvia y la magnitud de la descarga se visualiza mediante la construcción de un diagrama de dispersión entre las variables liberación de ascosporas y precipitaciones. Este diagrama muestra la inexistencia de un patrón donde a mayores valores de precipitación correspondan mayores volúmenes de liberación (Figura 3.3). Los datos muestran que no existe asociación entre los volúmenes de precipitaciones y la magnitud de las liberaciones de ascosporas.

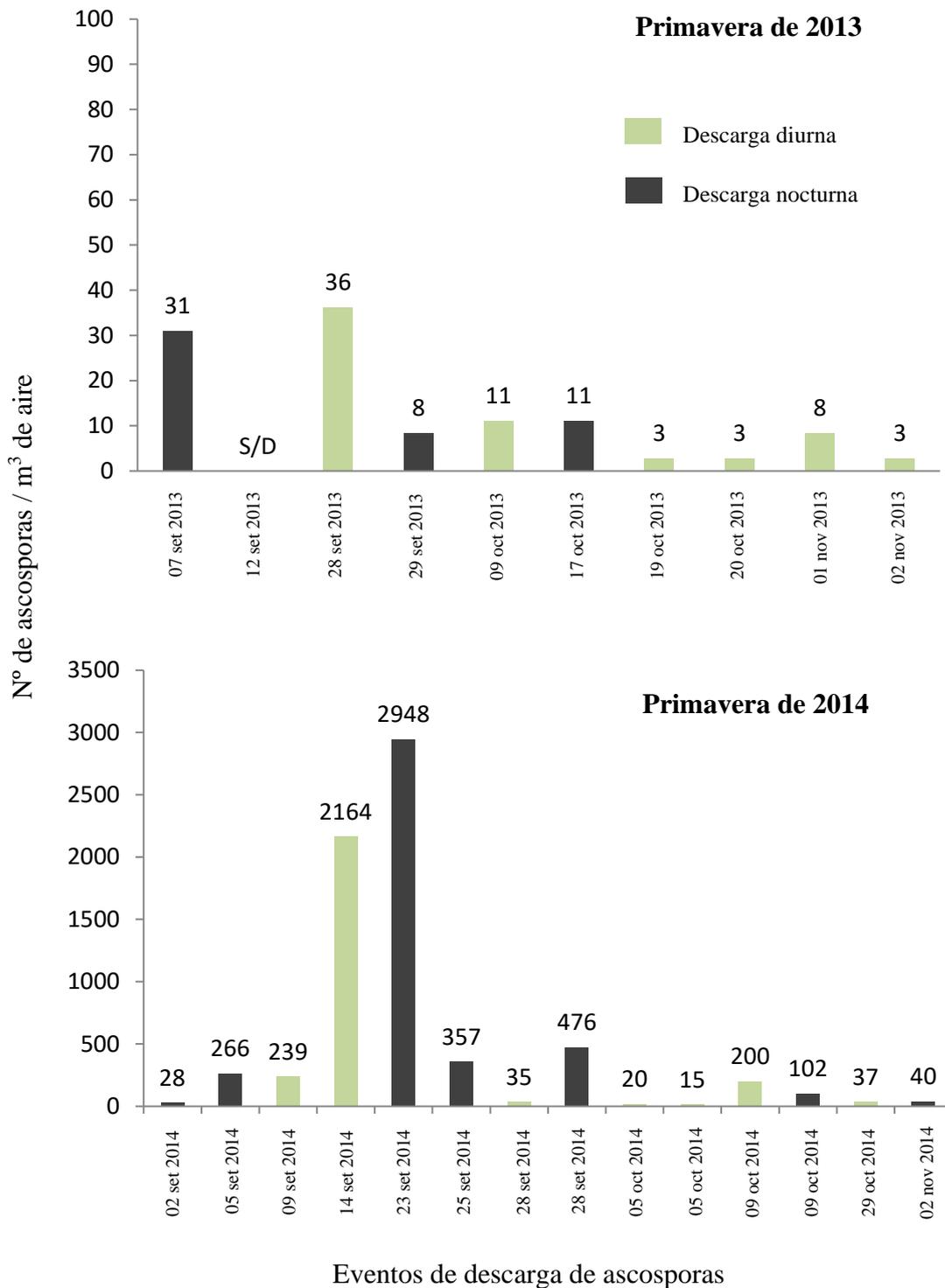


Figura 3.1 Distribución de las capturas de ascosporas durante las primaveras 2013 y 2014. S/D los datos de captura del 12 de setiembre de 2013, no están disponibles debido a que un fuerte temporal de viento y lluvia afecto el funcionamiento de la trampa cazaesporas.

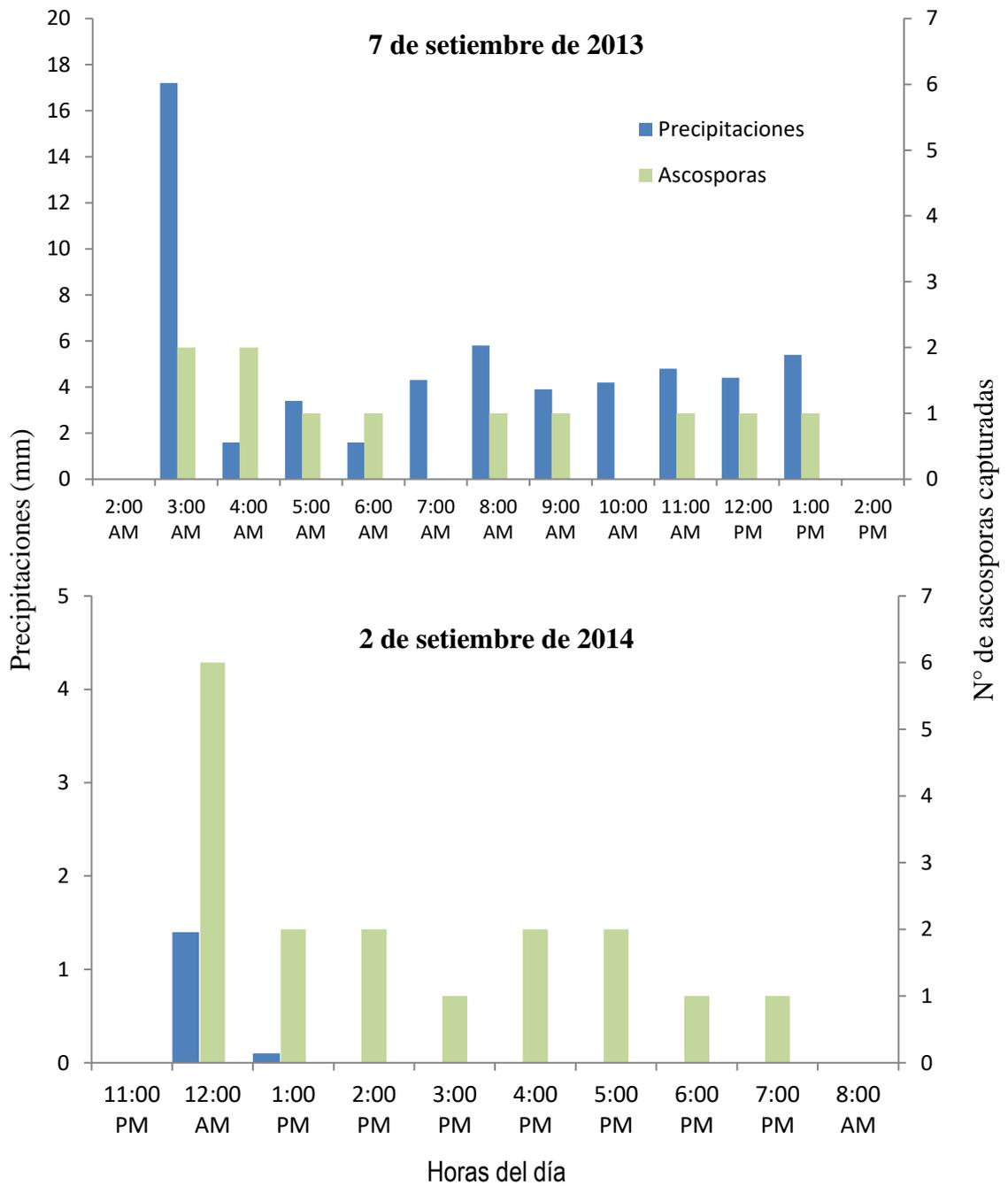


Figura 3.2 Primer evento de descarga de ascosporas ocurrido en las primaveras de 2013 y 2014.

