INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA Y DE LA HUMEDAD RELATIVA EN LA MADURACIÓN Y LIBERACIÓN DE LAS ASCOSPORAS DE Venturia inaequalis (Cke) WINT, EN LOS LIRIOS, MUNICIPIO DE ARTEAGA, COAHUILA.

Melchor Cepeda Siller<sup>1</sup>
Francisco Daniel Hernández C.<sup>2</sup>
Ma. Elizabeth Galindo Cepeda<sup>3</sup>

#### RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar la influencia de la temperatura y de la humedad relativa en el desarrollo del pseudotecio y en la maduración y liberación de ascosporas de *Venturia inaequalis*. De 1986 a 1988, se muestrearon hojas de manzano que presentaban los síntomas típicos de la enfermedad, se colocaron en fijador FAD, se llevaron por un proceso de deshidratación e inclusión en parafina para realizar cortes al microtomo, con los que se elaboraron laminillas para la identificación del estado de desarrollo del pseudotecio.

Las bajas temperaturas, al inicio del desarrollo del pseudotecio, determinan el número de ascas que se forman. En cambio, para que tenga lugar la liberación de las ascosporas es necesario que exista una temperatura de 16-18°C con una alta humedad relativa.

# INTRODUCCIÓN

El Estado de Coahuila ocupa, a nivel nacional, el tercer lugar de producción de manzana, siendo la Sierra de Arteaga el principal productor, con una media de 9 ton/ha en 1985, la que se redujo en 1986 a 1 ton/ha debido a una serie de factores bióticos y abióticos.

<sup>1</sup> y 2. M.C. y Dr. Maestros Investigadores del Departamento de Parasitología. Div. de Agronomía, UAAAN.

<sup>3.</sup> Tesista M.C.

En el aspecto biótico destaca la roña del manzano Venturia inaequalis (Cke) Wint, enfermedad endémica de Los Lirios, Coah, por localizarse en un Cañón en donde la alta humedad relativa y las temperaturas templadas (12 a 18°C) predominan, siendo éstas las condiciones que favorecen el desarrollo del hongo. Debido a lo anterior, los objetivos del presente trabajo fueron determinar la influencia de los factores ambientales en el desarrollo del pseudotecio y la maduración y liberación de sus ascosporas.

## **REVISIÓN DE LITERATURA**

La roña del manzano Venturia inaequalis (Cke) Wint, ocurre en la mayoría de las áreas del mundo donde se cultiva este frutal, y se considera uno de los patógenos más importantes. El daño es más severo en regiones con primavera y veranos frescos y húmedos (O'Leary y Sutton, 1986).

Esta enfermedad fue citada inicialmente en Suecia, en 1819 por Fries, y después se ha reportado en muchos lugares del mundo. En nuestro país se desconoce el año de aparición y se cree fue diseminado con la introducción de plantas de vivero, constituyéndose en un serio problema para los fruticultores (Hernández, 1982).

El hongo V. inaequalis pertenece a la Clase Ascomycetes y a la familia Venturiaceae. El se distingue por presentar una estructura en forma de saco, la cual contiene ocho ascosporas (Alexopoulos y Mins, 1979).

Agrios (1985), menciona que en un principio, el micelio del hongo es de color blanco, pero más tarde se torna crema o grisáceo en los tejidos del hospedero. Roberts y Boothroyd (1972) señalan que las conidias se producen en conidióforos cortos que rompen la zona lesionada, dichos conidióforos forman un estroma subcuticular de color obscuro; la fase conidial pertenece al hongo *Spiloceae pomi* Fr.

Los factores más importantes que afectan el desarrollo de los pseudotecios son: temperatura, humedad de las hojas y tiempo de caída de éstas (James y Sutton, 1982a).

La formación del pseudotecio se inicia 28 días después de la caída de las hojas y su número tiende a incrementarse cuando las temperaturas bajan (Godoury y William, 1982).

La maduración de las ascosporas se lleva a cabo en un rango de temperatura de 16 a 18°C, con un 100 % de humedad relativa (James y Sutton, 1982b). Una vez que las ascosporas penetran al tejido, requieren de un período de latencia de 30-35 días para que la lesión se haga macroscópica, aunque con una temperatura de 12 a 24°C, las lesiones se presentan de 8 a 12 días después de la penetración (Sutton y James, 1976).

Las lesiones necróticas aparecen cinco días después de que las conidias están formadas, estas manchas se encuentran en todos los órganos, son irregulares, de color oliváceo al inicio y verde obscuro posteriormente (Tomerlin y Jonas, 1983).

