

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

**NECROSIS DE LAS YEMAS DE FLOR DEL PERAL: APORTES A
LA DESCRIPCIÓN DE LOS SÍNTOMAS E INCIDENCIA DEL
MANEJO SANITARIO EN LA MANIFESTACIÓN DE LOS MISMOS**

por

Felicia DUARTE BAREA

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

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2007**

Tesis aprobada por:

Director:

Carolina Leoni

Pedro Mondino

Gabriela Speroni

Fecha:

Autor:

Felicia Duarte Barea

AGRADECIMIENTOS

Al tribunal por el apoyo brindado, especialmente a Carolina que me ayudó y me orientó en todo momento.

A los amigos que nacieron en facultad y me acompañaron durante todo el transcurso de la carrera.

A mi familia.

A todos aquellos que de algún modo contribuyeron a que llegara a esta instancia.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	VI
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
1.1. <u>OBJETIVOS</u>	1
1.1.1. <u>Objetivo general</u>	1
1.1.2. <u>Objetivos específicos</u>	2
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	3
2.1. <u>EL CULTIVO DE PERAL</u>	3
2.1.1. <u>El cultivo de peral a nivel mundial</u>	3
2.1.2. <u>El cultivo de peral en el Uruguay</u>	5
2.2. <u>NECROSIS DE LAS YEMAS DE FLOR DEL PERAL</u>	9
2.2.1. <u>Antecedentes</u>	9
2.2.2. <u>Sintomatología</u>	9
2.2.3. <u>Factores que inciden en la manifestación del problema</u>	11
2.2.3.1. <u>Edad de la planta</u>	14
2.2.3.2. <u>Portainjertos y cultivares</u>	15
2.2.3.3. <u>Insatisfacción de necesidades de frío y fluctuaciones térmicas</u>	16
2.2.3.4. <u>Temperatura, humedad relativa y precipitaciones</u>	18
2.2.3.5. <u>Desbalances nutricionales y desequilibrios durante el período vegetativo</u>	19
2.2.3.6. <u>Alteraciones morfológicas en las yemas</u>	20
2.2.3.7. <u>Incidencia de plagas</u>	21
2.2.3.8. <u>Pseudomonas syringae</u>	22
2.2.4. <u>Control químico</u>	27
3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	31
3.1. <u>EXPERIMENTOS</u>	31
3.1.1. <u>Efecto del manejo sanitario en la NYFP</u>	31
3.1.2. <u>Efecto del cultivar sobre la NYFP</u>	33
3.2. <u>ANÁLISIS HISTOLÓGICO</u>	34
3.3. <u>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</u>	35
4. <u>RESULTADOS</u>	36
4.1. <u>TRATAMIENTOS SANITARIOS</u>	36

4.1.1. <u>Evolución de los síntomas</u>	36
4.1.2. <u>Efecto del manejo sanitario en la NYFP</u>	37
4.2. <u>CULTIVARES</u>	45
4.2.1. <u>Evolución de los síntomas</u>	45
4.2.2. <u>Efecto del cultivar sobre la NYFP</u>	46
4.3 <u>ANALISIS HISTOLÓGICO</u>	49
5. <u>DISCUSIÓN</u>	51
5.1. <u>EVOLUCIÓN DE LOS SÍNTOMAS</u>	52
5.2. <u>TRATAMIENTOS SANITARIOS</u>	55
5.3. <u>CULTIVARES</u>	57
5.4. <u>CORTES HISTOLÓGICOS</u>	58
6. <u>CONCLUSIONES</u>	61
7. <u>RESUMEN</u>	62
8. <u>SUMMARY</u>	64
9. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	66
10. <u>ANEXOS</u>	76

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1. Superficie, producción, importaciones y exportaciones de peral según continente.....	4
2. Valor Bruto de Producción frutícola en el año 2006 según especie.....	5
3. Productores, superficie, número de plantas, producción y productividad según tamaño de plantación en la zafra 2005/06...	6
4. Superficie, plantas en producción, producción y productividad, según variedades, en la temporada 2005/06.....	7
5. Evolución del nivel de daño promedio, en porcentaje, en primordios florales del cultivar Williams, según categoría de daño, durante la temporada 2004-2005.....	37
6. Porcentaje de daño en primordios florales del cultivar Williams en el mes de mayo, según categoría de daño y tratamiento, durante la temporada 2004-2005.....	39
7. Porcentaje de daño en primordios florales del cultivar Williams en el mes de julio, según categoría de daño y tratamiento, durante la temporada 2004-2005.....	40
8. Porcentaje de daño en primordios florales del cultivar Williams en el mes de setiembre, según categoría de daño y tratamiento durante la temporada 2004-2005.....	41
9. Efecto de los tratamientos fitosanitarios en la floración de perales del cultivar Williams durante la temporada 2004-2005.....	42
10. Porcentaje de daño en primordios florales para los cultivares Packam's Triumph y Williams, evaluados previo a la floración durante la temporada 2004-2005.....	47

11. Porcentaje de daño en yemas evaluadas en floración, en la temporada 2004-2005, según tratamiento.....	48
---	----

Figura No.

1. Evolución de las exportaciones de pera en el período 1997-2003.....	7
2. Fluctuación interanual del rendimiento del cultivo de peral en Uruguay.....	8
3. Yemas de flor de peral mostrando daño severo de necrosis y brotaciones axilares en la base.....	10
4. Primordio de yema de flor presentando necrosis severa con tumores.....	11
5. Diagrama de los factores que inciden en la NYFP.....	13
6. Proceso de disección de yemas de flor. a)- yema previa a la disección b)- separación de las escamas protectoras c)- primordios florales.....	32
7. Escala de intensidad de daño por NYFP utilizada para la evaluación en floración.....	33
8. Síntomas de NYFP observados bajo lupa (70-100 x) en los primordios florales. a- Primordio floral sano, b- Primordio floral con necrosis severa y tumores.....	36
9. Evolución del nivel de daño en primordios florales debido a tumores en el cultivar Williams, según tratamiento, durante la temporada 2004-05.....	38
10. Efecto de los tratamientos fitosanitarios en perales del cultivar Williams, durante la temporada 2004-2005. a) efecto en los primordios florales evaluados previo a floración (setiembre) b) efecto en las yemas de flor evaluadas en floración (octubre).....	44
11. Evolución del nivel de daño en primordios florales debido a	

tumores, en los cultivares Williams y Packam's Triumph, durante la temporada 2004-05.....	46
12. Porcentaje de daño según variedad: a)- primordios florales evaluados previo floración. b)- yemas evaluadas en floración.....	49
13. Cortes histológicos observados bajo microscopio optico (100X) de primordios florales de yemas del cultivar Williams, colectadas en setiembre del 2004.....	50
14. Esquema representando el concepto de "triangulo de la enfermedad" para la Necrosis de las yemas de flor del peral (NYFP).....	52

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo de peral ocupa el tercer lugar en importancia dentro de la fruticultura de hoja caduca en el Uruguay. Williams y Packam's Triumph son los cultivares predominantes, siendo actualmente su principal destino el mercado interno. Este cultivo presenta interesantes expectativas para la exportación, dado que la pera uruguaya es reconocida y aceptada por el mercado europeo. Actualmente el rubro presenta fluctuaciones anuales en el rendimiento, lo que dificulta sus perspectivas a futuro. Uno de los factores que parecería estar afectando negativamente la producción es la necrosis de las yemas de flor del peral (NYFP). Esta problemática causa desde la disminución del número de flores hasta la muerte total de las yemas, pudiéndose observar bajo lupa deformaciones tumorosas en los primordios florales, muchas veces asociadas a necrosis. En los últimos años este problema se ha reportado con intensidad variable en nuestro país y aunque se reportan problemas similares en diversos países del mundo las causas del mismo aún no han sido esclarecidas. La NYFP aparece como un problema complejo con una multiplicidad de factores que podrían estar influyendo. Considerando el tipo de sintomatología que se describe, la bacteria *Pseudomonas psyringae pv. syringae* podría ser el agente causal.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo general

Aportar conocimientos sobre la sintomatología y manejo sanitario de la NYFP.

1.1.2. Objetivos específicos

1- Describir la evolución de los síntomas observados en los primordios de las yemas de flor durante el período de receso invernal de la planta, hasta la floración, y los síntomas en plena flor.

2- Describir a nivel histológico los síntomas observados en los primordios florales.

3- Evaluar el efecto de diferentes tratamientos fitosanitarios sobre la NYFP.

4- Comparar el comportamiento de las cultivares Williams y Packam's Triumph frente a la NYFP.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. EL CULTIVO DE PERAL

2.1.1. El cultivo de peral a nivel mundial

La producción de pera alrededor del mundo esta confinada principalmente a áreas dentro de la zona templada (Childers, 1983). Este cultivo ocupa a nivel mundial un total de 1.696.121 hectáreas. El 78% de la superficie en producción se encuentra en el continente asiático. China es el principal país productor con 1.158.500 hectáreas. Este país produce el 57% de la producción mundial, destinada principalmente para consumo interno. Europa, segundo continente en volumen de producción, tiene a Italia liderando con 44.500 hectáreas, superando tan solo este país la superficie productiva de toda América Latina (FAO, 2004) (Cuadro1).

Dentro de los países de la región Argentina ocupa el primer lugar tanto en cantidad de producción como en volúmenes de exportación. Brasil figura como el principal país importador teniendo una producción relativamente baja, mientras que Uruguay produce poco más del 2% de la pera de la región siendo su producción levemente inferior a la de Brasil (FAO, 2004) (Cuadro1).

Cuadro 1: Superficie, producción, importaciones y exportaciones de peral según continente.

Países Productores	Superficie (Hás.)	Producción (Ton.)	Importaciones (Ton.)	Exportaciones (Ton.)
Asia	1.323.298	12.131.209	331.023	372.794
China	1.158.500	10.345.000	12.938	318.223
Europa	233.579	3.515.695	1.280.325	819.530
Italia	44.500	833.400	124.308	123.346
España	31.000	562.100	36.529	117.769
Alemania	26.000	398.000	168.875	17.290
Francia	9.402	261.593	119.638	42.345
Africa	63.730	635.969	9.351	146.605
África del sur	33.784	373.506	0	138.836
América del sur	33.784	775.653	102.298	448.669
Argentina	17.000	509.749	122	320.731
Chile	10.200	205.000	14	124.092
Brasil	2.000	22.000	75.943	4
Uruguay	984	17.616	63	3.837
América del Norte y Central				
Estados Unidos	32.020	854.136	227.396	174.289
	26.000	810.350	65.864	173.594
Oceanía	9.710	189.896	9.225	16.070
Australia	8.800	150.000	4.820	9.542

Fuente: FAO (2004).

A diferencia de otras especies de frutales, el número de variedades de peral utilizadas en el mundo es bastante limitado, sobretudo si se considera solamente la pera Europea (*Pyrus communis*) que es la especie preferentemente cultivada en los continentes Europeo y Americano. Cada país productor ha desarrollado el cultivo de unas pocas variedades, que sirven de base a la producción, complementada con otras, que permiten ampliar el período de oferta o cubrir determinadas exigencias del mercado. Así variedades

como Blanquilla y Castell son cultivadas solo en España, mientras que Abate Fetel y Mantecosa Anjou lo son casi exclusivamente en Italia y USA respectivamente. Otras variedades como Decana del Comicio y Williams son objeto de cultivo, con mas o menos importancia, en todos los países productores (Carrera, 1988).

En China la pera es más popular que la manzana, pero predominan otras especies diferentes a la europea (*Pyrus ussuriensis*, *Pyrus bretschneideri*, *Pyrus serotina* y algunas variedades de *Pyrus pashia*), vulgarmente conocidas como perales asiáticos o cultivares nashi (Childers, 1983).

2.1.2. El cultivo de peral en el Uruguay

El cultivo de peral en Uruguay se ubica fundamentalmente en la zona sur del país, en los departamentos de Montevideo, Canelones, Colonia y San José. Es el tercer cultivo en importancia dentro de la fruticultura de hoja caduca después de la manzana y el durazno, con un valor bruto de producción (VBP) que ronda los 6 millones de dólares (Cuadro 2).

Cuadro 2: Valor Bruto de Producción frutícola en el año 2006 según especie.

Especie	Año 2006		
	Pesos (miles)	Dólares	
		Miles	%
TOTAL	820.757	33.777	100
Manzana	389.383	16.024	47
Durazno	195.688	8.053	24
Pera	151.243	6.224	18
Ciruela	30.812	1.268	4
Membrillo	30.545	1.257	4
Nectarinos	23.085	950	3

Fuente: URUGUAY. MGAP. DIEA (2006).

Abarca una superficie de 990 hectáreas y un total de 539 explotaciones. El grupo más numeroso de productores, 78 %, lo constituyen los que tienen menos de mil plantas, aunque su contribución a la producción total significa sólo un 30%. La productividad, medida en toneladas por hectárea, muestra una tendencia creciente al igual que la escala de plantación. Sin embargo, los rendimientos por planta muestran un comportamiento más errático (Cuadro 3) (URUGUAY. MGAP. DIEA, 2006).

Cuadro 3: Productores, superficie, número de plantas, producción y productividad según tamaño de plantación en la zafra 2005/06

Tamaño de Plantación (N° de plantas)	Productores (N°)	Superficie de peral			Plantas		Producción (ton)	Productividad	
		Total (ha)	En producción		Totales (miles)	En Producción (miles)		ton/ha ^{1/}	kg/pl ^{2/}
TOTAL	539	990	860	87	606	498	17.711	21	36
Menos de 1.000	420	298	282	94	157	145	5.313	19	37
1.001 a 3.000	81	253	219	86	138	119	4.146	19	35
3.001 a 5.000	26	166	144	87	101	83	3.076	21	37
Más de 5.000	12	273	215	79	210	152	5.177	24	34

Fuente: URUGUAY. MGAP. DIEA (2006).

^{1/} Producción/ Superficie en producción

^{2/} Producción/ Plantas en producción

El 82% de la superficie de peral esta constituida por el cultivar Williams, existiendo un 7% del cv Packam's Triumph, un 2% del cv. Abate Fetel y un 1 % del cultivar William precoz. El restante 9% esta constituido por diversas variedades (URUGUAY. MGAP. DIEA, 2006). Para el año 2005 la estructura varietal de perales en viveros estaba constituida en un 54,5% de el cultivar Williams, un 43,4% del cv. Abate Fetel y un 2,1% del cv. Packam's Triumph (Campi, 2005).

Cuadro 4: Superficie, plantas en producción, producción y productividad, según variedades, en la temporada 2005/06

Variedades	Superficie actual		Plantas en producción (miles)	Producción (ton)	Rendimiento (kg/planta) ^{1/}
	ha	%			
TOTAL	990	100	498	17.711	36
William's	805	81	389	14846	38
Packham's Triumph	61	6	39	1622	42
Abate Fetel	25	2	23	96	4
William's Precoz	14	1	8	321	40
Otras	85	9	39	826	21

^{1/} Producción/ Plantas en producción

Fuente: URUGUAY. MGAP. DIEA (2006).

Se puede apreciar en la Figura 1 que la producción nacional presenta fluctuaciones anuales en el rendimiento (URUGUAY. MGAP. DIEA, 2006).

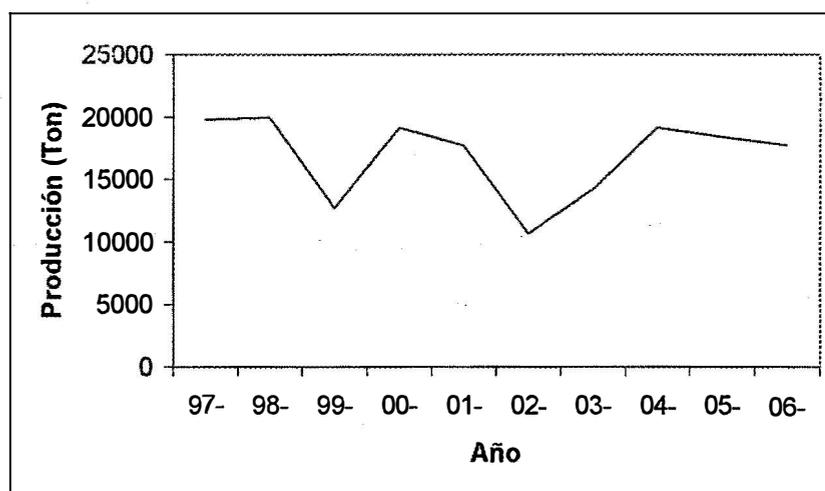


Figura 1: Fluctuación interanual del rendimiento del cultivo de peral en Uruguay (URUGUAY. MGAP. DIEA, 2006).

La falta de constancia en los volúmenes de producción genera inestabilidad, limitando las posibilidades de desarrollo del cultivo. Si bien el principal destino de la producción es el mercado interno, parte de la misma se destina a la exportación. Los volúmenes de exportación parecen estar directamente afectados por las variaciones en el rendimiento, pues también las

exportaciones han mostrado importantes oscilaciones en los últimos años (URUGUAY. MGAP. DIEA, 2004) (Figura 2). En la zafra 2004 el país exportó la cuarta parte de su producción de peras. Aun así no llegó a satisfacer la demanda de los exportadores nacionales por falta de volúmenes con calidad mínima de exportación (Gentile, 2004).