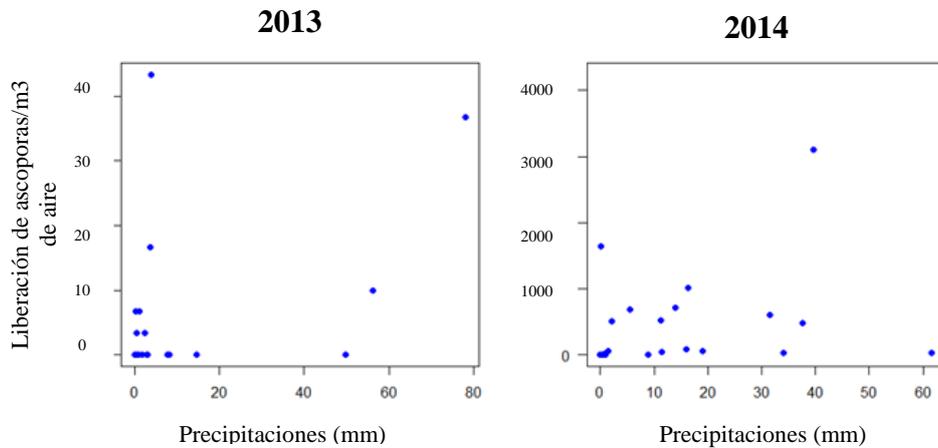


Figura 3.3 Liberación de ascoporas vs. precipitaciones para los dos años de estudio, 2013 y 2014.

En relación al comportamiento de la descarga acumulada a lo largo de cada primavera, se detectan tres etapas. Una primera etapa donde la descarga es gradual, una segunda etapa donde se produce un incremento brusco de la descarga (fase exponencial), que coincide con el estadio de floración de los manzanos y una tercera en la que la descarga vuelve a enlentecerse. Este comportamiento puede observarse en la figura 3.4.

Con respecto al análisis de la relación entre los GD y la descarga de ascoporas, se observó que en ambas temporadas (2013 y 2014), los picos máximos de liberación de ascoporas, ocurrieron los días 28 y 23 de setiembre respectivamente, cuando se habían acumulado 382,9 y 382 GD respectivamente, en esta etapa el cultivo se encontraba en el estadio de floración. En ambas temporadas, las últimas ascoporas registradas en el aire de los montes, fue el día 2 de noviembre con 946,65 GD acumulados en 2013 y 1094 GD acumulados en 2014.

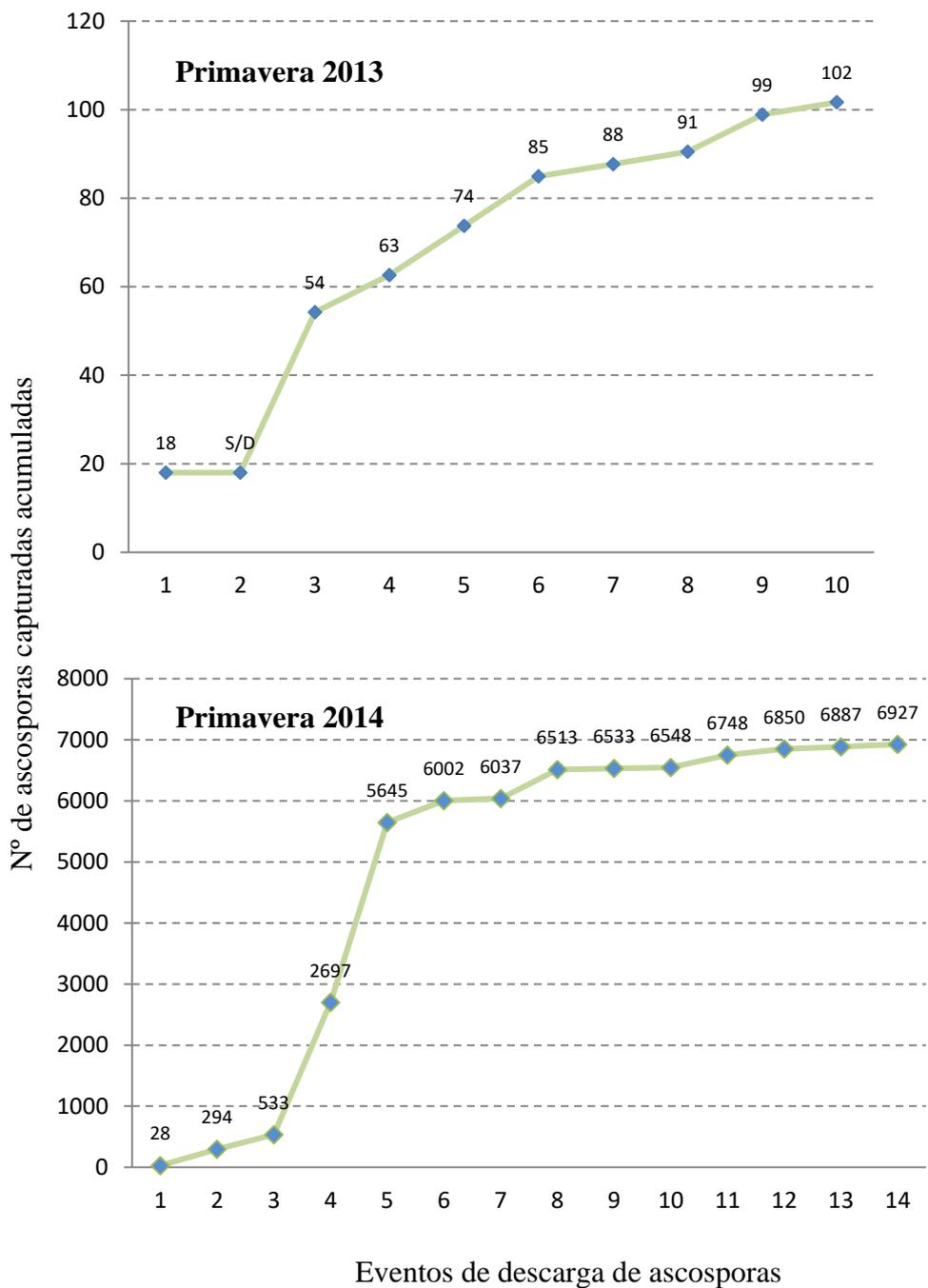


Figura 3.4 Evolución de las capturas acumuladas de ascosporas durante las primaveras 2013 y 2014

La aplicación del modelo GARMA muestra que es posible obtener información sobre la probabilidad de que ocurran procesos de descarga de ascosporas y que esta está asociada a la ocurrencia de precipitaciones (Cuadro 3.1).

Cuadro 3.1 Modelo GARMA para los años 2013 (cuadro superior) y 2014 (cuadro inferior)

	Estimación	LRT	p-valor
Predictor Lineal			
Descarga	-23,08	12,65	<0.001
GD	0,004	2,920	0,087
Precipitaciones	20,33	20,19	<0.001

	Estimación	LRT	p-valor
Predictor Lineal			
Descarga	-32,59	16,89	<0.001
GD	0,003	0,803	0,370
Precipitaciones	35,09	49,47	<0.001

En el cuadro 3.1 se observa en las filas correspondientes al predictor lineal la significación de todos los términos incluidos en el modelo. La interpretación de los mismos se lleva a cabo al exponenciarlos. Por ejemplo, la interpretación de la constante descarga de ascosporas, se lleva a cabo no sobre el valor -23,08 sino sobre el valor $\exp(-23,08)$. Este valor es prácticamente cero y representa la probabilidad de que se de una liberación de ascosporas en un día donde no hay precipitaciones y la acumulación de grados días sea cero.

En el caso de la variable grados día acumulados, la interpretación es que por cada “grado día” extra, la chance de que se dé una liberación aumenta 0,4%, este resultado no se corresponde con la realidad debido a que la acumulación de GD depende directamente de la temperatura y las liberaciones de ascosporas dependen de la ocurrencia de precipitaciones en la temporada. Por último el valor $\exp(20,33)$ es congruente con lo mencionado

anteriormente, sobre que la descarga de ascosporas se produce en presencia de precipitaciones.

