



***Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*  
(Hasse) Vaut.**

(Cancrosis de los cítricos)

Kornowski, M.; Dummel, D. y J.P. Agostini

- 164 *Introducción*
- 164 *Nombre de la plaga y sinonimia*
- 164 *Hospedantes*
- 164 *Sintomatología. Daños*
- 165 *Distribución en el país*
- 165 *Epidemiología*
- 165 *Manejo de la enfermedad*
- 166 *Monitoreo y técnicas de detección*
- 169 *Bibliografía*

Messina, M.; Tito, M.; Vera, L. y D. Vazquez

- 171 *Desarrollo de un tratamiento para el control de cancrrosis de los cítricos en poscosecha compatible con la norma orgánica*
- 171 *Trabajo de laboratorio*
- 172 *Frutas cítricas orgánicas*
- 172 *Evaluación de la capacidad bactericida de diversas sustancias y ozono*
- 172 *Pruebas de evaluación de la capacidad bactericida de sustancias y ozono sobre frutas infectadas en laboratorio*
- 173 *Pruebas en galpón de empaque*
- 174 *Bibliografía*

Moschini, R.; Canteros, B.; Garran, S. y M. Martinez

- 175 *Desarrollo de un modelo para el control de cancrrosis*
- 175 *Modelos de regresión lineal (valores medios de intensidad de cancrrosis)*
- 176 *Modelos de regresión logística (valores medios de intensidad de cancrrosis)*
- 177 *Modelos de regresión logística (intensidad de cancrrosis a distancias crecientes de la cortina rompeviento)*
- 180 *Bibliografía*

## Introducción

La cancrrosis de los cítricos causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Hasse) Vaut. (sinónimo = *X. campestris* pv. *citri* (Hasse) Day. es una enfermedad endémica en todas las provincias del Litoral Argentino y últimamente la región del noroeste (NOA) se ha visto afectada por su presencia. En 1927 se observó por primera vez un foco de la enfermedad causado por el biotipo B en el interior de la provincia de Corrientes. Las infecciones con el tipo A comenzaron en 1974 y en 1990 se la consideró endémica en el Litoral Argentino, la incidencia e intensidad variaban en cada lote de acuerdo a la susceptibilidad del huésped, condiciones ambientales y el manejo que se aplicara. Su importancia se basa principalmente en las condiciones cuarentenarias del agente causal para la exportación de frutas hacia países libres de la enfermedad (Canteros, 2001a).

A través del uso de análisis serológicos se logró identificar y clasificar distintos tipos de cancrrosis, causada por diferentes patovares de la bacteria.

## Nombre de la plaga y sinonimia

El agente causal de la cancrrosis de los citrus en Argentina es la bacteria *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Hasse, 1915) Vauterin *et al.*, 1995 (sinónimo = *X. campestris* pv. *citri* (Hasse) Day, 1978. Presenta varias formas:

**Cancrosis A o asiática.** Es la forma más importante y severa de cancrrosis. Se ha diseminado en numerosos países como Brasil, Argentina, Paraguay, Uruguay, Japón, Taiwán, China, Irán, Francia, Estados Unidos (Florida) y muchos otros países del sudeste asiático. Infecta a todos los tipos de cítricos como pomelo (*Citrus paradisi* Macfadyen), lima Key (*C. aurantifolia* Swingle), limón (*C. limón* (L.) Burm.), naranja (*C. sinensis* (L.) Osbeck), mandarinas (*C. reticulata* Blanco) y otras especies e híbridos (Canteros, 2001b).

**Cancrosis B o sudamericana.** Fue descrita como falsa cancrrosis en Argentina (Corrientes y Entre Ríos) en 1927 y proba-

blemente años antes en Paraguay (Canteros, 2001b). Causaba lesiones importantes sólo en frutos de limón y lima Key y los ataques eran esporádicos. Después de la introducción del tipo A, la forma B no se la puede aislar más de muestras de campo.

**Cancrosis C o cancrrosis de la lima Key.** Este tipo se describió solamente en Brasil en lima Key conocida también como limón gallego (*C. aurantifolia*). Su ocurrencia es muy esporádica.

**Cancrosis E, cancrrosis de vivero o mancha bacteriana de los cítricos.** Apareció en Florida, Estados Unidos, en 1984 sobre citrumelo Swingle. Se intentó erradicarla pero la campaña se detuvo en 1990, después de que numerosas investigaciones indicaron que no era una enfermedad peligrosa. El agente causal es *X. axonopodis* pv. *citrumelo* FI. Su ocurrencia es también esporádica.

## Hospedantes

Ataca a todas las especies de cítricos, aunque existen variaciones entre especies y cultivares. Dentro de una misma especie el estado juvenil es más susceptible que el adulto. En un grado decreciente de susceptibilidad se encuentran pomelos, naranjas de ombligo (New Hall, Navelate, Lane Late), limones, mandarinas Murcott adultas, naranjas tardías, la mayoría de las variedades de mandarinas (Clementinas, Nova, Fortune, etc.) y mandarinas del grupo Satsuma como las menos susceptibles (Guía Fitosanitaria para los Cítricos en la Provincia de Misiones, 1986).

## Sintomatología. Daños

Los primeros síntomas en hojas aparecen como pequeñas manchas acuosas traslúcidas y al poco tiempo se produce una erupción del tejido afectado; se tornan de color castaño oscuro y adquieren una consistencia corchosa con un punto central prominente, rodeado por rebordes concéntricos, con un halo amarillo alrededor y margen oleoso bien notable (Foto 83). El cancro toma un aspecto crateriforme al producirse rajaduras en el mismo. En el fruto las lesiones son similares y los

cancros más profundos, aunque no llegan a la pulpa. En ataques muy fuertes se produce defoliación y caída de frutos (Foto 84).

### Distribución en el país

La canchrosis de los cítricos está muy difundida en las provincias de Misiones, Corrientes, Entre Ríos y norte de Buenos Aires. Desde mediados del año 2002 se declaró la presencia de la enfermedad en el noroeste argentino (Tucumán, Salta, Jujuy y Catamarca) (Canteros, 2001).

### Epidemiología

La bacteria sobrevive en las lesiones que produce en hojas, tallos y frutos cítricos aunque puede vivir unos pocos días en el suelo y algunos meses en restos de plantas incorporadas al suelo. Entra al tejido joven de hojas, frutos y ramas a través de estomas o heridas, requiere agua para su introducción. La bacteria se multiplica cuando las lesiones están expandiéndose. La propagación de la canchrosis se produce por medio de bacterias dispersas a partir de árboles infectados, siguiendo la dirección de los vientos predominantes con lluvias (Foto 85).

Las mayores tasas de dispersión se producen en los meses más calurosos, en coincidencia con las brotaciones del hospedante. También es importante la propagación a través de las herramientas, ropas y manos del hombre, principalmente en viveros y al realizar labores culturales y cosecha de frutos. El traslado de la bacteria a largas distancias se debe a la acción del hombre, a través del movimiento de yemas, plantines o plantas enfermas. No hay antecedentes de transmisión por semillas. La comercialización de frutas afectadas constituye potencialmente un medio de dispersión a larga distancia; sin embargo, no existen antecedentes sobre el tema al respecto y durante años se ha comercializado frutas desde zonas endémicas a países libres de la enfermedad y no se registraron epidemias en dichos países (Messina, 1996).

### Manejo de la enfermedad

Comprende la integración de prácticas culturales, control biológico y químico, usados durante la producción, cosecha y proceso de industrialización del producto, que provean seguridad cuarentenaria frente al potencial reproductivo de una plaga. Los factores que integran el plan deben ser combinados de manera de poder mantener un nivel de la plaga que no cause pérdidas económicas sin producir grandes desequilibrios ecológicos. Entre ellos se encuentran:

*Cortinas rompevientos*: son efectivas para la prevención de infecciones hasta una distancia equivalente a 10 veces su altura y deben estar ubicadas preferentemente para disminuir la velocidad de los vientos predominantes que acompañan las lluvias. La separación entre las cortinas dependerá de la altura de las mismas, en Misiones se utilizan cada 60 cm en cortinas túneles (Foto 86). Las cortinas deben disminuir la velocidad del viento sin cortar totalmente la circulación del aire (Canteros, 2000).

