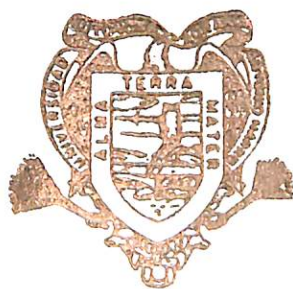


MONITOREO Y ESTUDIO GENETICO DE LA RESISTENCIA  
DE *Venturia inaequalis* (COOK) WINT. A FUNGICIDAS DE  
LA FAMILIA DE LOS BENCIMIDAZOLES Y A LOS INHIBIDORES  
DE LA BIOSINTESIS DEL ERGOESTEROL EN  
ARTEAGA, COAHUILA

ANGELICA MARIA BERLANGA PADILLA

## T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS  
EN PARASITOLOGIA AGRICOLA



Universidad Autónoma Agraria  
Antonio Narro

PROGRAMA DE GRADUADOS  
Buenavista, Saltillo, Coah.  
NOVIEMBRE DE 1994

Tesis elaborada bajo la supervisión del Comité Particular  
de Asesoría y aprobada como requisito parcial, para optar  
al grado de

MAESTRO EN CIENCIAS EN  
PARASITOLOGIA AGRICOLA

COMITE PARTICULAR

Asesor Principal:

  
Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo

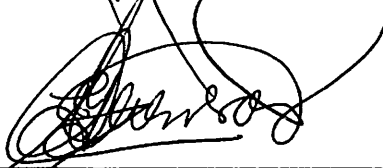
Asesor:


  
M.C. Abel Sánchez Arizpe

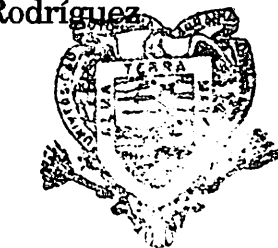
Asesor:

  
M.C. Melchor Cepeda Siller

Asesor:

  
Dr. Eugenio Guerrero Rodríguez

  
Dr. Jesús M. Fuentes Rodríguez  
Subdirector de Postgrado



BIBLIOTECA  
DIOG. REBONATO  
A A A N  
SALTILLO, COAH.

Buenavista, Saltillo, Coahuila a Noviembre de 1994

## AGRADECIMIENTO

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por haberme brindado todo el apoyo financiero para la realización del postgrado en la maestría de Parasitología Agrícola.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por darme nuevamente la oportunidad de ser alumna de tan prestigiada casa de estudios.

Al Dr. Daniel Hernández Castillo por su disposición e interés en la realización del presente trabajo, a quien admiro por su dedicación y empeño.

Al M.C. Abiel Sanchez Arizpe por sus consejos, y apoyo brindado durante mis estudios de postgrado y especialmente por su amistad.

Al Dr. Eugenio Guerrero Rodríguez por su ayuda desinteresada y de gran importancia en el desarrollo de este trabajo.

Al M.C. Melchor Cepeda Siller por su participación como asesor en este trabajo.

A los maestros del Departamento de Parasitología Agrícola por su colaboración indispensable en los estudios de postgrado.

A los compañeros del postgrado, especialmente aquellos que me brindaron su valiosa amistad, compartiendo los esfuerzos de cada día para alcanzar las metas trazadas.

## **DEDICATORIA**

Porque gracias a la fe que siempre depositaste en mi, he tenido el valor para luchar por la vida, como tu me lo enseñaste, además tengo la fuerza necesaria para enfrentarme al futuro sin miedo con la convicción de que vas siempre conmigo, guiando mis pasos con sabiduría y amor alentándome a seguir adelante y superándome día con día.

**CON TODO MI AMOR**

**A MI PADRE**

## COMPENDIO

Monitoreo y Estudio Genético de la Resistencia de *Venturia inaequalis* (Cook) Wint. a Fungicidas de la Familia de los Bencimidazoles y a los Inhibidores de la Biosíntesis del Ergosterol en Arteaga, Coahuila.

POR

ANGELICA MARIA BERLANGA PADILLA

MAESTRIA

PARASITOLOGIA AGRICOLA

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHILA, NOVIEMBRE DE 1994

Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo- Asesor

Palabras Claves: resistencia, susceptibilidad, monogénico, pologénico, monoascospórico, heredabilidad

Se investigó la susceptibilidad de 34 aislamientos de *V. inaequalis* al benomyl y al triadimefon. Los resultados de la evaluación de fungicidas bajo condiciones de campo indican que hay una pérdida de eficiencia de los productos de la familia de los bencimidazoles, los cuales presentaron niveles de control similares al captan y mancozeb producto preventivo (76.2 y 80.9 por ciento respectivamente) valores cercanos al testigo (90 por ciento). Estos resultados indican la presencia de aislamientos resistentes al benomyl.

El monitoreo de los niveles de susceptibilidad de *V. inaequalis* al benomyl realizadas en 1993 detecta poblaciones resistentes del patógeno en el Cañón de los Lirios, Coah., principalmente en huertos donde los bencimidazoles se han utilizado por más de 10 años. La proporción de conidias resistentes en ese año inician con 22.5 y terminan con 90 por ciento. Los factores de resistencia de las cepas aisladas variaron de 145 a 3,143 veces más altos que en cepas sensibles, considerandose como cepas altamente resistentes al benomyl.

En estudios sobre la heredabilidad de la resistencia a benomyl y triadimefon se utilizaron 50 aislamientos monoacospóricos de la progenie del cruzamiento de las cepas 174 x 179 (Susceptible al benomyl y triadimefon x resistente al benomyl y triadimefon), determinándose que la resistencia de *V. inaequalis* al benomyl es de tipo monogénica mientras que la resistencia al triadimefon es de tipo poligénica.

## ABSTRACT

Monitoring and Genetic Study of the Resistance of *Venturia inaequalis* (Cook) Wint. to Fungicide of the Bencimidazol family and to Inhibitors of Sterol Biosynthesis in Arteaga, Coahuila.

BY

ANGELICA MARIA BERLANGA PADILLA

MASTERS DEGREE

IN AGRICULTURAL PARASITOLOGY

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHILA, NOVEMBER DE 1994

Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo- Advisor

Key Words: resistance, susceptibility, monogenic, pologenic, momoascosporic, inheritance

Susceptibility of 34 *V. inaequalis* isolates benomyl and triadimefon was investigated. Results of the evaluation of fungicides under field conditions indicated that there was a loss of efficiency in chemicals of the bencimidazol family, wich had disease incidences control levels similar to the captan and mancozeb fungicide (76.2 and 80.9 per cent respectivel) This values were close to the control (90 per cent). These results are due to the precence of isolates resistant to benomyl.

The monitoring of the susceptibility levels of *V. inaequalis* to the benomyl done in 1993 detected resistant populations of the pathogen in Cañon of the Lirios Coah. mainly in orchards, where benconimidazol have been used for more than years. Isolates resistant to benomyl were 145-3143 times more than the susceptible isolate.

Studies on inheritance factors of the resistance to benomyl and triadimefon using determined by means of 50 monoascosporic isolates of the progeny obtained by crossing strain 174 x 179 (susceptible to the benomyl and triadimefon x resistant to benomyl and triadimefon) revealed that the resistance of *V. inaequalis* to benomyl is monogenic while resistance to the triadimefon is polygenic.



## INDICE DE CONTENIDO

	PAGINA
INDICE DE CUADROS .....	xi
INDICE DE FIGURAS .....	xiii
INTRODUCCION.....	1
REVISION DE LITERATURA.....	3
GENERALIDADES.....	3
BOTANICA DEL MANZANO.....	4
LA ROÑA DEL MANZANO.....	5
SINTOMAS.....	5
ETIOLOGIA.....	6
EPIDEMIOLOGIA.....	6
CICLO BIOLÓGICO.....	7
METODOS DE CONTROL DE <i>V. inaequalis</i> .....	8
CONTROL CULTURAL.....	8
CONTROL BIOLÓGICO.....	9
CONTROL GENÉTICO.....	10
CONTROL QUÍMICO.....	10
RESISTENCIA A FUNGICIDAS.....	12
GENÉTICA DE LA RESISTENCIA A FUNGICIDAS.....	15
MATERIALES Y METODOS.....	17
EVALUACION DE FUNGICIDAS EN EL CAMPO.....	17
ESTABLECIMIENTO DEL EXPERIMENTO.....	18
PARAMETROS A EVALUAR.....	18
MONITOREO DE LA SENSIBILIDAD O RESISTENCIA DE <i>V. inaequalis</i> AL BENOMYL.....	20
DETERMINACION DEL FR DE AISLAMIENTOS MONOSPORICOS DE CEPAS DE <i>V. inaequalis</i> RESISTENTES AL BENOMYL.....	22
ESTUDIO GENÉTICO DE LA RESISTENCIA DE <i>V.</i> <i>inaequalis</i> BENOMYL Y AL TRIADIMEFON.....	24
OBTENCION DE PSEUDOTECIOS.....	24
AISLAMIENTOS MONOASCOSPORICOS.....	26
ESTUDIO SOBRE LA HEREDABILIDAD DE LA RESISTENCIA D <i>V. inaequalis</i> AL BENOMYL.....	26
ESTUDIO SOBRE LA HEREDABILIDAD DE LA RESISTENCIA DE <i>V. inaequalis</i> AL TRIADIMEFON.....	27
RESULTADOS Y DISCUSION.....	28

EVALUACION DE FUNGICIDAS EN EL CAMPO.....	28
INCIDENCIA EN HOJA.....	28
SEVERIDAD EN HOJA.....	31
INCIDENCIA EN FRUTO.....	31
SEVERIDAD EN FRUTO.....	35
MONITOREO DE LA SENSIBILIDAD O RESISTENCIA DE <i>V. inaequalis</i> AL BENOMYL.....	39
DETERMINACION DEL FR DE AISLAMIENTOS MONOSPORICO DE CEPAS DE <i>V. inaequalis</i> RESISTENTES AL BENOMYL.....	44
ESTUDIO GENETICO DE LA RESISTENCIA DE <i>V.</i> <i>inaequalis</i> A EL BENOMYL Y AL TRIADIMEFON.....	49
OBTENCION DE PSEUDOTECIOS.....	49
AISLAMIENTOS MONOASCOSPORICOS.....	50
ESTUDIO SOBRE LA HEREDABILIDAD DE LA REISTENCIA DE <i>V. inaequalis</i> AL BENOMYL.....	50
ESTUDIO SOBRE LA HEREDABILIDAD DE LA RESISTENCIA DE <i>V. inaequalis</i> AL TRIADIMEFON.....	53
CONCLUSIONES.....	60
RESUMEN.....	61
LITERATURA CITADA.....	63
APENDICE.....	69

## INDICE DE CUADROS

CUADRO No.		PAGINA
3.1	TRATAMIENTOS Y DOSIS APLICADAS PARA EL CONTROL DE <i>Venturia inaequalis</i> EN LOS LIRIOS, COAHUILA.....	19
3.2	CALENDARIOS DE ASPERSION DE FUNGICIDAS REALIZADAS CONTRA <i>Venturia inaequalis</i> EN LOS LIRIOS, COAHUILA.....	19
3.3	LOCALIDADES MONITOREADAS PARA OBSERVAR LOS NIVELES DE SENSIBILIDAD DE <i>Venturia inaequalis</i> AL BENOMYL EN ARTEAGA, COAHUILA.....	21
3.4	CARACTERISTICAS, LUGAR DE ORIGEN DE CEPAS DE <i>Venturia inaequalis</i> ESTUDIADAS.....	25
3.5	CRUZAMIENTOS REALIZADOS PARA LO OBTENCION DE PSEUDOTECIOS DE <i>Venturia inaequalis</i> .....	25
4.1	INCIDENCIA DE <i>Venturia inaequalis</i> EN HOJAS.....	29
4.2	SEVERIDAD DE <i>Venturia inaequalis</i> EN HOJAS.....	32
4.3	INCIDENCIA DE <i>Venturia inaequalis</i> EN FRUTO.....	35
4.4	SEVERIDAD DE <i>Venturia inaequalis</i> EN FRUTO.....	36
4.5	MONITOREO DE LA SENSIBILIDAD O RESISTENCIA DE <i>Venturia inaequalis</i> A BENOMYL EN LA SIERRA DE ARTEAGA COAHUILA.....	40
4.6	PRORCENTAJE DE CONIDIAS DE <i>Venturia inaequalis</i> RESISTENTES Y SUSCEPTIBLES AL BENOMYL EN LOS LIRIOS, COAHUILA DURANTE 1993.....	43
4.7	DOSIS LETALES, LIMITES FIDUCIALES AL 95% Y FACTORES DE RESISTENCIA DE CEPAS DE <i>Venturia inaequalis</i> AISLADAS EN LOS LIRIOS, COAHUILA Y EXPUESTAS AL BENOMYL.....	45

4.8	COEFICIENTES DE DETERMINACION Y CHI CUADRADA DE LAS LINEAS DE REGRESION DOSIS-INHIBICION DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE BENOMYL SOBRE CEPAS DE <i>Venturia inaequalis</i> AISLADAS EN LOS LIRIOS, COAHUILA.....	48
4.9	PRODUCCION DE PSEUDOTECIOS POR EL METODO DEL DISCO DE HOJA DE MANZANO Y AISLAMIENTOS MONOASCOSPORICOS DE <i>Venturia inaequalis</i> .....	50
4.10	RESISTENCIA Y/O SUSCEPTIBILIDAD AL BENOMYL Y TRIADIMEFON DE CEPAS DE LA POBLACION F1 DE <i>Venturia inaequalis</i> .....	51
4.11	DOSIS LETALES, LIMITES FIDUCIALES AL 95% Y FACTORES DE RESISTENCIA DE LA POBLACION F1 DE <i>Venturia inaequalis</i> EXPUESTAS AL TRIADIMEFON.....	56
4.12	COEFICIENTES DE DETERMINACION Y CHI CUADRADA DE LAS LINEAS DE REGRESION DOSIS-INHIBICION DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE TRIADIMEFON SOBRE POBLACIONES F1 DE <i>Venturia inaequalis</i> .....	58
A.1	ANALISIS DE VARIANZA PARA LA INCIDENCIA DE <i>Venturia inaequalis</i> EN HOJA.....	70
A.2	ANALISIS DE VARIANZA PARA LA SEVERIDAD DE <i>Venturia inaequalis</i> EN HOJA.....	70
A.3	ANALISIS DE VARIANZA PARA LA INCIDENCIA DE <i>Venturia inaequalis</i> EN FRUTO.....	70
A.4	ANALISIS DE VARIANZA PARA LA SEVERIDAD DE <i>Venturia inaequalis</i> EN FRUTO.....	70

## INDICE DE FIGURAS

FIGURA No.		PAGINA
4.1	INCIDENCIA DE <i>Venturia inaequalis</i> EN HOJA.....	30
4.2	SEVERIDAD DE <i>Venturia inaequalis</i> EN HOJA.....	33
4.3	INCIDENCIA DE <i>Venturia inaequalis</i> EN FRUTO.....	34
4.4	SEVERIDAD DE <i>Venturia inaequalis</i> EN FRUTO.....	38
4.5	COMPARACION EN BASE AL $CI_{50}$ Y SUS LIMITES FIDUCIALES DE CEPAS SUSCEPTIBLES Y RESISTENTES DE <i>Venturia inaequalis</i> AL BENOMYL, EN ARTEAGA, COAHUILA, MEXICO 1992 .....	47
4.6	COMPARACION EN BASE AL $CI_{50}$ Y SUS LIMITES FIDUCIALES DE LA POBLACION $F_1$ DE <i>Venturia</i> <i>inaequalis</i> AL TIADIMEFON.....	54

## INTRODUCCION

El Manzano es uno de los principales cultivos de la Sierra de Arteaga, siendo de gran importancia económica por la extensión que ocupa y por constituirse como la mayor fuente de empleo y de ingresos para sus habitantes.

La roña del manzano, *Venturia inaequalis* (Cook) Wint. se presenta en las diversas regiones manzaneras del mundo, siendo un patógeno que puede ocasionar pérdidas hasta de un 100 por ciento de la producción cuando las condiciones climatológicas son óptimas para su desarrollo. Para el control de la enfermedad se utilizan diversos fungicidas sobresaliendo por su efectividad los fungicidas sistémicos de la familia de los bencimidazoles y de los inhibidores de la biosíntesis del ergosterol (IBE). La buena actividad de estos productos, ha permitido que estos sean utilizados intensivamente lo que ha ocasionado la aparición de cepas resistentes después de tres a cuatro años de su utilización (Novacka *et al.* 1977).

La resistencia de la roña del manzano a fungicidas de la familia de los bencimidazoles ha sido reportada en varios países, entre ellos podemos citar a Australia (Wicks, 1974), Sudáfrica (Schwabe, 1979), Polonia (Novacka *et al.*, 1977), Israel (Shabi *et al.*, 1983), Nueva Zelanda, Europa, Norte y Sur de América (Stanis y Jones, 1984), y en Canadá (Northover, 1986).

Por otra parte, la resistencia a fungicidas del grupo de los IBE se reportaron en Alemania en 1985 (Stanis y Jones, 1985) y posteriormente en Francia (Thind *et al.*, 1986) y en Canadá (Hildebrand *et al.*, 1988).

En nuestro país, evaluaciones recientes de fungicidas para el combate de la roña del manzano en la región de los Lirios, Municipio de Arteaga, Coahuila, muestran una protección inadecuada con productos de los bencimidazoles e IBE (26 por ciento de daño) siendo mejores los tratamientos con mancozeb y captan (8 por ciento de daño) (Becerra, 1992). Estos resultados pueden ser debido a la aparición de cepas de *V. inaequalis* resistentes a los fungicidas mencionados o a una aplicación incorrecta de los mismos.

### **Objetivos**

- 1.- Monitorear los niveles de sensibilidad o resistencia de cepas de *V. inaequalis* a fungicidas de la familia de los bencimidazoles en la región de Arteaga, Coahuila.
- 2.- Estudiar aspectos de la heredabilidad de la resistencia de *V. inaequalis* a los fungicidas de la familia de los bencimidazoles y del grupo de los inhibidores de la biosíntesis del ergosterol.

## REVISION DE LITERATURA

### Generalidades

El manzano (*Malus x domestica* Borkh) es originario de las partes templadas de Europa Central, de las regiones del Cáucaso y del oeste de Asia. Los frutos de las primeras especies eran pequeños, ácidos y acuosos. Actualmente la especie cultivada ha evolucionado naturalmente y por la selección que ha hecho el hombre hasta alcanzar la consistencia, aroma, sabor y color de las variedades actuales (Alvarez, 1974; Korban y Skirvin, 1984).