Para el segundo año, los resultados obtenidos fueron similares, observándose que la interpretación del valor la constante descarga de ascosporas, $\exp(-32,59)$, es prácticamente cero, indicando que no existe probabilidad de que se dé una liberación de ascosporas en un día donde no hay precipitaciones y se hayan acumulado cero grados días.

En el caso de la variable GD acumulados, al igual que en el primer año, el efecto no es significativo, por lo cual no se interpreta su coeficiente. Por último el valor $\exp(35,09)$, indica que en los días en que se registran precipitaciones, se corresponden con un aumento significativo de la liberación de ascosporas.

A modo de visualización de resultados la figura 3.5 presenta los eventos observados junto con la probabilidad estimada por el modelo.

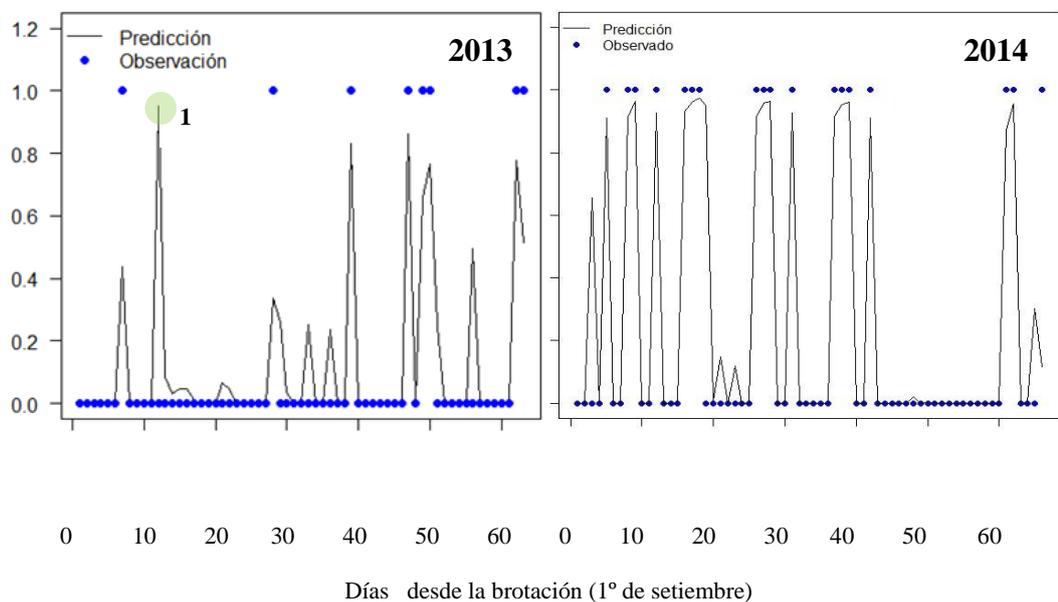


Figura 3.5 Liberación de ascosporas reales y predicciones realizadas por el modelo GLARMA para los años 2013 y 2014. ¹ Los datos se perdieron por la entrada de agua de lluvia en la trampa durante un temporal.

Se puede observar en los gráficos, que en la mayoría de los casos donde se registraron liberaciones, el modelo presentó probabilidades altas. Por otro lado, se ven algunos casos donde hay probabilidades altas sin liberación o liberaciones con probabilidades bajas. En estos casos donde el modelo no responde adecuadamente son signos de que sería necesaria mayor información para aumentar la precisión del modelo.

Finalmente, en estos modelos se realizaron especificaciones que incluían la temperatura máxima y/o mínima pero en ninguno de los casos se obtuvieron resultados significativos.

DISCUSIÓN

En este trabajo se cuantifica por primera vez en Uruguay, el inicio y finalización del periodo de descarga, así como la cantidad de ascosporas de *V. inaequalis* efectivamente liberadas al aire a partir de pseudotecios presentes en las hojas caídas en el suelo durante dos temporadas consecutivas, 2013 y 2014.

Las primeras capturas de ascosporas registradas ocurrieron los días 7 y 2 de setiembre en las temporadas 2013 y 2014 respectivamente, coincidiendo el inicio de la liberación con la etapa fenológica de punta verde. En ambos años, en los momentos en que el Sistema de Alarma brindado por el MGAP alertaba de la ocurrencia del primer periodo de infección, la trampa cazaesporas registró capturas. Estos resultados muestran que las ascosporas maduras observadas en los peritecios rotos tenían a su vez la madurez fisiológica necesaria para ser liberadas. Se confirma de este modo, lo registrado en la bibliografía sobre la capacidad de este hongo en sincronizar su ciclo de vida con el ciclo vegetativo de los manzanos, liberando ascosporas solamente cuando hay tejido para poder infectar ⁽⁸⁾, ⁽⁷⁾, ⁽¹⁹⁾, ⁽¹⁶⁾. Estos autores sugieren, que la etapa de punta verde del desarrollo de la yema de la manzana, debe utilizarse como indicador biológico del momento de inicio del cálculo de GD acumulados, debido a que coincide con la primera aparición de ascosporas maduras.

Por otra parte, estos resultados desestiman las expectativas de retardar el inicio de las aplicaciones de fungicidas en la temporada. Al inicio de este trabajo, se especulaba con que el método de observación bajo microscopio de pseudotecios aplastados podría estar

adelantando en demasía el inicio de las aplicaciones al no considerar la madurez fisiológica de las ascosporas. Sin embargo, en los dos años de estudio, la captura de las primeras ascosporas en el aire del monte de manzanos, coincidió con la primera lluvia en el estadio de punta verde.

Por su parte, Singh et al ⁽¹⁷⁾, comprobó que ya existían suficientes ascosporas maduras presentes en las hojas caídas al suelo, para permitir descargas de ascosporas durante de la etapa de punta plateada de los manzanos. Esto indica que es fundamental llevar un monitoreo del estado fenológico del cultivo para detectar la existencia de tejidos susceptibles en los árboles de manzano y utilizarlo como indicador del inicio del periodo de riesgo de ataque de *V. inaequalis* en manzanos.

Por el contrario, el último registro de captura de ascosporas en ambos años ocurrió el 2 de noviembre, 44 y 36 días antes de que el Servicio de alarma indicara el final del periodo de riesgo de ocurrencia de sarna primaria para los años 2013 y 2014 respectivamente (anexo 2). En el primer año se anunciaron tres periodos de infección inexistentes los días 7, 15 y 26 de noviembre de 2013 y en el segundo año otros tres los días 21, 24 y 29 de noviembre de 2014.

Estos resultados confirmaron que el método de determinación del final del periodo de descargas de ascosporas mediante el método de observación de pseudotecios rotos, sobreestima el periodo de liberación de ascosporas induciendo a realizar aplicaciones innecesarias de fungicidas en momentos en que éstas no están siendo liberadas. La duración real del periodo de liberación de ascosporas de 56 y 61 días respectivamente, es coincidente con numerosos trabajos que indican una duración de aproximadamente dos meses ^{(20), (21), (22), (16), (17), (12)}.

Si bien es necesario ampliar los años de estudio para confirmar que la liberación de ascosporas para las condiciones de Uruguay finaliza a inicios de noviembre, es posible especular con la posibilidad de que las aplicaciones de fungicidas para el control de *V. inaequalis*, se pueden finalizar un mes antes de lo usual. Alaniz et al ⁽²³⁾ demostraron que desde mediados de diciembre en adelante, las aplicaciones de fungicidas para controlar esta enfermedad son innecesarias. La recomendación realizada toma como referencia, el final del periodo de descargas de ascosporas basada en la comunicación brindada por el Servicio de

Protección Agrícola del MGAP y que históricamente ha ocurrido a mediados de diciembre. El hecho de haberse demostrado que, al menos en algunos años, el verdadero final del periodo de producción de inóculo primario finaliza al menos un mes antes, podría indicar la posibilidad de detener las aplicaciones de fungicidas para controlar *V. inaequalis* antes de lo previsto por Alaniz et al ⁽²³⁾.