*Aspersiones con productos cúpricos*: son efectivas para el control de la canchrosis de los cítricos. Se determinó que las brotaciones nuevas que se produzcan en cualquier época del año, deben protegerse con pulverizaciones cúpricas realizadas en el momento de mayor susceptibilidad de los brotes. Este período corresponde aproximadamente a los 14-21 días del comienzo de la brotación; la mayoría de los brotes deben estar con las 2 primeras hojas con el 75% del tamaño final y las demás hojas expandiéndose. Los productos utilizados con base de cobre son: oxiclóruo de cobre micronizado, sulfato de cobre tribásico micronizado, hidróxido cúprico micronizado y óxido cuproso micronizado. La dosis aconsejada es de 1,5 a 3 kg de cobre metálico por cada 1000 litros de la suspensión a pulverizar. En el caso de detectarse bacterias resistentes al cobre se procede al agregado de mancozeb al 2 por mil a las pulverizaciones cúpricas y así se logra restablecer el control de la bacteria.

Dentro de un manejo integrado no es conveniente realizar un calendario de pulverizaciones por lo que las aplicaciones deben realizarse sólo en los momentos en que hay que proteger al brote o al fruto (Canteros, 2000).

*Control del minador de las hojas de los cítricos*  
*Phyllocnistis citrella* Stainton 1856 (*Lepidoptera: Gracillariidae*): éste es un insecto que realiza la postura de sus huevos preferentemente en el envés de los brotes nuevos. Cuando estos eclosionan, las larvas penetran directamente al interior de las hojas para alimentarse del parénquima esponjoso de las hojas, construyen galerías bajo la epidermis y producen el enrollamiento de las hojas reduciendo la capacidad fotosintética de las mismas (Páez Morón y Agostini, 1998). Es importante el control de esta plaga principalmente cuando se cultivan variedades susceptibles a la cancrisis, ya que el minador aumenta la predisposición de la planta a la enfermedad al dañar los tejidos de la misma (Foto 87). El manejo integrado con el control biológico y el control químico es la mejor estrategia. El control biológico a largo plazo es la solución más económica y de mayor protección para el medio ambiente, aunque no se puede prescindir del uso de productos químicos en el manejo de viveros, plantas de menos de 5 años y quintas para exportación (Cáceres, 1999).

*Poda selectiva localizada*: se realiza para eliminar inóculo. Se extraen frutos, hojas y ramitas afectadas. Los restos vegetales deben ser embolsados y llevados lejos del lote donde serán quemados o enterrados (Canteros, 2000).

*Desinfección del personal y herramientas a utilizar en el lote*: se recomienda la desinfección de la ropa y guantes de los cosecheros y de todas las herramientas (tijeras, cajones, escaleras) y maquinarias usadas en el lote. Los desinfectantes recomendados son: amonio cuaternario (para máquinas y tractores), fenoles, soluciones iodadas de ácido fosfórico, hipoclorito de sodio (para herramientas) o alcohol 70% (para las manos). Los desinfectantes se pueden

aplicar con aspersores, mochilas o pulverizadoras del tamaño adecuado según el material a desinfectar (Canteros, 2000).

### Monitoreo y técnicas de detección

Para el diagnóstico de la enfermedad se utilizan métodos serológicos, moleculares, cultivo en medio Agar Lima Bean (ALB) y pruebas de patogenicidad en hospedante altamente susceptible (pomelo Duncan).

El programa de certificación de cítricos a la Unión Europea se basa en los requisitos fitosanitarios que la misma tiene para la importación de cítricos frescos a los países que integran dicho bloque, los mismos se encuentran comunicados por medio de la Directiva 29/2000. El programa es el procedimiento consensuado con la Directorate General for Health and Consumer Affairs (DGSANCO) para permitir la introducción de fruta fresca cítrica originaria de la Argentina y actualmente esta normado por medio de la Resolución SENASA 56/2008. Este programa establece la obligatoriedad de adoptar diferentes medidas fitosanitarias en las sucesivas etapas del cultivo, como así también reglamenta el procedimiento en las plantas de empaque y en puerto. Aquellos lotes inscriptos en el programa son monitoreados y supervisados por personal capacitado y habilitado por SENASA.

Durante cada temporada se llevan a cabo al menos dos monitoreos de cada uno de los lotes inscriptos para su habilitación. El objetivo del monitoreo es realizar un control fitosanitario y documental. Para procesar fruta con destinos de exportación, el empaque debe procesar en presencia de inspectores capacitados y habilitados por SENASA, quienes realizan un control fitosanitario y documental de las partidas ingresadas en el marco del programa. Dichos controles se llevan a cabo desde el momento que la fruta ingresa al empaque hasta su despacho a puerto.

Éste es el último punto de inspección, en el cual se realiza el control final de la sanidad, calidad y trazabilidad, antes del embarque de la fruta.

Anteriormente, en 1996, SENASA, INTA y el Comité Regional del NEA (CORENEA) diseñaron

un Sistema de Mitigación de Riesgo propuesto por SENASA a la UE lográndose la certificación fitosanitaria de los cítricos exportados. A su vez se contemplaba el programa sanitario de la plaga que integra factores físicos, biológicos y operativos que pueden afectar la incidencia, viabilidad y potencial reproductivo de una plaga dentro de un sistema de prácticas y procedimientos que proveen seguridad cuarentenaria (Zubrzycki, 2002). Consiste en la aplicación de un sistema de manejo integrado para cancrrosis que abarca a lotes de producción en el campo, a galpones de empaque habilitados y a laboratorios de referencia previo a la emisión del certificado sanitario. El objetivo es lograr producciones de cítricos libres de síntomas en el campo, testadas en galpones de empaque y posteriormente corroborar en laboratorio la no presencia de bacterias libres en estas frutas de exportación. Los tratamientos en campo se deben realizar en base a las recomendaciones oportunamente realizadas de pulverizaciones con compuestos cúpricos cuando los brotes tienen entre 14 y 21 días de desarrollo, momento de máxima susceptibilidad del mismo (Canteros, 2000). Dado que se ha detectado la presencia de razas de la bacteria resistentes a este princi-

pio activo, se recomienda combinarlo con carbamatos como mancozeb.

Durante el presente proyecto se procedió a determinar la ausencia de bacterias libres en frutas asintomáticas de cancrrosis, cosechadas desde lotes con presencia de esta enfermedad, a fin de constatar si los procedimientos en galpones de empaque son eficientes para eliminar posibles bacterias libres y con ello cumplimentar los procedimientos para la exportación de frutas cítricas desde zonas endémicas de la enfermedad. Para ello se tomaron frutas asintomáticas desde lotes de limón con distintos grados de incidencia de cancrrosis comparadas con un control positivo con cancrros evidentes y se procedió a realizarle diversos tratamientos comunes en galpones de empaque una vez que la fruta ha comenzado su proceso en el mismo (Tabla 6.5). Diez limones de cada uno de los mismos tratamientos señalados anteriormente fueron lavados con 500 ml de agua destilada con una gota de Tween 20 por 30 minutos. Con jeringa se inoculó una alícuota de esta agua en hojas de pomelo Duncan, muy susceptibles a cancrrosis, en invernáculos para observar manifestación posterior de síntomas (Tabla 6.6).

**Tabla 6.5.** Resultados de los aislamientos de *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* en medio agar lima Bean (ALB) a partir de frutas asintomáticas de limón Eureka *C. limon* (L.) obtenidos desde lotes con distintas incidencias de cancrrosis y a distintos momentos del proceso desde la cosecha hasta el embalado en galpón de empaque.