Los principales países productores de manzana son la Unión Soviética, Estados Unidos, China, Francia, Alemania e Italia, y cantidades menores son producidas por países con zonas templadas (Jones y Aldwinckle, 1990).

En México el manzano se encuentra distribuido en 23 estados, siendo los principales estados productores Chihuahua, Durango, Coahuila, Puebla y Sonora. En los últimos años la producción de manzana en México ha aumentado notablemente, debido a la demanda que tiene la fruta en su consumo fresco, así como para su industrialización. En 1983, México contaba con una superficie de 50,000 ha cultivadas de manzana, de la cual el 83 por ciento se encuentra en los estados de Chihuahua, Durango y Coahuila (Cepeda *et al.*, 1988).



## Botánica del Manzano

El manzano es un árbol caducifolio de porte redondo con su copa ancha y poco regular, tronco generalmente tortuoso, ramas gruesas, pudiendo alcanzar una altura hasta de 6 a 10 m. Sus hojas son simples, alternas, ovales, cortamente acuminadas, aserradas con dientes obtusos y blandas, por el envés de color verde claro con vellosidades y con un color verde oscuro en el haz (Tamaro, 1974) presenta estomas sólo en el envés por donde se realiza la liberación de agua y la asimilación de bióxido de carbono indispensable para la fotosíntesis (Calderón, 1977).

Sus flores son grandes, casi sentadas o cortamente pedunculadas, hermafroditas de color rosa pálido, a veces blancas y de tres a seis unidas en corimbo (Tamaro, 1974). Las flores son de tipo pentámero, con estambres insertados en la parte alta del pistilo, ovario con cinco alvéolos con dos óvulos en cada uno de ellos. Cada botón floral tiene en su base dos yemas de madera, pudiendo ocupar una posición lateral sobre la madera del año (Contanceau, 1971).

Según Thomas-Demerch (1978) su fruto es de los denominados carnosos tipo pomo, fruto completo procedente de un ovario sincárpico, la parte carnosa constituida por el tálamo grandemente desarrollado. El endocarpio es cartilaginoso, presenta cinco alvéolos y en cada uno se encuentran las semillas, el pedúnculo es de longitud variable (Contanceau, 1971). Los frutos tienen un pericarpio diferenciado por exocarpio y mesocarpio los que son carnosos y el endocarpio que es coriáceo rodeando las semillas (Wilson y Loomis, 1980).

Las semillas son pequeñas aplanadas con testa de color café, contenidas de dos por carpelo. La semilla es un óvulo que ha alcanzado su maduración conteniendo dos

partes esenciales una externa constituida por tegumentos y la interna llamada almendra (Tejada, 1980).

### **La Roña del Manzano.**

La enfermedad es causada por el hongo *V. inaequalis* (Cook) Wint., estado perfecto de *Spilocaea pomi* (Fr). Esta enfermedad se considera como la más importante en las regiones manzaneras con clima templado y húmedo del mundo, ocasionando pérdidas directas en el fruto ya que disminuye su tamaño, daña su calidad y puede ocasionar su caída prematuramente, teniendo bajas en la producción hasta de un 100 por ciento (Jones y Aldwinckle, 1990).

### **Síntomas.**

La roña del manzano afecta hojas, flores, frutos y ramillas de un año de edad (Heald, 1933); La infección ocasiona que en ambos lados de la hoja aparezcan manchas más o menos circulares (Walker, 1973) más visibles en el haz que en el envés, presentándose en las etapas tempranas, son de color café a gris y en algunos casos verde olivo (Agrios, 1969) las cuales, más tarde se oscurecen y toman un color café oscuro a negro, con una cubierta de aspecto aterciopelado en la superficie, debido al crecimiento micelial del hongo (Roberts y Boothroyd, 1972). La infección da lugar a hojas pequeñas, con manchas y áreas marginales muertas. La parte exterior de los botones de flor sin abrir son señalados por Keitt (1953) como altamente susceptibles a la infección. Fuentes (1960) indica, que en las partes interiores de los pistilos y ovarios jóvenes se pueden desarrollar lesiones semejantes a las de las hojas. Las lesiones en frutos desarrollados son bien definidas, por lo general de forma redonda, de color verde olivo y con la superficie aterciopelada, que al paso del tiempo se tornan oscuras, roñosas o sarnosas. Estos frutos

a menudo se agrietan, se deforman y caen prematuramente (Keitt, 1953). Cuando la infección ocurre tardíamente, la fruta almacenada puede sufrir lesiones parecidas a la cabeza de un alfiler, brillantes, lisas, de color negro. El mismo autor menciona la aparición de pequeñas protuberancias en el fruto causadas por el patógeno.

### **Etiología.**

De acuerdo a Alexopoulos y Mims (1979) el agente causal de la roña del manzano, está ubicado en la subclase Loculoascomycetidae, orden Pleosporales y familia Venturiaceae. El hongo produce un ascocarpo (pseudotecio) en un estroma, en las hojas y frutos invernantes. El pseudotecio es de color café oscuro a negro, es esférico con un pico pequeño y un ostíolo distintivo, con cerdas en el ápice. Contiene pseudoparáfisis en su interior, sus ascas son fasciculadas, cilíndricas, sus paredes son delgadas y bitunicada que contiene ocho ascosporas. Las ascosporas son verde-amarillentas con dos células desiguales, presentando la célula superior más corta y ancha que la inferior.

La fase asexual está representada por el género *S. pomi*, la cual presenta conidias color olivo-amarillento, con una o dos células, simples, terminal y ovalada o lanceolada, pero algunas veces de forma irregular, son producidas en forma secuencial en el conidióforo, el cual se origina de un micelio corto, erecto, cerradamente septado de color café. Las conidias se producen en la superficie de lesiones de hojas y frutos, durante la primavera y verano (Jones y Aldwinckle, 1990).

### **Epidemiología.**

Esta enfermedad es más frecuente y peligrosa en zonas húmedas y relativamente frías, por lo que se observa que la temperatura y la humedad actúan en estrecha relación

para el desarrollo de la enfermedad. La infección del hongo tiene lugar en un rango de temperatura de 1 a 26 °C y un mínimo de 60 a 70 por ciento de humedad relativa. Sin embargo, pérdidas mínimas de humedad no son letales para el hongo. El número de horas de humedad requeridas por la ascospora infectiva varía con la temperatura, en un rango de 21 hr a 6 °C o 9 hr entre 16-24 °C, pero la infección es rara a 26 °C (Jones y Aldwinckle, 1990).

### **Ciclo Biológico.**

El hongo *V. inaequalis* inverna en forma de pseudotecio inmaduro (Agrios, 1969) sobre las hojas muertas caídas al suelo (Roberts y Boothroyd, 1972) en forma de estroma miceliano en los brotes y como micelio o ascosporas incipientes en la misma hojarasca. Al sobrevivir en restos vegetales, el hongo realiza su etapa saprofítica. Alexopoulos y Mims (1979) señalan que al penetrar el hongo entre las células forma las estructuras femeninas y masculinas, las que al parecer desencadenan un proceso que incluye, el acercamiento, traslado, fusión de núcleos y mitosis, dando lugar a la célula madre de la asca. Es en ella donde ocurre la cariogamia y el asca joven inicia su elongación. El núcleo cigótico diploide sufre una meiosis, dando lugar a cuatro núcleos haploides, que por medio de mitosis dan lugar a ocho. Estas por formación celular libre se rodean de una pared y maduran constituyéndose en ocho ascosporas. Agrios (1969) indica que tales ascosporas maduran en los pseudotecios y en la época de apertura de yemas, al humedecerse la hojarasca, los pseudotecios se empapan, las ascas se alargan y emergen a través del ostiolo siendo arrojadas las ascosporas al viento el que rápidamente las disemina. Domínguez y Tejero (1976) señalan que la alta correlación entre la brotación y la liberación de ascosporas está determinada por las condiciones climáticas, las cuales son similares para ambos, constituyéndose las ascosporas como la fuente de

inóculo inicial. Walker (1973) reporta que las yemas mixtas que contienen los primordios florales son las primeras en abrir y por lo tanto en estar expuestas a la infección. A la vez Roberts y Boothroyd (1972) mencionan que al germinar las ascosporas en la superficie de la hospedera, forman un apresorio que emite un tubo fino de penetración y una pequeña clavija de infección que atraviesa la cutícula. Agrios (1969) coincide con ellos y agrega que una vez establecido el micelio se produce un estroma del que emergen una gran cantidad de conidióforos con sus conidios los que al presionar hacia el exterior rompen la cutícula. Si las condiciones de humedad son favorables, éstas se desprenden del conidióforo y son dispersados por diversos agentes.

### **Métodos de Control de *V. inaequalis***

#### **Control Cultural.**

Agrios (1969) indica que las prácticas culturales en contra de la roña del manzano son con la finalidad de eliminar o reducir la formación de pseudotecios. Esto se logra al incorporar las hojas y frutos caídos al suelo y al eliminar brotes y frutos enfermos adheridos al árbol mediante la poda.

Roberts y Boothroyd (1972) indican que el patógeno, además de sobrevivir formando pseudotecios, también lo hace como micelio invernante en tallos y ramas del árbol, por lo que la poda es una práctica adecuada para usarse como medida de control. A la vez Domínguez y Tejero (1971) resaltan la importancia de coleccionar las hojas caídas, así como durante la poda recoger ramas y ramitas con indicios de ataque por el patógeno y su incineración para evitar la formación de ascas. Cepeda y Hernández (1986) recomiendan alargar el barbecho en el mes de noviembre para incorporar al suelo la

hojarasca infectada; y la poda, rastreo, tanqueo, riego y fertilización en los meses de diciembre a febrero, a fin de establecer un oportuno control del patógeno. Sin embargo, Isla de Bauer (1987) señala que las prácticas de saneamiento no tienen efecto de control, sino de manejo, para reducir la infección a umbrales de aceptación económica en virtud de que la limpia no es total y que existirá el inóculo primario, a partir del que se iniciará la fase imperfecta del hongo.

### **Control Biológico.**

Hirst (1955) señala que el rompimiento de la fase invernante, y por consiguiente la eliminación de ascosporas que constituyen el inóculo inicial de la infección, es una medida práctica de control de *V. inaequalis*.

Existen evidencias de que algunos microorganismos presentan propiedades reductivas de la actividad de este hongo. Cinq-Mars (1949) menciona la reducción del número de pseudotecios en hojas de manzano infectadas por acción del hongo *Fusarium sporotrichoides* y la bacteria *Agrobacter aerogenes*. Simard *et al.* (1957) inocularon conidias de *V. inaequalis in vitro*, sobre la siembra de 16 organismos aislados de hojas muertas de manzano, marcando como inhibidores de germinación de las conidias a tres especies de *Penicillium*, así como *Aspergillus spp* y *Trichoderma viridae*.

Burchill y Cook (1971) consideran que la aplicación de urea sobre la hojarasca de manzano es útil en el control de *V. inaequalis* ya que favorece el desarrollo y la actividad de la flora microbiana. Andrews *et al.* (1983) aislaron microorganismos de hojas de manzano y evaluaron su antagonismo sobre *V. inaequalis in vitro* e *in vivo*, y destacan el efecto consistente de *Chaetomium globosum* por la alta reducción de la producción y germinación de conidias, así como la longitud del tubo germinativo.

Heye y Andrews (1983) indican que *Athelia bombacina* produce un ablandamiento de tejido de los residuos vegetales, lo cual provoca la preferencia de las lombrices y éstas eliminan los pseudotecios, reduciéndose la producción de ascosporas; aunque también se presenta la competencia por nutrientes y antibiosis.

### **Control Genético.**

Chester (1950) indica que cuando una especie sufre un ataque riguroso de un patógeno, se lleva a cabo una selección natural y sobreviven sólo los individuos con cierto grado de resistencia, la cual es transmitida a la descendencia.

En este sentido, diversas observaciones pusieron en evidencia la existencia de especies de manzano resistentes a *V. inaequalis* (Chester, 1950). Por lo que Williams y Kue (1969) determinaron que se ha encontrado resistencia monogénica y poligénica en diversos clones de manzano. Así, tanto en Europa como en América se realizan investigaciones con diversas especies o clones de *Malus* portadores de alta resistencia con el propósito de incorporar dicha resistencia en variedades de manzano con buenas cualidades agronómicas (Lespinasse *et al.* 1979). De esta forma los trabajos realizados por Lamb *et al.* (1985) concluyeron con la nueva variedad "Freedom", la que muestra alta resistencia a este hongo. Esta variedad es además resistente a la roya del manzano y cedro *Gymnosporangium juniperi-virginianae*, a el tizón de fuego *Erwinia amylovora*, y presenta una moderada resistencia a la cenicilla polvorienta *Podosphaera leucotricha*.

### **Control Químico.**

El control químico de la roña del manzano se puede encaminar sobre dos fases, la sexual o saprofitica y la asexual o parasítica.

Para atacar la fase saprofitica se realizan aplicaciones de fungicidas al final de la estación o sobre la hojarasca, ésto con el fin de interrumpir el ciclo del patógeno en su fase invernante, y abatir el potencial de inóculo primario. Al respecto, Burchill (1972) señala que la formación de pseudotecios y ascosporas de *V. inaequalis* es suprimida al aplicarse fungicidas al follaje de los árboles de manzano, una vez que se ha realizado la cosecha. De la misma manera Ross (1973) detectó que la aplicación de benomyl y tiofanato-metilo antes de la cosecha suprimen la formación de pseudotecios con mayor éxito que otros productos.

Miller (1970) al tratar hojas de manzano infectadas con *V. inaequalis*, caídas al suelo, observó que la descarga de ascosporas se redujo de un 99 a un 100 por ciento con el benomyl, el cual superó al tiabendazol en efectividad. El empleo de fungicidas erradicantes como el dinitro-cresolato de sodio a la caída del follaje es conveniente (Roberts y Boothroyd, 1972) cuando el ataque en la última etapa del cultivo ha sido muy severo. Walker (1973) recomienda utilizar productos compuestos por una sal de dinitro butil trietanolamina sobre las hojas caídas a razón de 5000 lt por ha sobre el terreno sin agua superficial. El caldo bordelés, es muy efectivo para prevenir la enfermedad y es conveniente aplicarlo a las hojas caídas para suprimir el inóculo productor de pseudotecios y/o en su caso, antes de la brotación, para eliminar las ascosporas, que son el inóculo inicial (Alvarez, 1974; Tamaro, 1974; Domínguez y Tejero 1976). Ross y Newbery (1975), mencionan que la producción de ascosporas en hojas de manzano invernante en el huerto se reduce casi en su totalidad con la aplicación de fungicidas sistémicos como el benomyl, tiofanato-metilo, bay dam 18654, o carbendazim.

En el caso del control de la fase parasítica del microorganismo, se realizan aplicaciones de productos químicos de tipo preventivo y de tipo curativo o sistémicos.



Los fungicidas utilizados en los tratamientos preventivos contra la enfermedad son principalmente el dodine, manconzeb y captan. Estos productos son llamados fungicidas de multisitio dado que afectan diversas rutas metabólicas del hongo; actúan afectando al patógeno antes de su penetración en la planta, y tienen un rango de acción de cinco a siete días.

Los productos curativos en el control de la enfermedad son los pertenecientes a la familia de los bencimidazoles y al grupo de los inhibidores de la biosíntesis del ergosterol, estos actúan inhibiendo un solo proceso metabólico, por lo que son llamados fungicidas unisitios, tienen un rango de acción mas amplio que es de 10 días para bencimidazoles y de 10 a 12 días para los inhibidores de la biosíntesis del ergosterol.

### **Resistencia a Fungicidas**

El uso constante de fungicidas sistémicos en el control de la roña del manzano ha ocasionado que el patógeno se torne resistente a algunos productos químicos, principalmente a aquellos que son aplicados por períodos de tiempo prolongados.

El primer reporte de resistencia de *V. inaequalis* fue para el dodine, hecho que ocurrió en 1969 en Nueva York, en donde este producto fue utilizado por períodos de 5 a 10 años consecutivos (Szkolink y Gilpatrick, 1969 y Polach 1973). Posteriormente se reporta la aparición de resistencia a esta materia activa en Michigan y Canadá (Ross y Newbery, 1977).

El dodine es un fungicida que provoca una alteración en la membrana celular del hongo, la resistencia parece estar ligada a una penetración intercelular reducida y a una detoxificación de la materia activa.

Problemas similares se presentaron en Nueva Escocia, donde en estudios realizados por Ross y Newbery (1977) indican que con diferentes concentraciones de dodine encuentran una variación considerable en la sensibilidad, entre aislamientos obtenidos en diferentes huertas. McKay y MacNeill (1979) sugieren que la enfermedad puede ocurrir a niveles significantes cuando la población de *V. inaequalis* llega a un valor de dosis letal 50 (DL<sub>50</sub>) de aproximadamente 0.7 ppm de dodine.

Otros de los productos que se han utilizado ampliamente para combatir la roña del manzano, son los productos de la familia de los bencimidazoles, ello debido a su gran eficiencia, por lo que se han utilizado de una manera calendarizada a intervalos de 10 a 14 días, asociando implícitamente prevención y curatividad (Martin, 1982). Los efectos de este empleo intensivo, ha propiciado la aparición de cepas resistentes después de 3 a 4 años de su aplicación siendo un fenómeno mucho más rápido y más frecuente que en el caso del dodine (Wicks, 1974).

Los bencimidazoles son fungicidas que bloquean la división nuclear y celular del hongo, ya que ellas forman un constituyente con la proteína microtubulina que es un componente del uso acromático (la tubulina). Así, el fenómeno de resistencia resulta por una reducción en la afinidad de la proteína a los bencimidazoles (Leroux, 1987).

La resistencia a bencimidazoles es reportada en Australia por Wicks en 1974, y posteriormente se encontró en Polonia (Novacka *et al.* 1977) en huertos donde estos productos químicos se usaban rutinariamente para el control de la roña del manzano.

Schwabe (1979), observó la resistencia de *V. inaequalis* a compuestos metil bencimidazoles carbamatos (MBC por sus iniciales) desarrollada en un período de 2 años de uso consecutivo de estos compuestos, en varios huertos de Sudafrica. Dicha

resistencia fue observada también en Ontario (Northover, 1986), la cual se identificó inicialmente en cuatro huertos de manzano en 1978; durante los siguientes años el número de huertos con resistencia se incrementó. El mismo autor examinó 144 huertas diferentes de manzano desde 1978, hasta 1985, de las cuales 54 (38 por ciento) contenían poblaciones resistentes al benomyl.