Sin embargo, si bien se comprobó que el inóculo primario de *V. inaequalis* puede agotarse a inicios de noviembre, la eliminación anticipada de las aplicaciones de fungicidas deberá ser evaluada con precaución. La recomendación de la eliminación de las aplicaciones durante el verano, no se sustenta solamente en la ausencia de inóculo primario, sino que también considera que, durante el periodo estival las temperaturas son mayores a las favorables para el crecimiento de *V. inaequalis* y los tejidos adultos son menos susceptibles a la infección debido al desarrollo de resistencia ontogénica ^{(1), (23)}.

Las capturas acumuladas de ascosporas de *V. inaequalis* a lo largo de la primavera, siguieron una curva sigmoidea con una fase inicial lenta para luego ingresar en una fase exponencial (aceleración del proceso de maduración) y finalmente entrar nuevamente en una fase lenta, comportamiento que ya fue relatado anteriormente en otras regiones de producción ^{(7), (24)}. Las mayores capturas de ascosporas ocurrieron los días 23 y 28 de setiembre en los años 2013 y 2014 respectivamente, en el estado fenológico de plena flor coincidiendo con la fase exponencial de liberación. Estos resultados coinciden con los presentados por varios autores ^{(21), (25), (20), (17)}, quienes mencionan que la productividad máxima de ascosporas coincide con la etapa que va de plena floración a caída de pétalos. Este comportamiento pone en evidencia que si las lluvias ocurren al inicio o final de la temporada, las descargas de ascosporas tendrán una magnitud menor que si ocurren en la fase exponencial.

En todos los casos los eventos de liberación de ascosporas estuvieron asociados a la ocurrencia de lluvias, éste resultado coincide con lo verificado por Rossi et al ⁽²²⁾, donde solo detectó liberación de ascosporas cuando ocurrieron precipitaciones. La liberación de ascosporas, ocurrió inmediatamente de iniciado cada evento de lluvia, registrándose capturas durante la primera hora posterior en los 24 eventos de liberación durante los 2 años de estudio, resultados que coinciden con los relatados ^{(26), (24), (27)}. Estos resultados se explican

porque la liberación de ascosporas requiere de cantidades mínimas de lluvia; se estima que con aproximadamente 0,2 mm es suficiente para que se produzca la descarga ^{(28), (21)}. Esto explica porqué, al hacer el diagrama de dispersión entre las variables liberación de ascosporas y precipitaciones no se pudo asociar la magnitud de las capturas con el volumen de las precipitaciones.

Otro factor que tendría influencia en el comienzo de la liberación de ascosporas maduras es la temperatura, si bien, como se mencionó anteriormente la liberación de ascosporas, comenzaría conjuntamente con la etapa de punta verde de los manzanos ^{(29), (30)}, coinciden en que si durante los episodios de lluvia anteriores a punta verde, las temperaturas oscilan entre 1 - 6,6 ° C, se inhibiría la liberación de ascosporas, esta situación no ocurrió durante esta investigación. En los momentos en que se detectaron las primeras ascosporas liberadas, las temperaturas medias registradas en el interior de los montes de manzano eran de 16 y 14,5°C en el primer y segundo año de evaluación respectivamente.

Con respecto a la relación entre los GD acumulados en la temporada y las ascosporas liberadas, se observó que en el primer y segundo año de evaluación el 50% de las ascosporas habían sido liberadas con una acumulación de 383 y 382 GD respectivamente, y el 95% de las ascosporas con 930 y 630 GD acumulados respectivamente. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Singh et al ⁽¹⁷⁾, quienes capturaron la totalidad de ascosporas con una acumulación de entre 775 – 1080 GD. Por su parte Gadoury y MacHardy ⁽⁸⁾, y Stensvand et al ⁽¹⁶⁾, observaron que la mayoría de las ascosporas se liberan entre los 123 - 375 GD acumulados.

No se pudo encontrar una relación entre los grados días acumulados y la probabilidad de que ocurra una liberación. Esto se explica porque la liberación ocurre solamente cuando ocurren lluvias. En ausencia de lluvias se acumularán grados días pero no ocurrirá liberación de ascosporas.

El análisis del modelo GARMA, indico que la probabilidad de que ocurra liberación de ascosporas en un día donde no hay precipitaciones y donde la acumulación de grados días sea cero, es nula. Si bien lo mencionado es lo esperado según el comportamiento del hongo, el modelo presentó falencias en cuanto a la predicción de la liberación de ascosporas a través

de la estimación de los GD acumulados, esto se debe a lo mencionado anteriormente, sobre que la liberación de ascosporas depende directamente de la ocurrencia de lluvias y si no llueve, independientemente de la acumulación de GD, no habrá liberación.

En la información obtenida a través del modelo GARMA, en la mayoría de los casos donde se registraron liberaciones, el modelo presenta probabilidades altas de descarga de ascosporas. Sin embargo, se ven algunos casos donde hay probabilidades altas sin liberación o liberaciones con probabilidades bajas. Estos casos donde el modelo no responde adecuadamente, son signos de que sería necesaria mayor información para aumentar la precisión del modelo. Con respecto a la variable temperatura, las especificaciones que incluían la temperatura máxima y/o mínima, en ninguno de los casos se obtuvieron resultados significativos (datos no mostrados).

En ambas temporadas se registraron episodios de liberación tanto en horas del día como de la noche. La existencia de liberación nocturna se constató en los ensayos de liberación forzada (capítulo 2) y ahora es confirmada en condiciones de campo. Estos resultados son contundentes y determinan que ningún evento de lluvia, independientemente de la hora del día en que ocurra, debe ser desestimado. La ocurrencia de lluvias desde el estado punta verde a al menos inicios de noviembre, implicara la ocurrencia de descarga de ascosporas.

BIBLIOGRAFÍA

1. MacHardy WE. Apple scab: biology, epidemiology, and management. St. Paul, Minnesota USA: American Phytopathological Society (APS Press). 1996. 545 pp.
2. García S, Moscardi C. El Sistema de Alarma para el Control de la Sarna del Manzano. Centro de Investigaciones Agrícolas Alberto Boerger. Estación Experimental Las Brujas. Misceláneas N° 33. 1981.

3. Mondino P, Casanova L, Celio A, Bentancur O. Leoni C, Alaniz S. Sensitivity of *Venturia inaequalis* to difenoconazole and trifloxystrobin in Uruguay. *Journal of Phytopathology*. 2015. 163:1-10.
4. Mills W D, Laplante A A. Diseases and insects in the orchard. *Cornell Extension Bulletin*. 1951. 711:21-27
5. García S, Moscardi C. Sarna del Manzano. Sintomatología y ciclo biológico. Centro de Investigaciones Agrícolas Alberto Boerger. Estación Experimental Las Brujas. Hoja de divulgación N° 23. 1975.
6. Gadoury D M, Seem R C, Rosenberger D A, Wilcox W F, MacHardy W E, Berkette L P. Disparity between morphological maturity of ascospores and physiological maturity of asci in *Venturia inaequalis*. *Plant Disease*. 1992a. 76:277-282
7. Gadoury D M, Seem R C, MacHardy W E, Wilcox W F, Rosenberger D A, Stensvand A. A comparison of methods used to estimate the maturity and release of ascospores of *Venturia inaequalis*. *Plant Disease*. 2004. 88:869-874.
8. Gadoury D M, MacHardy W E. A model to estimate the maturity of ascospores of *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*. 1982a. 72:901-904 .
9. Hirst J M. An automatic volumetric spore trap. *Annals of Applied Biology*. 1952. 39:2:257–265.
10. Brook P J. The ascospore production season of *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint., the apple black spot fungus, *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 1966. 9:4:1064-1069,

11. Holb I J, Heijne B, Withagen J C M, Jeger M J. Dispersal of *Venturia inaequalis* Ascospores and Disease Gradients from a Defined Inoculum Source. Article in Journal of Phytopathology. 2004. 152:639 – 646.
12. Rossi V, Ponti I, Marinelli M, Giosue S, Bugiani R. A new model estimating the seasonal pattern of air-borne ascospores of *Venturia inaequalis* (Cooke) Wint. in relation to weather conditions. Journal of Plant Pathology. 2000. 82: 111–8.
13. Aylor D E. Relative collection efficiency of Rotorod and Burkard spore samplers for airborne *Venturia inaequalis* ascospores. *Phytopathology* . 1993. 83:1116–1119
14. Aylor D E, Sutton T B. Release of *Venturia inaequalis* ascospores during unsteady rain: Relationship to spore transport and deposition. *Phytopathology*. 1992. 82:532-540.
15. Gadoury D M, MacHardy WE. A 7-day recording volumetric spore trap. *Phytopathology*. 1983. 73:1526-1531.
16. Stensvand A, Eikemo H, Gadoury D M, Seem R C. Use of a rainfall frequency threshold to adjust a degree-day model of ascospore maturity of *Venturia inaequalis*. *Plant Disease*. 2005. 89:198-202.
17. Singh K P, Kumar J, Singh A, Prasad R K, Singh R P, Prasad D. Maturation ascospores discharge pattern and relevances of Mills criteria for predicting apple scab infection period in India. *Plant Pathol. J.* 2016. 15:108-123.
18. Benjamin M, Rigby R, Stasinopoulos D. Generalized Autoregressive Moving Average Models. *Journal of the American Statistical Association*. 2003. 98 (461), 214–223.