	Trat 1*		Trat 2		Trat 3		Trat 4	
	N°(+) <sup>z</sup>	% <sup>y</sup>	N°(+) <sup>z</sup>	% <sup>y</sup>	N°(+) <sup>z</sup>	% <sup>y</sup>	N°(+) <sup>z</sup>	% <sup>y</sup>
Frutas sin síntomas (0% Incidencia)	0/9	0	0/9	0	0/9	0	0/9	0
Frutas sin síntomas (23% Incidencia)	1/9	11,1	3/9	33,3	0/9	0	0/9	0
Frutas sin síntomas (50% Incidencia)	1/9	11,1	4/9	44,4	2/9	22,2	0/9	0
Control positivo	6/9	66,7	3/9	33,3	6/9	66,7	0/9	0

\* **Trat. 1:** Frutas sin tratamiento, directamente de campo; **Trat. 2:** Frutas tratadas con hipoclorito de sodio (214 ppm) y detergente neutro (SOPP); **Trat. 3:** Frutas con Drencher (2,4-D, 20 ppm; procloraz, 1050 ppm; TBZ, 2000 ppm; Guazatina, 1140 ppm y Fosetil aluminio, 3200 ppm); **Trat. 4:** Frutas tratadas con fungicidas (2,4-D 400 ppm; TBZ, 3000 ppm; Imazalil, 2500 ppm y ortofenilfenato de sodio, 15000 ppm) y cera (cera 12% UE e Imazalil, 1500 ppm). **Z:** Número de platos positivos sobre el total de platos. **Y:** Platos positivos (%)

**Tabla 6.6.** Resultados promedios de las inoculaciones realizadas sobre hojas de pomelo Duncan *C. paradisi* con la suspensión de lavado de frutas asintomáticas de limón Eureka *C. limon* (L) obtenidas desde lotes con distintos grados de incidencia de canchrosis y luego de 16 días desde la inoculación

	Trat 1*		Trat 2		Trat 3		Trat 4	
	Nº(+) <sup>z</sup>	% <sup>y</sup>	Nº(+) <sup>z</sup>	% <sup>y</sup>	Nº(+) <sup>z</sup>	% <sup>y</sup>	Nº(+) <sup>z</sup>	% <sup>y</sup>
Frutas sin síntomas (0% Incidencia)	0/9	0	0/9	0	0/9	0	0/9	0
Frutas sin síntomas (23% Incidencia)	0/9	0	2/9	22,2	0/9	0	0/9	0
Frutas sin síntomas (50% Incidencia)	6/9	66,7	2/9	22,2	0/9	0	0/9	0
Control positivo	9/9	100	9/9	100	9/9	100	8/9	88,9

\* **Trat. 1:** Frutas sin tratamiento, directamente de campo; **Trat. 2:** Frutas tratadas con hipoclorito de sodio (214 ppm) y detergente neutro (sopp); **Trat. 3:** Frutas con Drencher (2,4-D, 20 ppm; procloraz, 1050 ppm; TBZ, 2000 ppm; Guazatina, 1140 ppm y Fosetil aluminio, 3200 ppm); **Trat. 4:** Frutas tratadas con fungicidas (2,4-D 400 ppm; TBZ, 3000 ppm; Imazalil, 2500 ppm y ortoifenilfenato de sodio, 15000 ppm) y cera (cera 12% UE e Imazalil, 1500 ppm).

**Z:** Número de hojas con síntomas de la enfermedad sobre el total de hojas inoculadas. **Y:** Porcentaje de hojas con síntomas

El tratamiento de frutas con hipoclorito de sodio (214 ppm) durante dos minutos no fue suficiente para eliminar las bacterias causantes de la canchrosis de la superficie de frutos asintomáticos. En variedades susceptibles es necesario todo el proceso de post cosecha para lograr la eliminación de bacterias en frutas asintomáticas. El desarrollo bacteriano en medio semiselectivo para *X. axonopodis* pv *citri* y la manifestación de síntomas en hojas de pomelo Duncan inoculadas con la suspensión del agua de lavado de frutas asintomáticas, guarda una relación directa con el porcentaje de incidencia de la enfermedad en el campo.

Las frutas asintomáticas que permanecieron durante 110 horas en cámara de desverdizado, mezcladas con frutas con síntomas, ambas previamente tratadas con fungicidas y cera, no presentaron desarrollo de colonias de bacterias en cajas de Petri ni manifestación de canchros en las hojas inoculadas, debido a

la eficiencia de los tratamientos desinfectantes realizados durante la línea de empaque en frutas con presencia de canchros.

El tamaño de lesiones producidas en hojas de pomelo Duncan fue significativamente mayor con las inoculaciones del lavado de frutas de variedades más susceptibles a canchrosis. Se sugiere el uso del drencher antes del lavado en hipoclorito de sodio y en detergente neutro debido a que la menor cantidad de bacterias son recuperadas después del drencher.

## Bibliografía

- CÁCERES, S. 1999. Estrategias de control del minador de los citrus en Corrientes. XXI Jornada Citrícola Nacional. Concordia (Entre Ríos), 11 p.
- CANTEROS, B.I. 2000. INTA - EEA Bella Vista. Manejo de la cancrrosis de los citrus en lotes de sanidad controlada. Hoja de divulgación nº14.
- CANTEROS, B.I. 2001a. Cancrosis de los citrus en el Litoral Argentino. IDIA XXI (1): 23-27.
- CANTEROS, B.I. 2001b. El cáncer de los cítricos: una enfermedad distribuida mundialmente. IACNET-RIAC, Newsletter. Carta Circular 17. Pag. 11-17, 30-34.
- CANTEROS, B.I.; ZEQUEIRA, L.; GOCHEZ, M. y M.C. PESSOLINI. 2005. Efectos de dosis mínimas de hipoclorito de sodio en la desinfección superficial de frutos de citrus como tratamiento cuarentenario para cancrrosis.
- DIAMANTE, A. y H. ZUBRZYCKI. 1999. Las brotaciones de variedades cítricas con diferente susceptibilidad a cancrrosis (*Xanthomonas axonopodis* pv *citri*). Informe Técnico 3, Serie Mej. Cítricos, INTA - EEA Bella Vista. Provincia de Corrientes, Argentina. 15 pp.
- INTA-GTZ-M.A.A. 1986. Guía Fitosanitaria para los cítricos en la Provincia de Misiones.
- MESSINA, M. 1996. Enfermedades causadas por procariotes. Cancrosis, pp 187-191. *En*: A. Fabiani; R. Mika; L. Larocca y C. Anderson (eds.), Manual para Productores de Naranja y Mandarina de la Región del Río Uruguay. INTA - EEA Concordia. Entre Ríos, Argentina.
- PÁEZ MORÓN, P. y J.P. AGOSTINI. 1998. Ensayo de productos agroquímicos para el control del minador de la hoja. Citrusmisiones nº 26: 3-9.
- ZUBRZYCKI, H.M. 2002. Sistema de producción de frutas Cítricas para Exportación en la Región del NEA con presencia de Cancrosis (*Xanthomonas axonopodis* pv *citri*). Lotes con sanidad controlada.





### Desarrollo de un tratamiento para el control de canchros de los cítricos en poscosecha compatible con la norma orgánica

La Unión Europea, principal cliente de cítricos orgánicos interrumpió su importación desde nuestro país a partir del 2003 dado que rechazó el producto empleado (hipoclorito de sodio) hasta el momento en la desinfección de frutos en el empaque. Por lo tanto, fue necesario investigar sobre sustancias alternativas para ser utilizadas en la poscosecha que permitiría aprovechar una venta potencial de al menos 4 millones de dólares. El ozono es una alternativa. Se produce artificialmente a partir de oxígeno mediante la generación de una alta tensión eléctrica y colateralmente iones negativos. No puede ser almacenado ni transportado. Es mucho menos estable que el oxígeno porque rápidamente se reconvierte a este último y por ello debe ser producido en el lugar donde se emplee. Debido a su alta reactividad solo unos pocos materiales (acero inoxidable, vidrio, PVC) pueden ser usados para entrar en contacto con él.