Sholberg *et al.* (1989) realizaron estudios de la resistencia de *V. inaequalis*, con benomyl y dodine en donde se obtuvieron resistencias del 25.4 por ciento con 1 µg/ml de benomyl y del 54.3 por ciento cuando se tenía una cantidad de 2 µg/ml de dodine. Los mismos autores mencionan que en estas huertas, la resistencia puede ser hacia ambos fungicidas, debido a que la población del patógeno tuvo un refuerzo paulatino de la resistencia al benomyl, cuando este fungicida y el thiophanato metílico fueron introducidos y utilizados extensivamente.

A partir de 1968, los productos de la familia de los IBE, despertaron un gran interés para su uso en el control de la roña del manzano, ya que algunos de ellos exhibían un incremento en la actividad contra la enfermedad en postinfección, cuando éstos eran comparados con otros materiales (O'Leary y Sutton, 1986).

Los IBE son fungicidas que bloquean el proceso de síntesis del ergosterol, (indispensable en la biosíntesis de la membrana celular y en los intercambios transmembranarios). Los mecanismos de resistencia del hongo a los IBE, pueden estar ligados a la existencia de líneas esterolígenas anormales o a la presencia de blancos enzimáticos menos sensibles y a una menor penetración en la célula (Siegel, 1981).

Las cepas resistentes del hongo a los IBE, fueron detectadas en 1985, a partir de aislamientos realizados en cultivos comerciales en Alemania (Stanis y Jones, 1985). Por

otro lado, Thind *et al.* (1986) obtuvieron cepas de *V. inaequalis* que poseían diferentes niveles de resistencia al fenarimol (inhibidor de la biosíntesis del ergosterol), en una huerta del sureste de Francia. Con dichos aislamientos, se realizaron pruebas de resistencia cruzada a ocho productos del grupo de los IBE. En estas pruebas, se observaron niveles de resistencia altos y bajos, los cuales dependían del aislamiento y del fungicida.

Actualmente, existe un fracaso aparente en el combate de la enfermedad con el uso de los IBE, por el desarrollo de la resistencia de *V. inaequalis* a estos fungicidas, ya que se presentó una incidencia elevada del patógeno en pruebas realizadas con aislamientos resistentes (Thind *et al.* 1986); Estos autores sugieren que la presión de selección puede llevar al fracaso de esta medida de combate, si se continúa con el uso prolongado de los fungicidas IBE, debido a que una situación semejante se reportó con cepas resistentes a dodine y benomyl (Szkolnik y Gilpatrick, 1969; Wicks, 1974).

Hildebrand *et al.* (1988) reporta la resistencia de *V. inaequalis* a el bitertanol y resistencia cruzada de aislamientos resistentes a bitertanol con otros fungicidas IBE.

### **Genética de la Resistencia a Fungicidas**

En estudios genéticos sobre la heredabilidad de la resistencia de *V. inaequalis* a el dodine, Polach (1973) observó una segregación de tipo 1:1 (sensibles:resistentes) para la concentración de dodine de 0.25  $\mu\text{g/ml}$ . Este resultado indica la presencia de un gen simple que codifica para la resistencia a esta concentración del dodine. Sin embargo, la segregación de la progeie a una concentración de 0.5  $\mu\text{g/ml}$  de dodine fue de tipo 1:3 (sensibles:resistentes) indicando que un segundo gen está operando a esta concentración. Estos resultados indican que existen factores adicionales involucrados en la heredabilidad

de la resistencia a el dodine. Dicho autor sugiere que un tercer gen puede estar operando la resistencia al fungicida aunque factores como el control citoplásmico, la modificación de genes o diferentes genes menores pueden estar también involucrados.

En relación a la resistencia de *V. inaequalis* a los bencimidazoles Shabi *et al.* (1983) realizaron cruzamientos entre cepas susceptibles y cepas resistentes a los fungicidas. Los resultados obtenidos muestran una relación de tipo 1:1 (sensibles:resistentes) lo que indica que la resistencia es controlada por un gen simple.

En un estudio realizado por Stanis y Jones (1984) con 59 cepas de *V. inaequalis* resistentes al benomyl aisladas en Australia, Chile, Italia, Nueva Zelanda y Estados Unidos, se observaron 5 cepas que se desarrollaron en medio con 1  $\mu\text{g/ml}$  pero no a 10  $\mu\text{g/ml}$  de benomyl, 8 crecieron a 10  $\mu\text{g/ml}$  pero no a 25  $\mu\text{g/ml}$  de benomyl, y 46 presentaron buen crecimiento en medios con 500  $\mu\text{g/ml}$  de benomyl los cuales se designaron como cepas con baja resistencia, cepas con mediana resistencia y cepas con alta resistencia respectivamente. En todos los cruzamientos se encontró una segregación de la progenie de tipo 1:1 (sensibles:resistentes) lo que indica que cada uno de los niveles de resistencia fue heredado por la acción de un gen mendeliano.

En lo que se refiere a los inhibidores de la biosíntesis del ergosterol (IBE), cepas del patógeno resistentes a estos fungicidas se encontraron en 1985 a partir de aislamientos realizados de huertos comerciales de Alemania y Francia (Stanis y Jones, 1985; Thind *et al.* 1986). De cruzamientos entre cepas resistentes y sensibles de Alemania realizados por Stanis y Jones (1985) se obtuvo que la resistencia a IBE es heredada monogénicamente.

## MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo se realizó en el Municipio de Arteaga, Coahuila, y en el Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en tres etapas:

La primera etapa, consistió en la aplicación de fungicidas bajo condiciones de campo, para observar la respuesta de *V. inaequalis* a los fungicidas de la familia de los bencimidazoles y al grupo de los inhibidores de la biosíntesis del ergosterol (IBE por sus siglas en español).

La segunda etapa, consistió en un monitoreo de la sensibilidad o resistencia de la roña del manzano al benomyl.

La tercera etapa, comprendió de un estudio genético sobre la heredabilidad de la resistencia de *V. inaequalis* al benomyl (fungicida de la familia de los bencimidazoles) y al triadimefon (fungicida del grupo de los IBE).

### **Evaluación de Fungicidas en el Campo**

Con el fin de observar la respuesta en el control de la roña del manzano a fungicidas de la familia de los bencimidazoles, al grupo de los IBE y a fungicidas preventivos se estableció un experimento bajo condiciones de campo en una huerta localizada en el Cañón de los Lirios, municipio de Arteaga, Coahuila.

## **Establecimiento del Experimento**

El ensayo se estableció mediante un diseño de bloques al azar, con cuatro repeticiones, tomando un árbol de la variedad Golden Delicious como parcela útil. De dicho árbol se seleccionaron dos ramas terminales orientadas a diferentes puntos cardinales para facilitar la toma de datos. Los fungicidas y dosis del producto por cada 100 lt de agua son indicadas en el Cuadro 3.1.

La primera aplicación se realizó el día 9 de Mayo y la última el 6 de septiembre de 1992. El intervalo de aplicaciones fue aproximadamente de cada 10 días, de acuerdo a las condiciones climáticas, realizando un total de 12 aplicaciones en las fechas indicadas en el Cuadro 3.2.

## **Parámetros a Evaluar**

Los parámetros a medir fueron la incidencia y severidad de la enfermedad en hojas y frutos. La incidencia de la enfermedad en hojas se determinó como el porcentaje de hojas con lesión en 50 hojas de cada una de las ramas marcadas de los árboles seleccionados. La incidencia de la enfermedad en frutos, se determinó como el porcentaje de frutos dañados por el patógeno, de una muestra de 50 frutos tomados al azar, por cada árbol seleccionado. La severidad de la enfermedad se determinó, por el por ciento de área foliar dañada por hoja y por el número de lesiones por fruto. Los resultados se evaluaron por análisis de varianza y la prueba de Duncan se utilizó para hacer la comparación de medias. Para estabilizar las varianzas se realizaron estas transformaciones; así los resultados sobre la incidencia de la enfermedad expresados en porcentaje se sometieron a la transformación angular de Bliss, mientras que los resultados concernientes a la

severidad de la enfermedad expresados como número de lesiones se llevaron a una transformación logarítmica antes del análisis estadístico (Cochran, 1967).

Cuadro 3.1. Tratamientos y dosis aplicadas para el control de *Venturia inaequalis* en los Lirios, Coahuila.

TRATAMIENTO	FUNGICIDAS	DOSIS/100 L DE AGUA	FAMILIA QUIMICA
1	Benomyl	50 g	Bencimidazol
2	Carbendazim	50 g	Bencimidazol
3	Tiabendazol	180 g	Bencimidazol
4	Triforine	125 ml	IBE
5	Ex 10307 A	80 ml	IBE
6	Ex 10307 A	100 ml	IBE
7	Captan	250 g	Ftalamidas
8	Manconzeb	250 ml	Ditiocarbamato
9	Agua	----	Testigo

Cuadro 3.2. Calendario de aspersión de fungicidas realizadas contra *Venturia inaequalis* en Los Lirios, Coahuila.

No.	FECHA DE APLICACION
1	9 de Mayo
2	23 de Mayo
3	30 de Mayo
4	6 de Junio
5	16 de Junio
6	27 de Junio
7	8 de Julio
8	24 de Julio
9	3 de Agosto
10	13 de Agosto
11	26 de Agosto
12	6 de Septiembre



### **Monitoreo de la Sensibilidad o Resistencia de *V. inaequalis* al benomyl**

Para realizar el monitoreo sobre la sensibilidad o resistencia de la población de *V. inaequalis* a el benomyl se muestrearon huertos localizados en tres Cañones de la Sierra de Arteaga, Coahuila, conocidos como, el Cañón de la Carbonera, el Cañón de los Lirios y el Cañón de San Antonio de las Alazanas. Se seleccionaron sitios de muestreo en donde se ha observado una pérdida de eficiencia en el combate de la enfermedad con los fungicidas benomyl y carbendazim. En las huertas seleccionadas (Cuadro 3.3) se obtuvieron muestras de hojas y frutos con síntomas de la enfermedad, las cuales se depositaron en bolsas de plástico y se etiquetaron para su traslado al laboratorio de Fitopatología de la Universidad.

De cada muestra se obtuvo una suspensión conidial; para ello se depositaron fracciones de tejido vegetal con signos del patógeno en tubos de ensaye con 5 ml de agua destilada estéril, se agitaron los tubos durante 1 min en un agitador eléctrico (marca Vortex-Genie). Enseguida se tomó 0.5 ml de la suspensión conidial con una pipeta Pasteur depositándose en cajas Petri con el medio de cultivo malta (1 por ciento) agar (1.5 por ciento) a 0 y 10 ppm de benomyl, con cuatro repeticiones por cada muestra.

Los medios de cultivo inoculados con la suspensión conidial se incubaron a obscuridad continua a 16 °C por 48 hr para inducir la germinación de las conidias. Al término de ese tiempo se realizó la observación bajo el microscopio compuesto con el objetivo 40 X contándose 100 conidias al azar, reportando el número de conidias germinadas y no germinadas.

Las conidias de cepas sensibles a una materia activa produce un tubo germinativo deforme, el cual colapsa a las 48 hr mientras que las conidias de cepas

resistentes a los fungicidas forman un tubo germinativo normal y desarrollan el micelio típico de *S. pomi*. De esta manera, se determinó el porcentaje de cepas resistentes, y las localidades en que estas se encuentran.

Cuadro 3.3 Localidades monitoreadas para observar niveles de la sensibilidad de *Venturia inaequalis* al benomyl en Arteaga, Coahuila.

---

**CAÑÓN DE LA CARBONERA**

- 1.-San Marcos
- 2.-Santa Anita
- 3.-Timones
- 4.-El Puerto
- 5.-El Tejocote

**CAÑÓN DE LOS LIRIOS**

- 1.-La Escondida
- 2.-Rancho Nuevo I
- 3.-Rancho Nuevo II
- 4.-San Rafael
- 5.-San Lorenzo
- 6.-La Conchita

**CAÑÓN DE SAN ANTONIO DE LAS ALAZANAS**

- 1.-Jamé
  - 2.-La Efigenia
  - 3.-Santa Rita
  - 4.-La Ciruela
  - 5.-Mesa de las Tablas
- 

Se realizó también un estudio de los niveles de resistencia durante el ciclo del cultivo de 1993, en los huertos donde se detectó la existencia de cepas de *V. inaequalis* resistentes al benomyl. Para esto, se tomaron muestras de hojas y frutos enfermos en diferentes fechas con los cuales se realizó una suspensión y se inoculó en cajas Petri con medio malta (1 por ciento) agar (1.5 por ciento) con 0 y 10 ppm de benomyl, con cuatro repeticiones como se determinó en el apartado anterior. Posteriormente los medios se

incubaron por 48 hr a 16 °C y se realizaron observaciones al microscopio compuesto con el objetivo 40 X efectuándose aislamientos monospóricos los que se incrementaron en medio malta (1 por ciento) agar (1.5 por ciento). Así mismo, se determinó el porcentaje de conidias resistentes al benomyl con la técnica descrita anteriormente.

### **Determinación de Factor de Resistencia de Cepas de *V. inaequalis* Resistentes a benomyl**

De las localidades en donde se observó la presencia de cepas resistentes al benomyl, se realizaron aislamientos monospóricos a partir de una suspensión conidial, para lo cual se depositaron trozos de hojas y frutos de manzano con signos del patógeno en tubos de ensaye con 5 ml de agua destilada estéril agitándose por 1 min en un agitador eléctrico (marca Vortex-Genie). A partir de esta suspensión se realizaron diluciones hasta  $10^{-1}$  de la que se tomó 0.5 ml con una pipeta Pasteur y se depositaron en cajas Petri con malta (1 por ciento) agar (1.5 por ciento) incubándose los medios por 48 hr a 16 °C para inducir la germinación de las conidias. Posteriormente bajo el microscopio compuesto al objetivo 40 X y con la ayuda de una aguja de disección se aislaron de una en una las conidias germinadas pasándose para su incremento en cajas Petri con medio malta (1 por ciento) agar (1.5 por ciento). Estos medios se incubaron a obscuridad continua a 16 °C durante 21 días, para inducir el crecimiento micelial. Posteriormente los aislamientos monospóricos fueron transferidos a manera de explantes de 5 mm de diámetro en medio malta (1 por ciento) agar (1.5 por ciento), adicionado con benomyl a 0, 0.01, 0.03, 0.05, 0.07, 0.1, 0.3, 1, 5, 10, 100, 250, 500 y 1000 ppm, incubándose a 16 °C por 21 días. Al término de este tiempo se determinó el por ciento de inhibición micelial, tomando como 100 por ciento el crecimiento micelial del testigo (0 ppm).

Con el por ciento de inhibición micelial, se realizó un análisis que se basó en el método de análisis probit de máxima verosimilitud, para lo cual se utilizó un programa de computadora. Con dicho programa se obtuvieron las dosis de 1 al 99 por ciento de inhibición micelial y sus límites fiduciales, con una probabilidad del 95 por ciento.

Posteriormente, se llevaron a cabo las pruebas de Chi cuadrada ( $\chi^2$ ) para obtener la bondad de ajuste con los valores obtenidos, lo que nos permitió inferir sobre el verdadero estado de susceptibilidad o resistencia de las poblaciones en cuestión y verificar si el modelo matemático que se utilizó fue el adecuado.

Asimismo, se obtuvieron los coeficientes de correlación ( $r^2$ ) para determinar la confiabilidad de los resultados obtenidos en el laboratorio. Finalmente, los resultados fueron representados gráficamente en escala logarítmica, con las que se obtuvieron las líneas de respuesta dosis inhibición correspondiente a cada cepa aislada, cuya posición permitió inferir sobre el estado de susceptibilidad o resistencia de cada una de las cepas y calcular el factor de resistencia (Leroux, 1987) el factor de resistencia se obtuvo por la siguiente fórmula:

$$FR = \frac{CI_{50} \text{ cepas resistentes}}{CI_{50} \text{ cepas susceptibles}}$$

Donde:

FR= Factor de resistencia.

CI<sub>50</sub>= Concentración inhibtriz 50

## **Estudio Genético de la Resistencia de *V. inaequalis* al benomyl y al triadimefon**

Para realizar el estudio genético de la resistencia de *V. inaequalis* al benomyl y al triadimefon, se utilizaron cepas monospóricas, aisladas en huertos comerciales de Inglaterra y Francia, en donde se detectó resistencia a fungicidas de la familia de los bencimidazoles y a los IBE. Las cepas utilizadas para este estudio, su origen geográfico y características son indicadas en el cuadro 3.4. Con estas cepas se realizaron 28 cruzamientos dado que *V. inaequalis* es un hongo heterotálico (cuadro 3.5). Todas las cepas se incubaron en medio malta (1 por ciento) agar (1.5 por ciento) por 21 días a 16 °C y obscuridad constante para su incremento.

### **Obtención de Pseudotecios**

Con el fin de obtener pseudotecios de *V. inaequalis in vitro* se utilizó el método del disco de hoja de manzano (Ross y Hamlin, 1962) empleándose hojas de la variedad Golden Delicious. Los discos con un diámetro de 2 cm se depositaron en matraces de 1000 ml con 500 ml de agua, en seguida se esterilizaron por dos ocasiones en autoclave a 15 lb de presión por 20 min. Posteriormente los discos se colocaron a razón de cuatro por caja Petri, con medio agua agar al 3 por ciento más 1 ml de ácido láctico por 1 lt de medio para inhibir el crecimiento bacteriano.

Los cruzamientos son realizados a partir de una mezcla de dos cepas (1:1 volumen) en forma de conidias y de fragmentos de micelio en suspensión en agua destilada estéril. En cada cruzamiento la suspensión de las cepas mezcladas se agitaron en un agitador eléctrico (marca Vortex-Genie), durante un minuto antes de la inoculación. La inoculación se realizó en el centro de cada disco depositandose 0.5 ml de la suspensión con una pipeta manual se incubaron a 20 °C por 3 semanas, para inducir el

crecimiento micelial, y posteriormente a 8 °C por un período de 4 meses para inducir la formación de pseudotecios.

Cuadro 3.4. Características y lugar de origen de las cepas de *Venturia inaequalis* estudiadas.

CEPA	LUGAR DE ORIGEN	VARIEDAD O HIBRIDO <sup>1</sup>	AÑO	CARACTERÍSTICAS <sup>2</sup>
101	Inglaterra	N.D.	1977	S.B. Y S.IBE
104	Francia	G.D.	1978	R.B. Y S.IBE
133	Francia	G.D.	1985	S.B. Y S.IBE
147	Francia	X 2225	1985	S.B. Y S.IBE
174	Francia	X 2045	1985	S.B. Y S.IBE
179	Francia	G.D.	1986	R.B. Y R.IBE
182	Francia	N.D.	N.D.	R.B Y R.IBE
428	Francia	G.D.	1989	S.B. Y R.IBE

1= ND-No determinado

GD-Golden Delicious

X2225 híbrido con gen de resistencia Vm

X2045 híbrido con gen de resistencia Vm

2= SB-susceptible al benomyl

SIBE-susceptible a IBE

RB-resistente al benomyl

RIBE-resistente a IBE

Cuadro 3.5 Cruzamientos realizados para la obtención de pseudotecios de *Venturia inaequalis*.