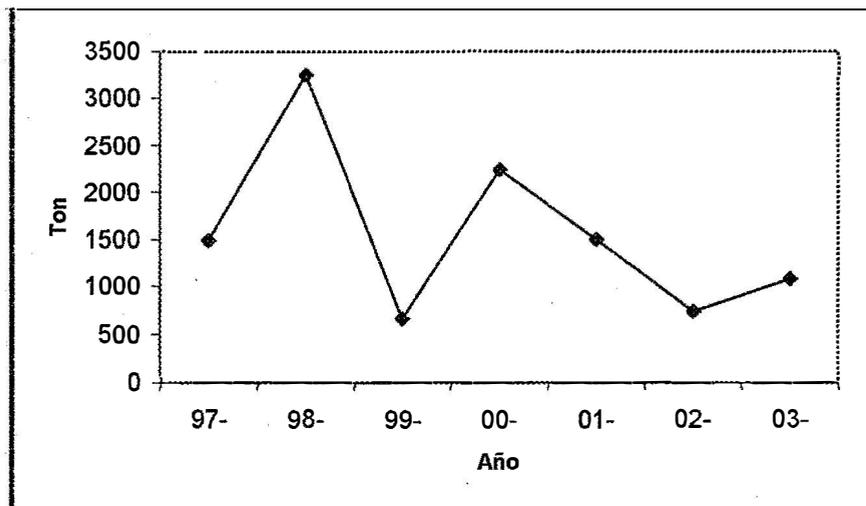


Figura 2: Evolución de las exportaciones de pera en el período 1997-2003 (URUGUAY. MGAP. DIEA, 2004).

Es importante considerar que Uruguay presenta buenas aptitudes para perfilarse a la exportación. Las características pedoclimáticas son muy buenas para el desarrollo del cultivo, se encuentra en perfecta contra estación con Europa, y además se anticipa unos veinte días a la cosecha de Argentina. A esto se le agrega el aumento del consumo de pera en Europa con la entrada al mercado de los países del este y de la ex Unión Soviética (Gentile, 2004).

La necrosis de las yemas de flor del peral, que afecta la viabilidad de los primordios florales, es uno de los factores está incidiendo negativamente en la producción, dificultando sus perspectivas a futuro (Leoni, 2005).

2.2. NECROSIS DE LAS YEMAS DE FLOR DEL PERAL

La necrosis de la yema de flor del peral (NYFP) es una problemática que ha sido reportada en diversas zonas productoras del mundo. Las primeras observaciones de ataques graves se describen en España, a finales de los años 70 en Girona, a mediados de los 80 en Lerida y más tarde a principios de los 90 en otras zonas frutícolas españolas. En 1994 y 1995 se ven problemas importantes en algunas zonas del sur de Francia (valles de Rhone y Garone) y en Brasil (Valle del Río Grande do Sul) (Montesinos y Vilardell, 1996). Problemas similares se describen en Nueva Zelanda por Kingston et al. (1990), Klinak y Geddes (1995). En 1999 se reporta en Valle del Tajo en Portugal y en 2001 en Holanda y Bélgica (Montesinos y Vilardell, 2001). En el área frutícola del Uruguay esta problemática se ha presentado con intensidad variable en los últimos años, si bien hay reportes de daños semejantes a los criptos desde la década del 80¹.

2. Sintomatología

Se manifiesta como una destrucción total o parcial de las yemas durante el desborre o período de dormición. La necrosis afecta el primordio floral, hojas y brácteas comenzando desde el ápice hacia la base. Dependiendo del grado de afectación la floración puede ser parcial dando lugar a menos flores por árbol o flores anormales, o puede ser inexistente ocasionada por el desmoronamiento y caída de las yemas. Cuando la incidencia es elevada se observa un retraso en el desarrollo vegetativo de los árboles y aparecen

brotaciones axilares en la base de las yemas de flor necrosadas (Figura 3). Generalmente se observan yemas anormalmente infladas con las brácteas protectoras desecadas y los primordios florales internos también desecados o necrosados (Montesinos y Vilardell 1991a, Montesinos y Vilardell 1996, Montesinos y Vilardell 2001). Las yemas abortadas caen fácilmente con un leve toque en el período invernal o inicio de la primavera (Arruda, Marodin, citados por Camelatto et al., 2000).

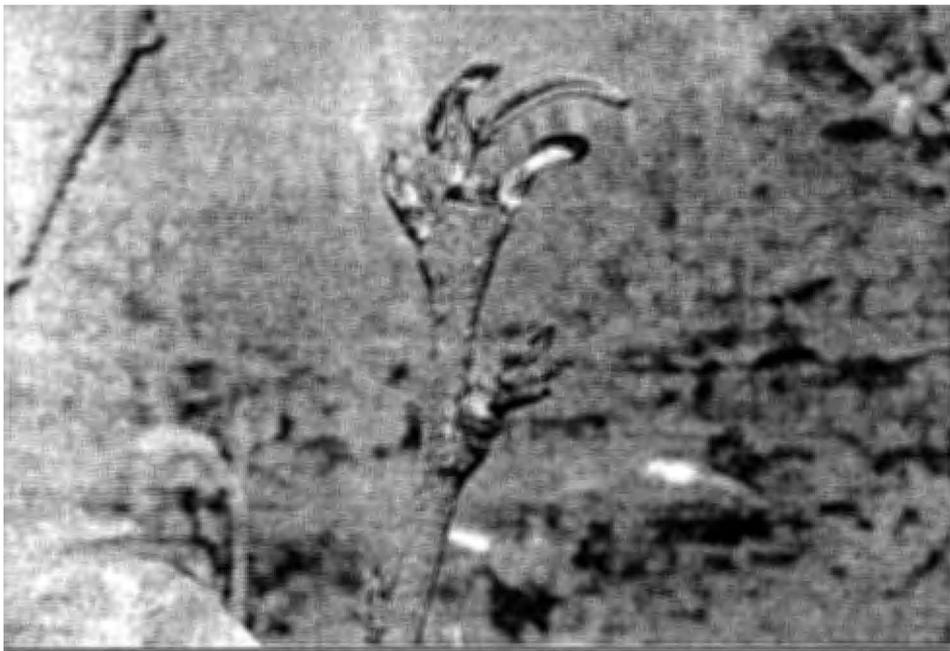


Figura 3: Yemas de flor de peral mostrando daño severo de necrosis y brotaciones axilares en la base.

Cuando las yemas son observadas bajo lupa, ya en el otoño (abril-mayo), pueden detectarse necrosis y alteraciones morfológicas tumorosas (Figura 4). Estos tumores aumentan su intensidad a medida que el primordio aparece más severamente necrosado pudiendo llegar a afectar también las escamas protectoras de las yemas. Los índices de necrosis van aumentando progresivamente a lo largo del otoño-invierno (Zecca et al., 2002).

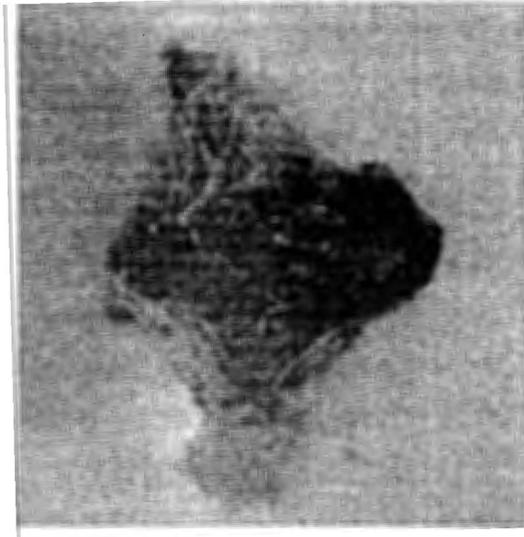


Figura 4: Primordio de yema de flor presentando necrosis severa con tumores.

La ocurrencia de este problema varía ampliamente entre cultivares, localidades y estaciones (Kingston et al. 1990, Petri et al. 2002).

2.2.3. Factores que inciden en la manifestación del problema

Se citan en la bibliografía como posibles causas de esta problemática: desordenes fisiológicos, incompatibilidad pie - portainjerto, insatisfacción de los requerimientos de frío, fluctuaciones térmicas durante el período de reposo invernal, desequilibrios nutricionales en el período de inducción floral o durante la brotación, deficiencias de boro, el ataque de bacterias *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, la infección por el hongo *Alternaria alternata* y el ataque de insectos (Kingston et al. 1990, Nuñez y Paullier 1991, Klinack y Geddes 1995, Montesinos y Vilardell 1996, Herter et al. 2001, Wenneker 2004, Zecca 2004).

Montesinos y Vilardell (1991a) plantean que la enfermedad tiene dos componentes principales, uno de origen patológico (cuyo organismo causal es

P. syringae pv. *syringae*) y otro huésped dependiente, cuyo peso específico relativo puede variar según los años en función de las condiciones ambientales y agronómicas. Consideran que los desequilibrios durante el período vegetativo (déficit hídrico, defoliaciones precoces, etc) afectan al grado de reservas y el estado nutricional de las plantas durante la dormancia, así como el proceso de morfogénesis de las yemas de flor (inducción y diferenciación floral) y la aclimatación al frío. Asumen que la insatisfacción de necesidades de frío también puede tener un efecto sensibilizador.

El esquema planteado es el siguiente (Figura 5):

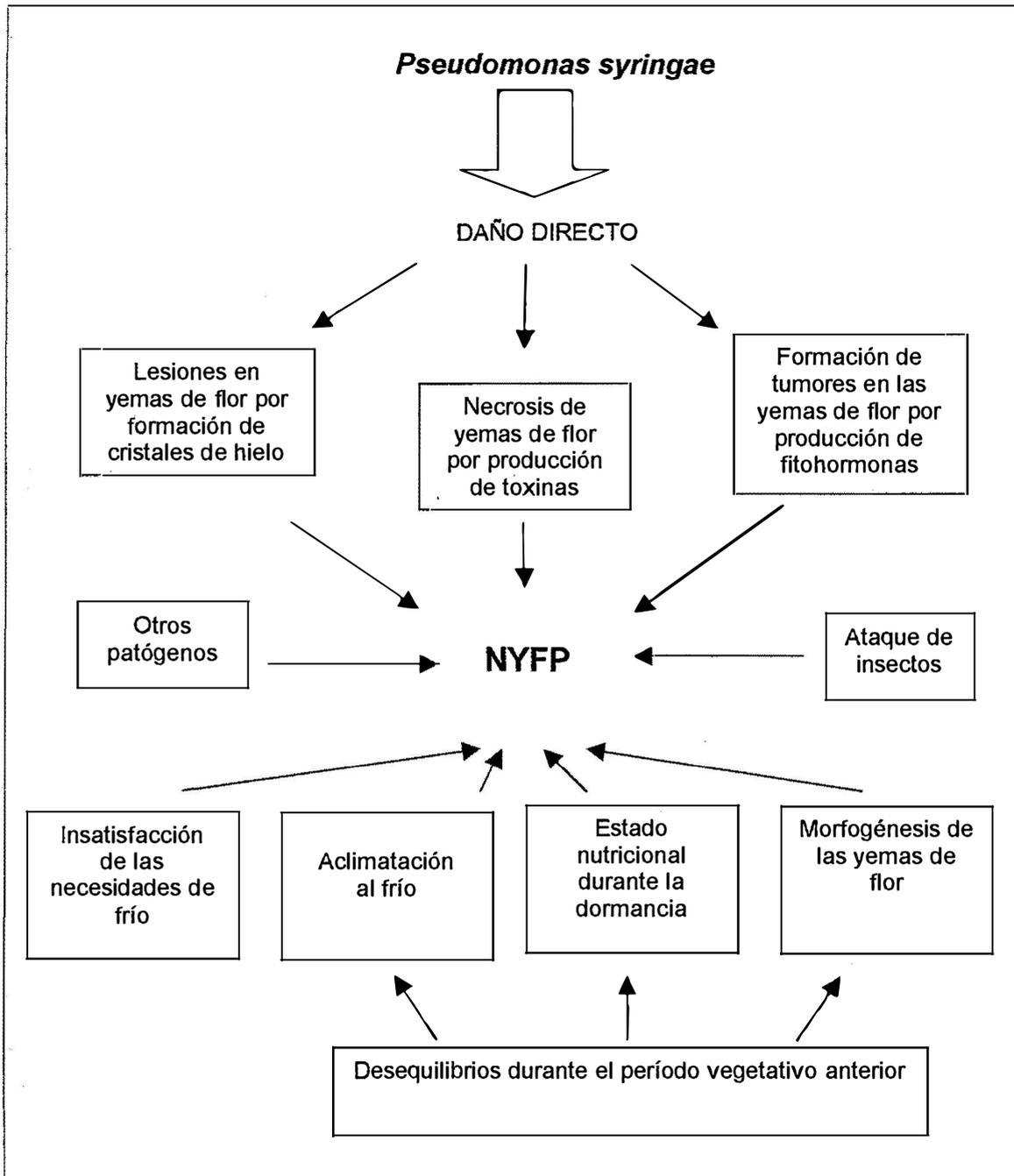


Figura 5: Diagrama de los factores que inciden en la NYFP, adaptado de Montesinos y Vilardell (1991a).

2.2.3.1. Edad de la planta

Klinack y Geddes (1995) plantean que la muerte de las yemas de flor del peral, o “budjump” como se le conoce a esta problemática en Nueva Zelanda, se debe a desordenes fisiológicos fuertemente relacionados tanto al cultivar como a la edad de la planta. Estos autores observaron que los niveles de daño en yemas tienden a ser mayores en árboles jóvenes que en árboles viejos, en los cuales la pérdida de yemas se vuelve insignificante. En ensayos realizados en peral japonés, encontraron que el daño era mayor en yemas laterales de madera joven, que en yemas terminales y yemas ubicadas en madera vieja o spurs. Para ellos los datos sugieren que la muerte de yemas está asociada a la juvenilidad, y que algún grado de reducción natural del daño puede ser alcanzado en la medida que los árboles avanzan la edad. Considerando que asociado al envejecimiento de los árboles hay cambios en los patrones de distribución de las yemas florales dentro del árbol, y que los árboles más viejos tienen mayor proporción de yemas florales en madera vieja y spurs, plantean que el decrecimiento de la severidad del daño en yemas de árboles más viejos podría estar asociado a los cambios en el hábito de crecimiento del árbol más que a la juvenilidad en si misma.

Deckers y Schoofs (2001) se refieren a la muerte de yemas del peral asociada al ataque de *Pseudomonas syringae* y a la enfermedad conocida como tizón bacterial, enfermedad con características diferentes a la NYFP. Estos autores plantean que según Vigourex, una de las razones por la que las plantas jóvenes son más susceptibles al ataque de esta bacteria podría deberse a las diferencias en el comportamiento vegetativo de los árboles jóvenes. Las plantas más jóvenes detienen su crecimiento vegetativo muy temprano en la estación, pero generalmente tienen tendencia a rebrotar hacia el final. Esta reacción resulta en rebrotes amarillentos y yemas de flor débiles. Según el autor

puede haber diferencias en el contenido de agua de los rebrotes tardíos, pudiendo ser el contenido de agua de los tejidos un factor importante para la infección con *P. syringae*.

2.2.3.2. Portainjertos y cultivares

El efecto del portainjerto en el nivel de daño en yemas no está claramente determinado. Según Deckers y Schoofs (2001) el portainjerto puede ser un factor de debilidad que incrementa el riesgo de infección por *P. syringae*. Para estos autores la diferencia en vigor de los diferentes portainjertos de membrillero puede estar ligada a la compatibilidad del peral con estos, y a variaciones en susceptibilidad frente al ataque de la bacteria. Por otro lado, investigaciones provenientes de Nueva Zelanda con cultivares de peral japonés sobre diferentes portainjertos (*Pyrus serotina*, *Pyrus calleryana*, *P. betulaefolia* "Williams bon Chretien" y *Cydonia* proveniente de semilla), no mostraron diferencias significativas en los niveles de daño en yemas (Klinack y Geddes, 1995).

Ensayos realizados en Uruguay acerca del efecto de siete portainjertos sobre la incidencia de la NYFP muestran que el membrillero C es el que presenta mayor estabilidad frente al problema. Sin embargo, este portainjerto muestra una importante caída en la productividad potencial reflejando problemas de incompatibilidad entre el cultivar y el portainjerto. Los portainjertos *P. Calleryana* D6, OHxF333, OHxF97, OHxF51, el membrillero BA29 y Adams tuvieron una disminución progresiva del porcentaje de yemas sanas (con cuatro o más flores) en el transcurso de tres años de evaluación (Leoni, 2005).

Se han reportado diferencias de susceptibilidad entre cultivares. Las plantas jóvenes de los cultivares Conference, Doyenne du Comice, Abate Fetel,

y General Leclerc son muy susceptibles. Otros cultivares como Williams, Passe Crassane y Alexandrine son menos susceptibles (Montesinos y Vilardell, 2001).

Estudios realizados en Uruguay muestran que la incidencia de NYFP es mayor en el cv. Packam`s Triumph que en el cv Williams (Zecca et al. 2002, Leoni 2005). Si bien el porcentaje de yemas afectadas en el cv. Williams es menor que en el cv. Packam`s Triumph, éste último compensa en parte esa mayor susceptibilidad con una gran producción de yemas de flor que se refleja en una productividad satisfactoria (Leoni, 2005).