Esta tecnología es de fácil manejo y de escasa peligrosidad para los operarios pero se debe cumplir las condiciones de seguridad establecidas por la Agencia de Protección Ambiental de la Organización Mundial de la Salud. La empresa Ozona S.R.L. construyó la mayor planta de ozonización de Argentina, capaz de producir 60 Kg/h de ozono. A fin de cumplir con los requisitos impuesto en cuanto a la contaminación de la bacteria causal de canchros *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* en la fruta cítrica comercial que no tienen síntomas de la enfermedad se han llevado a cabo experiencias que dieron lugar a los tratamientos con hipoclorito de sodio y ortofenilfenato de sodio en el empaque a través de los cuales se puede eliminar a dicha bacteria. Los principales trabajos al respecto fueron realizados en Japón (Obata *et al.*, 1969) y EEUU (Brown & Schubert, 1987). Estos tratamientos se aplican para la fruta cítrica convencional y las de producción integrada. Para la producción de cítricos orgánicos no es po-

sible su uso debido al impedimento de usar productos químicos de síntesis.

En el marco de los proyectos de INTA y en base a estudios realizados en otros países, se propuso estudiar la implementación de uno o más tratamientos con productos alternativos como por ejemplo los ácidos: cítrico, acético peracético y elementos gaseosos como el ozono (Agresti, 2006; Palou, 2007; Wu, 2008).

Dado que no se encontraron trabajos de investigación en Argentina que avalen la aplicación de ozono para la preservación de los alimentos, se experimentó en el laboratorio con la bacteria en suspensión líquida y luego con la fruta contaminada durante 6 meses para la obtención de datos de aproximación de las concentraciones y tiempos de exposición que muestren la eficacia de esta tecnología en condiciones prácticas de uso.

### Trabajos de laboratorio

El primer paso es verificar mediante técnicas apropiadas, que la cepa bacteriana posee sus características típicas, virulencia y no está contaminada por otros microorganismos. Se opera con la bacteria en medio líquido a una concentración adecuada para la ejecución de las pruebas *in vitro* e *in vivo* de control. La comprobación del poder patógeno del biotipo aislado se efectuó en hojas de citrus desprendidas que se lavan, se desinfectan con alcohol, se dejan secar y se colocan en placa de Petri con algodón empapado con agua de red estéril formando una cámara húmeda. Se efectuaron leves heridas con agujas sobre dichas hojas. Inmediatamente se frotaron manualmente con la suspensión bacteriana. Luego de colocada la tapa se lleva a cámara, 28°C–30°C hasta 10–15 días para observar la evolución de síntomas. Se prepara el medio de cultivo semiselectivo sólido compuesto por antibióticos para observar la presencia de la bacteria viva o no en las frutas contaminadas, las cuales se habían sometido a los diversos tratamientos (Messina, 1980; Messina, 2003; Messina, 2010).

### Frutas cítricas orgánicas

Se utilizaron las siguientes variedades de frutas cítricas: mandarinas (Okitsu, Satsuma, Nova y Ellendale); naranjas (New Hall, Robertson, Común, Salustiana, Valencia); pomelo blanco; limones y Kumquat.

El período para la obtención de frutas cítricas maduras para llevar a cabo los ensayos abarca todos los meses que dura el estudio, desde marzo-abril hasta noviembre. Se emplearon variedades comerciales tempranas, intermedias y tardías las cuales se producen en condiciones ecológicas diferentes de acuerdo a las regiones donde se encuentran y las formas de manejo del cultivo. Las frutas empleadas no presentaban síntomas de cancroisis.

### Evaluación de la capacidad bactericida de diversas sustancias y ozono

Se evaluaron los siguientes productos en tubos de ensayo: bicarbonato de sodio; fosfato trisódico; los ácidos láctico; acético, cítrico y peracético. Además el gas ozono disuelto en agua.

Para cada sustancia se emplearon 8 tubos con 5 ml de cada una de las concentraciones 1%; 2%; 3% y 4%. Se adicionó 0,5 ml de la suspensión bacteriana de  $10^6$  bacterias/ml, (medida con el espectrofotómetro Spectronic) con tiempo de contactos de 1 minuto; 2 minutos; y 3 minutos. Por último se transfirió con ansa de platino a medios de cultivo líquidos. El testigo consistió en emplear 5 ml de agua de red estéril, sin el agregado de sustancia a evaluar.

Cabe aclarar que el equipo para la producción del ozono y la asistencia técnica en este estudio ha sido provisto por la empresa OZONA S.R.L. Se utilizó el nuevo generador de ozono desarrollado (cuyas principales características son: dieléctricas resistentes a la rotura y de alto rendimiento; descarga eléctrica de baja tensión y alta eficiencia; fuente de generación de alta frecuencia y onda conformada).

Para el ozono los tratamientos fueron de 0,3 mg/l a 0,7 mg/l durante 1 minuto y 2 minutos para una suspensión bacteriana de  $10^6$  bacterias/ml, (medida con el espectrofotómetro Spectronic). Se emplearon 4 tubos de medio de cultivo líquido para el análisis de cada tratamiento. Se utilizó un testigo sin tratar. El resultado fue negativo cuando en el medio de cultivo se presentó la multiplicación de la bacteria y se observó una turbidez del mismo. Un resultado positivo, por el contrario, es cuando la sustancia actúa sobre la bacteria. No se produce su multiplicación y el medio de cultivo continúa límpido. Los resultados se observaron hasta los 10 o 15 días.

### Pruebas de evaluación de la capacidad bactericida de sustancias y ozono sobre frutas infectadas en laboratorio

Las frutas se lavaron e infectaron mediante pulverización con 5 ml por unidad de una suspensión de un cultivo de *X. axonopodis* de 5-7 días de edad en una concentración de  $10^6$  bacterias/ml. Posteriormente las frutas fueron inmersas en la solución con concentración conocida para cada sustancia y para el gas ozono. Una vez transcurrido el tiempo establecido se detectó la presencia de bacterias vivas mediante la siembra en cajas de Petri con medio de cultivo sólido semiselectivo del hisopado de cada unidad. El testigo fue la fruta sometida al mismo tratamiento pero se utilizó agua de canilla estéril (Foto 88).

## Pruebas en galpón de empaque

Una vez conocidos los resultados obtenidos de los tratamientos en condiciones de laboratorio, las actividades se orientaron a las pruebas en el empaque. Para ello, las frutas provenientes del campo se contaminaron con la bacteria en el laboratorio. Se las llevaron al empaque, el cual estuvo preparado en condiciones de recibir las frutas orgánicas. Se las pasó a través de la línea de empaque, se las sometió al tratamiento con las sustancias mencionadas y el gas ozono disuelto en agua y se llevaron al laboratorio donde fueron procesadas al igual que en las pruebas de control en condiciones de laboratorio. Para el lavado fueron sumergidas en cada una de las sustancias ácido láctico; acético; cítrico y peracético se utilizaron dos concentraciones 4% y 2% durante 2 minutos. Para el ozono gaseoso disuelto en agua, se utilizó 1 mg/l durante 5 minutos (Foto 8g).

Los datos fueron procesados mediante un software que permite realizar análisis de regresión probit, pruebas de bondad de ajuste y pruebas de diferencias estadísticas entre tratamientos para eliminar las bacterias de la superficie de la fruta (Montgomery, 1991; Draper & Smith, 1998; Di Rienzo *et al.*, 2010).

Las sustancias bicarbonato de sodio y fosfato trisódico resultaron no tener acción sobre la bacteria causal de cancrisis. Se obtuvieron cuatro sustancias: ácido acético, ácido cítrico, ácido láctico y ácido peracético con capacidades bactericidas para *X. axonopodis* pv citri cuyas eficacias fueron estimadas a través de los modelos Probit y Logit (Tabla 6.7).