CEPA	101	104	133	147	174	179	182	428
101	-	+	+	+	+	+	+	+
104		-	+	+	+	+	+	+
133			-	+	+	+	+	+
147				-	+	+	+	+
174					-	+	+	+
179						-	+	+
182							-	+
428								-

+ = Cruzamientos realizados

- = Sin Cruzamiento

### **Aislamientos monoascoasporicos**

Una vez que los pseudotecios presentaron ascosporas maduras se realizaron aislamientos monoascospóricos. Para ello los pseudotecios maduros se tomaron con una aguja de disección y se depositaron en un portaobjetos estéril con una gota de agua destilada estéril, en seguida bajo el microscopio compuesto (10 X) el pseudotecio se presiona con una varilla de vidrio dejando libres las ascas y ascosporas. Esta suspensión se inoculara en cajas Petri con medio malta (1 por ciento) agar (1.5 por ciento). Los medios se incubaron de 36 a 48 hr a 16 °C y posteriormente las ascosporas germinadas son aisladas con una aguja de disección bajo el microscopio compuesto (10 X) y sembradas en un medio malta (1 por ciento) agar (1.5 por ciento) a 16 °C para su incremento y utilizarlas en estudios posteriores.

### **Estudios sobre la heredabilidad de la resistencia de *V. inaequalis* al benomyl**

De cepas monoascospóricas incrementadas se tomaron explantes de 0.5 cm de diámetro depositándolas en cajas Petri con medio malta (1 por ciento) agar (1.5 por ciento) más benomyl a una concentración de 0.0 5 y 10 ppm. En seguida los medios se incubaron a 16 °C por 21 días. Al término de este tiempo se observó si las cepas presentaban crecimiento en los medios con benomyl y sin éste, cuantificandose el número de cepas resistentes y el número de cepas sensibles al fungicida. Con los resultados obtenidos se realizó la prueba de chi cuadrada ( $\chi^2$ ). Si la proporción obtenida de cepas sensibles y resistentes es de tipo 1:1 se considera la resistencia de tipo monogénico, si no, la resistencia puede ser de tipo poligénica.

### **Estudios sobre la Heredabilidad de la Resistencia de *V. inaequalis* al triadimefon**

De cada cepa monoconidial incrementada se tomaron explantes de micelio de 0.5 cm de diámetro depositándolos en cajas Petri con medio malta (1 por ciento) agar (1.5 por ciento) más triadimefon a las concentraciones de 0.0, 0.5, 1, 2.5, 5, 10 y 18 ppm, incubándose a 16 °C por 21 días. Al término de este tiempo, se observó el crecimiento micelial para determinar la resistencia o susceptibilidad de las cepas al producto. Basados en las características de las cepas francesas, se consideró como cepas resistentes, aquellas que presentaban desarrollo micelial a concentraciones mayores de 2.5 ppm y como cepa susceptible, aquella que no presentaba desarrollo micelial a concentraciones mayores a 2.5 ppm. Con los resultados obtenidos se realizó la prueba de la chi cuadrada ( $\chi^2$ ). Si la proporción obtenida de cepas sensibles y resistentes es de tipo 1:1 se considera la resistencia como monogénica, si no, la resistencia puede ser de tipo poligénica.

Además de lo anterior, se obtuvo el por ciento de inhibición micelial de cada una de las cepas monoascospóricas con lo que se llevó a cabo un análisis probit de máxima verosimilitud, para obtener las dosis de 1 al 99 por ciento de inhibición micelial y sus límites fiduciales, con una probabilidad del 95 por ciento. Se realizó también, la prueba de la chi cuadrada ( $\chi^2$ ) para obtener la bondad de ajuste, con los valores obtenidos para verificar si el modelo utilizado fue el más adecuado. Se obtuvieron además los coeficientes de correlación ( $r^2$ ) para determinar la confiabilidad de los resultados obtenidos, para posteriormente representar gráficamente los resultados en escala logarítmica, con las que se obtuvieron las líneas de respuesta dosis-inhibición correspondientes a cada cepa realizándose también el cálculo de el factor de resistencia (FR) de acuerdo con Leroux (1987).



## RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados del presente trabajo se presentaran en tres etapas:

La primera de ellas, muestran los resultados sobre la aplicación de fungicidas bajo condiciones de campo para observar la respuesta de *V. inaequalis* a fungicidas de la familia de los bencimidazoles, al grupo de los IBE.

La segunda etapa, detalla los resultados del monitoreo de la sensibilidad o resistencia de *V. inaequalis* al benomyl.

La tercera etapa, describe los resultados sobre un estudio genético de la heredabilidad de la resistencia de *V. inaequalis* al benomyl y al triadimefon.

### Evaluación de fungicidas en el campo

Los resultados obtenidos sobre el efecto de fungicidas contra *V. inaequalis* bajo condiciones de campo se evaluaron en función de la incidencia y severidad de la enfermedad en hojas y frutos.

#### Incidencia en Hoja

La incidencia de *V. inaequalis* en hojas varia de 56.54 a 83.63 por ciento (cuadro 4.1). El análisis de varianza indica que existe una diferencia significativa entre

tratamientos (cuadro A.1 del apéndice). La prueba de rango múltiple de Duncan nos indica que el único tratamiento diferente al testigo es el 5 (Ex 10307-A a una dosis de 80 ml/100 lt de agua). Para este parámetro es necesario indicar que el por ciento de hojas afectadas por *V. inaequalis* en los tratamientos con benomyl, carbendazim y tiabendazol (fungicidas bencimidazoles) es muy cercano al testigo, 74.45, 75.79, 74.57 y 83.63 respectivamente, mientras que la incidencia más baja se observa con el producto experimental Ex 10307-A (fungicida del grupo de los IBE) a una dosis de 80 y 100 ml/100 lt de agua con 56.54 y 66.64 por ciento de incidencia. Por otra parte, en la figura 4.1, se observa que al principio todos los tratamientos se encontraban en un rango de 53 a 60 por ciento de incidencia de enfermedad, hecho que fue influenciado por la existencia de condiciones de temperatura y humedad muy favorables para la enfermedad (17.6 °C y 70 por ciento de H.R.). Se distingue, también que a partir del mes de Julio, las condiciones climatológicas cambiaron (22.5 °C y 52 por ciento de H.R.), y el efecto de los productos fue diferente a partir de ese momento, y hasta la cosecha, en donde el tratamiento número 5 (Ex-10307 A) fue el que presentó una menor incidencia de la enfermedad.

Cuadro 4.1. Incidencia de *Venturia inaequalis* en hoja de manzano, en Arteaga, Coahuila.

Tratamientos	Incidencia <sup>1</sup>	Prueba de Duncan <sup>2</sup>
9	83.63	A
8	76.78	AB
2	75.79	AB
3	74.57	AB
1	74.45	AB
4	71.99	AB
7	71.83	AB
6	66.64	AB
5	56.54	B

1= Por ciento promedio de 800 hojas infectadas con *V. inaequalis*.

2= Valores con la misma letra son estadísticamente iguales a 5% de significancia.

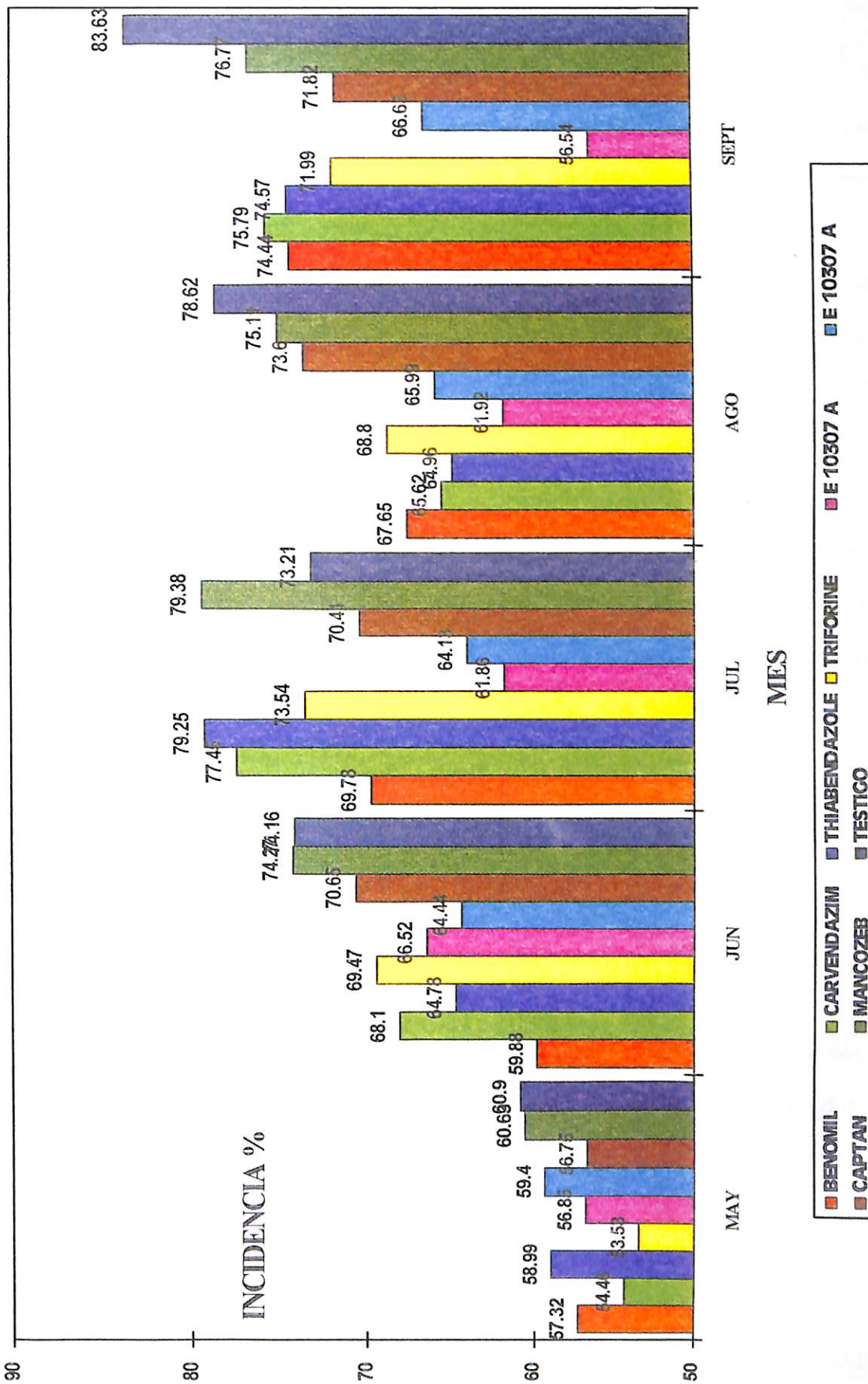


FIGURA 4.1. INCIDENCIA DE “*Venturia inaequalis*” EN HOJAS DE MANZANO

### **Severidad en Hoja.**

La severidad en hojas de *V. inaequalis* varía de 15.07 a 25.87 por ciento de área foliar lesionada (cuadro 4.2). El análisis de varianza muestra una diferencia altamente significativa entre tratamientos (cuadro A.2 del apéndice). La prueba de rango múltiple de Duncan nos indica que el único tratamiento estadísticamente similar al testigo es el 8 (manconzeb, 250 ml/100 lt de agua). El resto de los tratamientos se comportan diferentes al testigo, siendo estadísticamente similares entre si.

En la figura 4.2 se observa que la enfermedad tiene un nivel del 3 a 10 por ciento durante los primeros meses, pero presenta un incremento substancial después del mes de Agosto, precisamente antes de la cosecha. Observaciones similares de incremento de la enfermedad en periodos próximos a la cosecha, son realizados por Jeger (1981) quién indica que hay una producción de hojas nuevas en los meses de Junio y Julio siendo muy susceptibles al patógeno aumentando el número de lesiones por hoja.

### **Incidencia en Fruto**

La incidencia de la enfermedad en fruto expresada como porcentaje de este con lesiones de *V. inaequalis* varía de 4.92 en el mejor tratamiento a 90 por ciento en el testigo. El análisis de varianza muestra una diferencia altamente significativa entre tratamientos (cuadro A.3 del apéndice). La prueba de Duncan (cuadro 4.3) nos indica que los mejores tratamientos son el 5 (Ex 10307-A a dosis de 80 ml/100 lt de agua) y 6 (Ex 10307-A a dosis de 100 ml/100 lt de agua). Estos tratamientos son seguidos por el 4 (triforine a dosis de 125 ml/100 lt de agua). Cabe señalar que los tratamientos 4, 5 y 6 contienen fungicidas del grupo de los IBE. El resto de los tratamientos incluidos el 1, 2 y

3 benomyl, carbendazim y tiabendazol (fungicidas bencimidazoles) son estadísticamente iguales al testigo, sus incidencias son de 76.2, 68.06, 73.9 y 90.0 por ciento respectivamente. Esto es importante indicarlo dado que puede considerarse ya como una pérdida de efectividad de los fungicidas bencimidazoles a *V. inaequalis* por el desarrollo de cepas resistentes a estos fungicidas.

Cuadro 4.2. Severidad de *Venturia inaequalis* en hojas de manzano, en Arteaga, Coahuila.

Tratamientos	Severidad <sup>1</sup>	Prueba Duncan <sup>2</sup>
9	25.87	A
8	20.80	AB
1	20.10	B
4	18.54	B
3	18.12	B
2	17.90	B
7	17.90	B
6	16.12	B
5	15.07	B

1= Por ciento promedio de 800 hojas infectadas con *V. inaequalis*.

2= Valores con la misma letra son estadísticamente iguales al 5% de significancia

En la figura 4.3, se observa que la incidencia de la enfermedad en el fruto fue elevada desde el mes de mayo variando esta de 48.17 a 61.82 por ciento, siguiendo su incremento en todos los tratamientos en el mes de Junio (61.8 a 90.0 por ciento). A partir de este mes se observa una diferenciación muy notoria en cuanto a la tendencia de cada uno de los tratamientos, siendo los mejores los tratamientos 5, 6 y 4 todos ellos del grupo de los IBE. Por otra parte el testigo presentó un 90 por ciento de incidencia y siempre mantuvo el mayor número de frutos dañados en comparación de los tratamientos restantes