19. MacHardy W E, Gadoury D.M, Gessler C. Parasitic and biological fitness of *Venturia inaequalis*: relationship to disease management strategies. *Plant Disease*. 2001. 85:137- 140.25.
20. Gadoury D M, MacHardy WE. Preparation and Interpretation of Squash Mounts of Pseudothecia of *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*. 1982b. 72:92-95.
21. Hirst J M, Stedman O J. The epidemiology of apple scab (*Venturia inaequalis* (Cke.) Wint.) II. Observations on the liberation of ascospores. *Annals of Applied Biology*. 1962. 50:525-550.
22. Rossi V, Ponti I, Marinelli M, Giosuea S, Bugiani R. Environmental Factors Influencing the Dispersal of *Venturia inaequalis* Ascospores in the Orchard Air. *J. Phytopathology*. 2001. 149, 11-19.
23. Alaniz S, Leoni C, Bentancour O, Mondino P. Suppression of summer fungicide sprays for apple scab (*Venturia inaequalis*) management in Uruguay. *Scientia horticultrae*. 2014. 165:331-335.
24. MacHardy W E, Gadoury D M. Patterns of ascospore discharge by *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*. 1986. 76:985-990.
25. Stensvand A, Amundsen T, Semb L. Apple scab (*Venturia inaequalis*) - patterns of ascospore release in Norway. *Nor. J. Agric. Sci. Suppl*. 1994. 17:49-54. P
26. Brook P J. Effects of light, temperature, and moisture on release of ascospores by *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint., *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 1969. 12:1:214-227.

27. Gadoury D M, Rosenberger D A, Barnard J, MacHardy W E. Variation and error in estimates of ascospore maturity and discharge derived from examination of crushed pseudothecia of *Venturia inaequalis*. *Plant Disease*. 1992b. 76:717-720.
28. Beresford R M. Validation of an ascospore release prediction model for Apple black spot (*Venturia inaequalis*). *Proc. 52nd N.Z. Plant Protection*. 1999. 148-152.
29. Gadoury D M, MacHardy W E. Forecasting ascospore dose of *Venturia inaequalis* in commercial apple orchards. *Phytopathology*. 1986. 76:112-118.
30. Stensvand A, Gadoury D, Amundsen T, Semb L, Seem R. Ascospore Release and Infection of Apple Leaves by Conidia and Ascospores of *Venturia inaequalis* at Low Temperatures. *Phytopathology*. 1997. 87:1046-1053

CAPÍTULO 4

CONCLUSIONES GENERALES

Por primera vez se estudió el comportamiento de la descarga de ascosporas de *V. inaequalis* en las condiciones de producción de manzanas en Uruguay mediante trampas volumétricas burkard.

En ambas temporadas el inicio de la descarga de ascosporas coincidió con el momento de la brotación (punta verde), de los manzanos descartándose que el posible desfase entre la madurez morfológica y la fisiológica de las ascosporas pudiese estar adelantando innecesariamente el inicio de las aplicaciones de fungicidas.

En ambas temporadas el fin del periodo de liberación de ascosporas ocurrió 44 y 36 días antes de lo indicado por el Servicio de Alarma. Si bien será necesario nuevos estudios que confirmen que lo ocurrido en estos dos años no ha sido una excepción, es posible especular con que el final del periodo de riesgo esté ocurriendo más de un mes antes de lo que hasta este momento se estaba manejando. Esto permite especular con la posibilidad de reducir el uso de fungicidas una vez finalizado el periodo de descargas.

En cuanto a los factores que inciden sobre la descarga se confirmó el hecho de que la ocurrencia de lluvias constituye el principal elemento que desencadena el proceso de liberación. No se encontró relación entre la magnitud de la precipitación y la cantidad de ascosporas liberadas.

La liberación de ascosporas requiere de cantidades mínimas de lluvia (2 mm) y en todos los casos la captura de ascosporas ocurrió en la misma hora en que ocurrió la lluvia o, en el caso de los experimentos de liberación forzada, en la misma hora de iniciado el riego sobre las hojas caídas en el suelo.

No se pudo demostrar efecto de la luz sobre la descarga de ascosporas. Contrariamente a lo que se esperaba, las ascosporas se liberaron en ausencia de luz, tanto en el campo cuando ocurrieron lluvias nocturnas como en los experimentos de liberación forzada mediante riegos nocturnos. Por esta razón se concluye que no es posible desestimar aquellos periodos de infección debidos a la ocurrencia de lluvias nocturnas.

En cuanto a la influencia de la temperatura sobre la liberación de las ascosporas maduras no se pudo encontrar una relación clara, si bien en el primer año se constató que la existencia de temperaturas levemente superiores en los días en que se detectaron las primeras ascosporas liberadas, esto no se pudo comprobar en el segundo año.

No se pudo encontrar una relación entre los GD acumulados y la probabilidad de que ocurra una liberación. Los GD acumulados no constituyen una variable confiable para predecir la descarga de ascosporas.

El análisis del modelo GARMA, confirmó que la probabilidad de que se de una liberación de ascosporas en un día donde no hay precipitaciones y la acumulación de grados días sea cero, es nula y el principal factor que induce la liberación de ascosporas es la lluvia.

En la información obtenida mediante el modelo GARMA, la mayoría de los casos donde se registraron liberaciones, el modelo presenta probabilidades altas de descarga de ascosporas. Sin embargo, se ven algunos casos donde hay probabilidades altas sin liberación o liberaciones con probabilidades bajas. Estos casos donde el modelo no responde adecuadamente son signos de que sería necesaria mayor información para aumentar la precisión del modelo. Con respecto a la variable temperatura, las especificaciones que incluían la temperatura máxima y/o mínima, en ninguno de los casos se obtuvieron resultados significativos.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Agrios G N. 2005. Plant pathology, 5th edition. Academic Press. New York. USA. 922p.
- Alaniz S, Leoni C, Bentancour O, Mondino P. 2014. Suppression of summer fungicide sprays for apple scab (*Venturia inaequalis*) management in Uruguay. *Scientia horticulturae*. 165:331-335.
- Alaniz S, Leoni C, Mondino P. 2003. Manejo de la sarna del manzano sin aplicaciones de fungicidas durante el verano. En: Producción Integrada en Uruguay. Claves de un sistema amigable con el medio ambiente que permite obtener frutas y hortalizas de alta calidad. PREDEG / GTZ Montevideo p127-130.
- Aylor D E. 1993. Relative collection efficiency of Rotorod and Burkard spore samplers for airborne *Venturia inaequalis* ascospores. *Phytopathology* 83:1116–1119.
- Aylor D E, Sutton T B. 1992. Release of *Venturia inaequalis* ascospores during unsteady rain: Relationship to spore transport and deposition. *Phytopathology* 82:532-540.
- Aylor D E. 1998. The aerobiology of apple scab. *Plant Disease*. vol 82. N° 8: 838-849.
- Brook P J. 1966. The ascospore production season of *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint., the apple black spot fungus, *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 9:4:1064-1069.
- Brook P J. 1969 Effects of light, temperature, and moisture on release of ascospores by *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint., *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 12:1, 214-227
- Carisse O, Jobin T, Bourgeois G. (2008). Predicting apple leaf emergence from degree-day accumulation during the primary scab period. *Canadian Journal of Plant Science*, 88, 229–238.