Deckers y Schoofs (2001) refiriéndose al tizón bacteriano del peral causado por *Pseudomonas syringae*, plantean que Conference y Duodena son más susceptibles que D. Comice y Bearer Hardy. General Lecrec es muy susceptible, mientras que Concorde se puede clasificar entre Conference y Doyenne du Comice. Por otro lado Moragrega et al. (2003) concluyeron que los cultivares: Conference, Abate Fetel, General Leclerc, Williams, Doyenne du Comice, El Dorado, Alexandrine, B Anjou, Passe Crassane y el portainjertos OHxF333 son moderadamente a altamente susceptibles al tizón bacteriano.

2.2.3.3. Insatisfacción de necesidades de frío y fluctuaciones térmicas

El efecto de la insatisfacción de necesidades de frío de las plantas, y las fluctuaciones de temperatura durante el período de reposo invernal, han mostrado resultados variables. Mientras algunos autores consideran a la falta de frío y a las fluctuaciones térmicas como las causas de la NYFP, otros autores consideran que estos, son solo factores agravantes del problema.

Herter et al. (1994) en un estudio realizado en perales asiáticos, encontró que la intensidad de daño por muerte de yemas fue mayor en los casos en que

hubo menor cantidad de horas de frío acumuladas durante el período invernal. Además concluyó que el mayor porcentaje de muerte de yemas coincidió con períodos de altas temperaturas seguidas de súbita disminución de las mismas. De igual forma, Petri et al. (2002) coinciden con que la ocurrencia de NYFP esta asociada a la dormancia, dado que cuando las necesidades de frío están cubiertas, la NYFP no ocurre u ocurre en niveles muy bajos.

Por otra parte Kingston et al. (1990) plantean que aunque la falta de frío podría ser un factor causante de muerte de yemas, este no sería el único, dado que este problema también ocurre en áreas donde el frío recibido es adecuado para los perales. Así mismo, en trabajos realizados en Brasil sobre perales del cv. Williams y Packam's Triumph sometidos a diferentes condiciones de acumulación de horas de frío, se concluyó que la cantidad de horas de frío durante el invierno no es el único factor causante de muerte de yemas florales, y que las fluctuaciones térmicas en períodos sucesivos de invierno no causan este problema (Camelatto et al., 2000). Zecca (2004), quien calculó la correlación entre los índices de necrosis de primordios florales y la cantidad de horas de frío acumuladas para distintos cultivares, obtuvo coeficientes contradictorios. La relación resultó inversa para los cultivares Williams y Packam's Triumph y directa para los cultivares asiáticos. En función de esto, y considerando que la necrosis de primordios florales se observó a partir de mayo, la autora concluyó que el problema no es causado por insuficiencia de frío invernal, aunque puede ser agravado por esta.

En evaluaciones realizadas en Uruguay en montes comerciales de peral durante cuatro temporadas con diferente acumulación de frío invernal, se observó una alta variación en la incidencia de la NYFP entre montes para un mismo año, descartándose la falta de frío como la causa del problema (Leoni, 2005).

2.2.3.4. Temperatura, humedad relativa y precipitaciones

Zecca (2004) analizó la influencia de las condiciones meteorológicas durante el período de reposo invernal, sobre la NYFP. La autora realizó análisis de correlación entre las temperaturas medias, temperaturas medias mínimas y temperaturas medias máximas, la humedad relativa del aire, y las precipitaciones, respecto a los índices de necrosis. En ninguno de los casos obtuvo resultados consistentes.

El análisis de correlación entre temperaturas medias, temperaturas medias mínimas y medias máximas, respecto a los índices de necrosis, dio resultados contradictorios para tres de los cuatro cultivares analizados. Solo en el cultivar Williams fueron encontradas altas correlaciones entre los índices de NYFP y las medias de temperatura (Zecca, 2004).

Se observó como tendencia general que, cuando en otoño-invierno hubo mayor humedad relativa del aire, el índice de necrosis de yemas fue menor, aunque los resultados tampoco fueron consistentes (Zecca, 2004).

Las altas precipitaciones otoñales e invernales tuvieron relación inversa con los índices de necrosis de primordios florales para todos los cultivares en un año de evaluación. Más allá de esto no fue posible afirmar que el déficit hídrico favorece la necrosis de los primordios florales, dado que en los demás años no se encontró relación entre estos factores. Tan solo con los datos obtenidos para el cultivar Williams se podría suponer que un final de verano más cálido y seco favorecería el desarrollo del problema (Zecca, 2004).

2.2.3.5. Desbalances nutricionales y desequilibrios durante el período vegetativo

Una de las hipótesis sobre la ocurrencia de NYFP, es que los períodos con temperaturas relativamente altas durante la dormancia de las plantas, podrían provocar el aumento de la tasa respiratoria y bajar las reservas de carbohidratos a niveles insatisfactorios para cubrir las necesidades de las yemas florales para retomar el crecimiento (Gardín, citado por Couto et al., 2006). Herter et al. (2001) analizaron el contenido de azúcares de yemas de peral de dos localidades con condiciones climáticas bien distintas. En la localidad que presentó temperaturas más cálidas y oscilaciones de temperatura frecuentes, la concentración de azúcares en yemas fue menor, coincidiendo con los mayores índices de NYFP.

Por otra parte, la insuficiencia de boro es otro de los factores que se menciona como posible causante de necrosis. El boro se ha visto relacionado en los principales procesos de la fisiología vegetal: división y crecimiento celular, germinación, regulación hormonal, entre otros. Así las plantas con deficiencia de boro presentan una amplia gama de síntomas dependiendo de la edad y el tipo de planta. La división celular en los tallos y en las hojas jóvenes cesa y esto se sigue de necrosis y muerte de los meristemos, lo que se relaciona con su posible papel en la síntesis de uracilo, precursor de ARN (Bonilla, 2000). La deficiencia de boro en peral puede provocar el marchitamiento de las flores y producir la muerte de las mismas, antes o durante la antesis (Banno et al., citados por Zecca, 2004). Taiz y Zeiger, citados por Zecca (2004) afirman que a causa de desequilibrios de boro, diversas plantas pueden exhibir necrosis y anomalías relacionadas con el colapso de los tejidos internos.

Sin embargo, ensayos realizados en España sobre el efecto de la deficiencia de micronutrientes sobre la NYFP han mostrado resultados poco consistentes. Montesinos y Vilardell (1996) mencionan que en algunos estudios observaron correlaciones significativas de los niveles de la enfermedad con niveles bajos de boro y azúcares solubles de reserva en corteza y yemas, mientras que en otros casos no se observó ninguna relación con macro o micro nutrientes. Montesinos y Vilardell (2001) reportan que la aplicación de enmiendas nutricionales (B, Ca y microelementos) fue inefectiva para el control de la NYFP, aunque todos los microelementos provistos por las enmiendas aumentaron rápidamente en el tejido celular.

Dentro de los factores dependientes de las condiciones culturales que podrían estar influyendo en la manifestación de la NYFP se destacan: los suelos mal drenados, las situaciones de deficiencia hídrica en verano (especialmente en los períodos de inducción y diferenciación floral), y el riego por aspersión (Montesinos y Vilardell 1988, Arruda, citado por Herter 2001).

2.2.3.6. Alteraciones morfológicas en las yemas

En trabajos realizados con perales asiáticos (*Pyrus pyrifolia*) en distintas localidades del sur de Brasil, se buscó verificar si algunos parámetros de morfología de las yemas (largo, diámetro, peso seco, número de primordios, entre otros) tenían alguna relación con los niveles de NYFP. En la localidad con clima cálido y fluctuaciones de temperatura frecuentes, se constató mayor número de primordios florales por yema, los que tenían bajo vigor, y mayor peso seco por inflorescencia. El mayor y menor vigoroso número de primordios florales probablemente ocurrió debido a las condiciones climáticas, que causaron la duplicación de las inflorescencias, caracterizándose como un fenómeno anormal ocurrido durante la fase de diferenciación floral. En estos

casos se registraron los mayores índices de NYFP. En la región más fría se observó menor número de primordios florales por yema, lo que posibilitó una mejor distribución de los nutrientes, y mejoró el desarrollo de yemas y primordios. Esto estuvo asociado a un menor índice de muerte de yemas (Verissimo et al. 2002, Verissimo et al. 2004).

Zecca (2004) observó que los cultivares asiáticos presentaron mayor número de primordios florales por yema que los cultivares europeos. Esta no encontró en la literatura referencia acerca de los valores característicos normales de número de primordios florales en los cultivares asiáticos, que le permitieran asegurar que se tratara de una anomalía en las yemas. Además obtuvo inconsistencias en los resultados al hacer la correlación entre el número de primordios florales por yema y el porcentaje de primordios necrosados, considerando entonces que esto no sería un factor causante de NYFP.

2.2.3.7. Incidencia de plagas

Una de las plagas de peral que se encuentra reportada como causante de daño en yemas es la “Psylla del peral” (*Psylla pyricola*). Este insecto se alimenta principalmente succionando jugos vegetales que luego son excretados bajo la forma de “mielecilla” que rodea al insecto. La abundancia de producción de “mielecilla” hace que la misma gotee sobre otras partes del vegetal las que luego se recubren de fumagina, lo cual les confiere un aspecto atizonado. De acuerdo a estos hábitos alimenticios, existen dos tipos de daño: uno vinculado a la producción de “mielecilla”, lo cual puede producir roña en la fruta, disminución de la actividad fotosintética de las hojas y su caída prematura; el otro, vinculado a la producción de toxinas por parte del insecto, provocando la muerte de las yemas y debilitando al árbol con la consecuente disminución de la productividad (Nuñez y Paullier, 1991).

Por otra parte, Zecca (2004) observó la presencia de insectos dentro de las escamas más internas de varias yemas de flor de peral. Le fue imposible realizar la identificación de los mismos en yemas de flor fijadas en F.A.A (10% de formol 40% – 85% de alcohol 70° – 5% ácido acético glacial), notando la presencia de estos organismos sólo al observar yemas frescas diseccionadas. Por la alta movilidad de los insectos en las yemas frescas le fue muy difícil su identificación. De todos modos pudo identificar la presencia de ninfas y adultos de trips, ninfas y adultos de ácaros, larvas de lepidópteros y de coleópteros, y huevos de parasitoides del género *Figitidae*. No le fue posible relacionar la ocurrencia de insectos en el interior de las escamas de las yemas con la incidencia de necrosis de los primordios florales, por las dificultades para realizar el conteo de los individuos.

Montesinos y Vilardell (1991a) reportan que un cultivo que sufrió defoliación precoz causada por el ataque de arañuela tuvo mayor incidencia de daño por NYFP al año siguiente.

2.2.3.8. *Pseudomonas syringae*

Características generales de *P. syringae*

Especies del género *Pseudomonas* se presentan como bastones rectos o levemente curvos, nunca helicoidales. Miden entre 0,5 a 1 x 1,5 a 3,0 micras, son no esporogénicas y se mueven mediante uno o varios flagelos, raramente son inmóviles. Son aeróbicas estrictas, catalasa positivas y quimiorganotróficas. El género engloba un amplio número de especies tanto saprofitas como patógenas para el hombre, animales y plantas. Bacteriólogos de plantas, prefieren dividir las especies fitopatogénicas en dos grandes grupos: especies fluorescentes y no fluorescentes. Las especies fluorescentes producen

abundantes pigmentos hidrosolubles en medios con bajos tenores de hierro, los que son fácilmente visibles bajo luz ultravioleta. A su vez dentro de cada grupo se diferencian especies de acuerdo a características fisiológicas, bioquímicas y tintóreas (Romeiro, 2000).

Pseudomonas syringae pv. *syringae* pertenece al grupo de bacterias fluorescentes, con formación de levans variable, y presencia de oxidasa, actividad pectolítica y arginina deshidrolasa negativa para un 80 % o más de los aislamientos testados (Hirano y Upper 1990, Romeiro 2000).

Es una bacteria epífita presente en la superficie de plantas cultivadas y espontáneas que tiene la capacidad de multiplicarse sin penetrar. Varios miembros de las familias de las Leguminosas, Rosáceas, Gramíneas, Oleáceas y Rutáceas han sido reportados como hospederos de *P. syringae* pv. *syringae* (Hirano y Upper, 1990).

La temperatura óptima para su desarrollo en condiciones controladas, es de 25°C (Latorre et al. 1985, Wimalajeewa y Flett 1985).

Pseudomonas syringae puede aislarse tanto de plantaciones sanas como afectadas, pero los niveles poblacionales son significativamente superiores en estas últimas. En las yemas la población del patógeno está mayoritariamente en forma epífita en su interior, protegida por las brácteas y escamas de la acción de bactericidas y de las condiciones climatológicas adversas, en lo que técnicamente se denomina gemisféra (Montesinos y Vilardell, 1988).

Las poblaciones epífitas pueden servir de reserva o ser la principal fuente de inóculo para la infección de la planta huésped cuando las condiciones son

óptimas y el huésped está susceptible (Latorre et al. 1985, Wimalajeewa y Flett 1985).

Wimalajeewa y Flett (1985) realizaron un estudio sobre la evolución de los niveles poblacionales de *P. syringae* pv. *syringae* en frutales de carozo. Los mismos encontraron que existen dos picos poblacionales en primavera y otoño, siendo las poblaciones de primavera mayores, a pesar de la similitud de condiciones de temperatura y lluvia. Según los mismos autores, la disponibilidad de sustrato para el crecimiento epifítico de la bacteria sería el principal factor determinante de la población, existiendo influencia de la temperatura y de las precipitaciones como factores modificadores.

Latorre et al. (1985) realizaron estudios sobre los niveles poblacionales de *P. syringae* pv. *syringae* en frutales de carozo como agente causal del cancro bacteriano. Sus resultados muestran cambios abruptos de las poblaciones bajo condiciones de campo determinados por las condiciones meteorológicas. Las poblaciones de esta bacteria se multiplican o mueren en respuesta directa a las condiciones de humedad.

Producción de fitotoxinas, núcleos de hielo y fitohormonas.

La mayor parte de las cepas virulentas de *P. syringae* pv. *syringae* secretan lipodepsipeptidasas, siringomicina E (SER) y/o siringotoxina 25A (SP25A). Estas son toxinas lipopeptídicas, huésped-inespecíficas y formadoras de necrosis de elevada actividad fitotóxica y antibiótica. Además pueden producir al menos cuatro clases de enzimas degradativas de la pared celular. La actividad fitotóxica de estos metabolitos es debida a que interfieren específicamente con la membrana plasmática, aumentando su permeabilidad (Cazorla s.f., Fogliano et al. 2002, Zecca 2004).

Estas bacterias también presentan la capacidad de reducir la temperatura de tolerancia de la planta al superenfriamiento. Sus células actúan como núcleos de formación de hielo produciendo lesiones por helada, a temperaturas superiores a las que se producirían normalmente en los tejidos que coloniza (Cazorla s.f., Montesinos y Vilardell 1988).

Por otra parte *P. syringae* pv. *syringae* también produce altas concentraciones de ácido indol-acético (AIA) (Glickmann et al., 1998). Este compuesto pertenece al grupo de compuestos naturales conocido como reguladores de crecimiento o fitohormonas. Actúa en las plantas a muy bajas concentraciones, y pequeñas desviaciones de las concentraciones normales pueden llevar a notables modificaciones de los patrones de crecimiento. Es requerido para la elongación y diferenciación celular, y su absorción por la membrana celular también afecta la permeabilidad de la membrana. El AIA causa el aumento de la respiración de los tejidos y promueve la síntesis de ARN mensajero y consecuentemente de proteínas estructurales y enzimas (Agris, 1997).

***Pseudomonas syringae* como agente causal del tizón bacterial de la flor del peral.**

P. syringae ha sido descrita como agente causal de la enfermedad conocida como tizón bacterial (Latorre 1982, Deckers y Schoofs 2001, Moragrega et al. 2003). Esta enfermedad tiene características diferentes a las que se describen para la NYFP. Los síntomas del tizón bacterial se producen en flores, hojas, frutos y ramillas de crecimiento del año. Estos se manifiestan inicialmente como manchas necróticas, que en condiciones ambientales favorables terminan dándole al órgano afectado un aspecto como quemado (Latorre, 1982). La misma ha sido reportada en la mayoría de las zonas

productoras de peral del mundo, siendo dignos de mención los ataques registrados en Francia, Inglaterra, Italia, Grecia, Estados Unidos, Canadá, Chile, Nueva Zelanda y Australia (Montesinos y Vilardell, 1988).

***Pseudomonas syringae* como agente causal de la NYFP.**

Montesinos y Vilardell (1996) afirman haber demostrado la implicancia de *P. syringae* pv. *syringae* en la necrosis de yemas de flor del peral (NYFP). El componente patológico fue puesto de manifiesto mediante análisis de correlación en plantaciones comerciales de Girona, España, y mediante inoculación artificial (Montesinos y Vilardell, 1991b). Estos autores realizaron un estudio sobre el rol de *P. syringae* como agente causal de la NYFP. Encontraron que el 40 % de las cepas de *P. syringae* aisladas de la gemisféra tenían actividad nucleadora de hielo (INA), que un 70 % era patogénica para el peral y que el 39 % era tanto INA como fitopatógena. La inoculación de yemas durmientes con dosis comparables a las observadas a campo, pero en condiciones que no permitían la formación de núcleos de hielo por acción de bacterias, fue suficiente para producir incidencia significativa de la enfermedad por ataque convencional (exoenzimas, toxinas). Encontraron también una relación significativa entre los niveles poblacionales de *P. syringae*, la cantidad de núcleos de hielo al inicio del invierno, y el nivel de incidencia de la enfermedad medido como proporción de yemas necrosadas o que no llegaron a desarrollarse. El nivel de inóculo que produjo un 5% de incidencia de la enfermedad fue de 9.3×10^2 UFC/ yema (Montesinos y Vilardell, 1991b).