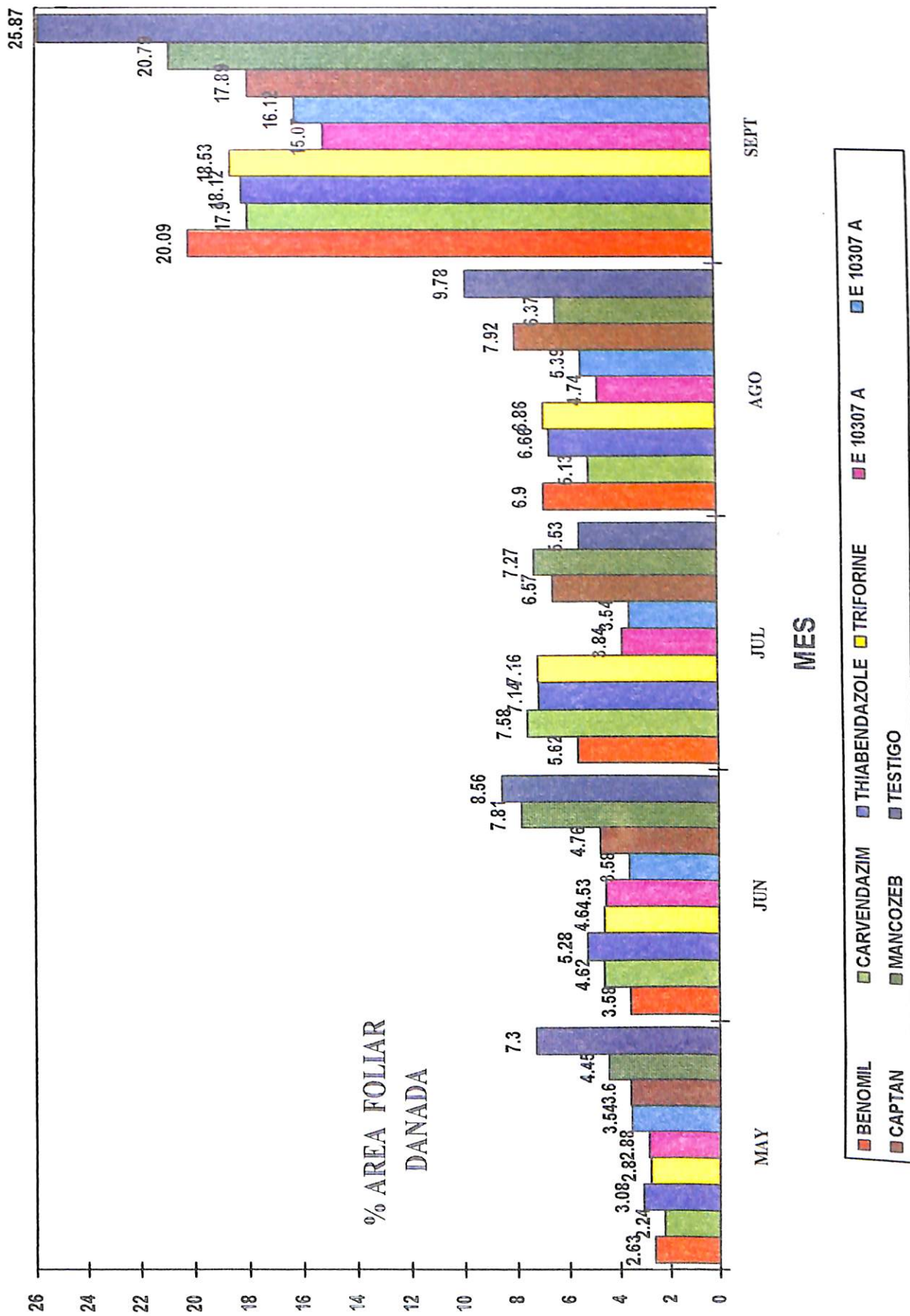


FIGURA 4.2. SEVERIDAD DE “*Venturia inaequalis*” EN HOJAS DE MANZANO

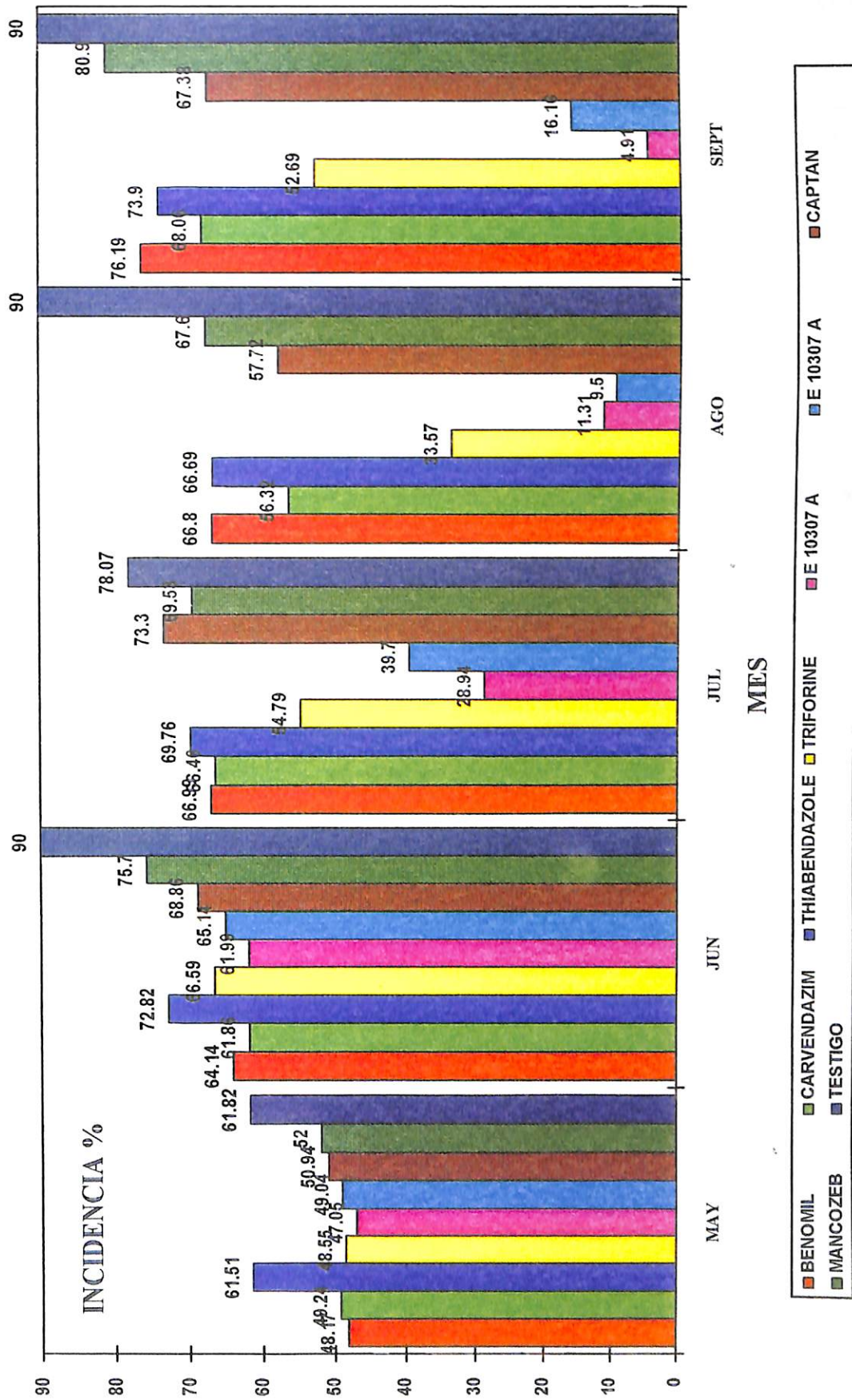


FIGURA 4.3. INCIDENCIA DE “*Venturia inaequalis*” EN FRUTOS DE MANZANO

Cuadro 4.3. Incidencia de *Venturia inaequalis* en frutos de manzano en Arteaga, Coahuila.

Tratamientos	Incidencia <sup>1</sup>	Prueba Duncan <sup>2</sup>
9	90.00	A
8	80.96	AB
1	76.20	AB
3	73.90	AB
2	68.06	AB
7	67.39	AB
4	52.70	B
6	16.17	C
5	4.92	C

1=Por ciento promedio de 200 frutos infectados por *V. inaequalis*.

2= Valores con la misma letra son estadísticamente iguales al 5% de significancia

### Severidad en fruto.

Al igual que en las otras pruebas realizadas, la enfermedad presentó diferencias altamente significativas entre tratamientos con respecto a la severidad en fruto (cuadro 5.4, del apéndice). La prueba de rango múltiple de Duncan (cuadro 4.4) indica que el número de lesiones por fruto varía de 1.32 a 0.01 para los diferentes tratamientos, en donde los tratamientos 5 y 6 (Ex 10307-A a 80 y 100 ml/100 lt de agua), presentaron una severidad menor (0.01 y 0.08 respectivamente) a la del resto de los tratamientos. El tratamiento 4 (triforine a una dosis de 125 ml/100 lt de agua) sigue al 5 y 6 (Ex 10307 A a 80 y 100 ml/100 lt de agua), todos ellos pertenecientes al grupo de los IBE, siendo estadísticamente diferentes al resto de los tratamientos.

En la figura 4.4, se observa que la protección sobre los frutos, fue diferente para cada tratamiento desde el primer mes de aplicación. En el mes de Junio, se observa que los árboles protegidos con cualquiera de los productos, reduce la severidad de la enfermedad hasta en un 50 por ciento en relación con el testigo, que fue el tratamiento con mayor



daño durante todo el ciclo del cultivo. Uno de los tratamientos que presenta el grado de severidad alto es el número 8 (manconzeb a una dosis de 250 ml/100 lt de agua), en cambio, los tratamientos 1 (benomyl 50 g/100 lt de agua), 2 (carbendazim 50 g/100 lt de agua), 3 (tiabendazol 180 g/100 lt de agua), 4 (triforine 125 ml/100 lt de agua) y 7 (captan 250 g/100 lt de agua), mantienen un nivel de daño estable a partir del mes de Junio hasta el mes de Septiembre, presentando un control de la enfermedad similar entre si, mientras que los tratamientos 5 y 6 (Ex 10307-A a 80 y 100 ml/100 lt de agua), tuvieron una tendencia a disminuir el número de lesiones por fruto, lo cual los ubica como los tratamientos más eficaces empleados en el control de la roña del manzano.

Cuadro 4.4. Severidad de *Venturia inaequalis* en fruto de manzano en Arteaga, Coahuila.

Tratamientos	Severidad <sup>1</sup>	Prueba Duncan <sup>2</sup>
9	1.32	A
8	1.17	AB
3	0.81	ABC
7	0.77	BC
2	0.66	BC
1	0.65	BC
4	0.52	CD
6	0.08	D
5	0.01	D

1= Número promedio de lesiones por fruto de *V. inaequalis*

2= Valores con la misma letra son estadísticamente iguales al 5% de significancia.

Si hacemos una comparación de las figuras 4.1 a la 4.4, podemos observar que el tratamiento número 5 (Ex 10307-A a 80 ml/100 lt de agua) supera siempre a los demás tratamientos, el cual aunque presentó una alta incidencia en hojas (56 por ciento), la severidad en hojas estadísticamente similar a el resto de los fungicidas, si ofrece una buena protección en frutos. Es necesario indicar que las aplicaciones se iniciaron cuando la enfermedad ya se encontraba presente, y que las condiciones ambientales en este año

fueron favorables para el desarrollo del patógeno. El tratamiento que más se acerca al anterior es el número 6 (Ex 10307 A a 100 ml/100 lt de agua) , el que de hecho es el mismo producto, pero a diferentes dosis; cabe señalar, que este fungicida es un producto perteneciente a la familia de los IBE en fase experimental. Los IBE han tenido gran éxito en el control de la roña del manzano (Kelley y Jones, 1981; Schwabe *et al.*, 1984; Biggs y Warner, 1987) comportándose en este experimento muy eficiente para el control de *V. inaequalis*. En trabajos realizado por Mendoza *et al.*(1992), se observa que la aplicación de fungicidas triazoles (pertenecientes a fungicidas del grupo de los IBE) presentaron un control de 80 a 99.8 por ciento mientras que con productos preventivos se presentó un control de 21.4 por ciento, lo que indica que productos de la familia de los IBE son una alternativa en el manejo de la roña del manzano, sin embargo, deben emplearse racionalmente dado que son productos con un alto riesgo de inducción de resistencia si no se manejan adecuadamente (Thind *et al.* 1986).

Al comparar los tratamientos del grupo de los IBE (4, 5 y 6), con los tratamientos con productos bencimidazoles (1, 2 y 3), es notorio que los primeros, superan en eficiencia a los segundos lo que nos hace suponer que la presencia elevada de la enfermedad en esos tratamientos puede deberse más que a un mal manejo del cultivo, a la existencia de cepas resistentes a ese grupo de productos químicos, aunado a lo anterior es necesario considerar también que los bencimidazoles se han aplicado en la región por más de 10 años consecutivos ejerciendo una presión de selección que favorece la aparición de cepas de *V. inaequalis* resistentes al benomyl y por productos afines. Al respecto, los trabajos realizados en la región de los Lirios, Coah., por Soria *et al.* (1993) ponen en evidencia la eficiencia del benomyl, ya que los resultados muestran un mayor control de la enfermedad con productos de contacto, (manconzeb con 97.3 por ciento de control) que con productos curativos (benomyl con 79.2 por ciento de control).

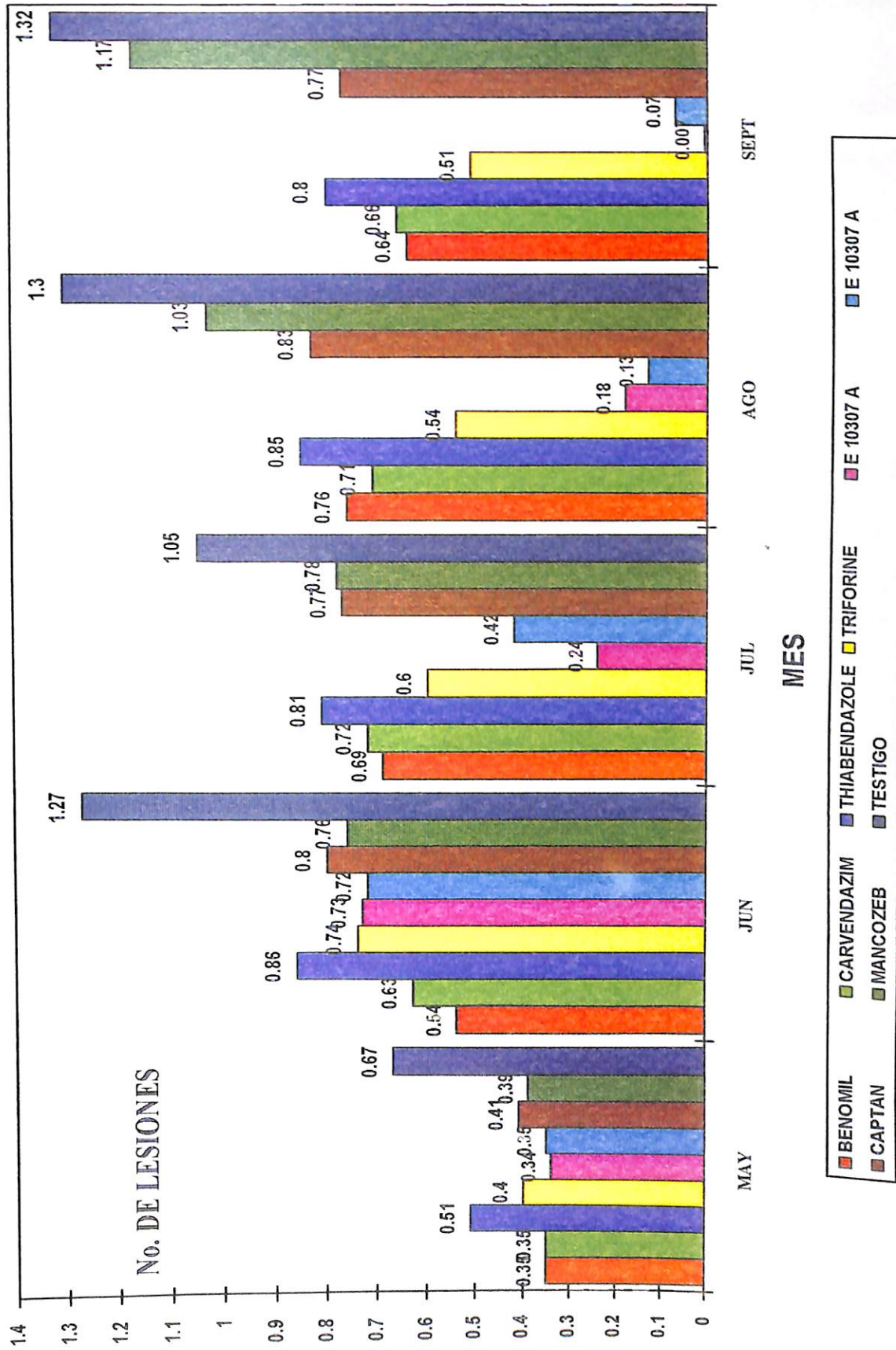


FIGURA 4.4. SEVERIDAD DE “*Venturia inaequalis*” EN FRUTOS DE MANZANO

### Monitoreo de la Sensibilidad o Resistencia de *V. inaequalis* al benomyl

En los tres cañones de la Sierra de Arteaga monitoreados, para obtener los niveles de sensibilidad al benomyl, se determinó que en dos de ellos existen poblaciones de *V. inaequalis* resistentes al benomyl. Los Cañones con cepas resistentes son el Cañón de los Lirios y el Cañón de San Antonio de las Alazanas (cuadro 4.5).

En el cañón de la carbonera se observó un 100 por ciento de esporas susceptibles al benomyl. Esto es debido a que bajo las condiciones climáticas de esta región el patógeno se presenta de manera importante solo en años frescos y húmedos (que son más raros) que es cuando se utilizan los productos curativos, en tanto que en años normales el manejo de la enfermedad es realizado con fungicidas de contacto. Por lo anterior, las aplicaciones con benomyl son más espaciadas y no existe presión de selección sobre el patógeno por la acción de estos químicos.

Por el contrario en el cañón de los Lirios, se observó que en todas las localidades monitoreadas se presentaron cepas de *V. inaequalis* resistentes en mayor o menor grado al benomyl (cuadro 4.5). Este fenómeno se puede explicar por que en esa región hay un uso excesivo de fungicidas y especialmente de productos bencimidazoles sobresaliendo entre ellos el benomyl. Con dicho fungicida se realizan de 6 a 10 aplicaciones al año, debido a que las condiciones ambientales son más húmedas, además de la etapa fenológica del cultivo en que se presentan las primeras infecciones del patógeno. La necesidad de realizar el citado número de aplicaciones, es como ya se señaló, a que las condiciones ambientales en esta región favorecen el desarrollo del hongo durante la mayor parte del ciclo del manzano.

Cuadro 4.5. Monitoreo de sensibilidad o resistencia de *Venturia inaequalis* a benomyl en la Sierra de Ateaga, Coahuila durante 1993.

NOMBRE DEL CAÑON	% S*	% R **
<b>CAÑON DE LA CARBONERA</b>		
1.-San Marcos	100%	0%
2.-Santa Anita	100%	0%
3.-Timones	100%	0%
4.-El Puerto	100%	0%
5.-El Tejocote	100%	0%
<b>CAÑON DE LOS LIRIOS</b>		
1.-La Escondida	82%	18%
2.-Rancho Nuevo I	28%	72%
3.-Rancho Nuevo II	15%	85%
4.- San Rafael	66%	34%
5.-San Lorenzo	92%	8%
6.-La Conchita	85%	15%
<b>CAÑON DE SAN ANTONIO DE LAS ALAZANAS</b>		
1.-Jamé	100%	0%
2.- La Efigenia	100%	0%
3.-Santa Rita	100%	0%
4.- La Ciruela	100%	0%
5.-Mesa de las Tablas	97%	3%

\* % de Susceptibilidad.

\*\* % de Resistencia

Así, los bencimidazoles se han utilizado en la región por más de 10 años consecutivos (Hernández, 1982) lo que se ha inducido la presencia de cepas de *V. inaequalis* resistentes al benomyl. Esta situación no es privativa de México sino lo contrario. La resistencia de la roña del manzano a fungicidas de la familia de los bencimidazoles se reportó por primera vez en Australia en 1974 (Wicks, 1974), de ahí en adelante se ha detectado prácticamente en todo el mundo (Schwabe, 1979; Novacka *et al.*, 1977; Shabi *et al.*, 1983; Stanis y Jones, 1984 y Northover, 1986).

La diferencia que existe en la proporción de cepas sensibles y resistentes entre las comunidades monitoreadas, del cañón de los Lirios (cuadro 4.5) puede deberse a que el control químico de la roña del manzano en cada huerto es diferente por lo que puede esperarse una variación del por ciento de esporas susceptibles y resistentes ahí encontradas. Dado lo anterior se puede mencionar que las comunidades con menos proporción de cepas resistentes fueron San Lorenzo y la Conchita las cuales son huertos con un mínimo manejo del cultivo, lo que implica pocas aplicaciones de químicos, y por lo tanto, menor presencia de cepas resistentes. Caso contrario se presenta en los huertos localizados en Rancho Nuevo, los que son expuestos constantemente a fungicidas sistémicos ocasionando así una fuerte presión de selección sobre el patógeno.

Además de lo anterior, se debe de tomar en cuenta la capacidad de diseminación del patógeno, y la posibilidad de que cepas resistentes se diseminan rápidamente de un huerto a otro, más aún, si ello es favorecido por las corrientes de aire, las cuales son muy comunes en estas regiones.

Por lo anteriormente citado se puede decir que en los huertos localizados en el Cañón de los Lirios y especialmente, los ubicados en la comunidad de Rancho Nuevo se presentan poblaciones importantes de *V. inaequalis* resistentes al benomyl. Este hecho es probablemente debido a los siguientes factores:

- a).- Condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad durante todo el ciclo del manzano.
- b).- Gran cantidad de aplicación de fungicidas sistémicos.
- c).- Capacidad reproductiva del patógeno (policíclica).
- d).- Diseminación de esporas entre los huertos.

En el Cañón de San Antonio de las Alazanas, en la comunidad denominada Mesa de las Tablas, se encontró una pequeña proporción de cepas resistentes (3 por ciento), (cuadro 4.5); sin embargo, es necesario hacer notar que dicha localidad está ubicada en una área en donde hay poco uso de productos químicos lo que nos hace suponer que la presencia de estas cepas resistentes es debido a su existencia natural dentro de la población original de *V. inaequalis*. Al respecto, Ortiz (1990) menciona que existe una alta probabilidad de que haya cepas resistentes en las poblaciones originales antes de que sean expuestas a la acción de un fungicida, debido a los mecanismos de variabilidad genética de los hongos.