- Gadoury D M, Seem R C, MacHardy W E, Wilcox W F, Rosenberger D A, Stensvand A. 2004. A comparison of methods used to estimate the maturity and release of ascospores of *Venturia inaequalis*. *Plant Dis.* 88:869-874.
- Gadoury D M, Seem R C, Rosenberger D A, Wilcox W F, MacHardy W E, Berkette L P. 1992a. Disparity between morphological maturity of ascospores and physiological maturity of asci in *Venturia inaequalis*. *Plant Disease.* 76:277-282.
- Gadoury D M, Rosenberger D A, Barnard J, MacHardy W E. 1992b. Variation and error in estimates of ascospore maturity and discharge derived from examination of crushed pseudothecia of *Venturia inaequalis*. *Plant Disease.* 76:717-720.
- Gadoury D M, Stensvand A, Seem R C. 1998. Influence of light, relative humidity, and maturity of populations on discharge of ascospores of *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* 88:902-909.
- Gadoury D M, MacHardy WE. 1983. A 7-day recording volumetric spore trap. *Phytopathology* 73:1526-1531.
- Gadoury D M, MacHardy W E. 1982a. A model to estimate the maturity of ascospores of *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* 72:901-904 .
- Gadoury D M, MacHardy W E. 1982b. Preparation and Interpretation of Squash Mounts of Pseudothecia of *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* 72:92-95.
- García S. 1998. Enfermedades a Hongos que deben ser consideradas prioritariamente dentro de un programa de Manejo Integrado, p49-90. En: Guía para el Manejo Integrado de plagas y enfermedades en Frutales, INIA Las Brujas, Boletín de divulgación N° 66, 117 p.
- García S, Moscardi C. 1981. El sistema de alarma para el control de la sarna del manzano. Montevideo (Uruguay): CIIAB, 1981. 10 p. (CIAAB Miscelánea; 33).
- García S, Moscardi C. 1975. Sarna del manzano: sintomatología y ciclo biológico. Montevideo (Uruguay): CIAAB, 1975. 5 p. (CIAAB Hoja de Divulgación; 23).
- Hirst J M. 1952. An automatic volumetric spore trap. *Annals of Applied Biology* 39:2:257–265.

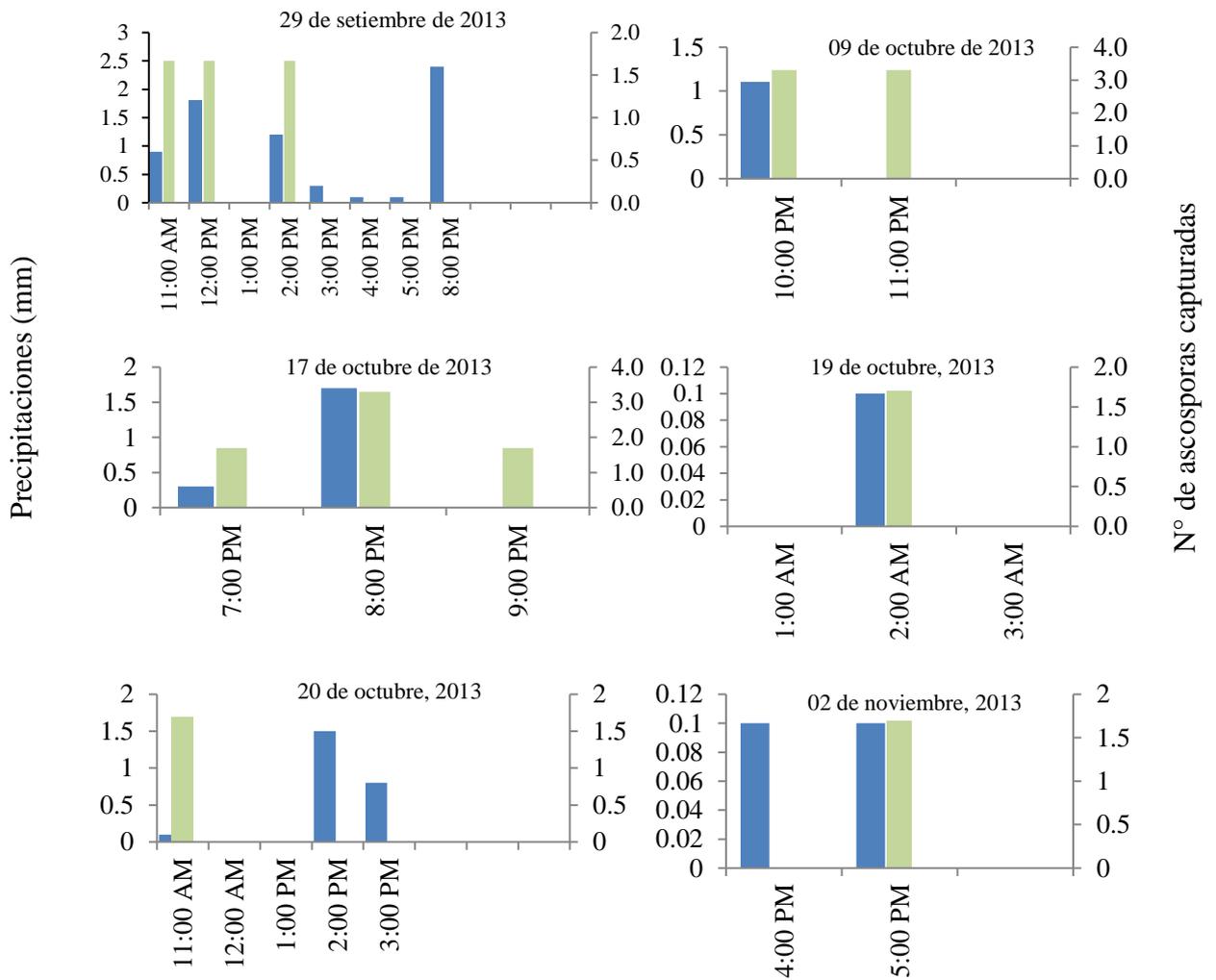
- Holb, I.J. , Heijne, B. , Withagen, J.C.M. , Jeger, M.J. 2004. Dispersal of *Venturia inaequalis* Ascospores and Disease Gradients from a Defined Inoculum Source. Article in Journal of Phytopathology 152:639 – 646.
- Madariaga R, Figueroa L, Moore C. Alerta temprana de la sarna del manzano (*Venturia inaequalis*) en la zona de los Ángeles, VIII región de Chile. 2006. Redes de Estaciones Meteorológicas Automáticas y sus aplicaciones productivas. Chillán, Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Boletín INIA N° 145 p137-170.
- Martínez J F, Muñoz A F, Nieto J, Paredes MM, Silva I, Tormo R. 1996. Dispersión de ascosporas a través del aire en la atmósfera de Badajoz y su relación con algunos parámetros meteorológicos. Bol. San. Veg. Plagas 22, 693-701.
- MacHardy W E. 1996. Apple scab: biology, epidemiology, and management. St. Paul, Minnesota USA: American Phytopathological Society (APS Press) 545 pp.
- Meszka B, Broniarek-Niemiec A, Bielenin A. 2008. The status of dodine resistance of *Venturia inaequalis* populations in Poland. Phytopathologia Polonica. 47: 57-61.
- Mills W D, Laplante A A. 1951. Diseases and insects in the orchard. Cornell Extension Bulletin. 711:21-27
- Mondino P, Alaniz S. 2009. Manejo integrado de la sarna del manzano. p. 35-43 En: Manejo Integrado de Doenças da Macieira. Stadnik, M. Editor. CCA-UFSC. Florianópolis. 229p.
- Mondino P, Martínez E, Casanova L, Leoni C, Alaniz S. 2014. Actualización en el manejo de sarna del manzano. p31-35 Seminario de Actualización Técnica Frutales de Pepita. INIA Serie de Actividades de Difusión N° 739 ISSN:1688-9258.
- Mondino P, Casanova L, Celio A, Bentancur O, Leoni C, Alaniz S. 2015. Sensitivity of *Venturia inaequalis* to difenoconazole and trifloxystrobin in Uruguay. Journal of Phytopathology 163:1-10.
- Rossi V, Ponti I, Marinelli M, Giosue S, Bugiani R. 2000. A new model estimating the seasonal pattern of air-borne ascospores of *Venturia inaequalis* (Cooke) Wint. in relation to weather conditions. Journal of Plant Pathology. 82: 111–8.