Sin embargo, en estudios posteriores los mismos autores concluyeron que ni la presencia, ni los niveles poblacionales de *P. syringae* estuvieron consistentemente relacionados con los niveles de la enfermedad en los cultivos estudiados (Montesinos y Vilardell, 2001).

Igualmente resultados de ensayos realizados por otros autores tampoco se mostraron consistentes. En investigaciones realizadas en Holanda en el período 2002-2004 sobre la muerte de yemas, *P. syringae* pv. *syringae* fue ocasionalmente aislada, no encontrándose en todas las plantas enfermas, o encontrándose en bajas cantidades, mientras que el patógeno predominante fue *Alternaria alternata* (Wenneker, 2004).

En aislamientos realizados por Zecca (2004) en el mes de mayo (otoño) para ver el crecimiento de bacterias, no se tuvieron resultados positivos. Por otra parte, Marodín, citado por Zecca (2004) identificó la presencia de la bacteria *P. syringae* pv. *syringae* en yemas de peral Packam's Triumph en cuatro localidades del sur de Brasil.

En Uruguay se ha aislado *P. syringae* pv. *syringae* de yemas de flor con síntomas de NYFP¹.

2.2.4. Control químico.

En España desde el año 1989 se han venido realizando ensayos con el fin de encontrar mecanismos de control químico para esta enfermedad.

En el período 1991-1992 en una plantación comercial de Girona sobre el cultivar Conference se aplicaron distintos productos. Estos consistían en un desinfectante, un antibiótico, un derivado del cobre, etil fosfanato de aluminio, y un tratamiento mezcla de antibiótico y etilfosfanato. Se compararon distintos números de aplicaciones, variando de una a cinco, manteniendo las dosis. Solo hubo diferencias significativas para los dos tratamientos que incluían el etil fosfanato de aluminio. La eficacia máxima fue de un 80% y fue con la estrategia

de 2 a 3 tratamientos entre mayo y junio (hemisferio norte), no existiendo efecto de los tratamientos adicionales (Montesinos y Vilardell, 1991a).

En el período comprendido entre 1989 y 1995 se realizaron 24 ensayos de control químico de la NYFP. Se evaluaron tanto parcelas experimentales como parcelas estándar en montes comerciales. Los tratamientos consistieron en 3 aplicaciones entre mayo y julio (hemisferio norte) de 250 g/HI de fosetil aluminio. En 17 casos se consiguió un control significativo de la enfermedad, con una eficacia media del 58%. Se destaca que por razones desconocidas en los ensayos de las parcelas experimentales la eficacia de los tratamientos resultó significativa en 11 de los 12 ensayos mientras que en las parcelas comerciales la eficacia fue significativa tan solo para seis de los 12 ensayos (Montesinos y Vilardell, 1996).

El único método de todos los ensayados en parcelas experimentales y en quintas comerciales que ha dado resultados significativos en el control de la necrosis de las yemas de flor del peral, es el basado en la aplicación de fosfonatos (Montesinos y Vilardell, 1996). A pesar de la eficacia moderada del fosetil aluminio para el control de la NYFP y la observación de ciertas fallas, este método de control es el único disponible hasta el momento. Además en muchas situaciones el nivel de control de la enfermedad es suficiente para mantener un número de yemas florales capaz de mantener una adecuada producción comercial (Montesinos y Vilardell, 2001).

Moragrega et al. (1998) testaron distintos derivados del fosfonato (fosfonato, fosetil, ethephon y fosfomicina) para el control del tizón bacteriano del peral causado por *P. syringae* pv. *syringae*. Realizaron pruebas "in vitro", y en plantas bajo condiciones controladas. En los tratamientos "in vitro" solamente la fosfomicina (antibiótico) mostró diferencias significativas en el

control de la bacteria utilizando estreptomycin como tratamiento testigo. En plantas en maceta inoculadas con la bacteria todos los tratamientos tuvieron diferencias significativas con el testigo no tratado. El más efectivo fue el tratamiento con fosfomicina. El efecto de los otros fosfonatos fue débil pero consistente. Estos concluyeron que excepto para la fosfomicina las ED₅₀ (dosis media efectiva) de los otros derivados del fosfonato aplicados a la raíz, es demasiado alta para hacer un uso práctico en el control del tizón bacteriano del peral.

En dos ensayos realizados en Uruguay se probaron diferentes productos fitosanitarios para el control de la NYFP. En uno se testó: fosfito de potasio, Clorhidrato de Kasugamicina (antibiótico), y distintas mezclas de insecticidas (Imidacloprid con metil azinfos y aldicarb con metil azinfos). En el otro se testó acibenzolar-s-methyl, hidróxido de cobre y fosfito de potasio. En ambos ensayos se comparó con un testigo bajo manejo convencional. En los dos experimentos la menor incidencia de la NYFP se observó en los tratamientos que recibieron al menos tres aplicaciones de fosfito de potasio².

El fosetil aluminio es un producto microbicida que se ha utilizado con éxito contra fitopatógenos del grupo de los oomycetes. Su mecanismo de acción se conoce someramente y ha sido estudiado casi exclusivamente sobre estos organismos. Generalmente el producto no presenta actividad "in vitro" y es extremadamente sistémico y traslocable por la planta. Es metabolizado y transformado por esta en fosfonato, que tiene actividad microbicida directa y además estimula la respuesta defensiva en la planta (Montesinos y Vilardell, 1991b). Este derivado del fosfonato, ha sido evaluado en experimentos de

² Leoni, C.; Cabrera, D. 2003. Necrosis de la yema de flor del peral; avances de investigación en Uruguay (sin publicar).

campo e invernáculo para el control de enfermedades causadas por varios grupos de bacterias. En la mayoría de los casos se ha mostrado que es relativamente eficaz en el control de la enfermedad pero con resultados poco consistentes (Chase, 1993).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. EXPERIMENTOS

3.1.1. Efecto del manejo sanitario en la NYFP

Durante la temporada 2004-2005 en un monte de peral en plena producción del cv. Williams injertado sobre membrillero, ubicado en la estación experimental INIA Las Brujas, se realizaron cuatro tratamientos fitosanitarios:

1- Manejo convencional más aplicaciones quincenales de fosfito de potasio 32% P_2O_5 (300 cc de Cuneb Forte /100 l de agua) de mediados de diciembre a mediados de abril.

2- Manejo convencional, más aplicaciones quincenales de Clorhidrato de Kasugamicina (175 cc de Hokko Kasumin /100 l de agua) en el mismo período que en el caso anterior.

3- Manejo convencional, más aplicaciones mensuales de Imidacloprid (1l /há de Confidor 350 g/l), más Metil-azinfos (150cc de Gusathion 35%/100 l de agua) quincenal, en los meses de enero, febrero y marzo.

4- Testigo con manejo convencional.

El manejo sanitario convencional del monte se describe en el Anexo.

Las aplicaciones se realizaron con atomizadora con un gasto de agua de 833 l/há. Las determinaciones se realizaron en cuatro plantas por tratamiento, excepto en el tratamiento testigo donde se evaluaron cinco plantas.

Durante el receso invernal, en los meses de mayo, julio y setiembre, se colectaron 10 yemas de flor por planta en cada tratamiento. Las yemas se fijaron por 48 horas en una solución de FAA (10% de formol 40% – 85% de alcohol 70° – 5% ácido acético glacial) y luego se conservaron en alcohol 70% hasta su disección bajo lupa estereoscópica (70 – 100 x) (Figura 6).

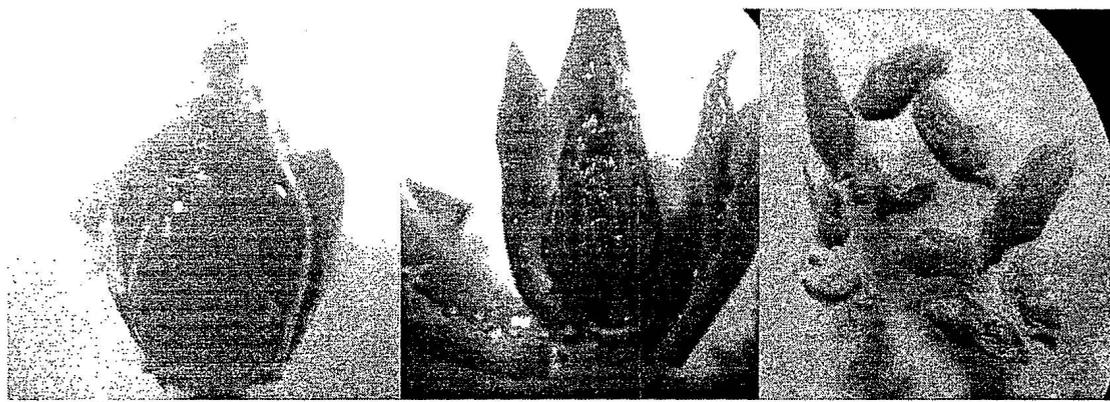


Figura 6: Proceso de disección de yemas de flor. a)- yema previa a la disección b)- separación de las escamas protectoras c)- primordios florales.

Se determinó el nivel de daño en los primordios florales considerando: número de primordios florales sanos, número de primordios florales con necrosis leve o severa (hasta 50% o más del 50% de la superficie necrosada, respectivamente) y presencia / ausencia de tumores con o sin necrosis asociada.

En plena flor se determinó el daño por NYFP en 500 yemas de flor por tratamiento (125 a 100 yemas de flor por planta, según se evaluaran cuatro o cinco plantas). Para este fin se utilizó la siguiente escala de severidad: daño severo: yemas muertas o brotadas sin flor; daño medio: yemas con una a tres flores; yemas sanas: cuatro o más flores (Figura 7).

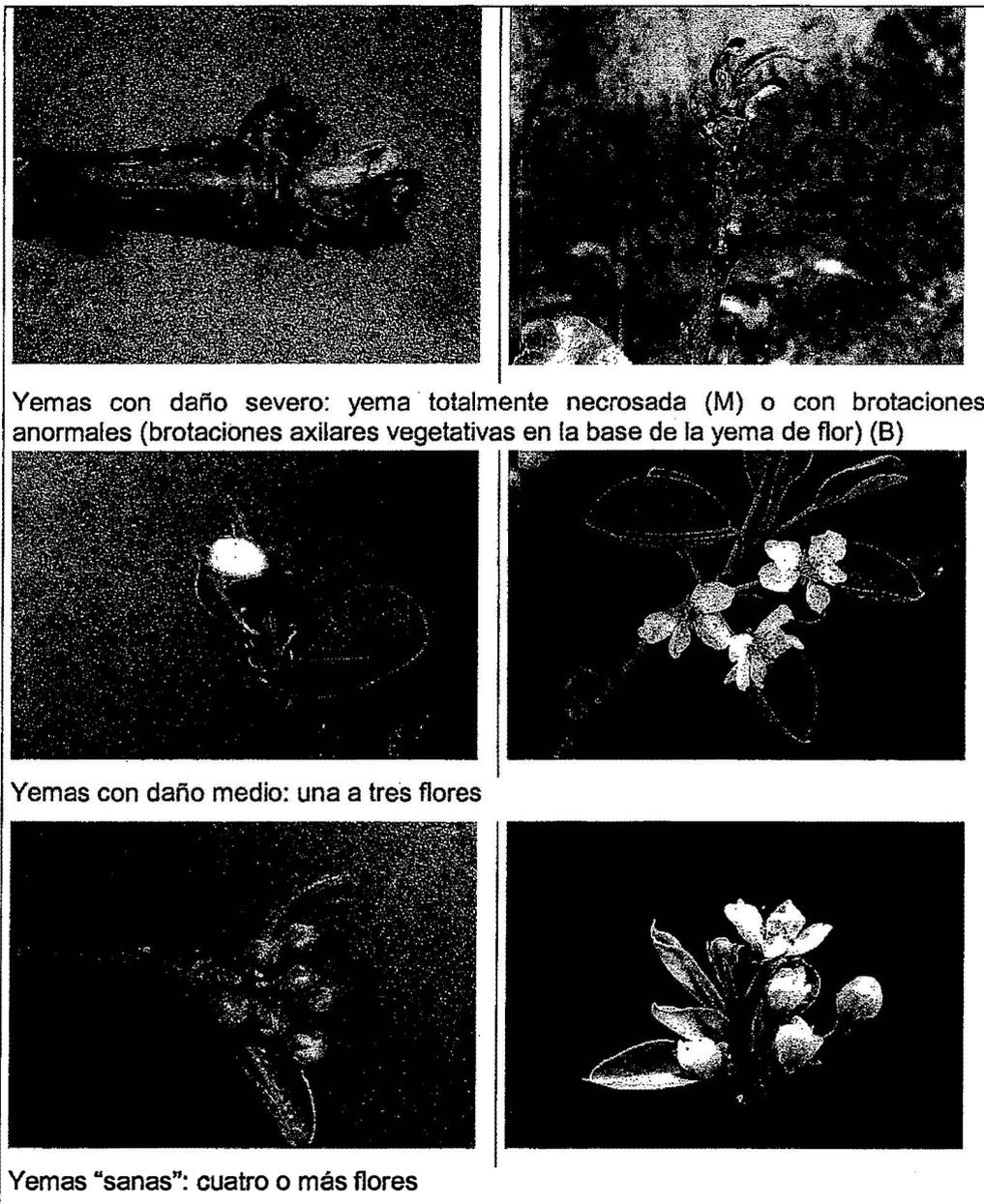


Figura 7: Escala de intensidad de daño por NYFP utilizada para la evaluación en floración.

3.1.2. Efecto del cultivar sobre la NYFP

Durante la temporada 2004-05 en plantas adultas de los cvs. Williams y Packam's Triumph injertadas sobre membrillero, se determinó la evolución del

daño en los primordios florales y se evaluó el nivel de daño de NYFP en floración, siguiendo el mismo procedimiento que con el experimento anterior. Se evaluaron cinco plantas del cultivar Williams y cuatro plantas del cultivar Packam's Triumph, todas bajo manejo convencional. Para el cultivar Williams las colectas de yemas de flor se realizaron en los meses de mayo, julio, agosto y setiembre, mientras que en el cultivar Packam's Triumph se realizaron en los meses de marzo, mayo, julio y agosto.

3.2. ANÁLISIS HISTOLÓGICO

Para el análisis histológico se emplearon primordios florales sanos y con tumores, obtenidos luego de la disección de yemas de flor, según se describió anteriormente. Los primordios florales se fijaron en FAA (10% de formol 40% – 85% de alcohol 70° – 5% ácido acético glacial) durante 48 hs. y se conservaron en alcohol 70% hasta el momento de su inclusión en parafina. Los mismos se deshidrataron con alcohol etílico pasándose por una serie de graduaciones ascendentes de alcohol hasta llegar al 96%, y posteriormente fueron incluidos en parafina utilizándose tolueno como intermediario. Las inclusiones se cortaron con micrótopo de rotación Minot American Optical obteniéndose secciones de 8 a 10 μ de espesor. Se hicieron cortes transversales y longitudinales. Se montaron en portaobjetos con adhesivo de Haupt y se secaron en estufa a 37°C. Posteriormente, los preparados se tiñeron empleando dos técnicas: safranina – fast green (Ma et al., 1993) y toluidina blue O (Sakai, 1973), ambos métodos sin remoción previa de parafina. Finalmente los preparados se observaron bajo microscopio óptico.

La safranina - fast green tiñe de color rosado hasta rojo los tejidos suberificados, lignificados y con taninos. Los tejidos vivos se tiñen de color

verde. Se colorearon los preparados en safranina acuosa (1%) durante 20 minutos. Luego de remover los excesos de colorante mediante un pasaje por agua destilada durante un minuto los preparados se sumergieron en fast green al 0.5 por ciento en alcohol 96 por ciento durante 40 minutos. Nuevamente se hicieron dos pasajes por agua destilada de un minuto cada uno y se procedió a secar en estufa a 37 °C, durante 30 minutos. Una vez secos los preparados, se hizo la remoción de parafina mediante dos pasajes por Xilol de cinco minutos cada uno y posteriormente se realizó el montaje con bálsamo de Canadá (Ma et al., 1993).

La Toluidina blue O tiñe de azul - verdoso los tejidos suberificados, lignificados y con taninos. Los tejidos no lignificados se colorean de rojo-violáceo. Para la tinción con este colorante los preparados se colocaron en toluidina blue O. al 0,05 por ciento en agua destilada durante 30 minutos. Luego se realizaron remociones sucesivas sumergiendo los preparados en agua destilada y se dejaron secar a temperatura ambiente. El procedimiento de remoción de parafina y montaje con bálsamo de Canadá fue similar al caso anterior (Sakai, 1973).

3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El diseño experimental fue totalmente aleatorio. El análisis estadístico de los datos del experimento 3.1.1 y 3.1.2 se realizó empleando el paquete estadístico SAS. Se aplicó el procedimiento genmod para la distribución de Poisson.