En un principio, las hojas atacadas presentan en el envés manchas de color oliváceo y adquieren un aspecto velloso; posteriormente, el limbo se deforma y la hoja puede caer (Bovey, 1977). En casos graves, el árbol se defolia, y conforme avanza la enfermedad, la mancha toma un color pardo obscuro. Spotts (1979) encontró que si el área foliar afectada por roña excedía al área sana, la fotosíntesis se ve afectada en un lapso de 14 a 28 días después de que ha penetrado el hongo, este efecto se ve reflejado en la calidad del fruto.

La inflorescencia del manzano es atacada, principalmente los sépalos, pétalos, pedúnculos y ovarios jóvenes. En dichas partes se ven manchas de color verde olivo y las flores pueden abortar o caer fácilmente (Mendoza y Pinto, 1983).

Bovey (1977) cita que el fruto es sensible en todos los estados de desarrollo. Al ser afectado al inicio de su formación, éste queda pequeño y deforme, en casos graves ocasiona la caída del fruto. Cuando su tamaño es un poco más grande causa deformaciones y el tejido deja de crecer a nivel de la mancha, éstas son de color negruzco que más tarde forma costras que dan lugar al agrietamiento profundo. Cuando el ataque es tardío las manchas son superficiales, pequeñas, de color negro o en ocasiones bordeado de rojo.

La enfermedad se reduce considerablemente al destruir las hojas que han caído al suelo, y dando en el otoño labores de arado, por lo que es importante recoger durante el invierno todas las hojas caídas y quemarlas o enterrarlas como medio para evitar la generación ascógena (Domínguez y Tejeda, 1976).

El control de la roña del manzano se basa en el uso de fungicidas erradicantes o protectantes que previenen el primer ciclo de la enfermedad, el cual se inicia por la expulsión de las ascosporas de los pseudotecios que invernan en las hojas infectadas que se encuentran sobre el piso de la huerta (James y Sutton, 1982a).

El uso continuo de fungicidas sistémicos trae como consecuencia la aparición de cepas de hongo resistentes o tolerantes a dichos productos, como es el caso del Benomyl, reportado por Kathan et al. (1976), quien encontró en Israel y Nueva York cuatro tipos de resistencia a este producto.

Para evitar este tipo de problemas, en la actualidad se está recurriendo al uso de modelos matemáticos que nos ayuden a pronosticar la primer descarga de ascosporas.

James y Sutton (1982 b) encontraron que un modelo matemático ya establecido para determinar la época de liberación de ascosporas de *V. inaequalis* en al área de Nueva York no estima adecuadamente la liberación de las mismas en Carolina del Norte, debido a aspectos biológicos y climáticos de la región, ya que en esta última las unidades calor no se acumulan tan rápido como en Nueva York

McHardy y Godoury (1985) establecen un modelo matemático, basado en datos históricos de humedad y unidades calor acumuladas, para determinar los estadíos fenológicos del hongo y la fecha de liberación de las ascosporas. Los citados autores mencionan que una vez que se cumplen los requerimientos de temperatura y humedad, el 10% de las ascosporas maduran en cuatro días consecutivos y el 90% restante lo hacen en seis días.

A pesar de esto, el control químico es el más usado; en este sentido, Stains y Jonas (1985) reportan que en la actualidad el control se encuentra basado en fungicidas inhibidores de la biosíntesis del esterol, por lo que estos productos son usados satisfactoriamente sobre las poblaciones de *V. inaequalis* que muestran tolerancia a Dodine y Benomyl.

Cepeda (1988) realizó un experimento en las localidades Majada Colorada y Rancho La Conchita, ambos pertenecientes a Los Lirios, Mpio. de Arteaga, Coah., en el cual probó ocho productos químicos, encontrándose que el mejor producto para controlar la roña del manzano es la mezcla Metalaxyl + Mancozeb, a una dosis de 250 g/100 lt de agua (Ridomil MZ-58); el producto sistemático 1,2,3,6 tetrahidro-N-(triclometiltio) f-talamida (Topas EC), a una dosis de 40 cc/100 lt de agua como producto experimental, ofreció excelentes resultados para el control de la mencionada enfermedad.