Mediante la aplicación de estos productos se ha logrado implementar tecnologías alternativas acorde con la normativa orgánica que ofrecen seguridad alimentaria y permiten evitar la contaminación de la bacteria causal de cancrisis sobre la fruta cítrica orgánica (FAO & WHO, 2010).

**Tabla 6.7.** Resultado del desarrollo de bacterias luego de la exposición a distintos tiempos y concentraciones de gas ozono.

Ozono gaseoso en medio acuoso. Dosis	Tiempo (minutos)	Tubos empleados (100 ml c/u)	Cantidad de medio de cultivos sin desarrollo de colonias de la Bacteria
0,3 mg/litro	1	4	0
0,3 mg/litro	2	4	0
0,5 mg/litro	1	4	0
0,5 mg/litro	2	4	0
0,7 mg/litro	1	4	4
0,7 mg/litro	2	4	4

## Bibliografía

- AGRESTI, A. 2006. Categorical Data Analysis. John Wiley & Sons, NY. 1990. Bombelli EC.; Wright. E.R. Efecto del bicarbonato de potasio sobre la calidad del tomate y acción sobre *Botrytis cinerea* en poscosecha. Ciencia e Investigación Agraria: Revista latinoamericana de ciencias de la agricultura. ISSN 0718-1620. Vol. 33 (3): 197-203.
- BROWN, G.E. and T.S. SCHUBERT. 1987. Use of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* to evaluate surface disinfectants for canker quarantine treatment of citrus fruit. Plant Disease 71: 319-323.
- DI RIENZO, J.A.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.G.; GONZÁLEZ, L.; TABLADA, M. y C.W. ROBLEDO. 2010. InfoStat versión 2010. Grupo InfoStat, FCA, Univer. Nac. de Córdoba, Argentina.
- DRAPER, N.R. and H. SMITH. 1998. Applied Regression Analysis. John Wiley Sons Inc., New York, 3<sup>rd</sup> Ed.
- FAO and WHO. 2010. Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias. Comisión del Codex Alimentarius. Manual de Procedimiento, 19<sup>o</sup> edición. Roma. Sitio web: [www.codexalimentarius.net/web/index\\_en.jsp](http://www.codexalimentarius.net/web/index_en.jsp).
- GARMENDIA, G. y S. VERO MENDEZ. 2006. Métodos para desinfección de frutas y hortalizas. Horticultura Global: Revista de industria, distribución y socioeconomía hortícola, ISSN 1132-2950, N° 197: 18-27.
- GOTO, M.; TAKAHASHI, T. and M.A. MESSINA. 1980. A comparative study of the strains of *Xanthomonas campestris* pv. *citri* isolated from citrus canker in Japan and cancrisis B in Argentina. Annals of the Phytopathological Society of Japan. 329-338.
- MESSINA, M.A. 1980. Los métodos serológicos en el estudio de la bacteria que produce la cancrisis cítrica en la Argentina. 3. Diferenciación entre las bacterias de la cancrisis A o “asiática” y las de la cancrisis B o “sudamericana” en el país. INTA - EEA Concordia Ser. Téc. 80.
- MESSINA, M.A. 2003. Desinfección de la bacteria de cancrisis de cítricos en empaque en: IFOAM Plagas y Enfermedades en Manejo Orgánico. Una mirada Latinoamericana. Editores: Dina Folguelman, compiladora y editora. Movimiento Argentino de Producción Orgánica (MAPO).
- MESSINA, M.A. 2010. Diagnóstico visual de eficacia en cancrisis de los cítricos. Guía para la caracterización de los síntomas en frutas que pueden albergar la bacteria capaz de originar la enfermedad, a fin de evitar su dispersión a través de la comercialización. Ediciones INTA.
- MONTGOMERY, D.C. 1991. Diseño y Análisis de Experimentos. Grupo Editorial Iberoamérica.
- OBATA, T.; Tsuboi, F. and S. WAKIMOTO. 1969. Studies on the detection of *Xanthomonas citri* by phage technique and the surface sterilization of Unshiu orange for export to us. Res. Bull. Plant Proc. Jpn. 7: 26-37.
- PALOU, L. 2007. Evaluación de alternativas para el tratamiento antifúngico en poscosecha de cítricos de producción integrada. Centre de tecnologia Postcollita, Institut Valencià d' Investigacions Agràries (IVIA) [luis.palou@ivia.es](mailto:luis.palou@ivia.es)
- SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y PESCA. 1992. Legislación Argentina sobre productos orgánicos. Resolución Zagüía, N°423. Anexo c (Productos permitidos en procesamiento de alimentos).
- U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE, ANIMAL AND PLANT HEALTH INSPECTION SERVICE. 2006. Evaluation of asymptomatic citrus fruit (*Citrus* spp) as a pathway for the introduction of citrus canker disease (*Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*). [http://www.usda.gov/plant\\_health/plant\\_pest\\_info/citrus/index.shtml](http://www.usda.gov/plant_health/plant_pest_info/citrus/index.shtml). (March 20. 22 p).
- U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE, ANIMAL AND PLANT HEALTH INSPECTION SERVICE PLANT PROTECTION AND QUARANTINE. 2007. Questions and answers: USDA's Proposed regulations for the movement of citrus fruit from quarantined areas. Fact sheet of July. Universidad de Florida, FL. USA – IFAS. 2006. Entrenamiento para la Identificación del Cancro Cítrico a los Calificadores de las Casas Empacadoras. 6p. <http://postharvest.ifas.ufl.edu>.
- WU, L. 2008. Uso de ozono para mejorar la seguridad de frutas y vegetales frescos. Mundo alimentario. [info@mundoalimentario.com](mailto:info@mundoalimentario.com)

## Desarrollo de un modelo para el control de cancrrosis

La cancrrosis de los citrus, causada por la bacteria *Xanthomonas citri* pv. *citri*, es una enfermedad cuarentenaria y endémica en la región nordeste de Argentina. La cepa más difundida desde 1975 corresponde al tipo A o asiática. Existen variaciones extremas en el comportamiento respecto al patógeno entre especies y cultivares. El pomelo (*Citrus paradisi* Macfad- y en) es muy susceptible, mientras que el limón (*C. limon* L.) y algunos cultivares de naranja (*C. sinensis* L.) y mandarina (*C. reticulata* Blanco) pueden ser afectados en un grado más moderado. El control químico con bactericidas conteniendo cobre, el uso de cortinas rompeviento y la poda de tejido vegetal afectado, son algunas de las prácticas recomendadas para el manejo de la enfermedad (Canteros, 1998; Canteros 2006; Canteros 2009).

La bacteria ingresa a través de los estomas o heridas en el tejido joven de hojas, frutos y brotes. En ausencia de heridas, la principal vía de penetración de *X. citri* en las hojas es a través de los estomas, cuya mayor densidad se encuentran en la cara abaxial. Tejidos foliares en expansión (hojas jóvenes) son más susceptibles que hojas maduras (Gottwald & Graham, 1992). Bajas temperaturas afectan el proceso de infección. En ambiente controlado, se observaron síntomas en naranja en el intervalo térmico 12-40°C (Dalla Pria *et al.*, 2006). La mayor severidad de cancrrosis ocurrió con 24 h de mojado foliar, siendo 4 h la mínima duración suficiente para causar 100% de incidencia a temperaturas óptimas de 25-35°C. Luego de la infección la bacteria se multiplica para formar la clásica lesión corchosa conocida como cancro, de la cual exudan bacterias cuando son mojadas por rocío, lluvia o riego. El inóculo bacteriano es fácilmente dispersado con el salpicado del agua de lluvia, estando este proceso muy favorecido por el viento (Bock *et al.*, 2005). Cuando la lluvia se combina con vientos de velocidades mayores a los 8 m.s<sup>-1</sup>, se pueden producir numerosas nuevas infecciones, resultando en severos niveles de enfermedad (Gottwald &

Irey, 2007). Eventos de viento/lluvia artificialmente producidos, permitieron concluir que a mayor velocidad del viento (hasta 19 m.s<sup>-1</sup>) más bacterias *X. citri* son dispersadas hasta distancias analizadas de 5 m (Bock *et al.*, 2010). La ocurrencia de vientos más fuertes en el lapso inmediato previo a un evento infectivo predispone a las plantas a más infección, además de su efecto directo sobre la infección cuando coincide con el evento (Bock *et al.*, 2006). Lluvias suaves, lluvias con viento, tormentas, tormentas tropicales y huracanes pueden dispersar a *X. citri*, con progresiva efectividad (Gottwald & Irey, 2007). En las zonas citrícolas del noreste (NEA) y noroeste argentino (NOA), solo se registran los primeros tres eventos ligados a la precipitación.