4. RESULTADOS

4.1. TRATAMIENTOS SANITARIOS

4.1.1. Evolución de los síntomas

La evolución del daño en los primordios florales se dio en forma creciente durante todo el período evaluado. Este hecho ocurrió en forma similar en todos los tratamientos, y se manifestó al considerar tanto la incidencia (número de primordios florales con algún tipo de daño), como la severidad (superficie de primordios florales con necrosis). La severidad se evaluó únicamente como porcentaje de superficie necrosada, por lo que pese a que no se cuantificó ni el número ni el tamaño de los tumores por primordio floral, cabe mencionar que también se observó un aumento progresivo de estas características (Figura 8, Cuadro 5).

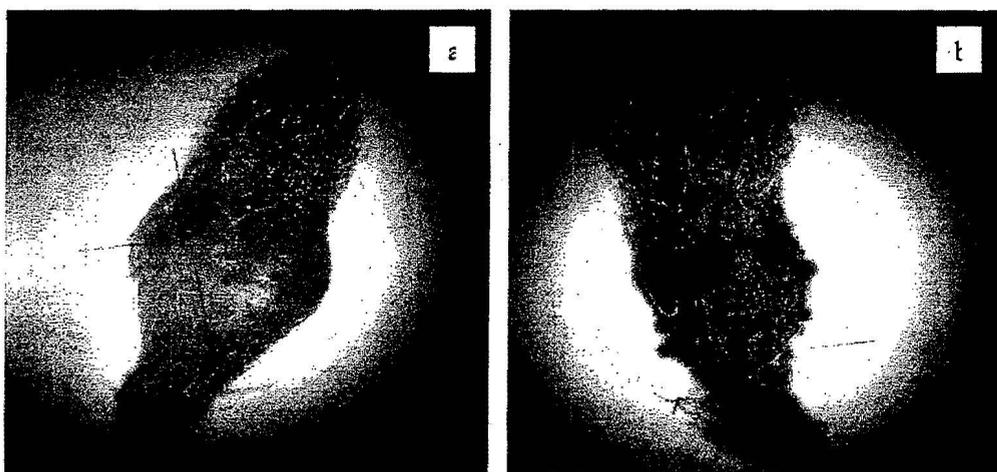


Figura 8: Síntomas de NYFP observados bajo lupa (70-100 x) en los primordios florales. a- Primordio floral sano, b- Primordio floral con necrosis severa y tumores.

Hacia mediados de otoño la mayor parte de los primordios florales se encontraban sanos. Dentro de los primordios florales dañados, predominaban los síntomas de necrosis leve, observándose muy pocos tumores. Entrado julio el porcentaje de primordios florales sanos disminuyó notoriamente. Esto se debió principalmente a la manifestación de nuevos tumores, generalmente sin necrosis, que pasó a ser el síntoma predominante. Próximo a floración, en promedio el 63 % de los primordios florales presentaba algún daño. Para entonces, el porcentaje de primordios florales cuyo único síntoma era necrosis leve o severa, era menor al 3 %, encontrándose la mayoría de los primordios florales afectados por tumores (Cuadro 5).

Cuadro 5: Evolución del nivel de daño promedio, en porcentaje, en primordios florales del cultivar Williams, según categoría de daño, durante la temporada 2004-2005.

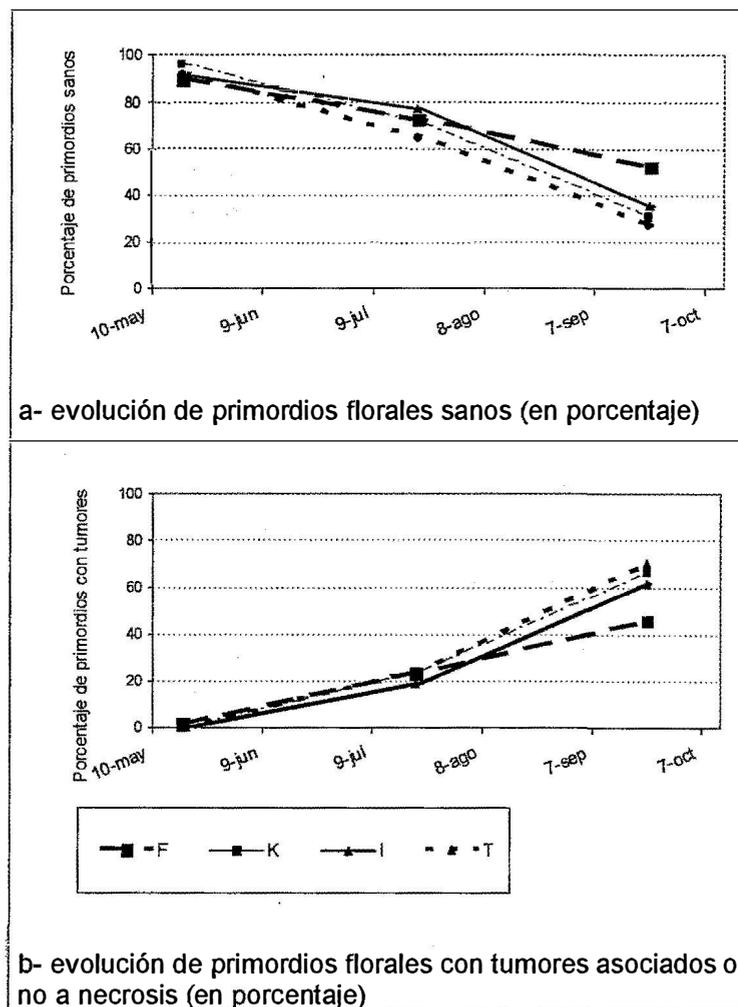
Categorías de primordios florales	Mayo	Julio	Setiembre
Sanos	92,3 ¹	71,3	36,7
Tumores sin necrosis	0,1	15,0	35,8
Necrosis leve sin tumores	7,1	5,6	1,8
Necrosis leve con tumores	0,1	5,9	17,6
Necrosis severa sin tumores	0,1	0,5	0,7
Necrosis severa con tumores	0,3	1,6	7,5
Total de primordios con tumores	0,5	22,5	60,9
Total de primordios solo con necrosis	7,2	6,2	2,4

¹ Correspondiente a valores promedio de los cuatro tratamientos fitosanitarios evaluados (F: manejo convencional + aplicaciones de fosfito de potasio; K: manejo convencional + aplicaciones de Clorhidrato de kasugamicina; I: manejo convencional + aplicaciones de Insecticidas; T: manejo convencional).

4.1.2. Efecto del manejo sanitario en la NYFP

Al analizar la evolución de los síntomas en cada uno de los tratamientos, se observa que en los meses más fríos la evolución del porcentaje de daño fue más lenta. A partir de fines de julio el nivel de daño aumentó rápidamente en

todos los tratamientos, excepto en el tratamiento con fosfito de potasio, en el que se mantuvo la tendencia de evolución del daño durante todo el período evaluado. Esto se visualiza por el cambio en la pendiente de la curva de evolución del daño (Figura 9).



F = manejo convencional + aplicaciones de fosfito de potasio, K= manejo convencional + aplicaciones de Clorhidrato de kasugamicina, I= manejo convencional + aplicaciones de Insecticidas, T= manejo convencional (testigo)

Figura 9: Evolución del nivel de daño en primordios florales debido a tumores en el cultivar Williams, según tratamiento, durante la temporada 2004-05.

En las evaluaciones realizadas en mayo, en todos los tratamientos el daño se debía fundamentalmente a necrosis leve sin tumores. Pese a ser valores relativamente bajos, estando entre cuatro y 10 por ciento de los primordios florales afectados, el tratamiento con clorhidrato de kasugamicina (bactericida) que para entonces tenía el porcentaje de daño más bajo, presentó diferencias significativas respecto a los tratamientos con fosfito de potasio e imidacloprid + metilazinfos (insecticida). En el resto de las categorías de daño evaluadas, no se encontraron diferencias significativas entre ninguno de los tratamientos (Cuadro 6).

Cuadro 6: Porcentaje de daño en primordios florales del cultivar Williams en el mes de mayo, según categoría de daño y tratamiento, durante la temporada 2004-2005.

Categorías de primordios florales	Tratamientos ¹			
	F	K	I	T
Sanos	89,9 c ²	96 a	91,4 b	92,2 a
Tumores sin necrosis	0,3 ns	0 ns	0 ns	0 ns
Necrosis leve sin tumores	8,6 a	4 b	8,1 a	7,6 ab
Necrosis leve con tumores	0,3 ns	0 ns	0,3 ns	0 ns
Necrosis severa sin tumores	0 ns	0 ns	0,3 ns	0 ns
Necrosis severa con tumores	0,9 ns	0 ns	0 ns	0,3 ns
Total de primordios con tumores	1,5 ns	0 ns	0,3 ns	0,3 ns
Total de primordios solo con necrosis	8,6 a	4 b	8,3 a	7,6 ab

¹ F = manejo convencional + aplicaciones de fosfito de potasio, K= manejo convencional + aplicaciones de Clorhidrato de kasugamicina, I= manejo convencional + aplicaciones de Insecticidas, T= manejo convencional (testigo)

² Valores seguidos de igual letra para cada categoría de daño, no difieren significativamente entre si al 5% según Prueba de Chi cuadrado. Para la categoría: tumores sanos las diferencias son significativas al 10%.

En julio el porcentaje de primordios florales sanos no difirió significativamente entre ninguno de los tratamientos sanitarios, siendo todos los tratamientos diferentes al testigo. Estas diferencias se debieron al mayor porcentaje de primordios florales con necrosis leve, dado que no existieron diferencias en el total de primordios florales con tumores entre ninguno de los

tratamientos, incluyendo al testigo. Dentro de los primordios florales que presentaban tumores, en el tratamiento con insecticida y en el testigo, se encontró mayor número de primordios florales que además presentaban necrosis. En los tratamientos con fosfito de potasio y clorhidrato de kasugamicina, predominaron los primordios florales con tumores sin necrosis (Cuadro 7).

Cuadro 7: Porcentaje de daño en primordios florales del cultivar Williams en el mes de julio, según categoría de daño y tratamiento, durante la temporada 2004-2005.

Categorías de primordios florales	Tratamientos ¹			
	F	K	I	T
Sanos	72,3 a ²	71,2 a	76,7 a	64,9 b
Tumores sin necrosis	19,7 a	17,6 a	9,3 b	13,4 b
Necrosis leve sin tumores	2,2 c	4,9 b	4,4 bc	11 a
Necrosis leve con tumores	2,4 b	3,9 b	8,5 a	8,9 a
Necrosis severa sin tumores	2,2 ns	0 ns	0 ns	0 ns
Necrosis severa con tumores	1,2 ns	2,4 ns	1 ns	1,7 ns
Total de primordios con tumores	23,3 ns	23,9 ns	18,9 ns	24 ns
Total de primordios solo con necrosis	4,4 b	4,9 b	4,4 b	11 a

¹ F = manejo convencional + aplicaciones de fosfito de potasio, K= manejo convencional + aplicaciones de Clorhidrato de kasugamicina, I= manejo convencional + aplicaciones de Insecticidas, T= manejo convencional (testigo)

² Valores seguidos de igual letra para cada categoría de daño, no difieren significativamente entre si al 5% según Prueba de Chi cuadrado.

Llegado setiembre el tratamiento con fosfito de potasio fue el que presentó mayor porcentaje de primordios florales sanos, siendo las diferencias significativas con el resto de los tratamientos. Los demás tratamientos no presentaron diferencias entre si (Cuadro 8, Figura 10). Respecto al total de primordios florales con tumores, el tratamiento con fosfito de potasio fue el que presentó menor porcentaje en términos absolutos (45,6%). Este valor no difirió significativamente del tratamiento con insecticida, pero si con el resto de los tratamientos. Aunque no se realizaron análisis estadísticos para comparar distintas categorías dentro de un mismo tratamiento, se puede ver en el Cuadro

6 que previo a floración, la categoría de primordios florales con tumores sin necrosis tiende a ser la predominante en todos los tratamientos. Dentro de esta categoría los tratamientos con fosfito de potasio y clorhidrato de kasugamicina fueron los que presentaron valores más altos. Asimismo las diferencias en el porcentaje de primordios florales con necrosis leve y tumores en el tratamiento con fosfito de potasio, fueron significativamente menores al resto de los tratamientos, mientras que el tratamiento con clorhidrato de kasugamicina obtuvo menor porcentaje de primordios florales con necrosis severa y tumores. Por otra parte, los primordios florales que presentaban solo algún grado de necrosis, no mostraron diferencias significativas entre ninguno de los tratamientos, y representaron una proporción muy pequeña del total de primordios florales evaluados (Cuadro 8).

Cuadro 8: Porcentaje de daño en primordios florales del cultivar Williams en el mes de setiembre, según categoría de daño y tratamiento durante la temporada 2004-2005.

Categorías de primordios florales	Tratamientos ¹			
	F	K	I	T
Sanos	52,3 a ²	31,1 b	35,8 b	27,4 b
Tumores sin necrosis	31,7 b	41,8 a	33,1 b	36,4 ab
Necrosis leve sin tumores	1,3 ns	2,2 ns	1,7 ns	1,8 ns
Necrosis leve con tumores	7,1 c	21,9 a	15,4 b	26 a
Necrosis severa sin tumores	0,9 ns	0,5 ns	1 ns	0,4 ns
Necrosis severa con tumores	6,7 b	2,5 c	13 a	8 b
Total de primordios con tumores	45,6 b	66,2 a	61,4 ab	70,4 a
Total de primordios solo con necrosis	2,2 ns	2,7 ns	2,7 ns	2,2 ns

¹ F = manejo convencional + aplicaciones de fosfito de potasio, K= manejo convencional + aplicaciones de Clorhidrato de kasugamicina, I= manejo convencional + aplicaciones de Insecticidas, T= manejo convencional (testigo)

² Valores seguidos de igual letra para cada categoría de daño, no difieren significativamente entre si al 5% según Prueba de Chi cuadrado. Para la categoría tumores sin necrosis, las diferencias son significativas al 10%.

En floración, las plantas tratadas con fosfito de potasio fueron las que presentaron mayor porcentaje de yemas sanas (con cuatro o más flores),

diferiendo significativamente con el resto de los tratamientos (Figura 10). Las plantas tratadas con insecticida y clorhidrato de kasugamicina tuvieron diferencias significativas respecto al testigo bajo manejo convencional, pero no mostraron diferencias entre si (Cuadro 9). Por otra parte, el tratamiento con insecticida se diferenció del resto en el porcentaje de yemas con una a tres flores presentando los valores más bajos. Al analizar la severidad del daño, se observa que el porcentaje de yemas brotadas sin flor fue mayor en el testigo, diferenciándose éste de los demás tratamientos. El tratamiento con fosfito de potasio presentó el menor porcentaje de yemas muertas, abarcando el 8 % del total. Las plantas tratadas con clorhidrato de kasugamicina, insecticida y el testigo bajo manejo convencional presentaron valores de 14, 21 y 16 % de yemas muertas respectivamente siendo las diferencias estadísticamente significativas para todos los tratamientos (Cuadro 9, Figura 10).

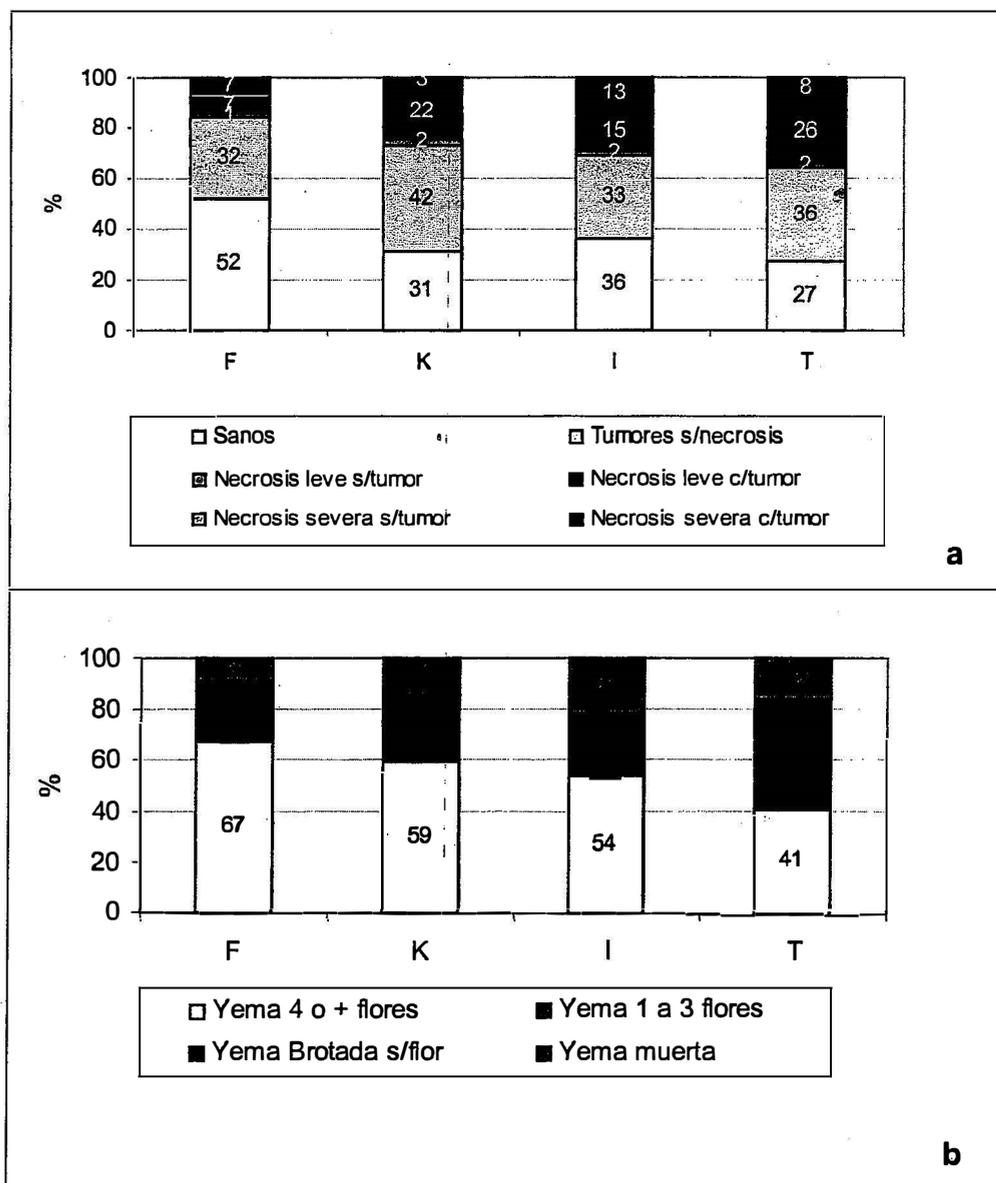
Cuadro 9: Efecto de los tratamientos fitosanitarios en la floración de perales del cultivar Williams durante la temporada 2004-2005.