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

El presente trabajo se realizó en el Cañón de Los Lirios, perteneciente a la región manzanera de la Sierra de Arteaga, Coahuila, localizada a 25°23' latitud norte y 100°41' longitud oeste del meridiano de Greenwich. En este cañón el clima es templado, con veranos cálidos, la temperatura media anual de 12 a 18°C, la temperatura máxima y mínima en el mes más frío de 18 a - 3°C, y de 18 a 24°C durante el mes más cálido; la precipitación media anual es de 400 a 500 mm. La huerta tiene 15 años de establecida, plantada con variedades Golden Delicious y Red Delicious, en un arreglo 6 x 6 m, y localizada a 2250 msnm. El citado huerto se encuentra altamente infestado, de acuerdo a la clasificación Towsend y Heuberger (1943), y no se realiza ningún tipo de control químico, con el fin de evitar residualidad del producto, que interfiera en el desarrollo del estado ascógeno del hongo.

En el mes de diciembre de 1986 se inició el muestreo que consistió en colectar hojas de manzano que presentaban los síntomas típicos de la enferme-

dad, las cuales se depositaron en una jaula de tela metálica, cuya finalidad es la de mantener suficiente material para realizar los análisis necesarios. Se colocaron cinco jaulas: cuatro en los extremos de la huerta y una en el centro de la misma. El muestreo se terminó en el mes de junio de 1987 y los muestreos se realizaron cada 15 días. En cada fecha cuatro hojas de cada una de las jaulas fueron depositadas en fijador tipo (FAA) formaldehido, ácido, agua, se etiquetaban y se trasladaron al laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología Agrícola para su posterior análisis. La segunda temporada de muestreo se realizó de noviembre de 1987 a mayo de 1988, siguiendo el mismo procedimiento que en la primer temporada.

A las hojas, antes de ser procesadas, se les determinó el grado de infección, de acuerdo a la escala propuesta por Towsend y Heuberger en 1943 (Cuadro 1) después se seccionaron las hojas en pedazos de 10 mm² y fueron llevadas por un proceso de deshidratación, seguido de la infiltración e inclusión en parafina, hasta formar un bloque de parafina y tejido enfermo, el cual fue seccionado con la ayuda del microtomo hasta formar una banda de 10 micras de espesor, esta banda se seccionó para fijarse en un portaobjetos con ayuda del adhesivo de harpt, dichas laminillas fueron coloreadas por el método de la doble coloración (safranina-verde rápido), una vez coloreadas las laminillas se sellaron con bálsamo de Canadá para continuar con la identificación del estado de desarrollo del pseudotecio de acuerdo a la escala propuesta por James y Sutton en 1982b (Cuadro 2).

Los datos de temperatura y humedad relativa diaria se obtuvieron con un higrotermógrafo que se colocó en el área de estudio, con estos datos se determinó la presión de vapor, horas frío y unidades calor, para llevar a cabo los análisis de correlación y determinar su influencia en el desarrollo del hongo.

Cuadro 1. Escala propuesta por Towsend y Heuberger en 1943 para determinar el grado de infección de *V. inaequalis* en hojas y frutos.

 Categoría	No. Manchas/ Fruto u Hoja	
Mínima	1-10	
Leve	11-20	
Mediana	21-30	
Fuerte	31-40	
Severo	41	

# Cuadro 2. Escala propuesta por James y Sutton (1982b) para determinar el estado de desarrollo del pseudotecio V. inaequalis.

1.	Estroma subcuticular	
2.	Pseudotecio	
3.	Formación del ascogonio	
4.	Formación de la pseudoparáfisis en el lumen del pseudotecio.	
5.	Lumen del pseudotecio lleno de pseudoparáfisis.	
5a.	Aumento del diámetro del pseudotecio.	
6.	Aparición de ascas	
7.	Ascas a la mitad de desarrollo.	
8.	Ascas formadas con su contenido no diferenciado.	
9.	Ascas con ascosporas iniciales pero no septadas.	
10.	Ascas con ascosporas formadas, usualmente septadas.	
11.	Ascas con ascosporas formadas pero no pigmentadas	
12.	Ascas con ascosporas pigmentadas y maduras	
13.	Ascas vacías (ascosporas liberadas)	
14.	Ascas abortadas	

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El ciclo ascógeno del hongo *V. inaequalis* se inicia con un estroma subcuticular y pasa por 12 estadíos hasta llegar al treceavo en el que las ascosporas se encuentran maduras y listas para ser liberadas. Las bajas temperaturas en los meses de noviembre-marzo (Cuadro 3) tienen una marcada influencia en el crecimiento del hongo, pues entre mayor sea el número de horas frío acumuladas, el patógeno pasa más rápido del estadío 1 al 4 a partir del cual se mantiene estable, esto lo observamos en los Cuadros 4 y 5 en donde se concentran valores que nos muestran una alta correlación entre las horas frío y los primeros cuatro estadíos de desarrollo y que, además, confirman lo señalado por Tomerlin (1983) quien indica que el número de ascas se incrementa cuando las condiciones ambientales propicias (bajas temperaturas) se presentan tempranamente durante la formación del pseudotecio (Cuadro 3).