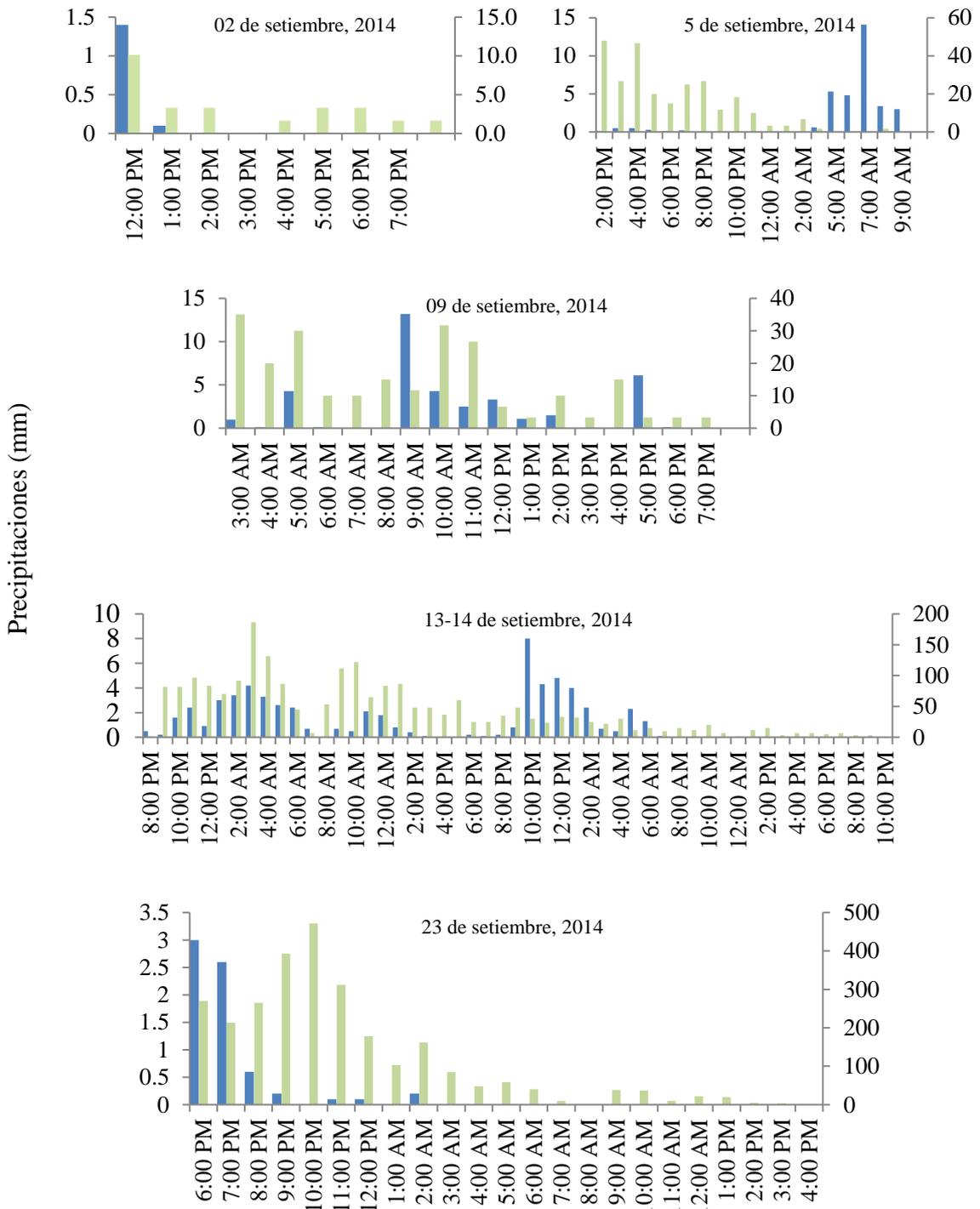
Stensvand A, Amundsen T, Semb L, Gadoury D M, Seem R C. 1998. Discharge and dissemination of ascospores by *Venturia Inaequalis* during dew. Plant Disease. 82:761-764

Uruguay. MGAP. DIEA. 2016. Encuesta frutícola de hoja caduca Zafra 2016. Serie encuestas N° 338.

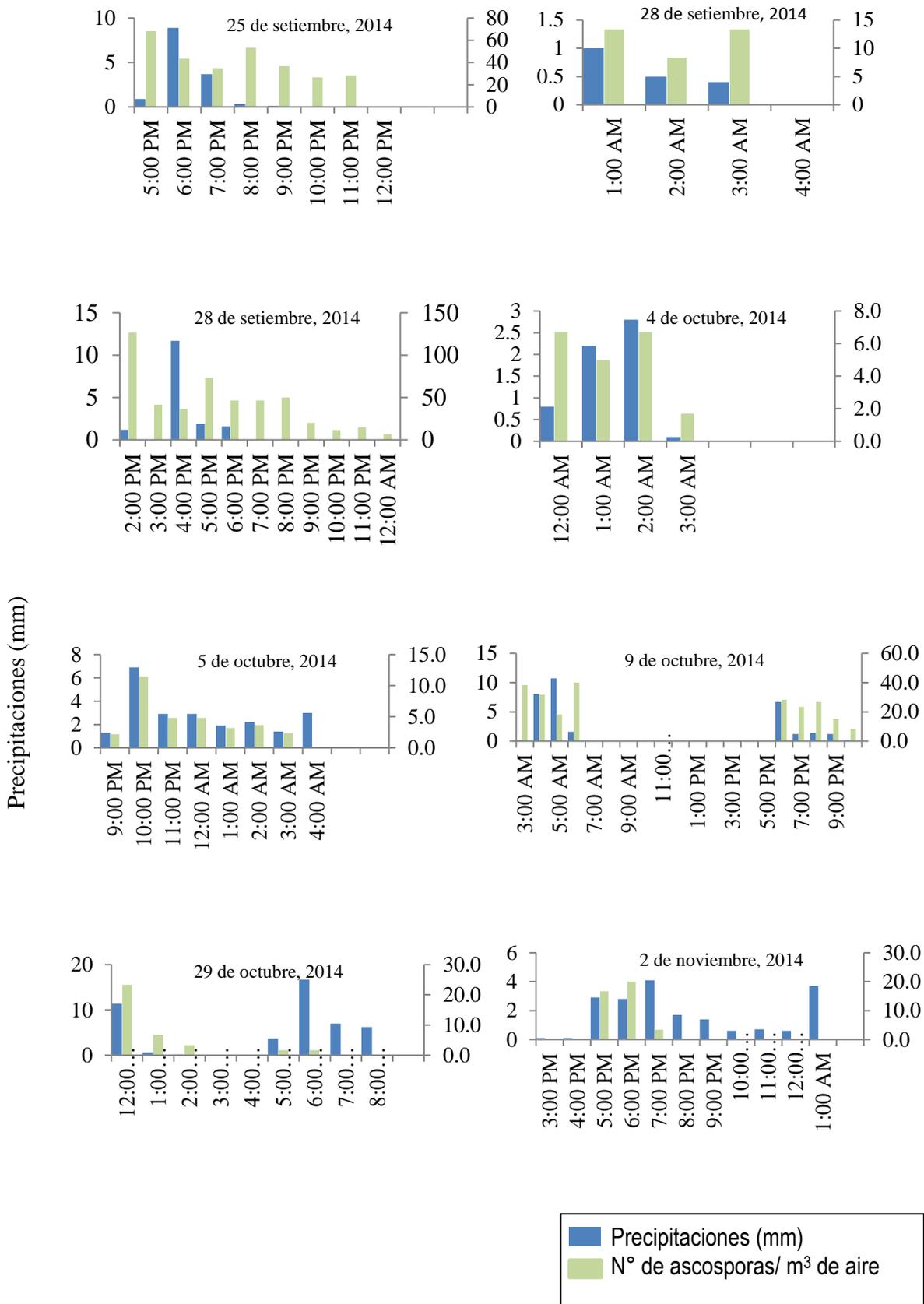
6. ANEXOS

Anexo 1. Eventos de descargas de ascosporas en los años 2013 y 2014





N° de ascosporas capturadas



Anexo 2: Primer y último aviso del sistema de alarma Servicio de Protección Agrícola de MGAP en los años 2013 y 2014



Dirección General de Servicios
Agrícolas
División Protección Agrícola
Departamento Manejo de Plagas

Millán 4703 CP 12.900 Tel.: 2309 8410 -
Int. 121

Correo: spfalarmas@gmail.com

ZAFRA 2013-14

REPORTE No. 15 PERIODO: 16/12/13 - 23/12/13

PERSPECTIVAS CLIMATICAS

No se prevé que puedan producirse lluvias de importancia (solo se podría dar algún chaparrón de escasa duración e intensidad el miércoles 18) en la semana comprendida entre el 16 y 23 de diciembre.