El estudio de los niveles de resistencia de *V. inaequalis* al benomyl durante el ciclo de cultivo de 1993, se inició a principios del mes de Agosto, debido a que en ese año la enfermedad se manifestó hasta el citado mes. Los resultados indican que el porcentaje de conidias resistentes de *V. inaequalis* varia de 22.5 a 90 por ciento de acuerdo a las fechas de muestreo (cuadro 4.6). En el citado cuadro se observa que conforme avanza el ciclo del cultivo, se presenta un incremento en la proporción de individuos resistentes, lo que indica que el patógeno tiene niveles bajos de resistencia al inicio del ciclo de cultivo y altos al final del mismo. Este hecho pudiera indicarnos que la aparición de cepas resistentes se incrementa conforme se hace presión de selección por aplicación de fungicidas a medida que avanza la temporada, ya que inició en este ciclo de cultivo con un 22.5 por ciento de individuos resistentes en promedio. Sin embargo, los individuos resistentes al momento de la cosecha fue de 90 por ciento. Esto es de cuidado, ya que es de esperarse que para el ciclo de cultivo 1994, se tenga una población de *V. inaequalis* más resistente al benomyl

Cuadro 4.6. Porcentaje de conidias de *Venturia inaequalis* resistentes y susceptibles al benomyl en los Lirios, Coahuila durante 1993.

FECHA	REPETICION	% DE RESISTENCIA	% DE SENSIBLES
<b>AGOS.</b> 7	1	23%	77%
	2	18%	82%
	3	28%	72%
	4	21%	79%
<b>PROM</b>		<b>22.5%</b>	<b>77.5%</b>
<b>AGOS.</b> 21	1	78%	22%
	2	82%	18%
	3	78%	22%
	4	74%	26%
<b>PROM</b>		<b>78%</b>	<b>22%</b>
<b>SEPT.</b> 6	1	48%	52%
	2	64%	36%
	3	54%	46%
	4	51%	49%
<b>PROM</b>		<b>54.2%</b>	<b>45.8%</b>
<b>SEPT.</b> 15	1	85%	15%
	2	90%	10%
	3	95%	5%
	4	90%	10%
<b>PROM</b>		<b>90%</b>	<b>10%</b>

Es necesario indicar que en la fecha del 6 de Septiembre se observa una baja en el porcentaje de individuos resistentes (cuadro 4.6). Esto es probablemente debido a que en la citada fecha se observó una notable disminución en la germinación de conidias, la que se atribuye a factores climatológicos adversos al patógeno presentes en los días previos al muestreo, caracterizados por temperaturas de 21.4 °C y Humedad Relativa de 59 por ciento. Dichas condiciones pudieron haber ocasionado una pérdida en la capacidad de germinación de las esporas como lo indican Jones y Aldwinckle (1990).



## **Determinación del Factor de Resistencia de Cepas de *V. inaequalis* Resistentes al benomyl**

Los aislamientos monospóricos realizados de la región de Los Lirios, Coah. fueron en total 34, de ellos 33 cepas son resistentes al benomyl y una cepa es susceptible. De estos aislamientos se obtuvieron los valores correspondientes a la concentración inhibitriz media ( $CI_{50}$ ).

En el cuadro 4.7, se observa que las cepas del patógeno presentan diferencias en la  $CI_{50}$  y de acuerdo a sus límites fiduciales se observa que los niveles de las cepas aisladas tienen la tendencia a comportarse dentro de una curva normal ya que la gran mayoría de estas tiene una concentración inhibitriz media, que va de 30 a 75 ppm (cepa 17 a la cepa 9, cuadro 4.7), las cuales pueden considerarse como intermedias, una pequeña porción de las cepas son inhibidas solo a concentraciones mayores de 100 ppm (cepas 2,4,1,10 y 3, cuadro 4.7), y las restantes se encuentran en una concentración inhibitriz por abajo de 30 ppm (cepas de la 21 a la 28, cuadro 4.7).

La cepa número 21 fue aislada en los Lirios Coah., y es considerada susceptible por presentar una  $CI_{50}$  de 0.12 ppm, dicha concentración es similar a la observada con dos aislamientos franceses susceptibles al benomyl (cepas 101 y 133, cuadro 4.7). Asimismo, es necesario indicar que la  $CI_{50}$  mas baja de una cepa resistente (cepa 14) fue de 18.9 ppm y la mas alta se observa en la cepa 3 con una  $CI_{50}$  de 408.6 (cuadro 4.7).

Cuadro 4.7. Dosis letales, límites fiduciales al 95% y factores de resistencia de cepas de *Venturia inaequalis* aisladas en los Lirios, Coahuila y expuestas al benomyl.

# CEPA	CI <sub>50</sub>	LIMITE INFERIOR	LIMITE SUPERIOR	CI <sub>90</sub>	F.R.
21	0.12	0.107	0.147	0.496	1
14	18.9	11.3	30.0	1788	145
18	19.8	12.6	33.4	862.4	152
32	24.4	19.2	32.0	158.3	187
15	26.2	18.9	37.6	301.1	201
24	26.5	20.4	34.9	151.4	203
29	26.8	19.2	36.7	581.3	206
28	28.4	18.6	44.1	1539	218
17	30.4	18.3	58.5	2022	233
5	33.2	24.1	45.6	478.5	225
19	33.2	22.2	50.0	1382.2	225
27	33.5	24.7	44.9	521.6	257
11	35.7	23.6	54.6	1716.7	274
13	37.7	23.7	68.3	1456.6	290
34	40.2	29.4	56.8	983.1	309
16	40.6	30.1	55.2	861.2	314
30	42.2	33.5	53.6	326.1	324
22	43.4	28.8	64.4	2617.5	333
20	44.7	28.9	78.2	1205.7	343
25	44.8	31.8	64.2	932.4	344
33	44.8	34.6	58.1	689.4	344
26	46.8	33.9	65.5	754.8	360
23	55.1	39.3	76.1	1307.1	423
12	56.0	41.5	75.6	633.2	430
7	60.8	46.6	78.9	430.1	467
6	63.1	44.4	91.5	1440.6	485
31	67.4	49.3	96.2	1321.67	518.5
8	69.4	54.4	87.8	354.52	533.8
9	77.9	54.0	115.7	2048.87	599.2
2	102.6	71.2	153.9	2535.99	789.2
4	111.0	76.0	163.8	5487.75	853.8
1	133.8	102.6	172.3	1258.85	1029.2
10	206.9	145.0	315.6	3599.37	1591.5
3	408.6	271.2	666.7	20986.9	3143.1
* 101	0.12	0.113	0.149	0.334	1
* 133	0.14	0.121	0.154	0.407	1

\* Cepas susceptibles aisladas en Francia

Stanis y Jones (1984) clasifican a las cepas resistentes a benomyl, en tres categorías: como cepas con baja resistencia las que crecían a 1  $\mu\text{g/mL}$  pero no a 10  $\mu\text{g/mL}$  de benomyl, de resistencia media se desarrollaban a 10  $\mu\text{g/mL}$  pero no a 25  $\mu\text{g/mL}$  y las altamente resistentes las cuales crecían por arriba de 500  $\mu\text{g/mL}$  de benomyl. De acuerdo a lo anterior, los resultados obtenidos del Cañón de los Lirios se clasifican a las cepas aisladas en la categoría de cepas altamente resistentes.

De acuerdo a los resultados obtenidos se realizó una gráfica logarítmica la que es representada en la figura 4.5, en donde se presentan seis grupos estadísticamente diferentes de cepas resistentes al benomyl. El primer grupo representa a la única cepa susceptible aislada en el Cañón de los Lirios y las dos cepas aisladas en Francia, usadas para comparación. En otro grupo se localizan las cepas resistentes con dosis de inhibición más bajas, de los cuales sus límites inferiores son de 11.3 a 20.4 ppm, seguido por el grupo en donde inciden la mayoría de las cepas aisladas, que va de 24.1 a 41.5 ppm en su límite fiduciario inferior, y los grupos de cepas con más alta resistencia, son indicados por una  $\text{CI}_{50}$  de 44.4 a 102.6 ppm, seguido por el que va de 145 a 315.6 y por último, la cepa más resistente de 271.2 a 666.7 ppm. Los factores de resistencia de la mayoría de las cepas resistentes se ubican entre 200 y 500 (en el cuadro 4.7 de la cepa 15 a la 8). Sin embargo también se presentan cepas con factores de resistencia superiores a 1000 (cepas 1, 10 y 3, cuadro 4.7).

En cuanto a los coeficientes de correlación ( $r^2$ ), se observa que en general los valores estimados fueron entre el 80 y 99 por ciento (cuadro 4.8), alrededor del 70 por ciento solamente en las cepas 11 y 23. Lo anterior indica que los resultados de los bioensayos presentan un ajuste para tender a una buena línea de regresión por lo que se tiene una alta confiabilidad de los estudios de laboratorio para explicar la resistencia o susceptibilidad de las cepas de *V. inaequalis*, aisladas en Arteaga, Coah.

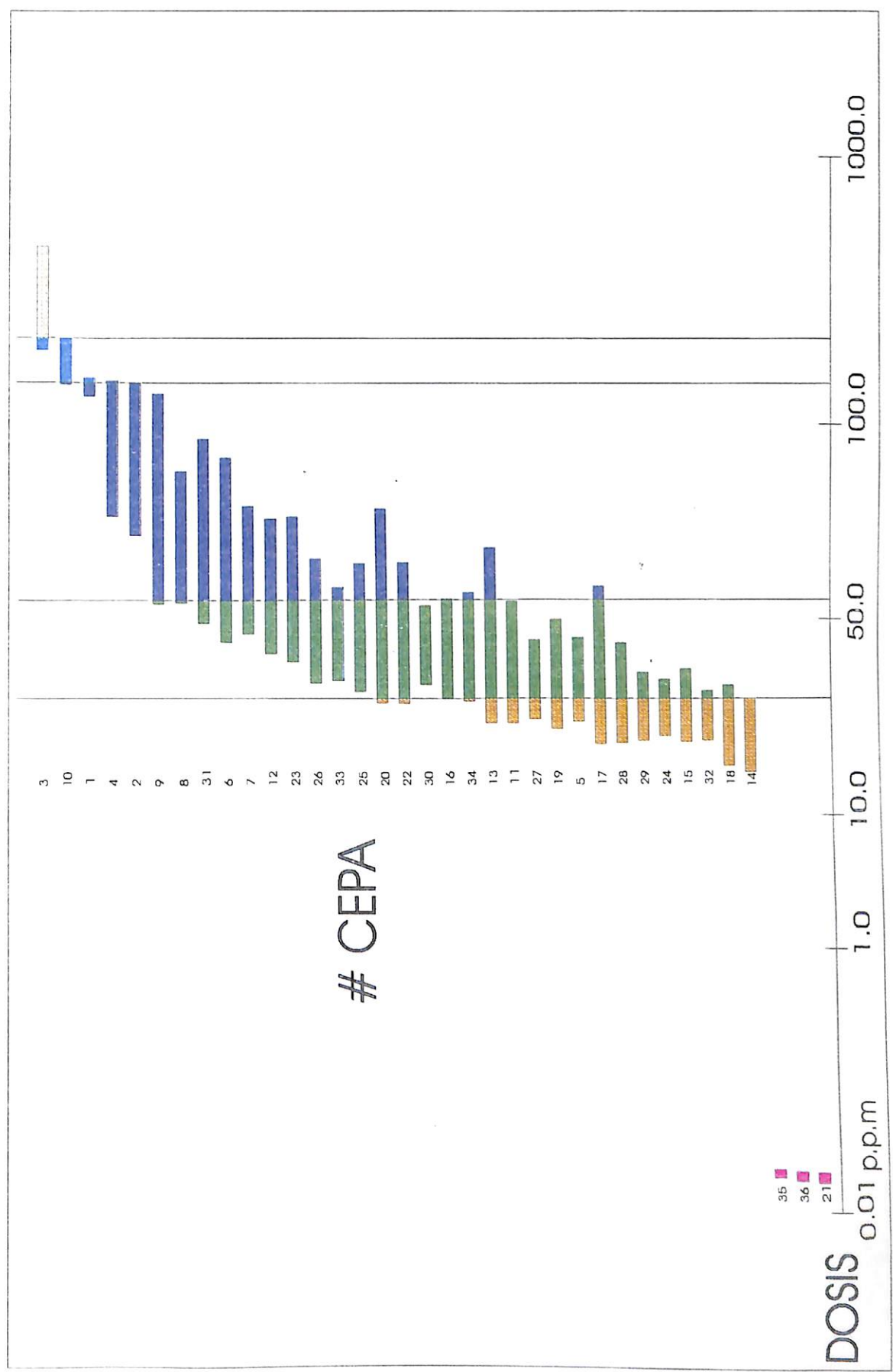


FIGURA 4.5. COMPARACION EN BASE AL CI<sub>50</sub> Y SUS LIMITES FIDUCIALES DE CEPAS SUSCEPTIBLES Y RESISTENTES DE *Venturia inaequalis* AL BENOMIL, ARTEAGA, COAHUILA, MEXICO 1993.

Cuadro 4.8. Coeficientes de determinación y chi cuadrada de las líneas de regresión dosis-inhibición de diferentes concentraciones de benomyl sobre cepas de *Venturia inaequalis* aisladas en Arteaga, Coahuila.

CEPA	r <sup>2</sup>	X <sup>2</sup>	GL	P*
1	0.86	0.1320	4	0.90
2	0.95	0.1638	3	0.99
3	0.93	0.1704	4	0.99
4	0.95	0.2717	4	0.99
5	0.75	0.0554	3	0.99
6	0.99	0.5468	3	0.99
7	0.71	0.0908	3	0.99
8	0.70	0.0896	3	0.99
9	0.99	0.4059	3	0.95
10	0.99	0.2101	3	0.97
11	0.67	0.1132	3	0.99
12	0.82	0.2023	3	0.97
13	0.99	0.5330	2	0.90
14	0.77	0.0887	3	0.99
15	0.99	0.2261	2	0.90
16	0.71	0.2254	4	0.99
17	0.99	0.1832	2	0.90
18	0.99	0.1458	2	0.95
19	0.74	0.1702	3	0.99
20	0.99	0.1816	2	0.95
21	0.99	0.3545	5	0.99
22	0.77	0.1525	4	0.99
23	0.66	0.1405	4	0.99
24	0.99	0.1376	2	0.99
25	0.93	0.0726	3	0.99
26	0.91	0.0226	3	0.99
27	0.81	0.1487	4	0.99
28	0.88	0.0482	3	0.99
29	0.80	0.1176	4	0.99
30	0.95	0.1313	4	0.99
31	0.92	0.1435	4	0.99
32	0.99	0.0981	3	0.99
33	0.84	0.2259	5	0.99
34	0.93	0.2276	4	0.99
* 101	0.98	0.3116	3	0.95
* 133	0.99	0.1730	3	0.99

\* Cepas susceptibles aisladas en Francia.

r<sup>2</sup> = Coeficiente de correlación.

χ<sup>2</sup> = Prueba de chi cuadrada

GL = Grados de Libertad

P = Probabilidad de tablas de χ<sup>2</sup> al 95%

De acuerdo a las pruebas de bondad de ajuste de chi cuadrada ( $\chi^2$ ) para las cepas aisladas (cuadro 4.8) estas expresaron valores bajos, lo que indica que se tiene de un 90 a 99 por ciento de confianza, en la respuesta obtenida de las cepas de *V. inaequalis*.

### **Estudio Genético de la Resistencia de *V. inaequalis* a el benomyl y al triadimefon**

#### **Obtención de pseudotecios**

Debido a las características heterotálicas del hongo se obtuvieron pseudotecios maduros sólo en los cruzamientos 147 x 174, 174 x 179 y del cruzamiento 179 x 182.

Sin embargo, es necesario mencionar que se deberían haber obtenido pseudotecios en otros cruzamientos, por lo que suponemos que diversos factores como la humedad pudieron interferir en la formación de estas estructuras, ya que en algunos cruzamientos se observó una deshidratación paulatina de las cajas Petri, debido a un mal sellado con la cinta Plastipack. Al respecto James y Sutton (1982) mencionan que la humedad es un factor limitante en la formación de pseudotecios; así mismo, O'Leary y Sutton (1986) indican que hay mayor formación de pseudotecios a 95 por ciento de Humedad Relativa que a un 88 por ciento.

El tiempo necesario para que los pseudotecios maduraran completamente fue de 10 meses; sin embargo, existen reportes de que estos pueden formarse en un período de 4 (Hernández, 1990) a 9 meses (Martín, 1982). El número de pseudotecios promedio de 16 discos por disco de hoja obtenido fue de 31 a 50 (cuadro 4.9).

### Aislamientos Monoascospóricos

De los cruzamientos con formación de pseudotecios maduros se obtuvieron 94 aislamientos monoascospóricos (cuadro 4.9). Los estudios sobre la heredabilidad de la resistencia a benomyl y triadimefon realizados con los aislamientos del cruzamiento 174 x 179 ya que los progenitores presentaban las características necesarias para realizar el estudio de resistencia a fungicidas, dado que la cepa 179 es resistente al benomyl y a los IBE.

Cuadro 4.9. Producción de Pseudotecios por el método del disco de hojas de manzano y aislamientos monoascospóricos de *Venturia inaequalis*.

CRUZAMIENTO	PSEUDOTECIOS/DISCO DE HOJA <sup>1</sup>	AISLAMIENTOS MONOASCOSPORICOS
147 X 174	50	26
174 X 179	47	50
179 X 182	31	18
		TOTAL 94

1= Promedio de 16 discos de hoja

### Estudio sobre la heredabilidad de la resistencia de *V. inaequalis* al benomyl

Los resultados obtenidos muestran que de 50 cepas, 30 de ellas son resistentes y 20 son susceptibles al benomyl (cuadro 4.10). La segregación observada es de tipo 1:1 (susceptibles : resistentes) ( $\chi^2 = 2.0$ ) por lo que se considera que la resistencia a benomyl es transmitida por un solo gen mendeliano.

En esta prueba ratificamos los resultados obtenidos por Martin *et al.* (1981), Shabi *et al.* (1983) y Hernández (1990), quienes estudiaron la progenie segregada de

cruzamientos entre cepas susceptibles y cepas resistentes al benomyl, encontrando una relación de tipo 1:1 de resistentes y sensibles. Un trabajo similar fue realizado por Stanis y Jones (1984) quienes, indican que los diferentes niveles de resistencia a benomyl en *V. inaequalis*, es controlada por diferentes alelos de un gen simple y no al resultado de interacciones entre diferentes genes de resistencia.