Yemas florales (%)	Tratamientos ¹			
	F	K	I	T
Cuatro o más flores (Sanas)	67.4 a ²	59.2 b	54.1 b	40.8 c
Una a tres flores	17.4 a	18.7 a	16.1 b	24.5 a
Brotada s/flor	6.8 b	7.3 b	8.7 b	18.6 a
Muerta	8.4 d	14.5 c	21.1 a	16.1 b

¹ F = manejo convencional + aplicaciones de fosfito de potasio, K= manejo convencional + aplicaciones de Clorhidrato de kasugamicina, I= manejo convencional + aplicaciones de Insecticidas, T= manejo convencional (testigo)

² Valores seguidos de igual letra para cada categoría de daño, no difieren significativamente entre si al 5% según Prueba de Chi cuadrado.

Comparando las evaluaciones de los primordios florales en setiembre, con las evaluaciones de yemas en floración, se puede ver cierta concordancia en el comportamiento de los tratamientos: los porcentajes de primordios florales sanos se ordenan de forma similar, aunque no igual, al porcentaje de yemas sanas (con cuatro o más flores). Si se observa la severidad de los daños, parece haber concordancia en el ordenamiento de los primordios florales con tumores asociados a necrosis, ya sea leve o severa, con las yemas muertas y brotadas sin flor, entre los respectivos tratamientos (Figura 10).



¹ F = manejo convencional + aplicaciones de fosfito de potasio, K= manejo convencional + aplicaciones de Clorhidrato de kasugamicina, I= manejo convencional + aplicaciones de Insecticidas, T= manejo convencional (testigo)

Figura 10: Efecto de los tratamientos fitosanitarios en perales del cultivar Williams, durante la temporada 2004-2005. a) efecto en los primordios florales evaluados previo a floración (setiembre) b) efecto en las yemas de flor evaluadas en floración (octubre).

4.2. CULTIVARES

4.2.1. Evolución de los síntomas

El ciclo invernal más precoz del cultivar Packam's Triumph, cuya floración es previa a la del cultivar Williams, se ve reflejado en el proceso de evolución de los síntomas. Aunque las tendencias de las curvas de evolución del daño son semejantes en ambos cultivares, en el cultivar Packam's Triumph los síntomas comienzan a manifestarse antes. En el cv. Packam's Triumph los primordios sanos y los primordios con tumores asociados o no a necrosis evolucionaron de 94% a 23% y de 0% a 72% de marzo a agosto, respectivamente. Por otra parte, en el cv. Williams lo hicieron de 92% a 27% y 0.3% a 70% entre mayo y setiembre, respectivamente (Figura 11).

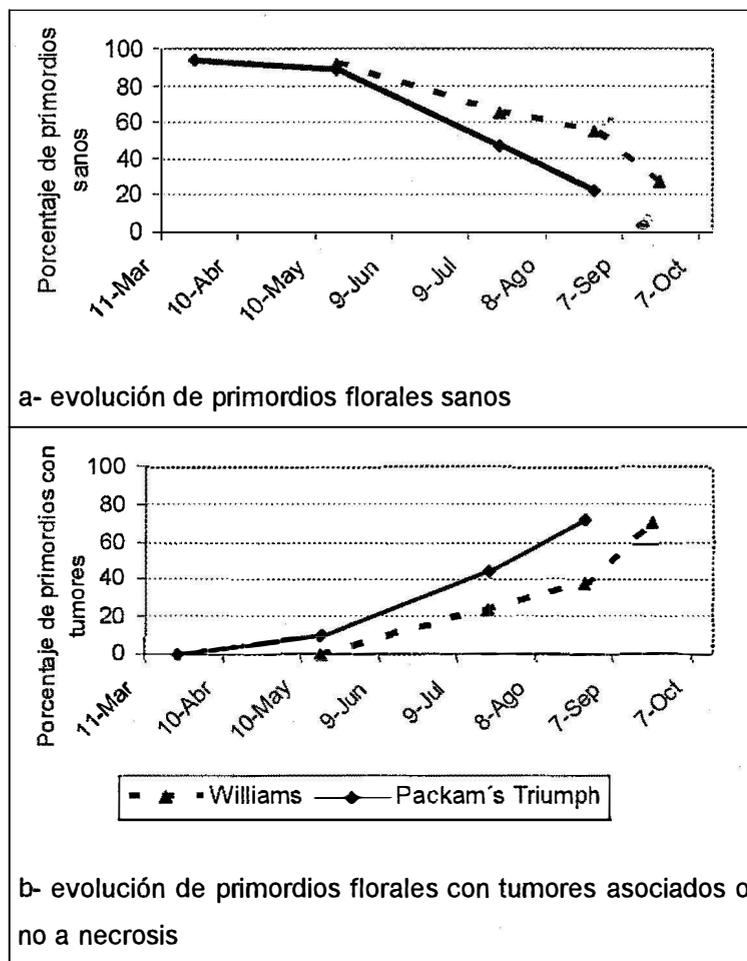


Figura 11: Evolución del nivel de daño en primordios florales debido a tumores, en los cultivares Williams y Packam's Triumph, durante la temporada 2004-05.

4.2.2. Efecto del cultivar en la NYFP

Considerando que la floración del cultivar Packam's Triumph es anterior a la del cultivar Williams, a los efectos de poder analizar situaciones semejantes, se compararon los meses de agosto y setiembre de los cultivares Packam's Triumph y Williams respectivamente, considerando que en estos momentos (previo a floración) se encontrarían en estados fenológicos similares.

Al momento previo a floración (agosto en el cv. Packam's Triumph y setiembre en el cv. Williams) se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de primordios florales sanos entre los distintos cultivares (Cuadro 10, Figura 12a). Respecto a la severidad del daño, en el cultivar Williams predominaron los primordios florales con tumores sin necrosis, seguido de necrosis leve con tumores; mientras que en el cultivar Packam's Triumph predominaron los primordios florales con tumores asociados a necrosis leve y severa (Cuadro 10).

Cuadro 10: Porcentaje de daño en primordios florales para los cultivares Packam's Triumph y Williams, evaluados previo a la floración durante la temporada 2004-2005.

Categorías de Primordios florales	Cultivares	
	Packam's Triumph	Williams
	Agosto	Setiembre
Sanos	22,8 ¹ b ²	27,4 a
Tumores sin necrosis	6,8 b	36,4 a
Necrosis leve sin tumores	3,4 ns	1,8 ns
Necrosis leve con tumores	32,1 ns	26,0 ns
Necrosis severa sin tumores	1,9 ns	0,4 ns
Necrosis severa con tumores	33,0 a	8,0 b
Total de primordios solo con necrosis	5,2 ns	2,2 ns
Total de primordios con tumores	71,9 ns	70,4 ns

¹ Valores expresados en porcentaje.

² Valores seguidos de igual letra para cada categoría de daño, no difieren significativamente entre sí al 5% según Prueba de Chi cuadrado.

Al comparar los resultados de las evaluaciones de primordios florales previo a floración con las evaluaciones de yemas en floración los resultados no son consistentes. A nivel de primordios florales los cultivares se diferenciaron significativamente, con 22.8% y 27.4% de primordios sanos para Packam's Triumph y Williams respectivamente. Sin embargo en floración, el cultivar Packam's Triumph presentó mejor comportamiento, con un mayor porcentaje de yemas con cuatro o más flores (yemas sanas), no reflejándose los mayores

niveles de daño observados en los primordios florales (Cuadro 10, Cuadro 11, Figura 12).

Cuadro 11: Porcentaje de daño en yemas evaluadas en floración, en la temporada 2004-2005, según tratamiento. ⁹

Yemas florales	Tratamientos	
	Williams (setiembre)	Packam's Triumph (agosto)
Cuatro o mas flores (Sanas)	40.8 b	71.0 a
Una a tres flores	24.5 a	9.9 b
Brotada s/flor	18.6 a	11.6 b
Muerta	16.1 a	7.6 b

*Los valores seguidos de igual letra para cada categoría no difieren significativamente entre si al 5% según prueba de Chi cuadrado.

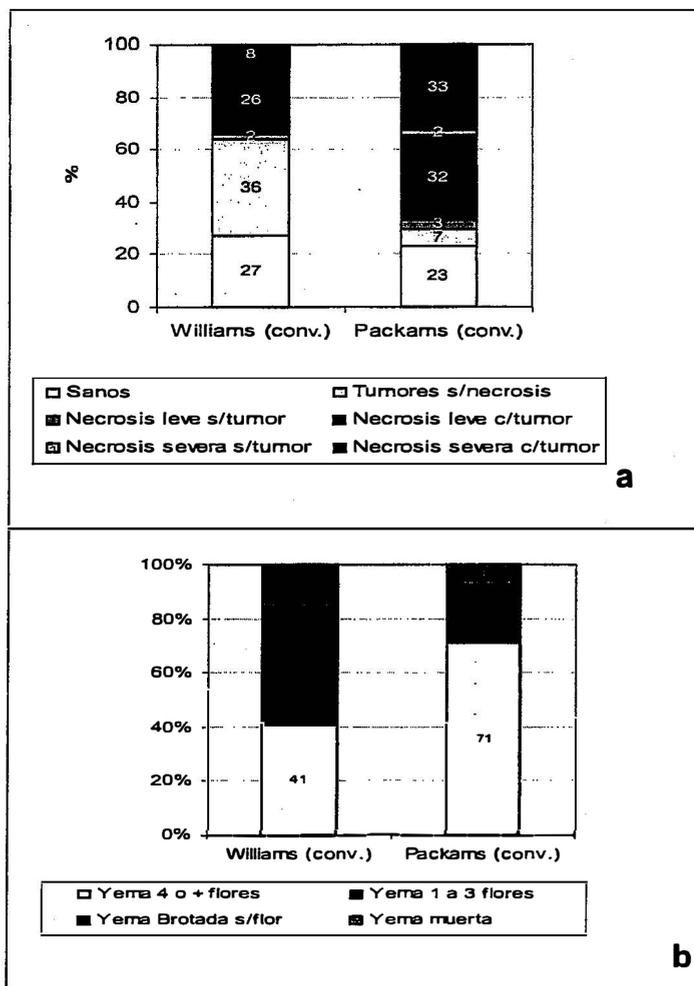


Figura 12: Porcentaje de daño según variedad: a)- primordios florales evaluados previo floración. b)- yemas evaluadas en floración.

4.3. CORTES HISTOLÓGICOS

En los cortes histológicos de los primordios florales se observan alteraciones de los tejidos debidas a multiplicación y agrandamiento celular (hiperplasia e hipertrofia). La epidermis se mantiene por fuera del tumor, dándose la proliferación de células a nivel subepidérmico. Mirando el órgano sano parece haber un tejido diferente al parenquimático por debajo de la

epidermis (posiblemente de sostén), que es en la zona donde ocurre la división y desorganización celular. Estas células forman una masa de células desordenadas que es coincidente con las deformaciones tumorosas que se observan macroscópicamente bajo lupa (Figura 13).

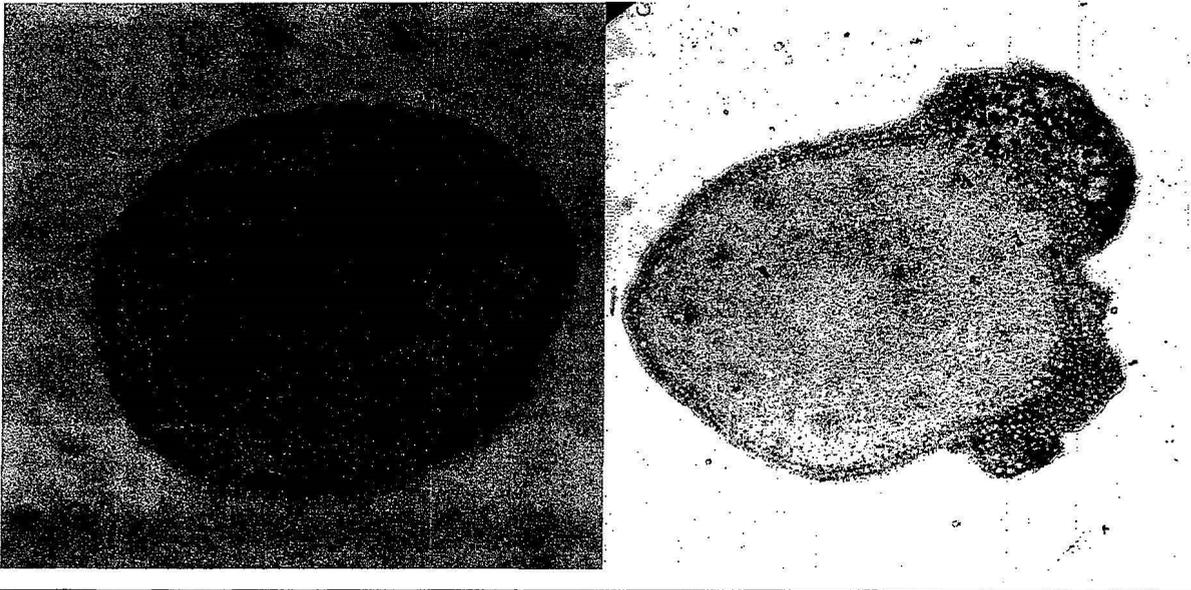
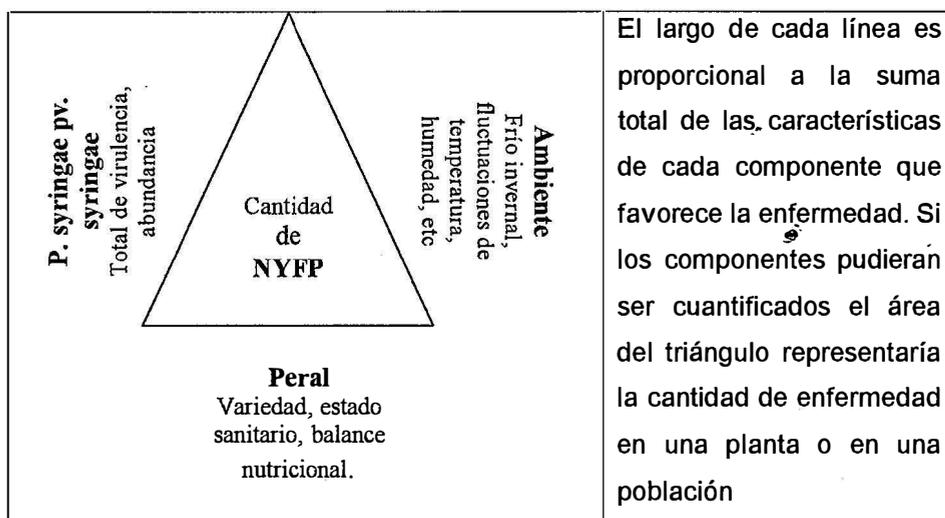


Figura 13: Cortes histológicos transversales observados bajo microscopio óptico (100X) de primordios florales de yemas del cultivar Williams, colectadas en setiembre del 2004. a) Primordio sano teñido con toluidina blue O b) Primordio presentando necrosis severa y tumores, teñido con safranina – fast green.

5. DISCUSIÓN

El esquema de la figura 5, plantea los factores estarían afectando la expresión del problema de la NYFP, los cuales se pueden reordenar en factores del hospedero, del patógeno y del ambiente acorde al concepto de “triángulo de la enfermedad” (Figura14). Para que una enfermedad ocurra, además de haber interacción entre el patógeno y el huésped, deben darse condiciones ambientales favorables para que esta se desarrolle, de lo contrario el patógeno puede ser incapaz de atacar, o la planta ser capaz de resistir el ataque. Cada uno de los tres componentes (hospedero, patógeno y ambiente) puede variar considerablemente, y el cambio en un componente afecta el grado de severidad de la enfermedad en la planta o la población (Agrios, 1997). Siguiendo este concepto los factores mencionados en la bibliografía como posibles causas de la NYFP (fluctuaciones de temperatura, insuficiencias de frío invernal, desbalances nutricionales, entre otros) estarían influyendo tanto en la susceptibilidad del peral como en las poblaciones de *P. syringae* pv. *syringae*, afectando en mayor o menor grado el desarrollo de la enfermedad. De los factores mencionados en la bibliografía como posibles causas de la NYFP sólo *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* se reporta con potencialidad para inducir la formación de tumores, constituyéndose en el factor patogénico determinante para la ocurrencia de la enfermedad, mientras que los demás factores serían atenuantes o agravantes de la misma.