A continuación se describen los estudios de desarrollo de sistemas de pronóstico empíricos de la intensidad de la cancrrosis de los citrus en media estación, basados en variables meteorológicas. Para este objetivo se utilizaron observaciones de la enfermedad que se vienen realizando desde el ciclo 1991/92 en varias especies cítricas implantadas en un lote experimental de INTA - EEA Bella Vista (latitud 28°26'S, longitud 58°55'W), a tres distancias de una cortina rompeviento natural ubicada al sur del lote.

### Modelos de regresión lineal (valores medios de intensidad de cancrrosis)

Las variables meteorológicas más fuertemente correlacionadas con la enfermedad son: número de días con precipitaciones >12 mm (DPREC: calculada entre el 10/10 y el 23/11) y número de días con temperaturas máxima >32°C y/o mínima <13°C (DNTEX: calculada entre el 24/11 y el 19/12). Ello se determinó utilizando observaciones de intensidad de cancrrosis (promedio de las observaciones realizadas a tres distancias de la cortina rompeviento) de los ciclos 1991/92 a 2004/05 (Moschini *et al.*, 2005).

En estudios posteriores, las variables meteorológicas se calcularon en períodos limitados por valores de grados día (temperatura media base= Tb=12,5°C), acumulados desde el 10 de julio.

Se presenta la ecuación de regresión lineal múltiple (Ec.1) desarrollada con 14 observaciones de la bacteriosis en media estación para pomelo (especie cítrica más susceptible)

$$\text{Int}\% = 1,0375 + 6,1094 \text{ DPREC} - 0,4626 \text{ DNTXN}$$

$$R^2 = 0,857 \quad \text{EC 1}$$

Donde Int% intensidad de la cancrrosis en media estación; DPREC: total de días con ocurrencia de precipitación >12 mm; DNTXN: al total de días con registros de temperaturas máximas >31,5°C se suman los que registran temperaturas mínimas <12°C. DPREC se calcula desde que se acumulan 372 grados día (Tb=12,5°C) hasta 960 grados día y la térmica desde 930 a 1175 grados día. El inicio de la acumulación es el 10/7 (Moschini, 2007; Moschini *et al.*, 2013).

Las predicciones retrospectivas mediante la Ec.1 permitieron definir el riesgo climático del NE argentino y analizar la variabilidad climática asociada al fenómeno El Niño Oscilación del Sur (ENOS) y el impacto del cambio climático en relación a la cancrrosis. Algunas conclusiones que se derivaron fueron que el sistema climático está en transición hacia un nuevo equilibrio impulsado por el incremento de los gases antropogénicos de efecto invernadero y que la expresión del patosistema está fuertemente asociada al fenómeno ENOS (Moschini, 2007; Moschini *et al.*, 2013).

### Modelos de regresión logística (valores medios de intensidad de cancrrosis)

Se analizaron observaciones de intensidad (10%) de cancrrosis de 18 años (1991/92-2008/09) en pomelo (lote experimental de Fig. 1) (Moschini *et al.*, 2010; Moschini *et al.*, 2013). Los mejores modelos de regresión logística de respuesta binaria y ordinal (tres categorías epidémicas) incluyeron como variable meteorológica a la interacción (producto) entre DPREC (días totales con precipitación >12 mm) y DPTXN (días con temperatura máxima <= 28°C y temperatura mínima >= 14°C), obteniendo precisiones de predicción de 94,4 y 83,3%, respectivamente. Se detalla la ecuación de respuesta binaria (epidemia severa: 10 >= 42%, moderada a nula: 10 < 42%):

ción de respuesta binaria (epidemia severa: 10 >= 42%, moderada a nula: 10 < 42%):

$$\ln(\text{prs}/1-\text{prs}) = -6,1095 + 0,1265 * \text{ItI}$$

$$\text{Precisión predicción: } 94,4\% \quad \text{EC 2}$$

Resolviendo la expresión  $\text{Exp}(\ln(\text{prs}/1-\text{prs})/(1+\text{Exp}(\ln(\text{prs}/1-\text{prs})))$  se obtiene el valor de prs (probabilidad de observar una tasa epidémica severa (s). Ln es el logaritmo natural.  $\text{PRMOD-NULO} = 1 - \text{PRS}$ , siendo PRMOD-NULO la probabilidad de observar una epidemia moderada a nula (MOD-NULA).  $\text{ItI} = \text{DPREC} * \text{DPTXN}$ . Como en la Ec.1, DPREC se calcula desde que se acumulan 372 grados día (Tb=12,5°C) hasta 960 grados día y la térmica desde 930 a 1175 grados día. El inicio de la acumulación es el 10/7.

Ambos modelos logísticos (binario: Ec.2 y ordinal) fueron corridos en 14 sitios de España y en Bella Vista (10/1: inicio de acumulación de grados día en España), para la serie 1980-2008. En España, la acumulación de grados día a partir del 10 de enero (pleno invierno del Hemisferio Norte), desplazó el procesamiento de las variables hídrica-térmicas al fin de primavera-verano. La variable hídrica DPREC resultó ser el factor ambiental más limitante para la expresión de la bacteriosis en el sector citrícola español. En las zonas de alta producción cítrica (Comunidad valenciana, Murcia y Andalucía) el valor mediano de DPREC fue cero, cuando se analizaron 29 años de datos meteorológicos. Esta conclusión está en concordancia con el régimen mediterráneo de lluvias (concentración invernal de las precipitaciones), dominante en el área citrícola de España.

Respecto al factor térmico, la ventana definida por temperaturas mínimas diarias mayores o iguales a 14°C y máximas menores o iguales a 28°C (postinoculación o después del período con lluvias), como fuera establecida en la Isla de Reunión, fue claramente favorable para la evolución de la enfermedad (Vernière *et al.*, 2003). En los sitios españoles analizados, esta variable alcanzó valores apropiados, con excepción de varias localidades de Andalucía como Sevilla y Córdoba.

Ambos factores (hídrico y térmico) interaccionando ( $I_{tr}$ ) hicieron decrecer predominantemente a cero la probabilidad de que la enfermedad se exprese en niveles moderados a severos en España, marcando claras diferencias con lo que sucede en Bella Vista (51,7% de los años). Solo en Cataluña, donde se concentra el 3% de la producción citrícola española (Servicio de Estudios Agrarios y Comunitarios, trienio 2002-2004), existe una pequeña probabilidad de observar un nivel epidémico moderado a severo, si se focaliza en una especie susceptible como el pomelo.