PRONOSTICO FITOSANITARIO

VID

Dado las lluvias ocurridas y alta humedad se recuerda que el desojado y toda medida de manejo cultural que mejore la aireación de los racimos, junto al control químico son importantes para evitar ataques de Botrytis. En algunas variedades sería el momento de realizar el tratamiento de cierre de racimo

Hay presencia de alguna manchas esporuladas en hojas adultas con Peronospora, lo que determina la necesidad de recorrer los cuadros de vid que no se encuentren protegidos.

Se recuerda la importancia de leer las etiquetas de los productos fitosanitarios antes de usar.

MANZANA

Se ha dado por finalizado el servicio de sarna primaria por la zafra 2013. Se recomienda a los señores productores que presenten ataque de sarna primaria el mantener protegido los cultivos y la consulta sobre manejo de esta enfermedad con su técnico asesor.

COMENTARIO GENERAL

Este reporte semanal pretende solo orientar a los usuarios acerca de las perspectivas de la semana con referencia al manejo de las enfermedades de los cultivos pudiendo de esta manera encarar medidas con énfasis en la prevención. No obstante se debería verificar en cada caso la efectividad de lo pronosticado a los efectos de corroborar o corregir las medidas practicadas



Dirección General de Servicios
Agrícolas
División Protección Agrícola
Departamento Manejo de Plagas

Millán 4703 CP 12.900 Tel.: 2309 8410 -
Int. 121

Correo: spfalarmas@adinet.com.uy

Montevideo, 9 de Septiembre de 2013.

PRONÓSTICO FITOSANITARIO EN FRUTALES.
BOLETÍN N° 1
SARNA DEL MANZANO Y DEL PERAL.

ESTACION MELILLA.

Se informa a los señores fruticultores la ocurrencia de un período de INFECCIÓN SEVERA a partir de las 01:10 horas del día 7 de Septiembre.

La precipitación registrada fue de 98 mm y la temperatura media de 16,1°C. El período de hoja mojada fue de 27 horas en el momento de la lectura de los instrumentos.

ESTACION JUANICO -

Se informa a los señores fruticultores la ocurrencia de un período de INFECCIÓN SEVERA a partir de las 01:30 horas del día 7 de Septiembre.

La precipitación registrada fue de 102 mm y la temperatura media de 15,8 °C. El período de hoja mojada fue de 26 horas en el momento de la lectura de los instrumentos

LA PRESENTE INFORMACIÓN ES VALIDA HASTA EL DÍA 11 de Septiembre INCLUSIVE, EN EL CASO DE REALIZAR APLICACIONES CON FUNGICIDAS DE ACCIÓN CURATIVA.



Dirección General de Servicios Agrícolas
 DIVISION PROTECCION AGRICOLA
 Departamento Manejo de Plagas
 Millán 4703. Montevideo – CP 12900
 Telefax: (598-2) 309 8410
 Correo: spfalarmas@gmail.com

Montevideo, 6 de Septiembre de 2014.

PRONÓSTICO FITOSANITARIO EN FRUTALES.

BOLETÍN Nº 1

SARNA DEL MANZANO Y DEL PERAL.

Se informa a los señores fruticultores la ocurrencia de un período de **INFECCIÓN LEVE** a partir de las **04:10 horas** del día **6 de Septiembre**.

La precipitación registrada fue de **38 mm** y la temperatura media de **16,2°C**. El período de hoja mojada fue de **9:30 horas** en el momento de la lectura de los instrumentos.

LA PRESENTE INFORMACIÓN ES VALIDA HASTA EL DÍA 10 de Septiembre INCLUSIVE, EN EL CASO DE REALIZAR APLICACIONES CON FUNGICIDAS DE ACCIÓN CURATIVA.



Dirección General de Servicios Agrícolas
 DIVISION PROTECCION AGRICOLA
 Departamento Manejo de Plagas
 Millán 4703. Montevideo – CP 12900
 Telefax: (598-2) 309 8410int. 121
 Correo: spfalarmas@gmail.com

ZAFRA 2014

ÚLTIMO REPORTE PERIODO: **15/12/14 - 21/12/14**

PERSPECTIVAS CLIMÁTICAS

Se prevé un período lluvioso el martes 16 de diciembre que sería de baja duración y baja intensidad. Las temperaturas medias diarias durante el período estarían en el entorno 19 y 21 °C aproximadamente.

PRONOSTICO FITOSANITARIO VID

Se reitera concepto anterior. Dado las lluvias ocurridas y alta humedad se recuerda que el desojado y toda medida de manejo cultural que mejore la aireación de los racimos, junto al control químico son importantes para evitar ataques de Botrytis. En algunas variedades sería el momento de realizar el tratamiento de cierre de racimo

Hay presencia de alguna manchas esporuladas en hojas adultas con Peronospora, lo que determina la necesidad de recorrer los cuadros de vid que no se encuentren protegidos.

Se recuerda la importancia de leer las etiquetas de los productos fitosanitarios antes de usar.

MANZANA

Se ha dado por finalizado el servicio de sarna primaria por la zafra 2014. Se recomienda a los señores productores que presenten ataque de sarna primaria el mantener protegido los cultivos y la consulta sobre manejo de esta enfermedad con su técnico asesor.

GUSANO DEL DURAZNO Y MEMBRILLERO (*Cydia molesta*) Se prevé el pico de emergencia de larvas a partir del **lunes 15 de diciembre de 2014**

GUSANO DEL MANZANO Y DEL PERAL (*Cydia pomonella*) Se prevé el pico de emergencia de larvas a partir del **lunes 15 de diciembre de 2014**

COMENTARIO GENERAL

Este reporte semanal pretende **solo orientar** a los usuarios acerca de las perspectivas de la semana con referencia al manejo de las enfermedades de los cultivos pudiendo de esta manera encarar medidas con énfasis en la prevención. No obstante se debería verificar en cada caso la efectividad de lo pronosticado a los efectos de corroborar o corregir las medidas practicadas

Anexo 3. Índice de cuadros y figuras

ÍNDICE DE CUADROS

N°	Página
Cuadro 3.1. Modelo GARMA para los años 2013 (cuadro superior) y 2014 (cuadro inferior)	42

ÍNDICE DE FIGURAS

N°	
Figura 2.1. (A) Hojas de manzano recolectadas del suelo de un monte comercial en estado punta plateada con antecedentes de sarna el año anterior, (B) Trampa cazaesporas Burkard colocada sobre las hojas de manzano para los ensayos de lluvia simulada.....	16
Figura 2.2 Eventos nocturnos de liberación forzada de ascosporas durante las temporadas 2013 y 2014.....	18
Figura 2.3. Porcentaje del total de ascosporas liberados en cada evento de riego efectuado en los ensayos nocturnos de liberación forzada en noches sucesiva.....	19
Figura 2.4. Eventos diurnos de liberación forzada de ascosporas en días sucesivos durante las temporadas 2013 y 2014. Las flechas indican el momento en el que se simularon lluvias mediante riego.....	20
Figura 2.5. Porcentaje del total de ascosporas liberados en cada evento de riego efectuado en los ensayos nocturnos de liberación forzada en días sucesivos.....	21
Figura 3.1 Distribución de las capturas de ascosporas durante las primaveras 2013 y 2014.....	38

Figura 3.2 Primer evento de descargas de ascosporas ocurridas en las primaveras de 2013 y 2014. Segundo evento de liberación forzada nocturna de ascosporas durante 4 días consecutivos.....	39
Figura 3.3 Liberación de ascosporas vs. precipitaciones para los dos años de estudio, 2013 y 2014.....	40
Figura 3.4 Evolución de las capturas acumuladas de ascosporas durante las primaveras 2013 y 2014	41
Figura 3.5 Liberación de ascosporas reales y predicciones realizadas por el modelo GARMA para los años 2013 y 2014.....	43