Los primeros cinco estadíos de desarrollo muestran una correlación negativa con las unidades calor, lo que confirma que estos requieren de bajas temperaturas. Las temperaturas altas (abril-julio) son importantes para que exista una liberación de las ascosporas, esto se refleja con una correlación alta (Cuadro 4 y 5) entre las unidades calor y el estadío 13, y ratifica lo que cita James y Sutton (1982b) con respecto a las temperaturas que las ascosporas requieren para madurar de un rango de 16-18°C con una alta humedad relativa.

La humedad relativa presenta gran influencia en el desarrollo del hongo y en forma más marcada en el estadío 10, el cual tiene la correlación más alta en la primer temporada, que es la única que se presenta, esto confirma lo mencio-

Cuadro 3. Valores de la temperatura media mensual de 1986-1988 en el Ejido Rancho Nuevo, Mpio, de Arteaga, Coah.

		1986	1987	1988	
Enero		-	4.02	14.82	
Febrero	the second of the second	- "	5.8	14.82	
Marzo	*	-	5.8	10.54	
Abril		-	6.8	18.8	40
Mayo		-	13.57	16.3	
Junio			15.63	17.03	
Julio			15.83	-	
Agosto			15.0	-	
Septiembre	A second of the second of the second	-	9.17	-	
Octubre		-	9.05	-	
Noviembre		4.50	8.50	· _	1.5
Diciembre		3.05	7.05		

Cuadro 4. Valores transformados de las correlaciones correspondientes a la primera temporada 1986-1987.

Estadios .	Presión de vapor (mmHg)	Unidades calor	Horas frío	% Daño transfor- mado	Humedad relativa
1	-0.36526	-0.1723	0.6468	-0.4140	0.1936
2	-0.5548	-0.3048	0.6839	-0.3296	-0.4292
3	-0.5449	-0.4635	0.2481	-0.0601	-0.6941
4	-0.4296	-0.4803	0.0127	0.0941	-0.6069
5	0.0609	-0.2380	-0.3544	0.4253	0.2706
5a	0.5066	0.1778	-0.6889	0.4977	0.2201
6	0.5177	0.2537	-0.6873	0.3012	0.2612
7	0.5557	0.3234	-0.7326	0.4290	0.2290
8	0.8342	0.6326	-0.8214	0.3657	0.4738
9	0.9020	0.7447	-0.8299	0.2366	0.4489
10	0.8781	0.7012	-0.8044	0.2592	0.4985
11	0.5786	0.2840	-0.4107	0.3155	0.4160
12	0.5567	0.2487	-0.5945	0.2682	0.5349
13	0.6624	-0.8422	-0.5996	0.1996	0.2445
14	0.7921	0.6129	-0.8061	0.4332	0.5393

Cuadro 5. Valores de las correlaciones correspondientes a la segunda temporada 1987-1988.

Estadíos	Presión de vapor (mmHg)	Unidades calor	Horas frío	%daño transfor- mado	Humedad relativa	
1	-0.6896	-0.5895	0.3330	0.5486	-0.8390	
2	0.0754	-0.1513	0.4013	-0.0710	0.4808	
, <u>3</u>	0.5362	0.4663	-0.2954	-0.2111	0.7138	
4	0.8430	0.7936	-0.5318	0.0043	0.8579	
5	0.7590	0.8032	-0.6807	-0.1062	0.7011	
5a	0.8466	0.9430	-0.8101	0.1125	0.6173	
6	0.1703	0.8163	-0.7242	-0. 791	0.5608	
7	0.9214	0.9866	-0.8351	0.1551	0.6911	
8	0.6469	0.7306	-0.6494	-0.1720	0.5666	
9,10 y 11		no aparecen en el muestreo				
12	0.4900	0.3818	-0.2608	0.4176	0.34796	
13	0.5692	0.4720	-0.3391	0.4255	0.40497	
14	0.5313	0.4934	-0.4107	0.4361	0.6825	

nado por Godoury y William (1986) quien señala que la liberación de acosporas ocurre con una temperatura media de 16-18°C, con una alta humedad relativa.