Cuadro 4.10. Resistencia y/o susceptibilidad a benomyl y triadimefon de cepas de la población F<sub>1</sub> de *V. inaequalis*.

CEPA	BENOMYL	TRIADIMEFON *
1	SUSCEPTIBLE	SUSCEPTIBLE
2	RESISTENTE	RESISTENTE (III)
3	RESISTENTE	SUSCEPTIBLE
4	RESISTENTE	RESISTENTE (II)
5	RESISTENTE	RESISTENTE (III)
6	RESISTENTE	RESISTENTE (I)
7	RESISTENTE	RESISTENTE (III)
8	SUSCEPTIBLE	RESISTENTE (III)
9	RESISTENTE	RESISTENTE (II)
10	RESISTENTE	RESISTENTE (II)
11	RESISTENTE	RESISTENTE (III)
12	SUSCEPTIBLE	RESISTENTE (I)
13	SUSCEPTIBLE	RESISTENTE (II)
14	SUSCEPTIBLE	RESISTENTE (II)
15	SUSCEPTIBLE	RESISTENTE (II)
16	SUSCEPTIBLE	RESISTENTE (II)
17	RESISTENTE	RESISTENTE (I)
18	SUSCEPTIBLE	RESISTENTE (I)
19	RESISTENTE	RESISTENTE (III)
20	RESISTENTE	RESISTENTE (III)
21	RESISTENTE	RESISTENTE (II)
22	RESISTENTE	SUSCEPTIBLE
23	RESISTENTE	RESISTENTE (II)

\* Niveles de resistencia comparados con los progenitores

I = Nivel de resistencia bajo

II = Nivel de resistencia media

III = Nivel de resistencia alto



Cuadro 4.10.....continuación

<b>CEPA</b>	<b>BENOMYL</b>	<b>TRIADIMEFON*</b>
24	SUSCEPTIBLE	RESISTENTE (II)
25	RESISTENTE	SUSCEPTIBLE
26	RESISTENTE	SUSCEPTIBLE
27	RESISTENTE	RESISTENTE (II)
28	SUSCEPTIBLE	RESISTENTE (II)
29	SUSCEPTIBLE	RESISTENTE (II)
30	RESISTENTE	RESISTENTE (II)
31	SUSCEPTIBLE	SUSCEPTIBLE
32	RESISTENTE	RESISTENTE (III)
33	RESISTENTE	SUSCEPTIBLE
34	RESISTENTE	RESISTENTE (III)
35	SUSCEPTIBLE	RESISTENTE (I)
36	RESISTENTE	RESISTENTE (II)
37	RESISTENTE	RESISTENTE (I)
38	RESISTENTE	RESISTENTE (I)
39	RESISTENTE	RESISTENTE (II)
40	SUSCEPTIBLE	RESISTENTE (II)
41	SUSCEPTIBLE	RESISTENTE (III)
42	SUSCEPTIBLE	RESISTENTE (III)
43	SUSCEPTIBLE	RESISTENTE (I)
44	SUSCEPTIBLE	RESISTENTE (II)
45	SUSCEPTIBLE	RESISTENTE (I)
46	RESISTENTE	RESISTENTE (III)
47	RESISTENTE	RESISTENTE (II)
48	RESISTENTE	SUSCEPTIBLE
49	RESISTENTE	RESISTENTE (I)
50	SUSCEPTIBLE	RESISTENTE (II)
<b>Total</b>	<b>30 RESISTENTES</b> <b>20 SUSCEPTIBLES</b>	<b>42 RESISTENTES</b> <b>8 SUSCEPTIBLES</b>

\* Niveles de resistencia comparados con los Progenitores

I = Nivel de resistencia bajo

II = Nivel de resistencia media

III = Nivel de resistencia alta

### **Estudio sobre la heredabilidad de la Resistencia de *V. inaequalis* a el triadimefon**

Dado que la cepa 179 se caracteriza por ser resistente al benomyl y al triadimefon, se procedió a analizar la heredabilidad del factor de resistencia a este último fungicida. Los resultados observados de 50 aislamientos monoascospóricos obtenidos del cruzamiento 174 x 179 (susceptible x resistente) presentó una segregación de tipo 1:3 (sensibles:resistentes) para el triadimefon ( $\chi^2 = 23.12$ ), observando además, niveles más bajos y más altos de resistencia en comparación con el progenitor resistente. La segregación para triadimefon obtenida en el presente trabajo, difiere de los resultados obtenidos por Stains y Jones (1985), quienes indican una segregación de la progenie de tipo 1:1 (susceptibles:resistentes) para el bitertanol (otro fungicida del grupo de los IBE) en todos los cruzamientos realizados en donde un cruzamiento presentó diferente tipo de segregación (1:3).

Las cepas susceptibles de la progenie fueron todas aquellas cepas estadísticamente iguales o con límites menores al del progenitor susceptible, las cepas que superaron a este progenitor se consideraron como cepas resistentes; sin embargo, entre las cepas resistentes se encontraron tres grupos diferentes (figura 4.6). Los grupos son; cepas que se comportaron igual que el progenitor resistente, encontrándose los dos grupos restantes a un nivel entre el progenitor susceptible y el resistente, los cuales presentaron niveles de resistencia diferentes entre si. En el cuadro 4.10, se observa la presencia de ocho cepas susceptibles contra 42 resistentes al triadimefon, en donde se marca además, tres niveles de resistencia que presentaron diferencias estadísticas por lo que se clasificaron de la siguiente manera, 12 cepas se encuentran en el nivel I de resistencia, 20 en el II y 10 para el III. Para determinar estos niveles se realizó un análisis probit con las cuales se obtuvieron las líneas dosis-inhibición que son representadas en la figura 4.6 en donde se clasifican las cepas expuestas al fungicida.

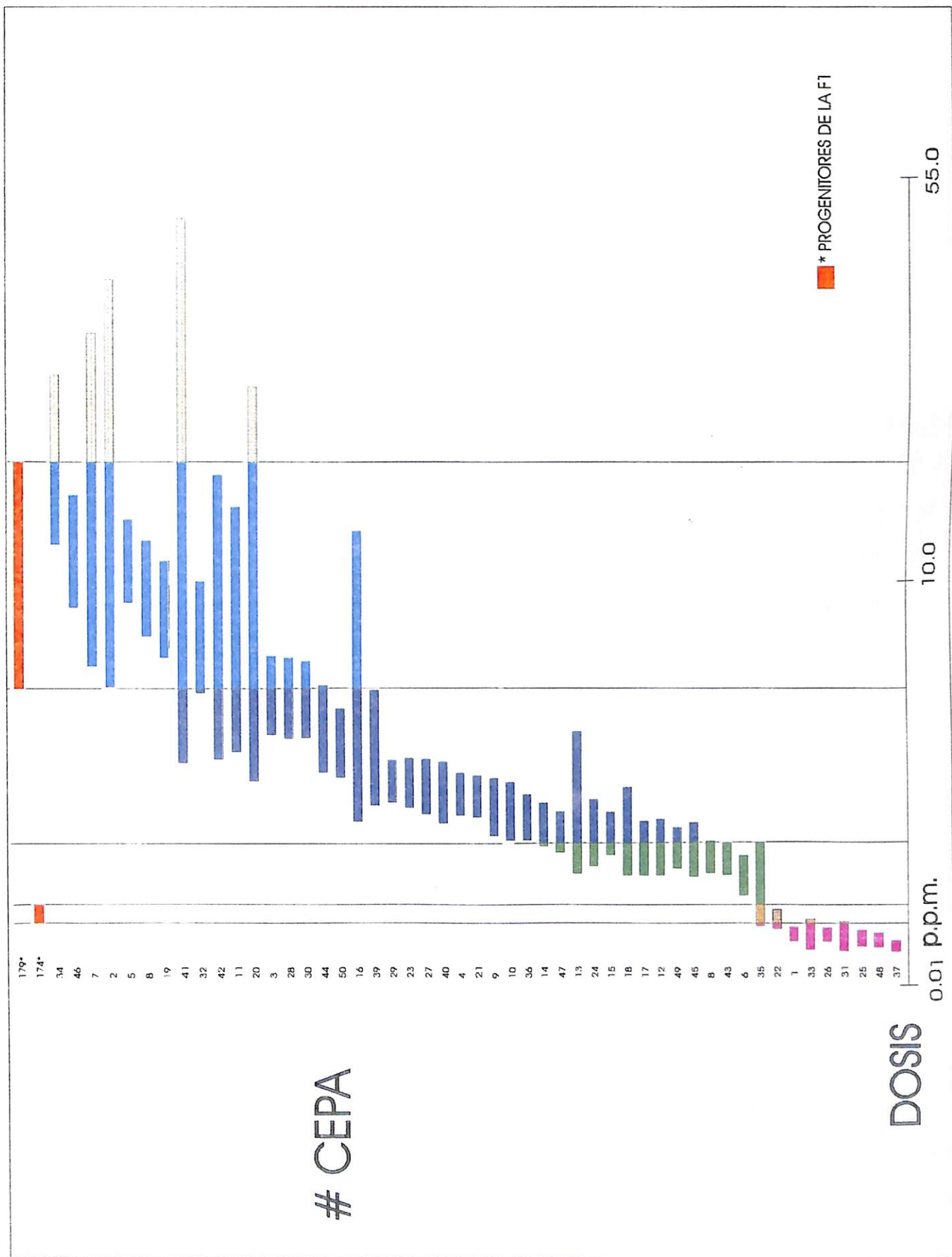


FIGURA 4.6 COMPARACION EN BASE AL  $CI_{50}$  Y SUS LIMITES FIDUCIALES DE LA POBLACION  $F_1$  DE "Venturia inaequalis" AL TRIADIMEFON

La existencia de diferentes niveles de resistencia nos indican, que probablemente contemos con la presencia de genes con dominancia incompleta que dan lugar a la presencia de niveles intermedios de tolerancia o tal vez, a que esta pueda ser por la acción de dos o más genes independientes. Para el caso del dodine, Yoder (1974) indica que la resistencia de *V. inaequalis* es debida a la acción de 3 genes en donde cada uno de los genes condiciona distintos niveles de tolerancia, teniendo un efecto adicional cuando interactúan juntos.

Por otra parte, Hollomon (1981) menciona que la resistencia de *E. graminis* f. sp. *hordeii* al ethirimol (IBE) es controlado por un sistema heredable complejo, en el cual los factores genéticos involucrados son principalmente aditivos, y no por la acción de un gen mayor. Resultados similares fueron obtenidos por el mismo autor (Hollomon 1981) al realizar estudios con el mismo organismo sobre resistencia al triadimenol (IBE). Lo cual es reafirmado posteriormente por Leroux (1987) quien indica que la variabilidad en la sensibilidad de este patógeno a fungicidas del grupo I de los IBE es explicada poligénicamente

Para otros hongos como *Aspergillus nidulans* y *Nectria hematococca*, Leroux (1987) menciona que ocho genes independientes confieren la resistencia al fenarimol, en donde un gen confiere un nivel de resistencia débil, y que la presencia de varios genes (situación poligénica) aumenta notablemente los niveles de resistencia.

De acuerdo a el análisis probit realizado a la progenie de *V. inaequalis*, se obtuvieron valores de la  $CI_{50}$  para cada cepa, estos reflejan un rango de 0.99 (cepa 37) a 15.07 ppm (cepa 34) de  $CI_{50}$  que corresponde a la cepa más susceptible y la más resistente a triadimefon, valores con los que se obtuvo el factor de resistencia de las mismas.

Según los valores de el factor de resistencia (cuadro 4.11), las cepas 37, 48, 25, 31, 26, 33, 1 y la 22, presentan niveles de sensibilidad menores que el progenitor susceptible, pero se encontraron también algunas cepas más resistentes que su progenitor resistente, el cual presenta un factor de resistencia de 6.11, las cepas que lo superan son la 5, 2, 7, 46, y 43 con factores de resistencia de 6.30, 6.49, 6.58, 6.61 y 8.61 respectivamente. La progenie restante presentó factores de resistencia que van de 1.27 a 5.63.

Los coeficientes de correlación obtenidos nos indican límites de confianza muy aceptable para la relación dosis-inhibición (cuadro 4.12) aunado con los resultados obtenidos para la prueba de bondad de ajuste con los cuales se verificó la eficiencia del modelo matemático utilizado ya que los valores de probabilidad para la  $\chi^2$  de tablas nos indican valores de 90 por ciento hacia arriba, por lo que las líneas de regresión obtenidas tienden a la exactitud, considerándose como estadísticamente confiable.

Cuadro 4.11. Dosis letales, límites fiduciales al 95% y factores de resistencia de la población  $F_1$  de *Venturia inaequalis* expuestas al triadimefon.

# CEPA	CI <sub>50</sub>	LIMITE INFERIOR	LIMITE SUPERIOR	CI <sub>90</sub>	FR
37	0.99	0.86	1.13	3.34	0.57
48	1.13	0.96	1.32	4.88	0.65
25	1.17	0.98	1.39	5.81	0.67
31	1.24	0.87	1.61	16.53	0.71
26	1.27	1.11	1.45	4.95	0.73
33	1.27	0.90	1.67	18.54	0.73
1	1.29	1.12	1.47	4.86	0.74
22	1.64	1.42	1.90	7.81	0.94
35	2.22	1.49	3.59	113.69	1.27
6	2.78	2.27	3.27	9.40	1.59
43	3.12	2.78	3.56	8.78	1.78

CI<sub>50</sub> = Concentración Inhibitriz 50

CI<sub>90</sub> = Concentración Inhibitriz 90

FR = Factor de Resistencia

L. inferior y L. superior = Límites fiduciales de CI<sub>50</sub> al 95% de confiabilidad

\* = Progenitores de la  $F_1$ .

Cuadro 4.11.....continuación.

# CEPA	CI <sub>50</sub>	LIMITE INFERIOR	LIMITE SUPERIOR	CI <sub>90</sub>	FR
8	3.17	2.83	3.63	8.85	1.81
45	3.43	2.75	4.08	15.51	1.96
49	3.46	2.96	3.96	10.18	1.98
12	3.48	2.79	4.17	15.89	1.99
17	3.51	2.79	4.12	15.89	1.99
18	3.81	2.78	4.94	33.60	2.00
15	3.81	3.29	4.35	11.09	2.18
24	3.85	3.02	4.64	20.65	2.18
13	3.85	2.83	6.33	50.27	2.20
47	3.85	3.36	4.36	10.39	2.20
14	4.04	3.52	4.58	11.16	2.30
36	4.20	3.67	4.79	11.85	2.40
10	4.34	3.67	5.08	16.20	2.51
9	4.44	3.78	5.18	15.88	2.54
21	4.73	4.25	5.25	10.14	2.70
4	4.78	4.29	5.32	10.57	2.73
40	4.83	4.10	5.60	18.90	2.76
27	4.98	4.33	5.66	15.50	2.85
23	5.05	4.49	5.68	12.28	2.89
29	5.11	4.62	5.64	10.38	2.92
39	5.66	4.54	7.37	38.42	3.23
16	5.81	4.15	12.11	61.16	3.32
50	6.03	5.23	6.91	21.12	3.45
44	6.34	5.35	7.48	30.61	3.62
30	7.08	6.19	8.09	23.61	4.05
28	7.11	6.18	8.18	25.67	4.06
3	7.17	6.27	8.22	24.48	4.10
20	7.78	5.15	22.23	297.48	4.45
11	7.96	5.86	14.01	105.30	4.55
42	8.07	5.69	16.85	160.22	4.61
32	8.52	7.31	10.05	36.23	4.87
41	9.01	5.59	51.80	550.18	5.15
19	9.35	8.18	10.82	31.79	5.34
8	9.86	8.71	11.29	29.67	5.63
5	11.03	9.57	13.00	39.22	6.30
2	11.36	7.45	35.40	247.57	6.49
7	11.52	7.96	26.46	149.44	6.58
46	11.57	9.45	15.04	75.16	6.61
34	15.07	11.26	24.00	184.96	8.61
174*	1.75	1.57	2.03	3.80	1
179*	10.69	7.41	18.16	444.03	6.11

CI<sub>50</sub> = Concentración Inhibtriz 50  
 CI<sub>90</sub> = Concentración Inhibtriz 90  
 FR = Factor de Resistencia

L. inferior y L. superior = Limites fiduciales de  
 CI<sub>50</sub> al 95% de confiabilidad  
 \* = Progenitores de la F<sub>1</sub>.

Cuadro 4.12. Coeficientes de determinación y chi cuadrada de las líneas de regresión dosis-inhibición de diferentes concentraciones de triadimefon sobre la población F<sub>1</sub> de *Venturia inaequalis*.