### Modelos de regresión logística (intensidad de cancrrosis a distancias crecientes de la cortina rompeviento)

Para este estudio también fueron utilizadas las observaciones de la enfermedad realizadas desde 1991 en el lote experimental implantado con pomelo Red Blush y otras especies cítricas en INTA - EEA Bella Vista, Corrientes. A partir de la instalación de tres anemómetros de tipo Robinson se obtuvieron valores medios diarios de velocidad del viento ( $\text{km.h}^{-1}$ ; 2008-2010;  $N=277$ ) a tres distancias hacia el norte de la cortina rompeviento ( $dc$ =distancia a cortina) y se relacionaron (ajuste de ecuaciones de regresión lineal) con los medidos en la estación meteorológica de INTA - EEA Bella Vista (300 m del lote). Para los ciclos 1991/92 y 2010/11, mediante dichas ecuaciones, se estimó la velocidad diaria del viento para el sector más alejado ( $dc=1$ ; se reduce el viento de estación a la mitad) y más cercano a la cortina ( $dc=0$ ; se reduce a la tercera parte), y se dispusieron de 40 observaciones de intensidad de la cancrrosis (10%) en media estación en pomelo en ambos sectores (Moschini *et al.*, 2013).

Todas las variables regresoras se calculan a partir de la acumulación, desde el 10 de julio, de 372 grados día ( $T_b=12,5^\circ\text{C}$ ) hasta acumular 985 grados día. Coincidentes con estas acumulaciones de grados día, las fechas medias de inicio y fin de procesamiento de las variables meteorológicas fueron el 24 de setiembre y el 26 de noviembre, respectivamente. La variable más fuertemente correla-

cionada ( $r_k$ : coeficiente de Kendall Tau-b) con los niveles de cancrrosis (severo:  $10>45\%$ ; moderado:  $\leq 45$  y  $>10,6\%$ ; ligero:  $\leq 10,6\%$ ), a las dos distancias a la cortina rompeviento, fue  $D_{precvv}$  (días con registro simultáneo de precipitación  $>12$  mm y velocidad del viento  $>2,6 \text{ km.h}^{-1}$ ;  $r_k=0,71$ ), diferenciándose del  $r_k=0,60$  de  $D_{prec}$  (días con precipitación  $>12$  mm). La utilización de umbrales de precipitación menores a 12 mm en las variables  $D_{prec}$  y  $D_{precvv}$  produjo una marcada disminución de su correlación con el nivel de enfermedad, fundamentado en el hecho que lluvias diarias de menor milimetraje carecerían de suficiente energía para la diseminación de bacterias de los cancrros (Moschini *et al.*, 2013).

Coincidentemente, Wischmeier & Smith (1958) seleccionaron solo las lluvias mayores a 12,7 mm para estimar sus energías y sus relaciones con la pérdida de suelo. Ambas variables estarían explicando la variabilidad del proceso de dispersión bacteriano y en menor medida al de infección (Moschini *et al.*, 2013).

Trabajos en ambiente controlado establecieron que a partir de duraciones de mojado de solo 4 h, se observaron eventos de infección bacteriana, demanda que estaría generalmente satisfecha por la lluvia y rocío, durante el período primaveral en Bella Vista, (Dalla Pria *et al.*, 2006; Christiano *et al.*, 2009). Un ingreso bacteriano eficiente estaría asociado con la ocurrencia simultánea de precipitación y viento, lo cual asegura un nivel de agua en exceso desde el mesófilo, a través del estoma, a la superficie foliar (Pruvost *et al.*, 2002). Este hecho confirma el sentido biológico de la variable  $D_{precvv}$ .

Incluyendo todas las variables meteorológicas regresoras analizadas, el procedimiento stepwise de la regresión logística seleccionó al modelo 1 (Tabla 6.8) como el más apropiado. La precisión de predicción de los modelos seleccionados se calculó como el % de casos analizados ( $N=40$ ) en los cuales hubo concordancia entre la categoría epidémica observada y la predicha por el modelo logístico con la mayor probabilidad. El modelo 1 clasificó correctamente 36 de los 40 casos observados (precisión de predicción= 90%). Para calcular los valores de  $D_{precvv}$  se deben



disponer de registros diarios de velocidad del viento en las dos distancias contrastantes a la cortina rompeviento (escenario de fuerte protección al viento,  $dc=0$ ; escenario de moderada protección,  $dc=1$ ) en la plantación cítrica experimental. Estos registros fueron estimados en este estudio mediante las ecuaciones lineales ajustadas para ambas distancias, a partir de información diaria de velocidad del viento de la estación meteorológica (300 m del lote). Debido a esta demanda sitio específica de datos de velocidad del viento, el procedimiento stepwise de la regresión logística fue también corrido incluyendo todas las variables meteorológica (excepto  $DPrecVv$ ) y una discreta binaria ( $dc$ : codificada como 0 o 1) que tuvo en cuenta ambos escenarios de protección al viento. El modelo II (Tabla 6.8) que incluyó a las variables  $DPrec$  and  $GDTx$ , y a la variable discreta  $dc$ , resultó la más adecuada. El modelo II clasificó erróneamente cinco de 40 observaciones de intensidad de cancrisis en media estación, categorizadas ordinalmente (precisión de predicción = 87,5%).

Ambos modelos (I y II) clasificaron correctamente las nueve observaciones con un nivel severo de intensidad de cancrisis en media estación ( $s: 10>45\%$ ). Seguidamente, los modelos logísticos I y II fueron corridos para la serie de 42 años (1971-2012) de datos meteorológicos diarios de la estación de Bella Vista, calculando el número de estaciones de crecimiento con niveles estimados de cancrisis severo ( $s$ ), moderado ( $m$ ), y ligero ( $l$ ), para ambos escenarios de protección al viento. Las estimaciones de los modelos I y II mostraron (Tabla 6.9) la baja probabilidad de ocurrencia de epidemias severas (21,4 y 11,9% de los años, respectivamente) en escenarios con fuerte protección al viento ( $dc=0$ ), contrastando con el 35,7% y 40,5% a mayor distancia de la cortina rompeviento ( $dc=1$ ). Analizando 22 años (1991-2012) de observaciones de intensidad de cancrisis (Tabla 6.9), los porcentajes de años con niveles epidémicos severos ( $01>45\%$ ) fueron 9,1 y 31,8% para los escenarios de fuerte y moderada protección al viento, respectivamente.

**Tabla 6.8.** Modelos logísticos para estimar la probabilidad de ocurrencia de cada categoría epidémica: Ordinal: severa ( $s$ ), moderada ( $m$ ) o ligera a nula ( $l$ ), en base a variables meteorológicas simples y una discreta que tiene en cuenta la distancia a cortina rompeviento ( $dc$ : codificada como 0 o 1). Se presenta por modelo la precisión de predicción: % de casos (40) correctamente clasificados.

Modelo	Ecuaciones del Modelo	Precisión de predicción %
I	$LogitPrS = -13,2049 + 1,7122 DPrecVv + 0,3504 DT$	90 (36/40*100)
	$Logit PrMac = -5,4635 + 1,7122 DPrecVv + 0,3504 DT$	
II	$LogitPrS = -15,4604 + 1,4393 DPrec + 4,9754 dc - 0,0657 GDTx$	87,5 (35/40*100)
	$Logit PrMac = -6,691 + 1,4393 DPrec + 4,9754 dc - 0,0657 GDTx$	

**DPrec:** total de días con precipitación  $>12$  mm, **DPrecvv:** total días con ocurrencia simultánea de precipitación  $>12$  mm y velocidad media diaria del viento  $>2.6$  km  $h^{-1}$ , **GDTx:** sum de los excedentes diarios de  $Tx$  diaria respecto a  $33^{\circ}C$ , cuando  $Tx > 33^{\circ}C$ , **DT:** días con  $Tx \leq 27^{\circ}C$  y  $Tn \geq 17^{\circ}C$ . **dc:** distancia a cortina:  $dc=0$  (próxima, 19-47 m de cortina);  $dc=1$  (más alejada, 89-117 m).  $EC1 = \ln(prs/1-prs)$ ;  $EC2 = \ln(prmac/1-prmac)$ . Resolviendo la expresión  $\exp(\ln(prs/1-prs)/(1+\exp(\ln(prs/1-prs)))$  se obtiene el valor de  $prS$  (probabilidad de observar una tasa epidémica severa ( $s$ )).  $Ln$  es el logaritmo natural. Resolviendo  $\exp(\ln(prmac/1-prmac)/(1+\exp(\ln(prmac/1-prmac)))$  se obtiene  $prMac$  (probabilidad acumulada de ocurrencia de un nivel de tasa epidémica igual o mayor al moderado ( $m$ )).  $prL = 1 - (prS + prM)$  siendo  $prL$  la probabilidad de observar una epidemia ligera a nula ( $l$ ).