Fuente: adaptado de Agrios (1997).

Figura14: Esquema representando el concepto de “triángulo de la enfermedad” para la Necrosis de las yemas de flor del peral (NYFP).

5.1. EVOLUCIÓN DE LOS SÍNTOMAS

La evolución progresiva del daño en primordios florales a partir de otoño hasta floración (Figuras 9 y 11, Cuadro 5), coincide con lo observado por otros autores (Arruda, Marodin, citados por Zecca 2004, Zecca 2004).

Se pueden plantear varias hipótesis en cuanto al comportamiento del patógeno y a la evolución de los síntomas. Cuando se produce una infección hay un período en que el patógeno se multiplica dentro del tejido de la planta, la invade y coloniza. La infección exitosa resulta en la aparición de síntomas. Algunas infecciones, sin embargo, permanecen latentes, es decir que no producen síntomas inmediatamente, sino que lo hacen más tarde cuando las condiciones ambientales o el estado de desarrollo del hospedero se vuelve favorables. El intervalo de tiempo entre la infección y la aparición de síntomas se conoce como período de incubación (Agrios, 1997).

Según Hattingh et al. (1989) las bacterias se encuentran viviendo epifíticamente dentro de las yemas. Una hipótesis sería que éstas alcancen poblaciones con capacidad de generar daño recién a partir de otoño, momento en que aparecen los primeros síntomas. El aumento de la incidencia de primordios dañados estaría acompañando entonces el incremento simultáneo de las poblaciones del patógeno. De ser así, las poblaciones de *Pseudomonas* deberían mantenerse en valores relativamente altos en los meses de otoño-invierno. Esto es poco probable considerando que las condiciones invernales son menos favorables para el desarrollo de las bacterias (Latorre et al. 1985, Wimalajeewa y Flett 1985) y que aislamientos realizados en yemas de peral en estos momentos no siempre han constatado la presencia de *P. syringae* (Zecca, 2004).

Otra hipótesis sería que el patógeno penetra en las yemas a principios de la diferenciación floral, cuando las condiciones climáticas son favorables, y en ese momento se produciría la infección. Zecca (2004) plantea que el ataque de la bacteria podría ocurrir en fin de verano, principio de otoño, cuando los primordios florales se están diferenciando y están más susceptibles, combinado con las condiciones de temperatura y humedad propicias para el desarrollo de la bacteria. Plantea a su vez la posibilidad de que el desarrollo de tumores sea un síntoma retardado en el tiempo, desencadenado por la acción de fitohormonas, o que puedan ser tumores secundarios. De ser así, la enfermedad presentaría un período de incubación prolongado, de modo que primordios infectados en primavera-verano manifestarían los síntomas recién a partir de otoño-invierno. El aumento progresivo de primordios florales con tumores durante todo el período evaluado, podría deberse al aumento equivalente en las poblaciones de bacteria que se encuentran protegidas dentro de las escamas de las yemas. A medida que las poblaciones del patógeno aumentan, el daño generado aumentaría en forma similar pero con el defasaje

temporal correspondiente al período de incubación. Esto explicaría por qué no siempre se ha podido aislar la bacteria de yemas afectadas (Assche 2004, Zecca 2004). También se constató que durante el transcurso de la temporada, la evolución del daño se acelera (Figura 9 y 11). Es posible que a medida que se llega a un estado mas avanzado de diferenciación floral, se incrementa la velocidad de desarrollo de los tumores.

De acuerdo con lo planteado previamente podrían existir diferentes mecanismos de acción posibles por parte de la bacteria. Uno podría ser una relación causa-efecto directa, es decir que estando la bacteria presente, esta genere daño de forma casi inmediata (con un período de incubación breve) mediante la producción de hormonas y fitotoxinas, de forma similar a lo que ocurre con *P. savastanoi* en la enfermedad conocida como “tuberculosis del olivo” (Wilson, 1965). Otro mecanismo de acción posible sería algo similar al que ejerce *Agrobacterium tumefaciens* sobre sus hospederos. Para este caso se mencionan una serie de eventos que contribuyen a la consumación del proceso de formación de tumores. Se reconocen dos fases. En la primera las células normales del tejido del hospedero son alteradas a células tumorosas, las que todavía no se han desarrollado en crecimientos neoplásicos. La segunda fase en la formación de tumores, es la que concierne con el crecimiento no regulado, continuo y autónomo de la célula tumoral una vez que la alteración celular ha sido realizada. Esta sería una posible explicación para el crecimiento anormal continuo de células tumorales en ausencia del agente infeccioso (Braun, 1958). Los mecanismos de acción planteados no descartan la existencia de otros mecanismos posibles.

5.2. TRATAMIENTOS SANITARIOS

Las aplicaciones quincenales con fosfito de potasio fueron las que obtuvieron mejor respuesta frente al problema de la NYFP (Cuadro 8 y 9, Figura 10). El nivel de daño fue menor tanto en los primordios florales previo a floración como en las yemas en floración. Si bien el tratamiento con clorhidrato de kasugamicina obtuvo menor porcentaje de primordios florales con necrosis severa, el fosfito de potasio fue el que obtuvo menor porcentaje de yemas muertas en floración. Los resultados obtenidos concuerdan con reportes de varios ensayos realizados en España, donde se menciona que aplicaciones con productos derivados de fosfitos tienen cierto efecto sobre el control de la NYFP (Montesinos y Vilardell 1991a, Montesinos y Vilardell 1996, Moragrega et al. 1998, Montesinos y Vilardell 2001) y avalan ensayos previos realizados en nuestro país donde se obtuvieron resultados similares².

El control de la NYFP utilizando fosfito de potasio, podría explicarse tanto por el efecto microbicida directo del producto, que actuaría disminuyendo la población de bacterias, como por la capacidad que se le atribuye a los fosfonatos de mejorar los mecanismos de defensa de las plantas (Guest y Bompeix 1990, Montesinos y Vilardell 1991a, Chase 1993). Este efecto se estaría reflejando en la menor severidad de daño de las yemas afectadas, dado que esto le estaría confiriendo a la planta mayor capacidad para resistir al ataque de la bacteria. Otro factor a tener en cuenta es que se trata de un producto sistémico (con penetración y traslocación de la materia activa dentro de la planta) lo que permite que este pueda llegar a lugares del árbol donde los demás productos no llegan. Esta característica explicaría por qué el clorhidrato de kasugamicina, que tiene efecto bactericida, no ejerce un buen control del problema. Hay que considerar que las bacterias estarían protegidas por las brácteas de las yemas, dificultando la llegada de cualquier producto de

contacto, los cuales son eficaces para reducir el inóculo en superficies externas (hojas, corteza, superficie de yemas y frutos) pero por lo general el efecto es pobre sobre estructuras protegidas colonizadas por el patógeno. El principal motivo para el insuficiente control de los bactericidas sería su escasa penetración en los tejidos vegetales, y aunque presenten cierta sistemia los niveles que alcanzan en la savia no suelen superar la concentración mínima inhibitoria para el control de *Pseudomonas syringae* (Montesinos y Vilardell, 1988).

El tratamiento con insecticida no mostró diferencias con el testigo en la evaluación de primordios florales previa a floración, y aunque si mostró diferencias con este en floración, su efecto fue significativamente menor que el del tratamiento con fosfito de potasio. Esto estaría descartando la presencia de insectos como la principal causa de la necrosis de las yemas de la flor del peral. Además, no se encontró ningún insecto dentro de las yemas durante las evaluaciones. De todos modos, podría atribuirse el daño debido únicamente a necrosis, que afectó a una pequeña proporción de los primordios florales evaluados (Cuadros 8 y 9, Figura 10), al efecto de la producción de toxinas por parte de "psila del peral" (Nuñez y Paullier, 1991).

Respecto a las diferencias de magnitud entre los porcentajes de primordios florales sanos previo a floración, y los porcentajes de yemas sanas en floración (Cuadros 10 y 11, figura 12), estas podrían deberse a varios motivos. Es posible que primordios florales que no muestran daño severo previo a floración, como ser necrosis leve o tumores pequeños, puedan llegar a desarrollar flores. Marodín, citado por Zecca (2004) afirma que el índice de primordios con necrosis severa debe ser considerado el más importante pues es el que muestra la cantidad de primordios realmente muertos. También es posible que la escala utilizada para evaluar daño en floración no se ajuste del

todo a la realidad. Es decir que inflorescencias con cuatro flores no provengan estrictamente de yemas sanas. Si se considera que las yemas tienen en promedio entre ocho y nueve primordios florales según cultivar, estas tendrían la capacidad potencial de formar inflorescencias con un promedio de ocho a nueve flores.

5.3. CULTIVARES

Se observó que la sintomatología evolucionó de modo similar en los dos cultivares evaluados independientemente del ciclo (Figura 11). Parecería ser que la evolución de los síntomas estaría acompañando al proceso de diferenciación floral, considerando que en el cultivar Packam's Triumph la floración ocurre antes que en el cultivar Williams, y que también la aparición de los síntomas de NYFP en Packam's Triumph es anterior. El cultivar Packam's Triumph al entrar antes en actividad podría estimular mayor desarrollo de la bacteria.

El mayor nivel de daño de los primordios florales del cultivar Packam's Triumph respecto a Williams, coincide con lo observado por Zecca (2002). Por otra parte, los resultados obtenidos para yemas sanas (cuatro o más flores) fueron inconsistentes, por un lado estos resultados no concuerdan con los obtenidos a nivel de primordios florales, dado que en floración este cultivar se comportó mejor que el cultivar Williams, además los resultados difieren de los obtenidos en años anteriores, donde el cultivar Packam's Triumph presentó mayor nivel de daño en yemas². El hecho de que los resultados obtenidos en el laboratorio no se correspondan con lo observado en el campo podría atribuírsele a errores de muestreo o a que la escala de severidad utilizada en el campo no se ajuste bien a la realidad, como se explicó anteriormente.

5.4. CORTES HISTOLÓGICOS

Los cambios patológicos de las células pueden darse a tres niveles: cambios citoplasmáticos, donde se encuentran cambios relacionados a la división celular (hipoplasia e hiperplasia); cambios citotróficos, que involucran lo referente al tamaño y volumen de las células (hipertrofia e hipotrofia) y cambios citomorfológicos referentes a cambios en la forma celular (Sutic y Sinclair, 1991). Las enfermedades tumorosas causadas por bacterias patogénicas inducen división celular descontrolada (hiperplasia) en plantas infectadas (Sigee, 1993). El crecimiento hiperplasmático, resulta en la formación de sobrecrecimientos conspicuos que pueden involucrar tanto el tejido meristemático primario como secundario. La hiperplasia es estimulada por un aumento de la actividad hormonal. Estas formaciones patológicas no toman parte en las funciones del tejido del cual han sido originadas y en algún sentido representan formaciones independientes (Sutic y Sinclair, 1991).

Se conocen en la naturaleza distintos ejemplos de bacterias fitopatógenas que provocan la formación de tumores. *Pseudomonas savastanoi* es un patógeno del olivo que causa la enfermedad denominada "olive knot" o tuberculosis. Los síntomas consisten en la aparición de tumores, denominados nódulos o agallas, en ramillas y hojas como respuesta de la planta a la producción por parte de la bacteria de altas concentraciones de ácido indol acético (Wilson 1965, Smidt y Kosuge, citados por Comai y Kosuge 1980, Agrios 1997). Cepas virulentas de *Agrobacterium tumefaciens* provocan tumores en el tejido de la planta infectada dando lugar a la enfermedad conocida como agalla de corona, afectando más de cien especies de plantas. Información genética es transferida desde la bacteria dentro de las células del hospedero y la expresión de estos genes resulta en la producción descontrolada de auxinas y citoquininas que conllevan a la formación de los

tumores (Binns y Thomashow 1988, Hooykaas y Schilperoort 1992, Agrios 1997). Las cepas patogénicas de *Erwinia herbicola* provocan agallas de corona y raíces en plantas ornamentales de *Gysophila paniculada*. Tanto las cepas patogénicas como las no patogénicas producen AIA por la vía del piruvato (IPA) mientras que solo en las cepas patogénicas se determinó la producción de AIA utilizando triptófano como precursor por la vía del indol-3 acetamid (IAM) (Manulis et al., 1991b).

Existen diversos trabajos (Comai y Kosuge 1982, Binns y Thomashow 1988, Manulis et al. 1991a, Manulis et al. 1991b, Yamada 1993) donde se ha logrado obtener la secuencia de los genes que participan en la síntesis de auxinas, así como la vía de síntesis de esta hormona en los patógenos mencionados. Está constatado que existe una gran homología en los genes que participan en el proceso, además de que las cepas virulentas, presentan todas la misma vía de síntesis (Morris 1990, Yamada 1993). Glickmann et al. (1998) también encontraron homología en los genes responsables de la síntesis de AIA de *P. syringae* pv *syringae* y *P. savastanoi*, además de que esta bacteria también produce altas concentraciones de AIA utilizando triptófano como precursor. *P. syringae* pv. *syringae* también tiene la capacidad de producir fitotoxinas con elevada actividad fitotóxica y antibiótica, y ocasionar necrosis (Cazorla s.f., Fogliano et al. 2002, Zecca 2004). Esto explicaría las necrosis observadas asociadas o no a tumores. Por otra parte, coincidiendo con lo que plantea Arruda, citado por Zecca (2004), se descarta la capacidad de formar núcleos de hielo de estas bacterias como posible causal de daños. Dada las características climáticas de nuestro país, la actividad nucleadora de hielo de *P. syringae* no podría ser la causa del problema de la NYFP dado que esta necesitaría de condiciones de temperatura más baja para que ocurra la formación de hielo.

Lo expuesto hace suponer que la sintomatología que se observa en los primordios florales, tumores y necrosis, puede deberse a la producción de fitohormonas y/o toxinas por parte de la bacteria *P. syringae* pv *syringae*.

6. CONCLUSIONES

Basándose en la sintomatología observada (tumores con multiplicación y agrandamiento celular asociado o no a necrosis) y en los reportes bibliográficos disponibles, la bacteria *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* sería la causa de la necrosis de las yemas de flor del peral (NYFP).

Sería conveniente confirmar la acción de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* mediante estudios complementarios, debido a la dificultad de comprobar la NYFP mediante los postulados de Koch, para luego profundizar en el estudio del ciclo de infección de esta bacteria en la planta, y ajustar correctamente las medidas de manejo.

Las plantas que recibieron aplicaciones quincenales de fosfito de potasio durante el período comprendido entre mediados de diciembre y mediados de abril mostraron cierta disminución del problema de la necrosis de la yema de la flor del peral. Por lo tanto, dicho manejo puede considerarse como una alternativa de control moderado.

Considerando las inconsistencias observadas en el cultivar Packam's Triumph en los niveles de daño, respecto a los resultados obtenidos a nivel de primordios florales frente a los resultados obtenidos a nivel de yemas, sería necesario reajustar la escala de evaluación de daño en floración utilizada, para este cultivar.

Es necesario continuar con los estudios para determinar las diferencias de sensibilidad entre los cultivares evaluados, dado que los resultados fueron contradictorios con los obtenidos en años anteriores.

7. RESUMEN

El desarrollo del cultivo de peral en el Uruguay esta limitado por la irregularidad de la producción a lo largo de los años. Uno de los factores que incide en las variaciones anuales de productividad es la necrosis de las yemas de flor del peral (NYFP), la cual genera la destrucción total o parcial de las yemas. La NYFP es un problema complejo donde interactúan múltiples factores y sus causas no están claramente definidas. En Uruguay, acorde a la sintomatología observada, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* podría ser el agente causal. El presente trabajo tiene como objetivo aportar conocimientos sobre la sintomatología y manejo sanitario de la NYFP. Se evaluaron plantas de los cvs. William's y Packam's Triumph con manejo convencional (MC). Además, sobre plantas de peral del cv. William's se realizaron cuatro manejos sanitarios: MC, MC más aplicaciones quincenales de fosfito de potasio, MC más aplicaciones quincenales de clorhidrato de kasugamicina, MC más aplicaciones mensuales de imidacloprid y quincenales de metilazinfos. El nivel de daño se determinó bimensualmente ente marzo y setiembre mediante análisis de primordios florales (disección de yemas de flor bajo lupa), y en plena flor; utilizando en ambos casos escalas de severidad pre-establecidas. Se realizaron además cortes histológicos de los primordios florales con diferentes sintomatologías. El nivel de daño en los primordios florales aumentó en forma progresiva a lo largo de toda la temporada, los primordios sanos pasaron de 92% a 27% y de 94% a 23% en los cv Williams y Packam's Triumph, respectivamente. En los cortes histológicos se observó hiperplasia e hipertrofia del tejido subepidérmico en las zonas de los primordios florales que coincidían con los tumores observados bajo la lupa. Respecto a los tratamientos sanitarios, las aplicaciones quincenales de fosfito de potasio fueron las que obtuvieron mejores resultados para el control de NYFP, diferenciándose significativamente ($P < 0,05$) de los demás tratamientos tanto a nivel de primordios florales como en floración. Al

comparar los cultivares los resultados fueron inconsistentes: a nivel de primordios florales el daño en el cv. Packam's Triumph fue mayor que en el cv. Williams, mientras que en floración ocurrió lo contrario. En función de la sintomatología observada (tumores con hiperplasia e hipertrofia asociada o no a necrosis), *P. syringae* pv. *syringae* sería la causa de la NYFP en Uruguay, y las aplicaciones de fosfito de potasio contribuirían al manejo de la problemática.