CEPA	r <sup>2</sup>	χ <sup>2</sup>	GL	P*
1	0.88	0.0664	4	0.99
2	0.99	0.0087	2	0.99
3	0.98	0.3205	3	0.95
4	0.99	0.1076	2	0.95
5	0.96	0.1397	3	0.99
6	0.99	0.0655	2	0.97
7	0.98	0.0153	2	0.99
8	0.92	0.3287	3	0.95
9	0.97	0.1416	2	0.95
10	0.98	0.0164	2	0.99
11	0.97	0.0008	2	0.99
12	0.99	0.0310	2	0.99
13	0.70	0.0507	3	0.99
14	0.99	0.3441	2	0.90
15	0.97	0.0176	2	0.99
16	0.92	0.0204	3	0.99
17	0.99	0.0350	2	0.99
18	0.85	0.0443	4	0.99
19	0.93	0.3861	3	0.95
20	0.97	0.0005	2	0.99
21	0.99	0.1441	2	0.95
22	0.81	0.0495	4	0.99
23	0.99	0.0517	2	0.99
24	0.99	0.0114	2	0.99
25	0.87	0.0166	4	0.99
26	0.90	0.0513	4	0.99
27	0.90	0.0676	3	0.99
28	0.96	0.2125	3	0.97
29	0.94	0.0034	2	0.99
30	0.99	0.2426	3	0.97
31	0.92	0.0307	3	0.99

r<sup>2</sup> = Coeficiente de correlación

χ<sup>2</sup> = Prueba de chi cuadrada

GL = Grados de Libertad

P = Probabilidad de tablas de χ<sup>2</sup> al 95%

Cuadro 4.12 .....continuación

CEPA	r <sup>2</sup>	χ <sup>2</sup>	GL	P*
32	0.86	0.0665	3	0.99
33	0.88	0.0012	3	0.99
34	0.95	0.0045	3	0.99
35	0.77	0.0062	3	0.99
36	1.00	0.1960	2	0.95
37	0.97	0.2067	3	0.75
38	0.97	0.1147	4	0.99
39	0.88	0.0070	2	0.99
40	0.96	0.0837	3	0.99
41	0.84	0.0052	2	0.99
42	0.92	0.0011	2	0.99
43	0.96	0.1366	4	0.99
44	0.93	0.2774	3	0.97
45	0.96	0.0717	3	0.99
46	0.95	0.1089	3	0.99
47	0.99	0.0783	2	0.99
48	0.74	0.0428	4	0.99
49	0.95	0.0061	2	0.99
50	0.96	0.0514	3	0.99
174*	0.98	0.1187	2	0.95
179*	0.99	0.1148	5	0.99

r<sup>2</sup> = Coeficiente de correlación

χ<sup>2</sup> = Prueba de chi cuadrada

GL = Grados de Libertad

P = Probabilidad de tablas de χ<sup>2</sup> al 95%

\* = Progenitores de F<sub>1</sub>



## CONCLUSIONES

- 1.- El producto que mejor controló la roña del manzano bajo condiciones de campo fué el Ex-10307-A.
- 2.- Los fungicidas del grupo de los IBE mostraron buena efectividad en el control de la roña del manzano bajo condiciones de campo, mientras que los bencimidazoles mostraron una baja efectividad.
- 3.- Existen poblaciones de *V. inaequalis* resistentes al benomyl en los Lirios, Coahuila.
- 4.- *V. inaequalis* presento una resistencia de tipo monogénica hacia el benomyl y poligénica al triadimefon

## RESUMEN

La roña del manzano es considerada como la enfermedad más importante de las regiones manzaneras del mundo con clima templado y húmedo, siendo necesario la aplicación de productos químicos para su control, sobresaliendo por su efectividad los fungicidas sistémicos. Sin embargo, en los últimos años se ha observado en la región manzanera de los Lirios, Coah., una falta de eficiencia de dichos productos en el control de la enfermedad, lo que indica que existe un mal manejo de los productos, o en su defecto, una pérdida de eficiencia de los fungicidas utilizados; por lo que el presente trabajo se realizó con el objetivo de monitorear la susceptibilidad o resistencia de cepas de *V. inaequalis* al benomyl (grupo de los bencimidazoles) y realizar un estudio sobre la heredabilidad de la resistencia de *V. inaequalis* al benomyl y al triadimefon (grupo de IBE).

Los resultados obtenidos en la evaluación de fungicidas bajo condiciones de campo indican que los productos sistémicos del grupo de los IBE tienen un control efectivo contra *V. inaequalis* (4.9, 16.1 por ciento de incidencia) mientras que los fungicidas de la familia de los bencimidazoles presentaron niveles de control similares a los fungicidas preventivos (76.2 y 80.9 por ciento) con valores cercanos al testigo (90 por ciento); este hecho indica que la falta de eficiencia de los bencimidazoles en el control de la enfermedad esta dado por la presencia de cepas de *V. inaequalis* resistentes a estos fungicidas.

El monitoreo de los niveles de susceptibilidad de *V. inaequalis* al benomyl realizada en 1993 detecta poblaciones resistentes del patógeno en el cañón de los Lirios, Coah., principalmente en huertos donde se llevan a cabo de 6 a 10 aplicaciones de fungicidas por ciclo de cultivo y en donde materias activas de los bencimidazoles se han utilizado por más de 10 años. La proporción de conidias resistentes en ese año inicia con 22.5 y termina con 90 por ciento. Los factores de resistencia de las cepas aisladas varían de 145 a 3143 veces más altos que en cepas sensibles, considerándose de acuerdo a la escala de Stanis y Jones (1984), como cepas altamente resistentes al benomyl.

Los estudios sobre la heredabilidad de la resistencia a benomyl y triadimefon fueron determinadas con 50 aislamientos monoascospóricos de la progenie del cruzamiento de las cepas 174 X 179 (susceptible al benomyl y triadimefon X resistente al benomyl y triadimefon), determinándose que la resistencia de *V. inaequalis* al benomyl es de tipo monogénica mientras que la resistencia al triadimefon es de tipo poligénica.

## LITERATURA CITADA

- Agrios, G.N. 1969. Plant Pathology. Academic Press Inc. (London) Second edition. LTQ 629 p.
- Alexopoulos, J.C., and C.W. Mims. 1979. Introductory Mycology. 3rd ed. John Wiley & Sons. New York. 643 p.
- Alvarez, R. S. 1974. El Manzano. Ministerio de Agricultura. Gustavo Gili. España. 463 p.
- Andrews, J.H., F.M. Berbee and E.V. Nordheim. 1983. Microbial antagonism to the imperfect state of apple scab pathogen *Venturia inaequalis*. Phytopathology 73(2):228-234.
- Becerra V., B. 1992. Evaluación de fungicidas para el control de la roña del manzano *Venturia inaequalis* (Cke) Wint. en el Ejido Rancho Nuevo, Municipio de Arteaga Coahuila. Tesis. UAAAN. 87 p. Saltillo, Coah. México. 87 p.
- Biggs, A.R. and J. Warner. 1987. Control of primary and secondary apple scab infections with sterol-inhibiting fungicides. Can. J. Plant. Pathol. 9: 41-48.
- Burchill, R.T. 1972. Comparison of fungicides for suppressing ascospore production by *Venturia inaequalis* (Cook) Wint. Plant Pathol. 21:19-22.
- Burchill, R.T. and T.A. Cook. 1971. The interaction of urea and microorganisms in suppressing the development of perithecia of *Venturia inaequalis* (Cke) Wint. Ecology of leaf surface microorganisms. Academic Press. New York.
- Calderón, A.E. 1977. Fruticultura General. ECA. México. p 42, 75, 98.
- Cepeda S., M.; H.Ramírez y M.C. Bolívar. 1988. El Manzano. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 172 p.
- Cepeda S., M. y F.D. Hernández C. 1986. La roña del manzano *Venturia inaequalis* (Cook) Wint. Folleto de divulgación No. 11 Vol. 1. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

- Chester, K.S. 1950. Plant diseases losses their appraisal and interpretation. *Plant. Dis. Reprtr. (suppl.)* 193:189-362.
- Cinq-Mars, L. 1949. Interaction between *Venturia inaequalis* (Cke) Wint. and saprophytic fungi and bacteria inhabiting apple leaves. Thesis M. Sc. McGill University, Montreal, Canadian. 114 p.
- Cochran G, W. y G.W. Snedecor. 1976. Métodos Estadísticos. Compañía Editorial Continental, S.A. 703. p.
- Contanceau, M. 1971. Fruticultura técnica y económicos de los cultivos de Rosaceas leñosas productoras de fruta. OIKOS-TAU. Barcelona, España. p. 24-47.
- Dominguez, F. y G. Tejero. 1976. Plagas y enfermedades de las plantas cultivadas. Dossat. España. 955 p.
- Fuentes D., V. 1960. Elementos de Fitopatología. Escuela superior de Agricultura Antonio Narro. Universidad de Coahuila. 268 p.
- Heald, 1933. Manual of Plant Diseases. McGraw Hill. 953 p.
- Hernández C, F.D. 1982. Evaluación de cuatro productos fungicidas y observación de practicas culturales para el control de la roña del manzano *Venturia inaequalis* (Cooke) Wint. en huertos de manzano *Pirus mahus L.*, en el cañon de los Lirios Municipio de Arteaga, Coahuila. Tesis. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 109 p.
- Hernández C, F.D. 1990. La taluere du pommier *Venturia inaequalis* (Cke) Wint.; Etude du povoir pathogene des Races 1 et 5 essai de lutte raisinne. These docteur. University of Nantaes. 163 p.
- Heye, C.C. and J.H. Andrews. 1983. Antagonism of *Athelia bombacina* and *Chaetomium globosum* to the apple scab pathogen *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* 73(5):650-654.
- Hilderbrand, P. D., Lockhart, C. L., Newbery, R. J. and Ross, G. G. 1988. Resistance of *Venturia inaequalis* to bitertanol and other dimethylation-inhibiting fungicides. *Can. J Plant Pathol* 10:311-316.
- Hirst, J. 1955. The origin of apple scab epidemics in the Wisbech area in 1953 and 1954. *Plant Pathol* 4:91-96.
- Hirts, J M and O J. Stedman. 1961. The epidemiology of apple scab (*Venturia inaequalis* ((Cok) Wint.). *Ann. Appl. Biol.* 49:290-305.

- Hollomon, D.W. 1981. Genetic control of ethirimol resistance in a natural population of *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*. *Phytopathology* 71:536-540.
- Hollomon, D.W., J. Butters, and J. Clark. 1984. Genetic control of triadimenol resistance in barley powdery mildew. *British crop protection conference-prests and diseases*. p. 477-482.
- Isla de B., M. de L. 1987. *Fitopatologia*. Ed. LIMUSA S. A. de C.V. México. 377 p.
- James, J.R. and T.B. Sutton. 1982. Environmental factors influencing pseudothecial development and ascospore meturation of *Venturia inaequalis* *Phytopathology* 72:1073-1080.
- Jeger, M. J. 1981. Disease measurement in a study of apple scab epidemics. *Ann Appl Biol*. 99:43-51.
- Jones, A.L. and H. S. Aldwinckle. 1990. *Compendium of apple and pear diseases*. Acad. Press. The American Phytopathological Society. pp 1-9.
- Keitt, G.W. 1953. In: *Plant Diseases. The Yearbook of Agriculture*. U.S. Departament of Agriculture. p 75 760.
- Kelley, R. D. and A. L. Jones. 1981. Evaluation of two triazole fungicides for postinfection control of apple scab. *Phytopathology* 71:737-742.
- Korban, S.S. and R.M. Skirvín. 1984. *Nomenclature of the Cultivated apple*. *Hortscience*. Vol. 19(2) 177-180.
- Lamba, R.C., H.S. Aldwinckle and D.E. Terry. 1985. "Freedom" a disease resistant apple cultivar. *Horts Cience*. 20(4):774-775.
- Leroux, P. 1987. La résistance des champignons aux fungicides I. *Phytoma*. 385:6-14.
- Lespinasse, Y., J.M. Olivier, M. Godicheau. 1979. Etudes entreprises dans le cadre de la résistance a la taveluere du Pommier. *C. R. Symp. Eucarpia (fruits), Angres*. 97-110.
- Martin, D. 1982. Contribution a l'étude du pouvoir pathogene et de la résistance au benomyl de *Venturia inaequalis* (Cke) Wint: competition entre biotypes et hérédité des caracteres. *These de 3eme. cycle Université de Paris XI Orsay*. 115 p.
- McKay, M.C.R. and MacNeill, B.H. 1979. Spectrum of sensitivity to dodine in field populations of *Venturia inaequalis*. *Can. J. Plant. Pathol*. 1:76-78.

- Mendoza, Z.C., F. Ponce y R. Lépiz. 1992. Control químico de la cenicilla *Podosphaera leucotricha* (E y E) Salm y roña del manzano *Venturia inaequalis* (Cke) Wint. con inhibidores de la biosíntesis del ergosterol en Zacatlán. Puebla. Revista Mexicana de Fitopatología. Vol.9, No. 2. p. 144-147.
- Miller, P.M. 1970. Reducing discharge of ascospores of *Venturia inaequalis* whit a spring application of benomyl, thiabendazole or urea Plant Dis. Repr. 54:27.
- Northover, J. 1986. Characterization and detection of benomyl resistant *Venturia inaequalis* in Ontario apple orchards. Can. J. Plant. Pathol. 8:117-122.
- Novacka, H., Karolezak, W. and Millikan D.F. 1977. Tolerance of the apple scab fungus to the benzimidazole fungicides in Poland. Plant Disease Reporter. 51 (5):346-350.
- O'Leary, A.L. and T.B. Sutton. 1986. Effects of postinfection applications of ergosterol biosynthesis inhibiting fungicides on lesion formation and pseudothecial development of *Venturia inaequalis*. Phytopathology 76:119-124.
- \_\_\_\_\_. 1986. The influence of temperature and misture on the quantitative production of pseudothecia of *Venturia inaequalis*. Phytopathology 76:199-204.
- Ortiz, B.R. 1990. Manejo de la resistencia a fungicidas. Depto. de Mercadeo de Ciba-Geigy. 27 p.
- Polach, F.J. 1973. Genetic control of dodine tolerance in *Venturia inaequalis*. Phytopathology. 63:1189-1190.
- Roberts A., D. y C Boothroyd W. 1972. Fundamentos de patología vegetal. Acribia. España. 392 p.
- Ross, R.G. 1973. Suppression of perithecium formation in *Venturia inaequalis* by seasonal sprays of benomyl and thiophanate-methyl. Can. J. Plant. Sci. 53:601-602.
- Ross, R.G. and R.J. Newbery. 1975. Effects of seasonal fungicide sprays on perithecium formation and ascospore production in *Venturia inaequalis*. Can. J. Plant. Sci. 55:737-742.
- \_\_\_\_\_. 1977. Tolerance of *Venturia inaequalis* to dodine in Nova Scotia. Can. Plant Diseases Survey. 57:57-60.
- Ross, R.G. and S.A. Hamlin. 1962. Production of perithecia of *Venturia inaequalis* (Cok) Wint. on sterile apple leaf discs. Can. J. Botany. 40, 629-635.

- Scheinflug, H. 1987. Fungal resistance to sterol biosynthesis Inhibitors: A new challenger. *Plant Diseases*. 71: 1066-1074.
- Schwabe, W.F.S. 1979. Resistance of the apple scab fungus (*Venturia inaequalis*) to benzimidazoles fungicides. *The Deciduous Fruit Grower*. pp 418-422.
- Schwabe W, F.S.; A.L. Jones, and J.P. Jonker. 1984. Greenhouse evaluation of the curative and protective action of sterol-inhibiting fungicides against apple scab. *Phytopathology*. 74:249-252.
- Shabi, E., Katan, T. and K. Marton. 1983. Inheritance of resistance to benomyl in isolates of *Venturia inaequalis* from Israel. *Plant. Pathology*. 32:207-211.
- Sholberg, P.L., Yorston, J.M. and Warnock D. 1989. Resistance of *Venturia inaequalis* to benomyl and dodine in British Columbia, Canada. *Plant. Diseases* 73: 667-669.
- Siegel, M.R. 1981. Sterol-inhibiting fungicides; effects on sterol biosynthesis and sites of action. *Plant Dis*. 65:986-989.
- Simard, J., R.L. Pelletier and J.G. Coulson. 1957. Screening of microorganisms inhibiting apple leaf for their antibiotic properties against *Venturia inaequalis* (Cke) Wint. *Que. Soc. Prot. Plants Rep*. 39:59-67.
- Soria, R.J., J.G. Garza, A. Gonzáles y V. Gonzáles. (S.A.). Prevención y control de la roña del manzano en la Sierra de Arteaga, Coah. Centro de Investigación regional del Noreste Campo Experimental Sierra de Arteaga. SARH. 4 p.
- Stanis, V.F. and Jones, A.L. 1984. Genetics of benomyl resistance in *Venturia inaequalis* from North and South America, Europe, and New Zealand. *Can. J. Plant. Pathol*. 6:283-290.
- \_\_\_\_\_. 1985. Reduced sensitivity to sterol-inhibiting fungicides in field isolates of *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*. 75:1098-1101.
- Szkolink, M. and J.D. Gilpatrick. 1969. Apparent resistance of *Venturia inaequalis* to dodine in New York apple orchards. *Plant. Diseases Report*. 53:(11) 861-864.
- Tamaro, E. 1974. *Tratado de Fruticultura*. 2 ed. Gustavil Gili. Barcelona, España. 492 p.
- Tejada, D.L. 1980. Estudio sobre las hospederas potenciales de la mosca del mediterraneo *Ceratosistis capitata* con énfasis en el área de Soconusco, México. SARH. Mexico 55 p.



- Thind, T. S., M. Clerjeau, and J.M. Oliver. 1986. First observations on resistance in *Venturia inaequalis* and *Gingardia bidwellii* to ergosterol-biosynthesis inhibitors in France. *Prod. Br. Crop. Prot. Cont.* 2:491-498.
- Thomas-Demerch 1978. *Atlas de Botanica*. Jover. Barcelona, España. 323 p.
- Thomson, W.T. 1991. *Agricultural Chemicals Book IV-Fungicides*. Thomson Publications 198 p.
- Walker, J.C. 1973. *Patología Vegetal*. Omega. Barcelona. España. 819 p.
- Wicks, T. 1974. Tolerance of the apple scab fungus to benzimidazoles fungicides. *Plant Diseases Repotr.* 58(10) 886-889.
- Williams, E.B. and J. Kue. 1969. Resistance in *Malus* to *Venturia inaequalis*. *Ann. Rev. Phytopathol.*
- Wilson, C.L. and W.E. Loomis. 1980. *Botanica*. S.A. de C.V. México. UTEHA. S.A. de C.V. 682 p.
- Yoder, K.S. 1974. Tolerance to dodine an inheritance of an ascospore abortion factor in *Venturia inaequalis*. Tesis Doctor of Philosophy. Department of Botany and Plant Pathology. Michigan State University. 80 p.

**A P E N D I C E**

Cuadro A.1. Análisis de varianza para la incidencia de *V. inaequalis* en hojas, en Arteaga, Coahuila.

F.V.	g.l.	C.M.	Pr>F
Tratamientos	8	225.44 *	0.010
Bloques	3	849.13 **	0.0001
Error	24	67.58	
Total	35		

\*C.V.=11.3

Cuadro A.2. Análisis de varianza para la severidad de *V. inaequalis* en hoja, en Arteaga, Coahuila.

F.V.	g.l.	C.M.	Pr>F
Tratamientos	8	39.38 **	0.0001
Bloques	3	74.99 **	0.0001
Error	24	5.05	
Total	35		

\*C.V.=11.86%

Cuadro A.3. Análisis de varianza para la incidencia de *V. inaequalis* en fruto, en Arteaga, Coahuila.

F.V.	g.l.	C.M.	Pr.>F
Tratamientos	8	3456.45**	0.0001
Bloques	3	581.05**	0.0001
Error	24	121.85	
Total	35		

\* C.V.= 18.73%

Cuadro A.4. Análisis de varianza para severidad de *V. inaequalis* en fruto, en Arteaga, Coahila.

F.V.	g.l.	C.M.	Pr>F
Tratamientos	8	0.76 **	0.0001
Bloques	3	0.16 *	0.024
Error	24	0.04	
Total	35		

\*C.V.=30.75%

**ENCUADERNACIONES MODERNAS**

DIEGO DE MONTEMAYOR 638 NTE.

CRUZ CON TREVIÑO

TEL. 374-02-59

**CENTRO DE COPIADO**

**U.A.A.A.N.**