## CONCLUSIONES

- Las bajas temperaturas (4.3°C promedio), aunadas a una humedad relativa alta en los meses de octubre a enero después de la caída de las hojas, determinan el número de pseudotecios que entran en maduración.
- Una humedad relativa superior a 70%, así como una temperatura entre 10-16°C en los meses de abril-junio, favorecen la maduración y liberación de las ascosporas.
- Para llevar a cabo la liberación de ascosporas es necesario acumular 912 horas frío, con una humedad relativa superior al 70%, en los meses de noviembre-abril, o bien 900 mm Hg de presión de vapor, con 750 unidades calor.
- 4. Al reunirse las condiciones anteriores, es el momento de realizar la primera aplicación de fungicidas, esto ocurre en el mes de abril y coincide con la brotación y floración del frutal.

## BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, G.M. 1985. Fitopatología. LIMUSA. México. 756 p.
- Alexopoulous, J.C. y C.W. Mins. 1979. Introductory mycology 3th. Ed. John Wiley and Sons. New York. USA. 643 p.
- Bovey, R. 1977. La defensa de las plantas cultivadas. Ed. Omega. Barcelona, España. 883 p.
- Cepeda V., M.A. 1988. Evaluación de nuevos fungicidas para el control de la roña del manzano *Venturia inaequalis* (Cke) Wint, en el Cañón de Los Lirios, Mpio. de Arteaga, Coahuila. Tesis M.C.Saltillo, México. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 120 p.
- Domínguez, F.C. y G. Tejeda. 1976. Plagas y enfermedades de las plantas cultivadas. Dossat. España. p. 752-756.
- Godoury, D.M. y E.M. William. 1982. Preparation and interpretation of squash mounts of pseudotecio of *Venturia inaequalis*. Phytopathology 72: 92-95.
- Godoury, D.M.: y E.M. William. 1986. Forcasting ascospores dose of *Venturia* inaequalis in commercial apple orchards. Phytophatology 76: 112-118.
- Hernández, C.F.D. 1982. Evaluación de cuatro productos fungicidas y observación de prácticas culturales para el control de la roña del manzano *Venturia inaequalis* (Cke) Wint, en huertas de manzano *Pyrus malus* L. en el Cañón de Los Lirios, Mpio. de Arteaga, Coah. Tesis profesional. Saltillo, México. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- James, J.R. y T.B. Sutton. 1982a. Evaluation of a New York ascospores maturity model for Venturia inaequalis in North Carolina. Phytopathology 72:1030-32.
- James, J.R. y T.B. Sutton. 1982b. Environmental factors influence pseudotecial development and ascospore maturation of Venturia inaequalis. Phytopathology 72: 1081-1084.
- Kathan, T., E. Strabi y J.D. Gilpatrick. 1976. Genetics of resistence to Benomy in Venturia inaequalis isolates from Israel and New York. Phytopathology 66: 600-603. USA.
- McHardy W. y H.G. Godoury. 1985. Forcasting the seasonal maturation of ascospores of *Venturia inaequalis*. Phytopathology 75: 381-385.

- Mendoza, Z.C. y B. Pinto C. 1983. Principios de Fitopatología y enfermedades causadas por hongos. Chapingo, UACH. 311 p. México.
- O'Leary, A.L. y T.B. Sutton. 1986. The influence of temperature and moisture on the quantitative production of pseudothecio of *V. inaequalis*. Phytopathology. 76(20:199-204).
- Roberts, A.D. y C. Boothroyd, W. 1972. Fundamentos de patología vegetal. Ed. Acribia. España. pp. 265-269.
- Spoots, D.C. 1979. Photosynthesis, transpiration and water potential of apple leaves infected by *Venturia inaequalis*. Phytopathology. 69: 7.17-719.
- Staing, V.F. y A.L. Jonas. 1985. Reduced sensitivity to sterol inhibiting in field isolates of *Venturia inaequalis*. Phytopathology. 75: 1098-1101.
- Sutton, T.B. y A.L. James. 1976. Evaluation of four spore traps for monitiring discharge of ascospores of *Venturia inaequalis*. Phytopathology. 66: 453-456.
- Tomerlin, J.R. y A.L. Jonas. 1983. Effect of temperature and relative humidity on the latent period of *Venturia inaequalis* in apple leaves. Phytopathology 73: 51-54.
- Towsend, G.R. y I.W. Heuberger. 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicides experiments. Plant Dis. Rept. 27: 340-347. USA.
- Walker, H.J. 1973. Patología Vegetal. Ed. Omega. Barcelona, España. 392 p.