Palabras clave: Necrosis de las yemas de flor del peral; sintomatología; primordios florales; manejo sanitario; cultivares.

8. SUMMARY

In Uruguay, pear industry is limited because of its irregular production through the years. One factor affecting annual production is the Pear Flower Bud Necrosis (PFBN), which partially or completely destroys flower buds. PFBN is complex, there are several factors interacting and its causes are not clearly established. In Uruguay, accordingly with observed symptoms, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* could be the casual agent. This work aims to contribute with symptom description and management of PFBN. William's and Packam's Triumph pear trees were conventionally managed (CM). Also, William's pear trees received four different sanitary treatments: CM, CM plus fortnightly potassium phosphate sprays, CM plus fortnightly kasugamicine chlorhydrate sprays, CM plus monthly imdacloprid drench and fortnightly methyl-azynfos sprays. PFBN level was determined bimonthly between March to September by flower primordia analysis (flower buds were dissected under magnification) and during full bloom, using pre-established severity assessment scales. Complementary, flower primordia with different symptoms were analysed by histological cuts. Flower primordia damage increased through the season, healthy primordia evolved from 92% to 27% and from 94 to 23% on cv. William's and cv. Packam's Triumph, respectively. Histological cuts revealed a hyperplastic and hypertrophy growth of subepidermical tissue beyond the primordium tumours. Regarding sanitary treatments, fortnightly potassium phosphate sprays was the best treatment for controlling PFBN and was significantly different from the others ($P < 0,05$), when evaluated on primordia and during full bloom. When comparing both cultivars results were erratic: cv. Packam's Triumph showed the higher flower primordia damage while cv. Williams the higher damage at full bloom. In conclusion, observed symptoms (hyperplastic and hypertrophic tumours associated or not with necrosis), indicates that *P. syringae* pv. *syringae* could be the casual agent of

PFBN in Uruguay, and potassium phosphate sprays will contribute with its management.

Key words: pear flower bud necrosis; symptomatology; flower primordia; pest management; cultivars.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. AGRIOS, G. N. 1997. Plant pathology. 4th ed. San Diego, Academic Press. 635 p.
2. ASSCHE, C. V. 2004. Research of dead bud focuses on control of Alternaria. (en línea). Fruitteelt. 94(3):14. Consultado nov. 2005. Disponible en <http://search.epnet.com/login.aspx?direct=true&db=lbh&an=20043015>
3. BINNS, A. N.; THOMASHOW, M. F. 1988. Cell biology of Agrobacterium infection and transformation of plants. Annual Review of Microbiology. 42:575-606.
4. BONILLA, I. 2000. Introducción a la nutrición mineral de las plantas; los elementos minerales. In: Azcon-Bieto., J.; Talon, M. eds. Fundamentos de fisiología vegetal. Madrid, McGraw-Hill. pp .83-97.
5. BRAUN, A. C. 1958. A physiological basis for autonomous growth of the crown-gall tumor cell. Botany. 44:344-349
6. CAMELATTO, D.; NACHTIGALL, G. R.; ARRUDA, J. J. DE; HERTER, E. F. G. 2000. Efeitos de flutuacoes de temperatura, horas de frio hibernal e reguladores de crescimento no abortamento de gemas florais de pereiras. Revista Brasileira de Fruticultura (Jaboticabal). 22(1): 111-117.
7. CAMPI, P. 2005. Encuesta de viveros de frutales de hoja caduca; informe. Las Brujas, Canelones, INIA. pp. 1-6. (FPTA no. 164).

8. CANALS, M. S.; DÍAZ, C. T.; MILLÁN, J. G. 1994. Ensayos de campo contra la bacteriosis del peral producida por *Pseudomonas syringae van hall*. Fruticultura Profesional. no. 61: 44-55.
9. CARRERA, M. M. 1988. Variedades de peral. Fruticultura Profesional. no. 18: 9-16.
10. CAZORLA, L. F. M. s.f. Factores de virulencia en bacterias patógenas. (en línea). s.n.t. Consultado nov. 2005. Disponible en <http://www.encuentros.uma.es/encuentros34/virul34.html>.
11. COMAI, L.; KOSUGE, T. 1980. Involvement of plasmid deoxyribonucleic acid in indolacetic acid synthesis in *Pseudomonas savastanoi*. Journal of Bacteriology. 143: 950-957.
12. _____, _____. 1982 Cloning and characterization of *iaaM*, a virulence determinant of *Pseudomonas savastanoi*. Journal of Bacteriology. 149: 40-46.
13. COUTO, R. A.; HERTER, F. G.; VERISSIMO, V.; DINIZ, C. A.; BERENHAUSER, L. G.; DA SILVA, J. B. 2006. Balanço de carboidratos em gemas florais de dois genótipos de pereira sob condicho de inverno ameno. Revista Brasileira de Fruticultura (Jaboticabal). 28 (1):1-4.
14. CHASE, A. R. 1993. Efficacy of fosetyl Al for control of some bacterial diseases on ornamentals. Plant Disease. 77: 771-776.

15. CHILDERS, N. F. 1983. Fruit science. 9th ed. Gainesville, Horticultural Publications. pp. 181-202.
16. DECKERS, T.; SCHOOF, H. 2001 Bacterial problems in Belgian pear growing. In: Annual IDFTA Conference (44th., 2001, Grand Rapids, Michigan). Proceedings. s.n.t. pp.120-131.
17. FAO. 2004. FAOSTAT. (en línea). Roma. Consultado dic. 2004. Disponible en <http://faostat.fao.org/faostat/form?collection=Production.Crops.Primary&Domain=Production&servlet=1&hasbulk=8version=ext&language=ES>
18. FOGLIANO, V.; BALLIO, A.; GALLO, M.; WOO, S.H.; SCALA, F.; LORITO, M. 2002. *Pseudomonas* Lipodepsipeptides and fungal cell wall-degrading enzymes act synergistically in biological control. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 15 (4): 323–333.
19. GENTILE, E. 2004. Siete buenas razones para apostar a la pera en Uruguay. *Revista Predeg*. 6 (38):12.
20. GLICKMANN, E.; GARDAN, L.; JACQUET, S.; HUSSAIN, S.; ELASRI, E.; PETIT, A.; DESSAUX, Y. 1998. Auxin production is a common feature of most pathovars of *Pseudomonas syringae*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 11(2):156-162
21. GUEST, D. I.; BOMPEIX, G. 1990. Mode of action; the complex mode of action of phosphonates. *Australasian Plant Pathology*. 19 (4): 113-115.

22. HATTINGH, M. J.; ROOS, I. M.; MANSVELT, E. L. 1989. Infection and systemic invasion of deciduous fruit trees by *Pseudomonas syringae* in South Africa. *Plant Disease*. 73(10): 784-789.
23. HERTER, F. G.; BASSOLS, M. C.; NAKASU, B. H. 1994. Época de abortamento de gemas florais em pereira a sua relação com a temperatura ambiente, em Pelotas-RS. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 16(1): 308-314.
24. _____; VERISSIMO, V.; CAMELATTO, D.; GARDIN, J. P.; TREVISAN, R. 2001. Abortamento de gemas florais de pereira no Brasil. In: *Seminário de Clima Temperado. Perspectivas da fruticultura de clima temperado na região subtropical, estratégias e tecnologias para a sustentabilidade da fruticultura de baixo impacto ambiental (2001, Florianópolis)*. Anais. Florianópolis, s.e. pp. 187-195.
25. HIRANO, S.; UPPER, CH. D. 1990. Population biology and epidemiology of *Pseudomonas syringae*. *Annual Review of Phytopathology*. 28:155-177.
26. HOOYKAAS, P. J. J., SCHILPEROORT, A. 1992. Agrobacterium and plant genetic engineering. *Plant Molecular Biology*. 19:15-38.
27. KINGSTON, C. M.; KLINAC, D. J.; EPENHUIJSEN, C. W. VAN. 1990. Floral bud disorders of nashi (*Pyrus serotina*) grown in New Zealand. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. 20: 157-159.
28. KLINAC, D. J.; GEDDES, B. 1995. Incidence and severity of the floral bud disorder "budjump" on nashi (*Pyrus serotina*) grown in the Waikato

region of New Zeland. New Zeland Journal of Crop and Horticultural Science 23. 185-190.

- 29.LATORRE, B. 1982. Tizón bacterial de la flor del peral. Revista Frutícola. (Chile). 3(2):49-50.
- 30._____.; GONZALEZ, J. E.; VIAL, F. 1985. Isolation of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* from cankers and effect of moisture on its epiphitic populations on suweet cherry trees. Plant Disease. 11(65): 409-412.
- 31.LEONI, C. 2005. Necrosis de la yema de flor del peral; avances de investigación en Uruguay. In: Cabrera, D.; Soria, J.; Leoní, C.; Nuñez, S.; Docampo, R. Avances de Investigación en el cultivo del peral. Montevideo, INIA. pp. 16-24 (Actividades de Difusión no. 436).
- 32.MA,Y.; SAWHNEY, V.; STEEVES, T. 1993. Staining of paraffin embedded plant material in safranin and fast green without prior removal of the paraffin. Canadian Journal of Botany. 71 (77): 996-999.
- 33.MANULIS, S., GAFNI, Y., CLARK, E., ZUTRA, D., OPHIR, Y. 1991a. Identification of a plasmid DNA probe for detection of strains of *Erwinia herbicola* pathogenic on *Gysophila paniculata*. Phytopathology. 81:54-57.
- 34._____., VALINSKI, L., GAFNI, Y., HERSHENHORN, J. 1991b. Indole-3 acetic-acid biosynthetic pathway in *Erwinia herbicola* in relation to pathogenicity on *Gysophila paniculata*. Plant Pathology. 39:161-71.

35. MONTESINOS, E.; VILARDELL, P. 1988. El desecamiento bacteriano del peral producido por *Pseudomonas syringae* Fruticultura Profesional. no. 18: 56-59.
36. _____, _____. 1991a. Nuevos avances en el control de la necrosis de yemas de flor en el peral. Fruticultura Profesional. no. 46: 14-20.
37. _____, _____. 1991b. Relationship among population levels of *Pseudomonas syringae*, amount of ice nuclei, and incidence of blast dormant flower buds in commercial pear orchards in Catalunya, Spain. Phytopathology. 81(1): 113-119.
38. _____, _____. 1996. La necrosis de yemas de flor en el peral. Una enfermedad de etiología compleja y difícil control. Fruticultura Profesional. no. 78: 88-94.
39. _____, _____. 2001. Effect of bactericides, phosphonates and nutrient amendments on blast of dormant flower buds of pear; a field evaluation for disease control. European Journal of Plant Pathology. 107:787-794.
40. MORAGREGA, C.; MANCEAU, CH.; MONTESINOS, E. 1998. Evaluation of drench treatments with phosphonate derivatives against *Pseudomonas syringae* pv. *Syringae* on pear under controlled environment conditions. European Journal of Plant Pathology. 104: 171-180.
41. _____; LLORENTE I.; MANCEAU, CH.; MONTESINOS, E. 2003. Suceptibility of European pear cultivars to *Pseudomonas syringae* pv.

syringae using immature fruit and detached leaf assays. *European Journal of Plant Pathology*. 109: 319-326.

42. MORRIS, R. O. 1990. Genes specifying auxin and cytokinin biosynthesis in prokaryotes. In: Davies, P. J. *Plant hormones and their role in plant growth and development*. 3^a ed. Ithaca, Kluwer. pp. 636-656.

43. NUÑEZ, S.; PAULLIER, J. 1991. Plagas del peral; psilla y agamuzado. Montevideo, INIA. 23 p.

44. PETRI, J. L.; BERENHAUSER, G. L.; YASUNOBU, Y. 2002. Studies on the causes of floral bud abortion of Japanese pear (*Pyrus pyrifolia*) in southern Brazil. *Acta Horticulturae* no. 587: 375-380.

45. POWELL, G. K.; MORRIS, R. O. 1986. Nucleotide sequence and expression of a *Pseudomonas savastanoi* cytokinin biosynthetic gene; homology with *Agrobacterium tumefaciens* *tmr* and *tzs* loci. *Nucleic Acids Research*. 14:2555-2565.

46. ROMEIRO, R. DA S. 2000. Bacterias fitopatogénicas. Vicosa, BR, UVF. 283 p.

47. SAKAY, W. S. 1973. Simple method for differential staining of paraffin embedded plant material using toluidine blue O. *Stain Technology*. 48(5):247-249.

48. SIGEE, D. C. 1993. Bacterial plant pathology, cell and molecular aspects. Cambridge, GB, Cambridge University. 325 p.

49. SORIA, J.; PISANO, J. 2005 Estudios en variedades de peral en INIA las Brujas In: Cabrera, D.; Soria, J.; Leoni, C.; Núñez, S.; Docampo, R. Avances de investigación en el cultivo del peral. Montevideo, INIA. pp. 1-6 (Actividades de Difusión no. 436).
50. SUTIC, D; SINCLAIR, J. B. 1991. Anatomy and physiology of diseased plants. Boca Raton, Florida, CRC. 232 p.
51. TREVISAN, R; CHAVARRIA, G; HERTER, F. G.; GONCALVES, DIAS, G. E.; COUTO, R. A.; VERISSIMO, V.; SANTOS, P. I. DOS. 2005. Bud flower thinning on the reduction of abortion in pear (*Pyrus pyrifolia*) in Pelotas region. Revista Brasileira de Fruticultura (Jaboticabal). 27(3):504-506.
52. URUGUAY. MINISTERIO DE GANADERÍA, AGRICULTURA Y PESCA. DIRECCIÓN DE INVESTIGACIONES ESTADÍSTICAS AGROPECUARIAS. 2005a. Encuesta frutícola 2003-2004. (en línea). Montevideo. Consultado 15 nov 2006. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/diea/Encuestas/default/htm>.
53. _____. 2005b. Encuesta frutícola 2004-2005. (en línea). Montevideo. Consultado 15 nov. 2006. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/diea/Encuestas/Se232/SE232Produccion.htm>
54. VERISSIMO, V.; GARDIN, J. P.; TREVISAN, R.; SILVA, J. B. DA.; HERTER, F. G. 2002. Morphological and physical parameters of flower buds of trees of the Japanese pear cultivars grown at three different areas of southern Brazil, and their relationship with flower bud abortion

intensity. Acta Horticulturae. no. 587: 381-387.

55. _____; HERTER, F. G.; COUTO, R. A.; GARDIN, J. P.; DA SILVA, J. B. 2004. Caracterizacao de gemas florais de pereira (*Pyrus* sp.) relacionada ao abortamento floral. Revista Brasileira de Fruticultura (Jaboticabal). 26 (2):193-197.
56. WENNEKER, M. 2004. Alternaria plays an important role in dead flower buds of pear. (en línea). Fruitteelt. 94 (30): 12-14. Consultado nov. 2005. Disponible en <http://search.epnet.com/login.aspx?direct=true&db=lbh&an=20043129223&lang=es>
57. WILSON, E. E. 1965. Pathological histogenesis in oleander tumors induced by *Pseudomonas savastanoi*. Phytopathology. 55:1244-1249.
58. WIMALAJEEWA, D. L. S.; FLETT, J. D. 1985. A study of populations of *Pseudomonas syringae* on stonefruit in Victoria. Plant Pathology. 34: 248-254.
59. YAMADA, T. 1993. The role of auxin in plant-disease development. Annual Review of Phytopathology. 31:253-73.
60. ZECCA, A. G.; TURCHETTO, A. C.; CAMELATTO, D.; CABRERA D. 2002. Época de início do abortamento de gemas florais de pereiras. In: Seminário de Integracao de Pesquisa e Pos- graduacao (6º., 2002, Santiago, RS). Trabalhos apresentados. s.n.t. pp.89-94.
61. _____. 2004. Abortamento floral de pereiras em algumas localidades do Brasil, Uruguay e Argentina; fatores climáticos e anormalidades nas

gemas. Tese Ph D. Pelotas, Brasil. Universidade Federal de Pelotas.
115 p.

9. ANEXO

Calendario de aplicaciones de productos fitosanitarias comunes a todos los árboles evaluados (manejo convencional), realizadas durante la temporada 2003-2004.

Productos	
27-ago	Fanavid + Suprathion
04-sep	Dithane
12-sep	Dithane
20-sep	Stroby
01-oct	Stroby + zinc + boro
10-oct	Stroby
17-oct	Dithane + Gusathion
24-oct	Dithane
31-oct	Dithane + Gusathion
07-nov	Dithane
14-nov	Dithane + Gusathion
21-nov	Dithane
28-nov	Dithane + Gusathion
06-dic	Dithane
24-dic	Dithane + Gusathion + Calcio
13-jul	Suprathion + Aceite
03-sep	Suprathion + Aceite + Fanavid
11-sep	Fanavid
18-sep	Dithane
24-sep	Dithane
02-oct	Dithane
09-oct	Dithane + Anvil
16-oct	Dithane
22-oct	Dithane
28-oct	Dithane + Gusathion
05-nov	Dithane