**Tabla 6.9.** Porcentaje de años con un nivel severo de intensidad de cancrrosis en media estación, estimado por los modelos logísticos I y II (Tabla 1) para escenarios de fuerte y moderada protección al viento en los ciclos 1971-2012, en comparación con las epidemias severas ( $10 > 45\%$ ) observadas en 22 años (1991-2012).

Protección al viento	% años con nivel Severo de intensidad de Cancrosis		
	1971-2012		1991-2012
	Modelo I	Modelo II	Observado
Fuerte dc=0	21,4	11,9	9,1
Moderada dc=1	35,7	40,5	31,8

En Concordia (Entre Ríos), se verificaron reducciones significativas en el progreso de las epidemias de cancrrosis en cítricos con la sola utilización de cortinas rompeviento o en combinación con bactericidas cúpricos, comparado con el testigo sin tratar (Gottwald y Timmer, 1995).

En Bella Vista (Corrientes), para el mismo lote experimental cítrico, se demostró el rol de las cortinas rompeviento respecto a la enfermedad, al verificar la muy alta correlación entre la distancia a la cortina natural y la intensidad de cancrrosis (Canteros, 1998).

La reducción de la velocidad del viento por medio de cortinas rompeviento puede disminuir la dispersión bacteriana y los eventos infectivos, reduciendo la severidad epidémica (Bock *et al.*, 2010).

Los modelos I y II (6.8) cuantificaron y contrastaron el efecto ambiental sobre la intensidad de la cancrrosis en escenarios de fuerte protección al viento (bien próximo a cortina; dc=0) y moderada protección (más alejado, dc=1). Con ambos modelos (I y II), en el período primaveral, podría realizarse el

seguimiento de la dinámica diaria de los valores de probabilidad de ocurrencia de los niveles epidémicos analizados y de las respectivas variables regresoras principales ( $D_{precv}$  o  $D_{prec}$ ), con presentación gráfica de las curvas de progreso. De esta forma se podrían emitir alarmas de riesgo ambiental para escenarios de fuerte protección y para sectores de la plantación más desprotegidos de la cortina rompeviento, asistiendo a los productores en la decisión de aplicar el bactericida y probablemente induciendo a una reducción en el número de aplicaciones. Otros componentes del tetraedro epidémico como el comportamiento respecto a la enfermedad de la especie y variedad plantada, edad de la plantación, última aplicación química, prácticas de poda de tejido vegetal afectado, deberán analizarse al momento de la toma de decisión de control químico.

## Bibliografía

- BOCK, C.H.; PARKER, P.E. and T.R. GOTTWALD. 2005. The effect of simulated wind-driven rain on duration and distance of dispersal of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* from canker infected citrus trees. *Plant Dis.* 89: 71-80.
- BOCK, C.H.; PARKER, P.E.; COOK, A.Z. and T.R. GOTTWALD. 2006. Factor affecting infection of citrus with *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Abstr.) *Phytopathology*, 96 (6).
- BOCK, C.H.; GRAHAM, J.H.; GOTTWALD, T.R.; COOK, A.Z. and P.E. PARKER. 2010. Wind speed effects on the quantity of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* dispersed downwind from canopies of grapefruit trees infected with citrus canker. *Plant Dis.* 94: 725-736.
- CANTEROS, B.I. 1998. Ecology of endemic citrus canker: seasonal fluctuations of disease intensity. Abstract 3.7.41. 7<sup>th</sup> Int. Cong. Plant Pathol. Edinburgh. Scotland Vol 3.
- CANTEROS, B.I. 2006. Management of citrus Canker in Argentina: a review. Proceeding of the International Society of Citricultura, pp 515-523.
- CANTEROS, B.I. 2009. Guía para la Identificación y el Manejo de las Enfermedades Fúngicas y Bacterianas en Citrus 2009-2010. Programa de Fortalecimiento de la Citricultura Correntina (INTA. CFI. Pcia Corrientes. SENASA. Corp. Mercado Central Bs As). 1<sup>a</sup> edición. 94 pp.
- CHRISTIANO, R.C.S.; DALLA PRIA, M.; JESUS JUNIOR, W.C.; AMORIM, L. and A. BERGAMIN FILHO. 2009. Modelling the progress of Asiatic citrus canker on Tahiti lime in relation to temperature and leaf wetness. *Eur. J. Plant Pathology*, 124: 1-7.
- DALLA PRIA, M.; CHRISTIANO, R.C.S.; FURTADO, E.L.; AMORIM, L. and A. BERGAMIN FILHO. 2006. Effect of temperature and leaf wetness duration on infection of sweet oranges by Asiatic citrus canker. *Plant Pathology*, 55: 657-663.
- GOTTWALD, T.R. and J.H. GRAHAM. 1992. A device for precise and nondisruptive stomatal inoculation of leaf tissue with bacterial pathogens. *Phytopathology*, 82: 930-935.
- GOTTWALD, T.R. and M. IREY. 2007. Post-hurricane analysis of citrus canker II: predictive model estimation of disease spread and area potentially impacted by various eradication protocols following catastrophic weather events. *Plant Health Prog.*, doi: 10.1094/PHP-2007-0405-01-RS.

- GOTTWALD, T.R. and L.W. TIMMER. 1995. The efficacy of windbreaks in reducing the spread of citrus canker caused by *Xanthomonas campestris* pv. *citri*. Trop. Agric. (Trinidad), 72: 194-201.
- MOSCHINI, R.C. 2007. Clima y Enfermedades de cultivos relevantes en Argentina. Simposio taller: El cambio climático y su impacto en las plagas de los vegetales. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria SENASA Buenos Aires. En CD.
- MOSCHINI, R.C.; CANTEROS, B.I. y M.I. MARTÍNEZ. 2005. Ecuaciones Predictivas de la Intensidad de la Cancrosis de los Cítricos en base a Variables Meteorológicas. Abstract v Cong. Argentino de Citricultura, Concordia, Argentina, pp. 24.
- MOSCHINI, R.C.; CANTEROS, B.I.; MARCÓ, G.M. y G. CAZENAVE. 2010. Modelos logísticos predictivos de la cancrrosis de los cítricos en Bella Vista y su uso en el área citrícola española. Abstract vi Cong. Argentino de Citricultura, Tucumán. Argentina, 0033-PV, pp.79.
- MOSCHINI, R.C.; MARTÍNEZ, M.I. y M.G. SEPULCRI. 2013. Sistemas de pronóstico de enfermedades. Capítulo XXI. Pag. 409-441. En "Agrometeorología". Editores: Guillermo M. Murphy y Rafael H. Hurtado. 2º Edición Agosto 2013. Editorial Facultad de Agronomía UBA. 512 p. ISBN 978-987-29338-5-2.
- PRUVOST, O.; BOHER, B.; BROCHERIEUX, C.; NICOLE, M. and F. CHIROLEU. 2002. Survival of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* in leaf lesions under tropical environmental conditions and simulated splash dispersal of inoculum. Phytopathology, 92: 336-346.
- STALL, R. E.; MARCÓ, G.M. and B.I. CANTEROS. 1982. Importance of mesophyll in mature-leaf resistance to cancrrosis of citrus. Phytopathology, 72: 1097-1100.
- VERNIÈRE, J.; GOTTWALD, T.R. and O. PRUVOST. 2003. Disease development and symptom expression of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* in various citrus plant tissues. Phytopathology, 93: 832-843.
- WISCHMEIER, W.H. and D.D. SMITH. 1958. Rainfall energy and its relationship to soil loss. Transaction Am. Geophys. Union, 39: 285-291.